

# Regeneração hepática: papel dos fatores de crescimento e nutrientes

R.P. DE JESUS, D.L. WAITZBERG, F.G. CAMPOS

Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo, Departamento de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP

UNITERMOS: Regeneração Hepática. Nutrição. Fatores de Crescimento. Citocinas. Hepatectomia Parcial. HGF.

KEY WORDS: Liver regeneration. Nutrition. Growth Factors. Cytokines. Partial Hepatectomy.

## INTRODUÇÃO

A regeneração hepática, representa um mecanismo de proteção orgânica contra a perda de tecido hepático funcionante seja por injúria química, viral, perda traumática, ou por hepatectomia parcial (HP)<sup>1-8</sup>.

Na Grécia antiga, relatou-se a regeneração hepática através do mito de Prometheus. Tendo descoberto o segredo do fogo dos Deuses do Olimpo, Prometheus foi condenado a alimentar diariamente uma águia com uma porção do seu fígado. No entanto, durante a noite, seu fígado regenerava provindo a águia com eterno alimento e submetendo Prometheus a uma eterna tortura<sup>9-11</sup>.

O primeiro modelo experimental bem sucedido para o estudo da regeneração hepática foi introduzido por Higgins e Anderson em 1931. Esse modelo contemplou a remoção cirúrgica dos lóbulos lateral esquerdo e mediano do fígado de ratos, constituindo aproximadamente 67 a 70% da massa hepática total desses animais<sup>12,17,4,7,8</sup>.

Apesar de ser largamente utilizado, o termo "regeneração" é biologicamente incorreto, uma vez que a resposta induzida pelo dano tecidual hepático promove hiperplasia e hipertrofia compensatória do tecido remanescente, até o restabelecimento da massa hepática primitiva. No entanto, os lóbulos ressecados não são recuperados<sup>18,19,4,6,7,10</sup>.

Nos últimos anos surgiram novos conhecimentos sobre os fatores envolvidos no processo de regeneração hepática, assim como o efeito específico de fatores de crescimento e nutrientes. Portanto, o objetivo desta revisão foi atualizar estes conhecimentos, dando ênfase ao seu aspecto metabólico nutricional.

## REGENERAÇÃO HEPÁTICA

O hepatócito é uma célula de natureza epitelial, altamente diferenciada, que raramente se divide. Apenas um hepatócito entre 20.000 pode estar se dividindo em algum momento, durante a vida do ser humano ou animal, sendo que essa divisão pode ocorrer no máximo, uma ou duas vezes para cada célula<sup>20,21,4,7,12</sup>.

Reconhece-se que a regeneração hepática é um evento que promove crescimento tecidual altamente ordenado e organizado. A perda do parênquima hepático, induzida por tratamento agudo, cirúrgico ou químico, desencadeia um processo regenerativo até que a massa hepática seja completamente restaurada. A restauração ocorre por hiperplasia celular compensatória do parênquima remanescente, de forma regulada e precisa, até o fígado atingir seu peso original, com pequena variação de 5 a 10%<sup>14,7,18</sup>.

Todas as células hepáticas (hepatócitos, células endoteliais, de Kupffer, de Ito e ductais) proliferam para substituir a perda do tecido hepático. No entanto, os hepatócitos são os primeiros a proliferar, sendo que a maioria dos estudos focalizam essas células por elas constituírem cerca de 90% da massa hepática e 60 % do número total de células<sup>7,10,20</sup>.

Atualmente diversas pesquisas tem sido desenvolvidas para identificar qual seria o "gatilho" inicial para a resposta regenerativa. Estudos recentes mostraram que quando tecido hepático ou hepatócitos isolados são transportados para tecidos extra-hepáticos, antes da realização da hepatectomia parcial, ocorre síntese de DNA no hospedeiro. Do mesmo modo, quando ratos são ligados aos pares através de circulação parabiótica, a realização de hepatectomia em um membro da dupla, observa-se regeneração no fígado intacto do outro membro. Estes experimentos evidenciam que os sinais mitogênicos para hepatócitos são sistêmicos, possibilitando o monitoração desse processo<sup>10</sup>.

A cinética da resposta regenerativa inicia-se pela síntese de DNA, que ocorre 12 - 16 hs após a hepatectomia parcial (HP), sendo o pico máximo

observado 24 a 26 hs após a cirurgia. Em seguida ocorre uma onda de mitoses, cujo pico é verificado aproximadamente 8 hs mais tarde<sup>10</sup>.

Durante a proliferação de hepatócitos ocorre liberação de fatores de crescimento como Fator de Crescimento do Hepatócito (HGF), Fator Transformador do Crescimento-alfa ( $\infty$ -TGF), Fator de Crescimento Epidérmico (EGF) e Fator de Crescimento de Fibroblastos (FGF), os quais determinam estímulo mitogênico que atinge outras células hepáticas<sup>10,22</sup>.

A síntese de DNA das células não parenquimatosas inicia-se em média 24 hs após o mesmo processo verificado nos hepatócitos. Observa-se o pico mitótico nas células de Kupffer, células endoteliais e ductais, dentro de 48, 96 e 48 hs após a HP, respectivamente<sup>17</sup>. Imediatamente após a HP, ocorre ativação de 70 ou mais genes, constituindo-se assim, o primeiro passo na cascata de eventos que direcionam à síntese de DNA<sup>4,7,8</sup>.

Os eventos desencadeados após a HP possibilitam a identificação de dois períodos distintos: o período pré-replicativo (de 0 a 14 hs) e o período replicativo (14 a 36 hs), caracterizando o processo de regeneração. Apesar do limite entre esses períodos não ser totalmente preciso, verifica-se que durante as 12 hs iniciais os hepatócitos saem do estado de repouso ou quiescência - fase G<sub>0</sub>, entrando no ciclo celular - fase G<sub>1</sub>, progredindo para a síntese de DNA. Verifica-se o início dessa fase 4 a 6 horas após a HP, com elevação precoce da expressão dos proto-oncogenes c-fos e c-myc, 30 a 60 minutos após a cirurgia. Na segunda fase ocorre a síntese de DNA propriamente dita ou fase S. Após a fase S, aproximadamente 4 a 6 hs são necessárias para que a célula entre em divisão, caracterizando a fase G<sub>2</sub>. Após 30 a 60 minutos do início do processo mitótico, obtêm-se dois novos hepatócitos. Durante a regeneração hepática, observa-se o sincronismo do pico de replicação de DNA, indicando que a maioria ou até mesmo todos hepatócitos encontravam-se na fase de repouso, e não em diferentes pontos do ciclo celular, fortalecendo o conceito que os hepatócitos em condições normais, raramente se dividem<sup>4,7</sup>.

Proto-oncogenes são grupos de genes normais, fisiologicamente associados à proliferação celular. São essenciais para o crescimento celular normal, mas na evidência de mutação ou expressão inadequada desses genes, ocorre ativação da formação de neoplasias<sup>4,7</sup>. Os principais proto-oncogenes (c-fos, c-myc, c-ras, c-jun e P<sub>53</sub>, estão relacionados com ciclo celular, não apenas no processo de regeneração hepática, mas também na proliferação de outros tipos celulares. Provavelmente, esses genes

são os primeiros reguladores dos eventos essenciais para a fase de replicação do DNA (fase G<sub>1</sub>) do ciclo celular. O c-fos, c-jun e c-myc são comumente denominados de genes precoces ou "Immediate early genes", por não requererem síntese protéica para sua estimulação e por serem ativados imediatamente após a HP, na sequência descrita, associados ao pico máximo de detecção de seus respectivos RNAs mensageiros, após a cirurgia<sup>4,7,10,18</sup>.

A expressão dos proto-oncogenes após a HP, é extremamente específica, sequencial e regulada, compreendendo uma sucessão de eventos interdependentes, e dotados de mediadores que podem alterar a expressão desses proto-oncogenes<sup>4,7,18</sup>.

No período de progressão, após a "capacitação" dos hepatócitos para a divisão celular, verifica-se aumento no nível de RNAm para p<sub>53</sub> e conseqüente aumento desse proto-oncogene de 8 a 16 horas após a cirurgia, período no qual a maioria dos hepatócitos estão no meio ou no final da fase G<sub>1</sub> do ciclo celular. Provavelmente a expressão acentuada do p<sub>53</sub>, visa prevenir a proliferação e transformação celular desordenada<sup>4,7</sup>.

O proto-oncogene c-jun foi recentemente relacionado como agente essencial para diferenciação do hepatócito fetal, parecendo exercer um importante papel na proliferação celular hepática. O c-fos é requerido na fase posterior da proliferação celular, mas não na fase inicial do processo, enquanto que o c-ras é expresso tardiamente, durante o período de síntese de DNA e mitose, entre 24 a 36 horas após a cirurgia<sup>4,18</sup>.

Três dias após a HP, cerca de 80% da síntese de DNA ocorre na proximidade do Espaço Porta, indicando que os hepatócitos localizados no ácino hepático replicam o DNA mais precocemente que aqueles próximos à veia centrolobular; ou seja: o processo regenerativo ocorre predominantemente nas regiões mais próximas do Espaço Porta<sup>7,10</sup>.

Em seguida a sua origem, no chamado compartimento proliferativo, o hepatócito migra em direção à veia centrolobular, de forma que as células jovens tendem a se localizar na periferia do lóbulo, enquanto que as mais velhas são encontradas com maior frequência na região central. Durante essa trajetória, o hepatócito desempenha atividades metabólicas diferentes, de acordo com o grau de maturação. As células jovens por exemplo, desempenham gliconeogênese, enquanto que a glicólise é realizada mais freqüentemente por células mais antigas<sup>7</sup>.

A eficiência da síntese de DNA após hepatectomia parcial está diretamente relacionada com o déficit tecidual. Em ratos adultos com remoção inferior a 30% do parênquima hepático, não se verificou síntese de DNA. Do mesmo modo, em

cirurgias com remoção superior a 80% da massa hepática, a regeneração induzida é menos eficiente que a observada na hepatectomia parcial de 68 a 70%<sup>23,4,7</sup>.

Durante a regeneração hepática (RH), verificase alterações bioquímicas no parênquima, tais como acúmulo transitório de triglicerídios, elevação de isoenzimas fetais e aumento dos níveis enzimáticos relacionados com a síntese de DNA, como a Timidina quinase e Ornitina decarboxilase<sup>24,25,1,7,13</sup>.

O mais surpreendente do processo regenerativo, além da capacidade proliferativa do hepatócito, é o fato dessas células manterem simultaneamente todas as funções fundamentais para manutenção da homeostase, como a regulação do nível glicêmico, síntese de proteínas plasmáticas e fatores de coagulação, secreção de bile, ciclo da uréia e biodegradação de compostos tóxicos. Análises comparativas da população de RNAm, presente em remanescentes hepático e fígados normais, demonstraram resultados praticamente homólogos, indicando que as alterações na expressão gênica são estritamente de caráter quantitativo<sup>4,7,10</sup>. Portanto, a hipótese da “desdiferenciação”, ou regressão de uma célula diferenciada como o hepatócito, para uma célula “imatura”, de modo a possibilitar divisão celular, atualmente não é mais aceita<sup>4,7</sup>.

Durante a regeneração, a composição da matriz hepática sofre alterações em relação ao fígado tipicamente formado. Com o início da cascata de protease, verifica-se a restrição da matriz, contendo inicialmente fibronectina, colágeno tipo I e IV, entre outras proteínas e glicosaminoglicanos<sup>10,21</sup>. Esse evento constitui a degradação da matriz extracelular que envolve os hepatócitos, favorecendo a ativação do pró-HGF à HGF maduro, levando conseqüentemente à síntese de DNA através de mecanismo de regulação autócrino e/ou parácrino<sup>10,23</sup>.

Mullhaupt *et al* (1994), evidenciaram através de modelo envolvendo cultura celular, que a proliferação dos hepatócitos é regulada predominantemente mas não exclusivamente por mecanismos autócrinos, a partir de liberação de fatores de crescimento. Os hepatócitos já “iniciados” seriam capazes de produzir seus próprios fatores de crescimento, caracterizando a regulação autócrina, além de responder a fatores de crescimento produzidos por outras células hepáticas, constituindo a regulação parácrina. Haveria também a participação de células de outros órgãos, promovendo a regulação endócrina, desde que houvesse receptores adequados na membrana plasmática dos hepatócito para essas substâncias. Portanto, durante o período de progressão, o processo de proliferação seria dependente de mecanis-

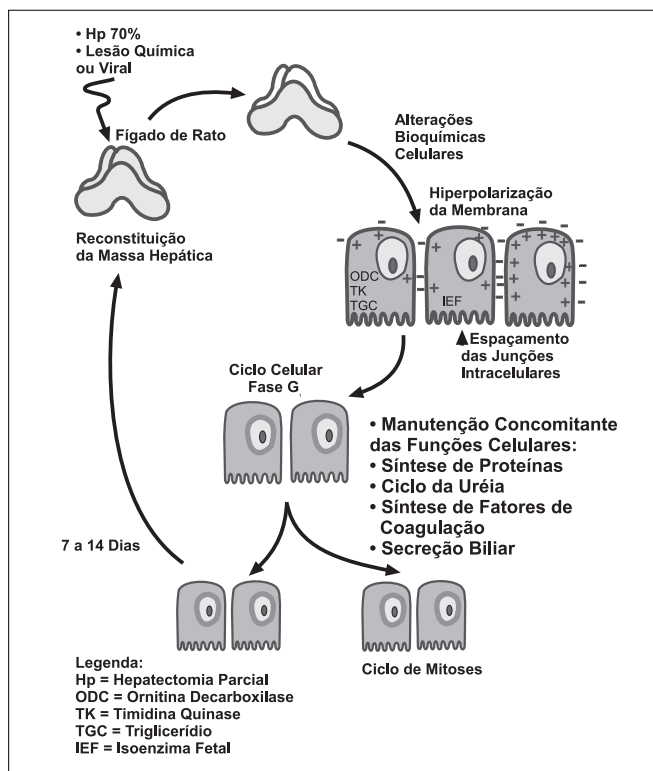


Fig. 1 – Processo de regeneração hepática experimental

mos autócrinos, parácrinos e endócrinos<sup>26,4,7,22</sup>.

O desempenho adequado da regeneração hepática, é complexo e dependente da interação de eventos, que envolve a regulação da matriz extracelular, espaçamento do intervalo de junção intercelular, dissolução e ressíntese da membrana altamente especializada dos hepatócitos, além da liberação e alinhamento de mais de 150 cromossomos, entre os quais alguns que proporcionam a mitose<sup>27,10,21</sup>. Durante a regeneração, tanto os fatores de crescimento, como as alterações metabólicas, podem induzir o período de iniciação. Já a expressão dos proto-oncogenes pode estar relacionada com variações adaptativas bioquímicas e nutricionais que ocorrem nos hepatócitos logo após a hepatectomia, ou ainda pode ser induzida por fatores de crescimentos secretados no fígado ou outros órgãos. Estas reações adaptativas desencadeiam em conjunto, a cascata de eventos que culmina com a replicação do DNA<sup>7</sup>.

Recentes estudos têm procurado correlacionar os principais eventos que ocorrem imediatamente após a HP. Michalopoulos e DeFrances (1997) relatam que o receptor para uroquinase “urokinase-type plasminogen activator” (uPA), surge imediatamente na membrana plasmática, e a atividade da enzima uroquinase aumenta em 1 a 5 minutos após a cirurgia. Essa enzima está diretamente envolvida na ativação da cascata proteo-

lítica necessária para conversão do plasminogênio a plasmina e proteólise de componentes da biomatriz hepática, como lâmina média, entactina e fibronectina. A conseqüente degradação da biomatriz, permite a ativação do HGF, além do rápido aumento desse fator de crescimento no plasma<sup>10</sup>.

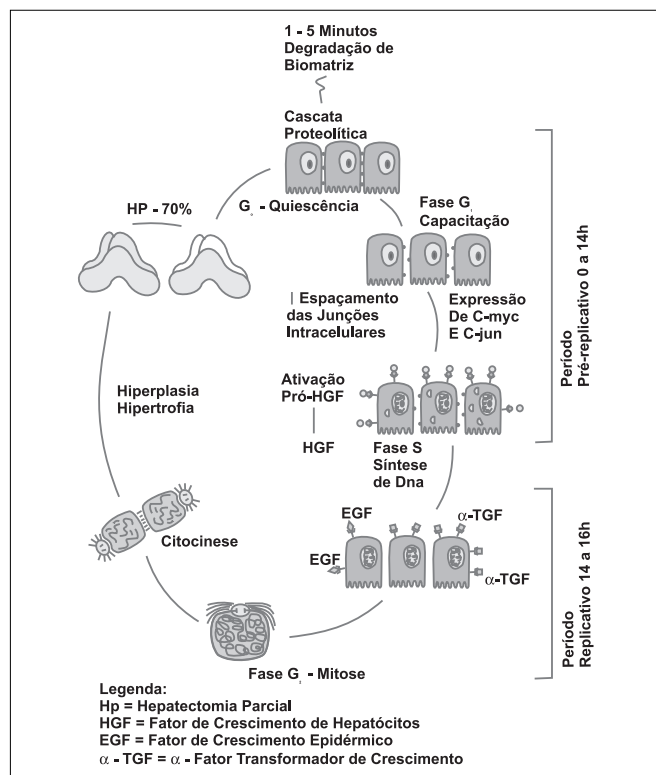
A membrana plasmática torna-se hiperpolarizada em 30 minutos, observa-se inicialmente alterações no fluxo de eletrólitos pela membrana, com rápida entrada de Na<sup>+</sup> e elevação do pH intracelular, além da saída do Ca<sup>+2</sup> para o espaço extracelular<sup>10,18,21</sup>.

Nas células que compõe o canalículo biliar, são evidenciadas alterações morfológicas dentro de 5 horas imediatamente após a HP, ainda que ocorra simultaneamente um leve decréscimo da secreção biliar. Dentro de 30 minutos, após a cirurgia, observa-se a indução do conjunto de “genes imediatos”<sup>10</sup>.

### FUNÇÃO DOS FATORES DE CRESCIMENTO E HORMÔNIOS

O sinusóide hepático apresenta um endotélio fenestrado que expõe os hepatócitos diretamente a uma série de hormônios, fatores de crescimento e nutrientes, que possuem ação hepatotrófica. Nesse sentido, vários autores sugerem que nenhuma substância isoladamente seria suficiente para regular todo o processo regenerativo, sendo que fatores negativos e positivos podem estimular ou inibir a proliferação de hepatócitos, havendo uma relação de equilíbrio entre eles. Podem ser sintetizados no fígado, nas células parenquimatosas e não parenquimatosas, além de tecidos como as glândulas de Brunner localizadas no duodeno e glândulas salivares<sup>7,10,21</sup>.

A resposta celular aos vários fatores de crescimento, exige a presença de receptores específicos na membrana plasmática das células alvo. Após a formação do complexo receptor-fator de crescimento, esse é internalizado e degradado. Em seguida, ocorre uma série de eventos como ativação da proteína Tirosina quinase e fosforilação de proteínas intracelulares<sup>28,4,10</sup>. O estímulo intracelular resultante é processado por sistemas transdutores de sinal envolvendo um segundo mensageiro como o AMPcíclico, cálcio, inositol trifosfato, diacil-glicerol ou fosfolipase c. Posteriormente esse mensageiro induz ativação de Proteína c quinase, as quais desencadeiam uma série de eventos secundários, incluindo alteração do fluxo iônico através da membrana celular, com entrada de Na<sup>+</sup> e saída de H<sup>+</sup>, elevação do pH intracelular e aumento da atividade da ATPase Na<sup>+</sup> / K<sup>+</sup>. Por



**Fig. 2** – Processo de regeneração hepática pós-hepatectomia parcial experimental

último, a Proteína c quinase ativa diversos genes envolvidos no processo proliferativo, como c-fos, c-jun, e c-myc, levando à replicação do DNA e conseqüente divisão celular<sup>10,28</sup>.

Os fatores de crescimento são classificados em três categorias:

- Agentes mitogênicos completos → Capazes de induzir síntese de DNA e mitose em uma população de hepatócito em repouso fase G<sub>0</sub>;
- Agentes mitogênicos incompletos ou co-mitogênicos → Auxiliam a indução da síntese de DNA;
- Agentes inibidores do crescimento → Controlam o término da proliferação celular;

Os principais agentes mitogênicos completos são:

1) *Fator de Crescimento Epidérmico: EGF*- “Epidermal Factor Growth”

É sintetizado nos rins e pâncreas, glândulas salivares, glândulas de Brunner no duodeno. Estimula a síntese de DNA na maioria das células epiteliais, inclusive hepatócitos já iniciados, ou seja no período de transição entre as fases G<sub>1</sub> e S do ciclo celular<sup>29,4,22,26,28</sup>. Induz incorporação de timidina tritiada por 60 a 80 % dos hepatócitos em meio de cultura. Sua ação é potencializada pela insulina e glucagon, “in vitro” e “in vivo”<sup>7,10</sup>.

O mecanismo de regulação do EGF, durante a regeneração hepática, pode ser a nível de seu

receptor, através de mecanismos de modulação, internalização e ressíntese, ou através de mecanismos pós-receptor, sem alteração do nível plasmático de EGF. Seus níveis se elevam em poucas horas após a HP<sup>22</sup>, mas reduzem rapidamente, antes da síntese de DNA pelos hepatócitos ter iniciado. Verifica-se rápida elevação do RNAm para síntese de EGF durante a fase inicial da regeneração hepática, indicando que esse Fator de Crescimento com ação autócrina, promove expressão gênica e crescimento hepático<sup>22</sup>. Observa-se também um declínio dos níveis de RNAm para o receptor EGF durante o período pré-replicativo em torno de 35 % do normal<sup>7</sup>.

Quando ocorre decréscimo plasmático do EGF, induzido por sialodenectomia, verifica-se decréscimo da resposta regenerativa, indicando que esse fator de crescimento é fundamental para a proliferação de hepatócitos, por aumentar a função mitogênica da regeneração hepática, deixando os hepatócitos mais disponíveis à ação de outras substâncias hepatotróficas<sup>30,7</sup>.

A norepinefrina, hormônio que estimula a secreção de EGF pelas glândulas de Brunner, também aumenta muito após a HP, indicando que esse fator de crescimento tem papel fundamental durante o estágio precoce da função mitogênica<sup>7</sup>.

2) *Fator Transformador do Crescimento -  $\alpha$* :  $\alpha$ -TGF - "Transforming Growth Factor -  $\alpha$ "

Esse Fator de Crescimento é sintetizado por tecidos normais "*in vitro* e *in vivo*", atuando sobre o mesmo receptor que o EGF, sendo equipotente na capacidade de estimular a proliferação de hepatócitos "*in vitro*"<sup>31,4,17,28,29</sup>. São homólogos em cerca de 30 a 40% da sua estrutura aminoácida. Sintetizado por hepatócitos em regeneração, mas não por células não parenquimatosas, observando-se elevação nos níveis do RNAm para o  $\alpha$ -TGF durante as primeiras 4 a 5 horas após a HP, 10 vezes acima do normal, com pico 24 hs após a cirurgia. Já os níveis do  $\alpha$ -TGF, se elevam em 8 hs após a HP, com picos 24 e 72 hs após a cirurgia<sup>7,18</sup>.

Provavelmente a secreção de  $\alpha$ -TGF pelos hepatócitos em regeneração tem regulação autócrina e parácrina, estimulando a proliferação das células não parenquimatosas adjacentes. O  $\alpha$ -TGF atuaria sobre os hepatócitos já "iniciados", após este ter adentrado no ciclo celular - Fase G<sub>1</sub>. O TGF- $\alpha$  parece que atua no estágio mais posterior do processo. RNAm para TGF- $\alpha$  é induzido nos hepatócitos dentro de 2 a 4 horas, após HP com pico entre 12 e 24 horas, mantendo elevado por 48 hs após a HP. Pode estimular mitose por mecanismo autócrino e parácrino<sup>7,10,18</sup>.

O efeito potencial do TGF $\alpha$ - sobre os hepató-

citós, pode ser parte do sinal mitogênico que direciona o estroma de células adjacentes para a proliferação, geralmente em torno de 24 hs após proliferação de hepatócitos<sup>7</sup>.

O TGF- $\alpha$  possui efeito mitogênico sobre as células endoteliais, estimulando a mitose por mecanismo parácrino. Fatores de crescimento produzidos pelos hepatócitos em regeneração, como o Fator de Crescimento de Fibroblásto Ácido (FGF) e o Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF), também participam do estímulo regenerativo das células endoteliais, objetivando a restauração da histologia normal do lóbulo hepático<sup>7</sup>.

3) *Fator de Crescimento de Hepatócito*: HGF-Hepatocyte Growth Factor.

Descrito inicialmente como fator com ação específica para o fígado, atualmente sabe-se que o HGF atua como mitogênico em vários tipos celulares, como melanócitos e células dos túbulos renais<sup>32,4,10,28,29</sup>. É também conhecido como "Fator de Dispersão", por sua capacidade de induzir motilidade de células epiteliais fortemente agregadas, sendo produzido por células mesenquimais de muitos órgãos como pulmão, timo, pâncreas, glândulas salivares, tireóide, intestino, baço e rins. No fígado, as células de Kupffer, células endoteliais e de Ito produzem essa substância, principalmente quando o fígado é submetido a injúria química, tóxica ou cirúrgica<sup>7,10,18,28,32</sup>.

O HGF é composto por 728 aminoácidos, dispostos em duas subunidades ligadas por pontes de dissulfeto. A subunidade  $\alpha$  é maior, tendo estrutura e seqüência homóloga a plasmina e plasmínogênio, enquanto a subunidade  $\beta$  possui estrutura similar a serina protease, mas sem a atividade proteolítica<sup>7,28</sup>.

Foi o primeiro agente mitogênico identificado no sangue em altas concentrações durante o processo regenerativo, sendo considerado o mais potente estimulador da proliferação de hepatócitos em meio de cultura<sup>33,34,9,22,26,31,32</sup>. Na clínica médica, observa-se altos níveis de HGF plasmático nos casos de hepatite fulminante e encefalopatia grave, havendo uma correlação inversa entre concentração plasmática e sobrevida dos pacientes. Provavelmente essa elevação do HGF seja provocada pelo dano hepatocelular, levando a liberação maciça do fator das reservas hepáticas, superprodução do fígado e outros órgãos ou decréscimo da captação hepática do HGF<sup>35,7,10,18,20,21,28</sup>. Além de estimular a proliferação de hepatócitos, o HGF possui outras funções biológicas, incluindo atividade pleotrópica com efeito mutagênico e morfogênico, inibindo a replicação de células tumorais como melanomas e carcinoma hepatocelulares *in vitro*<sup>7,28</sup>.

No entanto, Liu *et al.* (1994) reportam que o HGF possui atividade metastogênica em vários tipos de células cancerosas<sup>32</sup>.

O fígado é responsável por clarear a maioria do HGF circulante<sup>10,26,32,34</sup>, sendo que o mecanismo de ação desse fator no processo regenerativo hepático é provavelmente endócrino e/ou parácrino, uma vez que após a hepatectomia parcial, verifica-se o aumento da produção de HGF nas células não parenquimatosas hepáticas e outros tecidos<sup>10,18,28,34</sup>. No entanto, inicialmente é necessário a maturação do pró-HGF à HGF, com participação da enzima uroquinase, e ativação do receptor C-met na membrana plasmática do hepatócito, para permitir a incorporação do HGF no interior da célula hepática<sup>10,32</sup>.

A conversão do plasminogênio a plasmina e a proteólise de alguns componentes da biomatriz extracelular (lâmina média, entactina e fibronectina) que ocorrem imediatamente após a hepatectomia parcial (HP), favorecem a atuação da uroquinase e demais enzimas envolvidas na ativação do HGF e seu receptor, promovendo rápida elevação da concentração plasmática desse fator de crescimento, o que constitui, provavelmente, o primeiro estímulo mitogênico que direciona o hepatócito para a síntese de DNA<sup>36,10,28,32</sup>.

Tal hipótese é compatível com o tempo da cinética do hepatócito e aparecimento dos fatores de regeneração de origem sanguínea, bem como na rápida expressão dos genes imediatos ou precoces, induzida pelo HGF. No entanto, são necessários estudos posteriores, visando obtenção da completa interação entre uroquinase, aumento da produção de HGF e degradação da biomatriz hepática<sup>10</sup>.

Vários estudos têm demonstrado que a concentração plasmática do HGF aumenta substancialmente em humanos submetidos a hepatectomia parcial (HP). Em ratos a concentração plasmática de HGF aumenta mais que 20 vezes dentro de 1 a 3 horas após a cirurgia, normalizando lentamente até alcançar 72 horas do processo cirúrgico. A expressão de RNAm para o HGF está aumentada nas células de Ito e células mesenquimais de outros tecidos, 3 a 4 horas após a HP, permanecendo elevada por 24 a 30 horas<sup>37,38,7,10,28,33,34</sup>. Embora esses eventos não explicam o aumento do HGF plasmático 1 hora após a HP, podem explicar por que ocorre a persistência da elevação do HGF plasmático, durante todo o processo regenerativo hepático<sup>10</sup>. As fontes extra-hepáticas de HGF são importantes para justificar a elevação do nível plasmático desse fator, antes mesmo de se verificar o aumento na expressão RNAm para HGF no fígado<sup>7</sup>.

O HGF possui o efeito totalmente inibido pelo TGF- $\beta$ , parcialmente inibido pela heparina e exacerbado pela norepinefrina, que também encontra-se elevada após a HP<sup>7</sup>.

Diante das evidências de que o HGF estimula a regeneração hepática *in vivo*, protegendo o animal contra as sérias consequências da injúria hepática, LaBrecque sugere a possibilidade da utilização desse fator de crescimento, no tratamento de doenças hepáticas<sup>18</sup>.

#### 4) *Fator de Crescimento de Fibroblastos Ácidos / "Acidic Fibroblast Growth Factor: $\alpha$ -FGF"*

É secretado por hepatócitos em regeneração, células ovais e de Ito, sendo que a secreção máxima coincide com o pico de síntese de DNA celular, indicando um importante papel na gênese da proliferação de hepatócitos. Aumenta agudamente por até 24 horas após a HP, permanecendo elevado no remanescente hepático, tanto nos hepatócitos como nas células não parenquimatosas, durante 7 dias. Tem efeito mitogênico em cultura de células hepáticas, mas parece que atua em hepatócitos específicos, uma vez que nem todas as células respondem ao estímulo provocado pelo  $\alpha$ -FGF<sup>7,18</sup>.

O aumento na expressão gênica do  $\alpha$ -FGF, após a HP, precede a expressão gênica da  $\alpha$ -TGF e do  $\beta$ -TGF, parecendo exercer um estímulo bastante precoce à síntese de DNA pelos hepatócitos, através de mecanismos autócrinos e/ou parácrinos<sup>7</sup>. Contudo, a elevação dos níveis do FGF ocorre após a iniciação de hepatócitos primários, não parecendo ser o desencadeador do processo regenerativo<sup>18</sup>.

A atividade mitogênica do  $\alpha$ -FGF é consideravelmente menor que a promovida pelo EGF, sendo que a heparina potencializa sua atividade biológica. Esse fator de crescimento reduz o efeito inibitório do  $\beta$ -TGF sobre a mitogênese induzida pelo EGF, promovendo conseqüentemente um efeito sinérgico<sup>17,26</sup>.

#### 5) *Substância Estimuladora hepática / "Hepatic Stimulatory Substance: HSS"*

Substância extraída do citosol de células hepáticas recém-nascidas, ou de ratos submetidos à HP, é capaz de estimular a replicação de DNA, tanto "*in vitro*" como "*in vivo*", com aparente especificidade para o fígado<sup>17,18,28</sup>.

Animais de laboratório submetidos a HP mínima de 1/3, onde normalmente ocorre uma pequena estimulação para síntese de DNA, após administração de extrato purificado de HSS observa-se elevação importante da proliferação celular. Contudo, o mesmo efeito não foi verificado quando administraram-se essa substância em ratos normais com o fígado intacto<sup>18,28</sup>.

A HSS exerce pequena atividade sobre o fígado normal *in vivo*, ou em cultura primária de he-

patócitos. No entanto, ela atua sinergicamente com o EGF, para produzir aumento na síntese de DNA em cultura de hepatócitos, além de exercer efeito mitogênico direto em células de hepatoma<sup>18,28</sup>.

Observa-se presença de HSS no fígado de ratos adultos após 12 horas da HP, com pico máximo em 26 horas. Permanece com níveis elevados até 72 horas após a cirurgia<sup>7</sup>.

O HSS pode ser considerada como fator de progressão para replicação de hepatócitos, agindo sobre células que estejam atingindo a fase G<sub>1</sub> do ciclo celular. Provavelmente o mecanismo de ação dessa substância é a indução da rápida entrada de Na e conseqüente saída de Ca<sup>2+</sup>, além do aumento da fosforilação protéica<sup>18,28</sup>.

Apesar de não totalmente caracterizada, a substância Estimuladora de Hepatócito possui vantagens em relação a outros Fatores de Crescimento, porque é o único com efeito específico para o fígado e sua atividade não é bloqueada pelo  $\beta$ -TGF, como  $\alpha$ -TGF e HGF<sup>18</sup>.

→ Agentes mitogênicos incompletos ou Comitogênicos

Potencializam o sinal estimulatório de substâncias mitogênicas como HGF, EGF e  $\alpha$ -FGF, além de reduzir o efeito negativo de agentes inibitórios, contribuindo dessa forma para desencadear o processo proliferativo, sem contudo possuir efeito mitogênico, quando adicionado isoladamente em cultura primária de hepatócitos<sup>7</sup>.

Os principais agentes Comitogênicos são :

#### • Norepinefrina

Os níveis plasmáticos de catecolaminas elevam-se substancialmente após a HP, provavelmente devido a remoção de cerca de 2/3 do "pool" hepático de monoaminoxidase, enzima que cataliza a desaminação oxidativa de monoaminas como a norepinefrina e noradrenalina<sup>7</sup>. Em cultura primária de hepatócitos, a norepinefrina amplia o efeito mitogênico do EGF e HGF agindo sobre o receptor  $\alpha$  1-adrenérgico, além de reduzir o efeito inibitório do  $\beta$ -TGF sobre hepatócitos, isolados durante a fase inicial da regeneração<sup>7,10,18,31</sup>.

O receptor  $\alpha$ 1-adrenérgico é o principal regulador da via glicogenolítica, sendo que sua estimulação desencadeia a lise do fosfatidil inositol, elevando os níveis citoplasmáticos de diacilglicerol e inositol trifosfato, com conseqüente ativação da proteína C quinase e mobilização dos estoques intracelulares de cálcio<sup>7</sup>. Seus níveis séricos aumentam rapidamente no plasma dentro de 1 hora após a HP, fato que induz a secreção de EGF pelas glândulas de Brunner no duodeno, que potencializa a esti-

mulação mitogênica do hepatócito<sup>10</sup>.

#### Insulina e Glucagon

Apesar da incapacidade da insulina e glucagon para induzir proliferação hepatocelular *in vitro* e *in vivo*, esses hormônios são fundamentais para o trofismo e metabolismo do hepatócito, pois essas células degeneram e morrem na ausência de insulina em meio de cultura<sup>4,7,9,18,29,31</sup>.

Se ocorrer redução da circulação portal de insulina para o fígado devido a "shunt" portocava, espera-se uma atrofia hepática. Do mesmo modo, injeção de insulina previne ou reverte o processo de atrofia que envolve a replicação celular. No entanto, a insulina não possui efeito mitogênico sobre hepatócitos quando injetada em animais normais, mas potencializa o efeito de fatores de crescimento como EGF em cultura de hepatócitos<sup>10,18</sup>.

Após a HP, a concentração plasmática de insulina decresce rapidamente, enquanto a de glucagon aumenta, provavelmente numa tentativa do organismo para garantir a homeostase, mantendo a concentração plasmática de glicose em níveis normais durante o processo regenerativo<sup>10</sup>.

Yamaguchi *et al* (1997), demonstraram em trabalho experimental que a Nutrição parenteral Total (NPT) enriquecida com glucagon e insulina promoveu aumento do DNA hepático em ratos submetidos a HP, indicando participação desses hormônios na proliferação de hepatócitos. O glucagon estimula a síntese de proteína hepática, sendo que glucagon e insulina atuam sinergicamente na regulação da regeneração hepática<sup>63</sup>.

#### Vasopressina

Estimula diretamente a síntese de DNA em cultura de hepatócitos de ratos adultos, entretanto demonstrou-se efeito mínimo em hepatócitos de coelhos e nenhum efeito sobre hepatócitos humanos. Este fato é compreensível, uma vez que essas espécies não dispõem de receptores em número significativo para a vasopressina nas células parenquimatosas hepáticas<sup>18,31</sup>.

#### Prostaglandinas

A adição de ácido araquidônico ou prostaglandina à cultura de hepatócitos induz aumento de DNA, assim como o tratamento de animais cirróticos com prostaglandinas E<sub>2</sub> aumenta a síntese hepática de DNA 24 horas após HP<sup>7</sup>.

Recentemente foi demonstrado que as células de Kupffer possuem incrível capacidade de secretar prostaglandina E<sub>2</sub> durante a regeneração hepática, persistindo elevada até 48 horas após a cirurgia. Drogas bloqueadoras da síntese de prostaglan-

dinas, como a indometacina, inibem a síntese de DNA, sugerindo papel importante dessa substância no processo regenerativo hepático. No entanto, ainda não está claro seu mecanismo de ação<sup>7</sup>.

### Outros hormônios

Triiodotironina e derivados do ácido retinóico, estimulam síntese de DNA *in vivo*, mas não efetivamente em culturas de hepatócitos<sup>7,10</sup>.

Os estrógenos induzem incremento na mitogênese quando adicionados a cultura de hepatócitos contendo tanto EGF como soro. Após a HP, os níveis séricos desse hormônio e receptores estrogênicos encontram-se elevados com pico máximo de 24 a 48 horas, enquanto os níveis de testosterona encontram-se reduzidos<sup>7</sup>.

### Citocinas

Trabalhos recentes estabelecem relações importantes entre o Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interleucina-6 (IL-6) e sinais precoces que direcionam a regeneração hepática<sup>25</sup>. Michalopoulos (1997), refere que o estímulo para produção do TNF- $\alpha$  pelas células de Kupffer, pode estar envolvida na regeneração hepática. Estas citocinas também são produzidas por monócitos e células endoteliais em resposta à injúria tecidual<sup>39,40,41,10,18,37,38</sup>.

Tratamentos prévios com anticorpos para TNF- $\alpha$ , antes dos animais serem submetidos à HP, resultaram em decréscimo da síntese de DNA e redução da atividade da enzima jun quinase e expressão do RNAm do proto-oncogen C-jun. Esses eventos ocorrem na fase inicial do processo regenerativo, indicando um possível papel do TNF- $\alpha$  como agente desencadeante da cascata de reações que envolvem a regeneração hepática induzida por injúria tóxica, química ou cirúrgica<sup>42,10,18,40</sup>.

Provavelmente, uma das funções do TNF- $\alpha$  é regular a secreção do IL-6. A interleucina-6 é secretada pelas células de Kupffer, sendo que essa secreção é estimulada pelo TNF- $\alpha$ , significando o maior sinal condicionante da estimulação inicial da síntese protéica pelos hepatócitos e parte da resposta inflamatória global<sup>43,10,25,26,37,41</sup>.

Verifica-se elevação da concentração plasmática de IL-6 após a HP, mantendo-se elevada por 24 horas. No entanto, não foi evidenciado elevação sérica do TNF- $\alpha$  após a cirurgia em animais de laboratório. Apesar desse achado, existem evidências que essas citocinas tem ação co-mitogênica em cultura primária de hepatócitos e células do ducto biliar<sup>10,18,10</sup>.

A ação do TNF- $\alpha$  após HP parece ser restrita ao

fígado, sendo que a capacidade dessa citocina interagir diretamente com o hepatócito tem sido confirmado pelo efeito co-mitogênico em cultura celular, sugerindo que não só o TNF- $\alpha$ , como a IL-6 e IL-1 podem exercer importante função, interferindo positivamente no processo de regeneração hepática<sup>44,4,10,18,25</sup>.

### Nutrientes

A glutamina, aminoácido condicionalmente essencial, estimula o sistema imunológico a combater agentes invasivos<sup>45-49,35,44</sup>, mantém integridade e funcionalidade da mucosa intestinal<sup>50,51,44</sup>, estimula a síntese e inibe a degradação de proteínas musculares e viscerais, funciona como importante doador de grupamento amino para formação de substâncias protéicas (atuando como principal transportador de nitrogênio dos tecidos periféricos para o fígado)<sup>52-54,35,44,45</sup>, favorece a síntese de glicogênio hepático, purina e pirimidina, constitui fonte energética para a divisão celular de várias células de rápida proliferação (enterócitos, colonócitos, fibroblastos, macrófagos e linfócitos)<sup>55-61,52</sup>.

A introdução de dietas especiais enriquecidas com glutamina e arginina demonstrou benefícios para pacientes cirúrgicos<sup>35,44,45</sup>. Provavelmente esse efeito positivo da suplementação com dipeptídios deve-se ao fato desses aminoácidos participarem dos processos de ureagênese, gliconeogênese e síntese de proteínas<sup>62-64,24,29,35,45</sup>.

Espat *et al.* (1996), sugerem que dietas enriquecidas com arginina e glutamina aumentam a atividade específica do transporte de substâncias através da membrana celular de hepatócitos. A partir de modelo experimental, os autores demonstraram que o fígado responde à dietas enriquecidas com esses aminoácidos pelo aumento da atividade transmembrana, favorecendo as funções do sistema hepático, durante o estado de hipercatabolismo<sup>62</sup>.

O fígado possui capacidade de regular os níveis de glutamina plasmática, por meio de mecanismos metabólicos que permitem a esse órgão captar e formar glutamina, com a participação da glutaminase, de modo a manter a homeostase orgânica<sup>17,35</sup>. Yoshida *et al.* (1994), referem que a glutamina participa como precursor do DNA celular e demonstrou através de trabalho experimental com ratos eutróficos, que a suplementação da Nutrição Parenteral Total (NPT) com glutamina aumentou a taxa de regeneração hepática, por estímulo da síntese de DNA nos hepatócitos após hepatectomia parcial<sup>63,17,35</sup>.

Nessa mesma linha de pesquisa, Yamaguchi *et*



*al.* (1997), demonstraram que NPT suplementada com glutamina e glucagon-insulina, oferecida a ratos submetidos a HP de 70%, promoveu aumento do DNA hepático, indicando estímulo precoce da regeneração hepática. No entanto, o autor ressalta que a glutamina bem como os hormônios isoladamente, possuem efeito menos intenso do que oferecidos associadamente, devido a ação do glucagon em estimular a captação da glutamina pelo fígado<sup>63</sup>.

Após a HP, evidencia-se decréscimo de adenosina trifosfato e elevação dos níveis plasmáticos de xantina e hipoxantina, indicando aumento do catabolismo de purina nucleotídeos durante a regeneração hepática. Existem evidências que infusão pré-cirúrgica de solução composta por nucleotídeo-nucleosídeo em animais de laboratório (ratos e coelhos), submetidos à HP possa estimular o metabolismo da purina e pirimidina, funcionando como ativador da síntese de DNA e RNA, mantendo o metabolismo energético celular<sup>65,5</sup>.

Fisiologicamente, a alanina desempenha papel fundamental no metabolismo protéico, participando como alternativa energética durante os períodos de jejum prolongado, além de transportar nitrogênio muscular para o fígado sem a formação de amônia, através do ciclo alanina-glicose. Esse processo é importante para o organismo, pois favorece a economia de substratos energéticos, fundamental principalmente para pacientes em hipercatabolismo<sup>66,52</sup>.

Durante a fase proliferativa da regeneração hepática, a redução da ureagênese pela alanina favorece o remanescente hepático a produzir aminoácidos não essenciais como o aspartato. Essa alteração metabólica pode estar relacionada com a proliferação do hepatócito<sup>52</sup>. Maezono *et al.* (1996), demonstraram que a alanina pode atuar como protetor hepático, durante falência hepática aguda induzida experimentalmente em ratos, provavelmente aumentando a síntese de ATP durante o processo de regeneração hepática<sup>67</sup>.

Essas evidências são corroboradas pelo experimento desenvolvido por Kita *et al.* (1996), onde demonstrou-se através da determinação dos níveis de RNAm, que a síntese de proteína hepática (FSR) foi significativamente maior em animais realimentados com dietas hiperprotéicas após privação dietética quando comparados com animais não alimentados. O autor sugere que a mudança nas taxas da síntese protéica do fígado *in vivo* tenha sido ocasionado por condições nutricionais adversas prévias<sup>68</sup>.

Ratos desnutridos submetidos a HP, apresen-

tam retardo na regeneração hepática quando comparados com ratos eutróficos, provavelmente devido à privação de substâncias plásticas e energéticas que ocorrem durante a desnutrição. Os valores de ATP, "pool" total de adenosina e glicogênio estavam reduzidos nesses animais, resultando em decréscimo de energia disponível para o processo de regeneração. No entanto, quando esses animais foram submetidos a HP, verificou-se um mecanismo adaptativo, onde o organismo priorizou a regeneração hepática, através da estimulação de sistemas enzimáticos alternativos com o objetivo de produzir novos substratos ricos em energia<sup>16</sup>. Há evidências da presença de um mecanismo de adaptação como inibição da degradação protéica, ou redução da exportação de proteínas hepáticas, aumento da reserva de nitrogênio e redução da concentração plasmática de proteína nesses animais<sup>15</sup>.

Animais desnutridos possuem o remanescente hepático significativamente reduzidos, além do conteúdo de DNA mais baixo e alta taxa de mortalidade, em torno de 15 a 20%, quando comparados a animais de mesma faixa etária e bom estado nutricional<sup>15</sup>.

Goupil *et al.* (1997), demonstraram que ratos induzidos à hipocalcemia e deficiência de vitamina D previamente à HP, teve o processo de regeneração hepática sensivelmente prejudicado. Apesar da presença de HGF no grupo com depleção de cálcio e vitamina D, verificou-se que os níveis séricos desse Fator de Crescimento foram significativamente mais baixos que os do grupo controle, além da ineficiência com que as células entravam na fase G<sub>1</sub> do ciclo celular<sup>31</sup>.

Em hepatopatas crônicos, as alterações metabólicas e nutricionais estão relacionadas diretamente com o grau de comprometimento hepatocelular. Em situações onde se verifica intensa disfunção hepática, alterações como anorexia, má-digestão, má-absorção intestinal e hipercatabolismo podem interferir negativamente sobre o equilíbrio entre processos anabólicos e catabólicos, condicionando geralmente o indivíduo à severa desnutrição protéico-calórica. Portanto, a adequada intervenção nutricional desses pacientes, se constitui em medida fundamental para reduzir os riscos de mortalidade aguda<sup>69,70,10,29,56</sup>.

### Agentes inibidores do crescimento

• *Fator Transformador do Crescimento-β / βTGF-“Transforming Growth Factor-β”*

Apesar desse Fator de Crescimento induzir proliferação de células mesenquimais e de participar do processo de cicatrização de feridas em

determinados tipos de células, o  $\beta$ -TGF age como um potente inibidor de crescimento de células epiteliais, inclusive hepatócitos, após a HP. Em cultura de células hepáticas, inibe a mitogênese induzida pelo EGF,  $\alpha$ -TGF e HGF e a administração de  $\beta$ -TGF antes da HP inibe o pico da síntese de DNA que normalmente ocorre 24 horas após a cirurgia<sup>4,7,9,10,18,26</sup>.

A super família  $\beta$ -TGF inclui quatro membros,  $\beta$ -TGF 1, 2, 3 e 5, sendo que o fígado contém dez vezes mais  $\beta$ -TGF 1 do que  $\beta$ -TGF 2 e 3, todos com atividade inibitória da síntese de DNA induzida por Fatores de Crescimento. Além disso, o  $\beta$ -TGF estimula a fibrogênese hepática, modulada pela resposta regenerativa do hepatócito que interage com a matriz extracelular<sup>18,28</sup>.

Embora a proteína principal possa ser formada por células parenquimatosas, o  $\beta$ -TGF é sintetizado apenas nas células endoteliais e de Ito, mas não em hepatócitos, tanto de fígado normal como em processo de regeneração, sugerindo que esse Fator de Crescimento funcione através de circuito inibitório parácrino. É composto por duas cadeias polipeptídicas idênticas, contendo 112 aminoácidos em cada uma delas<sup>7,10,18,28</sup>.

No fígado, o RNAm para o  $\beta$ -TGF 1 aumenta dentro de 3 a 4 horas após a HP, atingindo pico máximo entre 48, 72 a 96 horas, enquanto que o RNAm para o  $\beta$ -TGF 2 e 3 eleva-se até 2 horas após a cirurgia, mas decresce depois do início da síntese de DNA. Ainda não está claro por quê os Fatores de Crescimento negativos, apesar de serem produzidos precocemente, não reduzem a velocidade de ação dos Fatores de Crescimento positivos, impedindo que os hepatócitos cheguem até a fase de replicação celular. Portanto, Fausto *et al.* (1995) sugerem a possibilidade da síntese do  $\beta$ -TGF inativo durante as primeiras 24 a 36 horas após a hepatectomia e ativação do complexo latente 1 a 2 dias mais tarde, promovendo a inibição do peptídeo apenas quando o hepatócito já tenha passado por uma ou mais rodadas do ciclo celular<sup>7,10,18,28</sup>.

A imunoreação do  $\beta$ -TGF ocorre em onda da região periportal para a região pericentral do lóbulo hepático, induzindo a apoptose celular na fase tardia ou transição  $G_1/S$  do ciclo celular, antes que a célula complete a síntese de DNA<sup>10,28</sup>. A gradual perda do  $\beta$ -TGF é imediatamente seguido por uma onda de mitose no hepatócito, sugerindo que a remoção do  $\beta$ -TGF do meio ambiente dos hepatócitos é necessário para permitir o normal ciclo celular<sup>7</sup>.

Os dois fatores fundamentais da regeneração hepática são  $\alpha$ -TGF, que induz o precoce aumento

da síntese de DNA, e o  $\beta$ -TGF, que modula a resposta tardia e previne a proliferação incontrollada dos hepatócitos<sup>18,28</sup>.

Em síntese, o  $\beta$ -TGF atua como um efetivo inibidor da síntese de DNA após a HP, culminando com a interrupção da proliferação de hepatócitos que ocorre entre 48 a 72 horas, tempo no qual eles estão menos resistentes ao Fator de Crescimento negativo. Porém, o  $\beta$ -TGF não atua de forma isolada, contando provavelmente com a participação de metabólitos chaves, outros Fatores de Crescimento ainda não caracterizados, citocinas, ou restauração da biomatriz extracelular, os quais conduzem a agregação de eventos ou sinais que levam à interrupção da regeneração hepática<sup>7,10,18</sup>.

### Acivicina

Proteína membro da super família  $\beta$ -TGF, inibe marcadamente a síntese de DNA induzida pelo EGF e HGF tanto em cultura de hepatócitos primários como *in vivo*, além de induzir a morte de células hepáticas *in vitro* e *in vivo*. O grau de inibição é compatível com o  $\beta$ -TGF, mas ambos, acivicina e  $\beta$ -TGF possuem diferentes receptores<sup>18,28</sup>.

A acivicina causou efeito efetivo, provocando a morte celular em doses aproximadamente 10 vezes mais baixo que o  $\beta$ -TGF, embora o efeito efetivo dos dois polipeptídeos tenham sido similares na magnitude. Vale a pena ressaltar que o acivicina foi liberado de cultura primária de hepatócitos, mas não de células hepáticas não parenquimatosas, sugerindo que essa substância possa atuar através de mecanismo inibitório autócrino da síntese de DNA durante a regeneração hepática. Após administração de acivicina em ratos durante 1 a 3 dias, o peso hepático decresceu 30 e 55 % respectivamente, sendo que o peso hepático foi restaurado após o término da infusão. O fígado tratado com acivicina, mostrou extensiva perda celular consistente, com apoptose, sem alterações inflamatórias ou necróticas graves<sup>18,28</sup>.

A expressão de acivicina demonstra que esse polipeptídeo inibitório é a segunda substância estimulada após a HP, sugerindo que ambos, fatores positivos e negativos, precisam ser produzidos e ativados, de modo a regular e controlar a resposta replicativa, durante o processo de regeneração hepática<sup>28</sup>.

Tanto o  $\beta$ -TGF como acivicina possuem uma variedade de funções e efeitos biológicos, incluindo promoção da secreção do hormônio foliculo estimulante em cultura de células pituitárias, desenvolvimento folicular, proliferação de espermatogonial, diferenciação de eritrócitos, embriogênese do sistema nervoso central, regu-

lação do balanço hídrico e regulação do crescimento da massa hepática *in vivo*<sup>18</sup>.

### Interleucina-2 → IL-2

Wadamori *et al* (1996) demonstraram, através de modelo experimental, que a administração contínua intra-portal de IL-2, suprime a regeneração hepática após HP em ratos. O provável mecanismo de ação envolve redução do intervalo de junção dos hepatócitos, dificultando trocas de substâncias hepatotróficas entre as células e redução do índice mitótico. No entanto, os autores reportam que o tratamento com IL-2 não é suficiente para provocar sérias complicações após a HP, ou até mesmo interromper totalmente o processo de regeneração hepática<sup>27</sup>.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados apresentados nesta revisão mostram que a regeneração hepática consiste de um mecanismo extremamente complexo e ordenado de defesa dos hepatócitos frente a uma agressão química, viral ou à remoção cirúrgica de parte do parênquima hepático.

O conhecimento da ação de todos os agentes envolvidos nas etapas de regeneração, seja estimulando-a ou inibindo-a, representa o meio pelo qual poderemos interferir neste evento para trazer benefícios aos pacientes em situações específicas. Entretanto, como se pode verificar, ainda há muito por se descobrir e por se provar neste campo, abrindo a perspectiva de implantação de numerosos ensaios clínicos e experimentais que estudem a regeneração hepática.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Assy N, Minuk GY. Liver Regeneration : Methods for Monitoring and their Applications. *J Hepatol* 1997; 26 (4) : 945-52.
2. Chanda S, Mehendale H.M. Nutritional Modulation of the Final Outcome of Hepatotoxic Injury by energy Substrates : An Hypothesis for the Mechanism. *Med. Hypotheses* 1996; 46 (3) : 261-8.
3. Chanda S, Mehendale HM. Role of Nutrition in the Survival after Hepatotoxic injury. *Toxicology* 1996; 111 (1-3) : 163-78.
4. Fausto N, Laird A.D, Webber EM. Liver Regeneration 2: Role of Growth Factors and Cytokines *in* Hepatic Regeneration. *FASEB J* 1995; 9 (15) : 1527-36.
5. Jin MB, Yamaguchi T, Shimahara Y *et al*. Significance of Nucleosides and Nucleotide Mixture Infusion on Hepatic Energy Metabolism of 70 % Hepatectomized Rabbits in Postoperative Phase. *JPEN* 1996; 20 (3) : 211-14.
6. Parra OM, Silva RAPS, Silva JRM. Enhancement of Liver Size by Stimulation of intact Rat Liver with Exogenous Hepatotrophic Factors. *Rev Paul Med* 1995; 113(4) : 941-47.
7. Ramalho FS, Ramalho LNZ, Zucoloto S, Silva Jr OC. Regeneração Hepática - Algumas Definições num Universo de Incertezas. *Acta Cir Brasil* 1993; 8 (4) : 177-189.
8. Zakko WF, Green RM, Gollan JL, Berg CL. Hepatic Regeneration is Associated With Preservation of Microsomal Glucuronidation. *Hepatology* 1996; 24 (5) : 1250-55 .
9. Francavilla A, Hagiya M, Porter KA, Polimeno L, Ihara I, Starzl TE. Augmenter of Liver Regeneration : Its Place in the Universe of Hepatic Growth Factors. *Hepatology* 1994; 20(3) : 747-57.
10. MiChalopoulos GK, DeFrances MC. Liver Regeneration. *Science* 1997; 276 : 60-6.
11. Pistoi S, Morello D. Liver Regeneration. Prometheus' Myth Revisited : Transgenic mice as a Powerful Tool to Study Liver Regeneration. *FASEB-J* 1996; 10 (8) : 819-28.
12. Baratta B, Rizzoli R, Galliani I, Vitale M. Early Events of Liver Regeneration in Rats : a Multiparametric Analysis. *Histochem Cell Biol* 1996; 105 (1) : 61-9.
13. Beyer HS, Sherman R, Zieve L. Aging is Associated With Reduced Liver Regeneration and Diminished Thymidine Kinase mRNA Content and Enzyme Activity in the Rat. *J Lab Clin Med* 1991; 117 (2): 102-8.
14. Okano K, Tsubouchi T, Yamashita Y *et al*. Hepatic Protein Synthesis in the Regenerating Rat Liver After Hepatopancreatectomy. *Surg Today* 1997; 27 : 511-17.
15. Skullman S, Wirén M, Garlick PJ, McNurlan A, Larsson J. Protein Synthesis in regenerating rat liver during Malnutrition. *J Hepatology* 1994; 21 : 174-181.
16. Skullman S, Ihse I, Larsson J. Availability of Energy Substrates during Liver Regeneration in Malnourished Rats. *Scand J Gastroenterol* 1991; 26:1152-1156.
17. Yoshida S, Yunoki T, Aoyagi K, Ohta J, Ishibash N. Effect of Glutamine Supplement and Hepatectomy on DNA and Protein Synthesis in the Remnant Liver. *J Surg Res* 1995; 59:475-481.
18. LaBrecque D. Liver Regeneration : A Picture Emerges from the Puzzle. *J Gastroenterol* 1994; 89 (8) : 586-96.
19. Preedy VR., Paska L, Sugden PH. Protein Synthesis in Liver and Extra-hepatic Tissues after Partial Hepatectomy. *Biochem J* 1990; 267 : 325-330.
20. Diehl AM, Rai R. Review: Regulation of Liver Regeneration by Pro-inflammatory Cytokines. *J Gastroenterol Hepatol* 1996; 11(5) : 466-70.
21. Fladmark KE, Gjertsen BT, Molven A, Mellgren G, Vintermyr OK, Doskeland SO. Gap Junctions and Growth Control in Liver Regeneration and in Isolated Rat Hepatocytes. *Hepatology* 1997; 25 (4):847-855.
22. Mullhaupt B, Feren A, Fodore, Jones A. Liver Expression of Epidermal Growth Factor RNA. Rapid Increases in Immediate-early Phase of Liver Regeneration. *J Biol Chem* 1994; 269 (31) : 19667-19670.
23. Tang TX, Hashimoto T, Chao LY, Itoh K, Manabe T. Effects of Partial Pancreatectomy on Liver Regeneration in Rats. *J Surg Res* 1997; 72 (1):8-14.
24. Roberts PR, Black KW, Santamauro JT, Zaloga GP. Dietary Peptides Improve Wound Healing Following Surgery. *Nutrition* 1998; 14 (3) :266-69.
25. Scotté M, Masson S, Hiron M, Ténrière P, Lebreton JP, Daveau M. Cytokine Gene Expression in Liver Following Minor or Major Hepatectomy in Rat. *Cytokines* 1997; 9 (11):859-67.
26. Andus T, Bauer J, Gerok W. Effects of Cytokines on the Liver. *Hepatology* 1991; 13(2), 364-75.
27. Wadamori K, Oka M, Tokuda N, Fujikura Y, Hazama TF, Suzuki T. Influence of Continuous Interleukin-2 Administration via the Portal Vein on Liver Regeneration Following Partial Hepatectomy in Rats. *Hepatology* 1996; 23 (6) : 1578-83.
28. Fausto N, Webber EM. Hepatic Regeneration. Anatomy, Physiology, and Biochemistry of Liver Function. *In* ARIAS,

- IM, BOYER JL, FAUSTO N eds. *The Liver: Biology and Pathobiology*. 3rd ed. New York, Raven Press, 1994; 1959-68.
29. Faintuch J, Jampietro SM, Pinotti HW. Nutrição e Fármaco-Nutrição nas Hepatopatias Graves. *Rev Hosp Clin Fac de Med São Paulo* 1994; 49 (4) : 145-47.
  30. Lambotte L, Saliez A, Triest S. Effect of Sialoadenectomy and Epidermal Growth Factor Administration on Liver in Rats. *Hepatology* 1997; 25 (3) : 607-12.
  31. Goupil D, Éthier C, Zarnegar, Gascon-Barré. Hepatic Expression of Regeneration Marker Genes Following partial Hepatectomy in the Rat. *J Hepatol* 1997; 26: 659-668.
  32. Liu M, Mars WM, Zarnegar R, Michalopoulos GK. Uptake and Distribution of Hepatocyte Growth Factor in Normal and regenerating Adult Rat Liver. *Am J Pathol* 1994; 144 (1) : 129-140.
  33. Boros P, Miller CM. Hepatocyte Growth Factor : A Multifunctional Cytokine. *Lancet* 1995; 345 (8945) : 293-5.
  34. Eguchi S, Kamlot A, Ljubimova J, Hewitt WR, Lebow LT, Demetriou AA, Rozga J. Fulminant Hepatic Failure in Rats : Survival and Effect on Blood Chemistry and Liver Regeneration. *Hepatology* 1996; 24 (6) : 1452-59.
  35. Ardawi MSM. Hepatic glutamine Metabolism in the Septic Rat. *Clinical Science*, 1992; 82 : 709-16.
  36. Morita Y, Hayashi Y, Wang Y. Expression of Urokinase-Type Plasminogen Activador Receptor in Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology* 1997; 25 (4) : 856-66.
  37. Simpson KJ, Lukacs NW, Colletti L, Strieter RM, Kunkel SL. Cytokines and the Liver. *J Hepatol* 1997; 27 (6) : 1120-32.
  38. Clavien PA. IL-6, a Key Cytokine in Liver Regeneration. *Hepatology* 1996; 25 (5) : 1294-6.
  39. Enayati P, Brennan MF, Fong Y. Systemic and Liver Cytokine Activation. Implications for Liver Regeneration and Posthepatectomy Endotoxemia and Sepsis. *Arch Surg* 1994; 129 (11) : 1159-64.
  40. Moshage H. Cytokines and the Hepatic Acute Phase Response. *J Patol* 1997; 181 (3), 257-66.
  41. Zeldin G, Yang SQ, Yin M, Lin HZ, Rai R, Diehl AM. Alcohol and Cytokine-inducible transcription Factors. *Alcohol Clin Exp Res* 1996; 20 (9) : 1639-45.
  42. Kimura T, Sakaiada I, Terai S, Matsumura Y, Uchida K, Okita K. Inhibition of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Production Retards Liver Regeneration after Partial Hepatectomy in Rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 231 (3) : 557-60.
  43. Rehmann B, Trautwein C, Böker KHW, Manns MP. Interleukin-6 in Liver Diseases. *J Hepatol* 1992; 15 : 277-80.
  44. Morlion BJ, Stehle P, Wwachtler P *et al*. Total Parenteral Nutrition with Glutamine Dipeptide after Major Abdominal Surgery: a Randomized, Double-blind, Controlled Study. *Ann Surg* 1998; 227 (2) : 302-8.
  45. Naka S, Saito H, Hashiguchi Y *et al*. Alanyl-Glutamine-Supplemented Total Parenteral Nutrition Improves Survival and Protein Metabolism in Rat Protracted Bacterial Peritonitis Model. *JPEN* 1996; 20 (6). 417-423.
  46. Scheltinga MD, Young LS, Benfell K *et al*. Glutamine-enriched Intravenous Feedings Attenuate Extracellular Fluid Expansion After a Standard Stress. *Ann Surg* 1991; 214 (4) : 385-395.
  47. Ziegler TR, Gatzen C, Wilmore DW. Strategies for Attenuating Protein-Catabolic Responses in the Critically Ill. *Annu Rev Med* 1994; 45 : 459-480.
  48. Ziegler TR. Glutamine Supplementation in Catabolic Illness. *Am J Clin Nutr* 1996; 64 : 645-647.
  49. Ziegler TR, Bye RL, Persinger RL, Young LS, Antin JH, Wilmore DW. Effects of Glutamine Supplementation on Circulating Lymphocytes After Bone Marrow Transplantation: A Pilot Study. *Am J Med Sci* 1998; 315 (1) : 4-10.
  50. Denno R, Rounds JD, Faris R, Holejko LB, Wilmore DW. The Enhanced Effect of Parenteral Nutrition on Hepatotoxicity. *Nutrition* 1996; 12 (1) : 30-54.
  51. Haque SM, Chen K, Usui N *et al*. Alanyl-glutamine Dipeptide-supplemented Parenteral Nutrition Improves Intestinal Metabolism and Prevents Increased Permeability in Rats. *Ann Surg* 1996; 223 (3) : 334-41.
  52. Moriyama M, Makiyama I, Shiota M *et al*. Decreased Urea-genesis from Alanine, but not from Ammonia and Glutamine, in the Perfused Rat Liver after Partial Hepatectomy. *Hepatology* 1996; 23 (6): 1584 - 90.
  53. Hickson RC, Wegrzyn LE, Osborne DF, Karl IE. Alanyl-glutamine Prevents Muscle Atrophy and Glutamine Synthetase Induction by Glucocorticoids. *Am J Physiol* 1996; 271 (5) : 1165-1172.
  54. Beaux AC, O'Riordain MR, Ross JA, Jodozi L, Carter DC, Fearon KCH. Glutamine-Supplemented Total Parenteral Nutrition Reduces Blood Mononuclear Cell Interleukin-8 Release in Severe Acute pancreatitis. *Nutrition* 1998; 4 (3) : 261-265.
  55. Fraga FMD, Velasco JP, Recuenco R. Metabolic Role of Glutamin and its Importance in Nutritional Therapy. *Nutr Hosp* 1996; 11 (4) : 215 - 25.
  56. Borges VC, Waitzberg DL, Silva AO, D'Albuquerque LAC. Insuficiência Hepática Aguda e Crônica. In WAITZBERG DL ed. *Nutrição Enteral e Parenteral na Prática Clínica*, 2 nd. Rio de Janeiro, Atheneu, 1995; 323-334.
  57. Kuhn SS, Stehle P, Fürst P. Glutamine Content of Protein and Peptide-Based Enteral Products. *JPEN* 1996; 20 (4) : 292-295.
  58. Tremel H, Kienle B, Weilemann LS, Stehle P, Fürst P. Glutamine Dipeptide-Supplemented Parenteral Nutrition Maintains Intestinal Function in the Critically Ill. *Gastroenterology* 1995; 107 (6) : 1595-1601.
  59. Campos FG, Waitzberg DL, Mucerino DR, Gonçalves EL, Logulo AF, Habr-Gama A, Rombeau JL. Protective Effects Of Glutamine Enriched Diets on Acute Actnic Enteritis. *Nutr Hosp* 1996; XI (3) : 11167-177.
  60. Campos FG. Efeitos da Glutamina e Dieta Elementar na Enterite Actínica Aguda - *Estudo Experimental*. Dissertação de mestrado da Faculdade de Medicina da USP, 1992.
  61. Campos FG, Waitzberg DL, Logulo AF, Mucerino DR, Habr-Gama A. Importância da Glutamina em Nutrição na Prática Clínica. *Arq Gastroenterol* 1996; 33 : 86-92.
  62. Espat NJ, Watkins KT, Lind DS *et al*. Dietary Modulation of Amino Acid Transport in Rat and Human Liver. *J Surg Res* 1996; 63 (1) : 263 - 8.
  63. Yamaguchi T, Minor T, Isselhard W *et al*. Effect of Glutamine or Glucagon-Insulin Enriched Total Parenteral Nutrition on Liver and gut in 70 % Hepatectomized Rats. *J Am Coll Surg* 1997; 185:156-162.
  64. Jensen GL, Miller RH, Talabiska DG, Fish J, Gianferante L. A Double-blind, Prospective, Randomized Study of Glutamine-enriched Compared with Standard Peptide-based Feeding in Critically ill Patients. *Am J Clin Nutr* 1996; 64 : 615-621.
  65. Usami M, Furuchi K, Ogino M, Kasahara H, Kanama T, Saitoh Y, Yokoyama H, Kano S. The Effect Of A Nucleotide-Nucleoside Solution On Hepatic Regeneration after Partial Hepatectomy. *Nutrition* 1996; 12 : (11-12), 797-803.
  66. Gecelter GR, Comer GM. Apoio Nutricional Durante a Insuficiência Hepática. In Lang CH, Abumrad NN eds. *Nutrição no Paciente Criticamente Enfermo*. 1 st ed. Rio de Janeiro, Interlivros Edições Ltdª, 1995; 673-680.
  67. Maezono K, Mawatari K, Kajiwarra K, Shinkai A, Maiki T. Effect of Alanine on D-galactosamine-induced acute Liver Failure in Rats. *Hepatology* 1996 24 (5) : 1211-6.
  68. Kita K, Matsunami S, Okamura J. Relationship of Protein

JESUS, RP et al.

Synthesis to mRNA Levels in the Liver of Chicks Under Various Nutritional Conditions. *J Nutr* 1996; 126 (6) : 1610 - 7.  
69. Mc Cullough AJ, Mullen KD, Smanik EJ *et al.* Nutritional

Therapy in Liver Disease. *Gastro Clin N Amer* 1989; 18: 619 - 643.  
70. Moreno FS, Vannucchi H. Dietoterapia em Enfermidades Hepáticas. *Folha Médica* (BR) 1983; 91(3) : 211-21.