

REGENERAÇÃO DO FÍGADO APÓS HEPATECTOMIA PARCIAL EM RATOS SUBMETIDOS À HIPERTENSÃO PORTAL PÓS-HEPÁTICA

Liver regeneration after partial hepatectomy in rats submitted to post-hepatic portal hypertension

Luiz Roberto Farion de **AGUIAR**, Paulo Afonso Nunes **NASSIF**,
Carmen Australia Paredes Marcondes **RIBAS**, Nicolau Gregori **CZECZKO**,
Mauricio Marcondes **RIBAS**, Carlos Hespanha **MARINHO JÚNIOR**, Eduardo **WENDLER**

Trabalho realizado no Programa de Pós-Graduação em Princípios da Cirurgia do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba/Faculdade Evangélica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

RESUMO – Racional - O fígado adulto normal é quiescente e apenas uma pequena porcentagem das suas células é submetida à divisão celular em qualquer tempo, mas pode rapidamente iniciar a proliferação celular em resposta a um estímulo. Este processo pode ser desencadeado através da hepatectomia parcial. **Objetivos** - Avaliar o efeito da hipertensão portal provocada pela oclusão parcial da drenagem venosa hepática sobre a regeneração do fígado remanescente de ratos submetidos à hepatectomia parcial. **Métodos** - Foram realizadas hepatectomias a dois terços em 50 ratos Wistar machos adultos. Os animais foram divididos em cinco grupos: um grupo controle e quatro grupos de estudo que foram submetidos a diferentes graus de plicatura da veia cava inferior supra-hepática. Após 240 horas do estímulo para regeneração realizou-se nova laparotomia com aferição das pressões portal e de veia cava inferior, além de biópsia hepática. Analisaram-se os fragmentos por imunistoquímica para os marcadores Ki-67 e fator de von Willebrand. A deposição de colágeno foi avaliada pela coloração tricrômico de Masson e a função hepática através de marcadores sorológicos. **Resultados** - A proliferação celular nos animais submetidos à hepatectomia parcial e hipertensão portal de diversos graus persistiu mais elevada quando comparada ao grupo controle. O índice de proliferação para Ki-67 estava mais elevado nos grupos submetidos à elevação da pressão portal. A expressão do fator de von Willebrand estava acentuadamente elevada após a hepatectomia parcial nos grupos com maior grau de hipertensão portal. Houve pouco depósito de colágeno no tecido hepático nos animais dos quatro grupos com plicatura parcial da veia cava inferior supra-hepática, porém a deposição foi mais intensa nos grupos com níveis de pressão portal menores. **Conclusões** - Ratos submetidos à hepatectomia parcial a 70% e hipertensão portal, após 240 horas, apresentam: 1. atraso no processo regenerativo diretamente proporcional aos níveis pressóricos no sistema porta; 2. após dez dias, persiste a proliferação de hepatócitos proporcionalmente mais intensa quanto maior a elevação da pressão no sistema porta, porém níveis extremos de pressão portal inibem a proliferação, e, no estímulo para regeneração do fígado, demonstrou-se atraso da angiogênese influenciado pelos valores de pressão portal; 3. hipertensão portal extrema promove elevação da expressão de fator VIII, o que sugere capilarização dos sinusóides; 4. quanto mais elevados os níveis de pressão portal, menor será a quantidade de colágeno depositada, podendo-se inferir que o aumento da pressão portal ocasiona atraso na restauração da matriz extracelular; 5. a análise da função hepática evidenciou que a hepatectomia parcial a 70%, após dez dias, não interferiu com a fisiologia hepática, a qual permaneceu dentro dos limites da normalidade, mas com a hipertensão portal pode haver comprometimento funcional do fígado remanescente durante o processo regenerativo.

DESCRITORES - Regeneração hepática. Hipertensão porta. Imunistoquímica. Ratos.

Correspondência:

Luiz Roberto Farion de Aguiar,
e-mail: ipem@evangelico.org.br

Fonte de financiamento: não há
Conflito de interesses: não há

Recebido para publicação: 31/01/2011
Aceito para publicação: 08/03/2011

ABSTRACT - Background - The normal adult liver is quiescent and only a small percentage of its cells is subjected to cell division at any time, but can quickly initiate cell proliferation in response to a stimulus. This process can be triggered by partial hepatectomy. **Aim** - To evaluate the effect of portal hypertension caused by partial occlusion of hepatic venous drainage on regeneration of remnant liver of rats after partial hepatectomy. **Methods** - It was performed two-thirds hepatectomy in 50 adult male Wistar rats. The animals were divided into five groups: a control group and four study groups were subjected to different degrees of plication of inferior vena cava-

hepatic above. After 240 hours of the stimulus for regeneration took place relaparotomy with measurement of portal pressure and inferior vena cava, and liver biopsy. Fragments were analyzed by immunohistochemistry for the markers Ki-67 and von Willebrand factor. The collagen deposition was evaluated by Masson's trichrome staining and liver function using serological markers. **Results** - Cell proliferation in animals subjected to partial hepatectomy and portal hypertension persisted in varying degrees higher when compared to the control group. The proliferation index for Ki-67 was higher in the groups submitted to the elevation of portal pressure. The expression of von Willebrand factor was markedly elevated after partial hepatectomy in groups with higher degree of portal hypertension. There was little collagen deposition in liver tissue in animals of the four groups with partial plication of the inferior vena cava above-liver, but the deposition was more intense in the group with lower portal pressure. **Conclusions** - Rats underwent 70% partial hepatectomy and portal hypertension, after 240 hours, presented: 1. delay in the regenerative process directly proportional to pressure levels in the portal system; 2. after ten days, there was the proliferation of hepatocytes proportionally more intense the higher the elevation of pressure in the porta, but extreme levels of portal pressure inhibit proliferation and liver regeneration; it has also been shown delayed angiogenesis influenced by the values portal pressure; 3. extreme portal hypertension produces an elevation of expression of factor VIII, suggesting sinusoid capillarization; 4. the higher levels of portal pressure, the lower the amount of collagen deposited, it can be inferred that the increased portal pressure leads to delay in restoration of the extracellular matrix; 5. analysis of liver function showed that 70% partial hepatectomy after ten days, did not interfere with the physiology of the liver, which remained within normal limits; but, with portal hypertension, can happens functional impairment of the remnant liver during the regenerative process.

HEADINGS – Hepatic regeneration. Portal hypertension. Immunohistochemistry. Rats.

INTRODUÇÃO

A regeneração do fígado é processo que envolve hiperplasia (aumento do número de células) e hipertrofia (aumento do volume celular ou do conteúdo proteico na fase pré-replicação). O conceito de regeneração é largamente usado na literatura, mas regeneração hepática é primariamente um processo de hiperplasia compensatória, a qual é dirigida mais por necessidades funcionais do que anatômicas. A maior parte do conhecimento atual sobre regeneração hepática é proveniente de estudos realizados em ratos submetidos à hepatectomia a 70%. A hepatectomia parcial é seguida por aumento de volume dos segmentos hepáticos remanescentes, porém não pela restituição da anatomia original. O processo de regeneração é dividido em três fases. Compreende-se como estágio inicial quando os hepatócitos adquirem a capacidade de replicação. Segue-se a fase de proliferação, período no qual o número de células hepáticas aumenta buscando uma quantidade adequada para a restituição da função. Finalmente ocorre o estágio de terminação, período em que a divisão celular é encerrada, após atingir o volume de células necessárias para restituição da função. A proliferação dos hepatócitos inicia-se na região periportal (zona 1) depois de um intervalo de 24 horas e continua na região pericentral (zona 3) durante 36 a 48 horas. Após três dias, a histologia do fígado é caracterizada por grupos de hepatócitos com vascularização rudimentar. A invasão destes aglomerados por vasos sanguíneos similares a sinusóides ocorre no segundo dia a partir do estímulo

regenerativo. Em sete dias uma estrutura lobular típica do fígado esta restaurada, mas com lóbulos aumentados de volume, os quais serão remodelados para o tamanho normal¹².

A origem das células que repõem os hepatócitos suprimidos com a hepatectomia parcial é a própria massa de hepatócitos remanescentes que replicam, sem participação de células tronco.

O fígado adulto normal é quiescente e apenas uma pequena porcentagem das suas células é submetida à divisão celular em qualquer tempo, mas pode rapidamente iniciar a proliferação celular em resposta a um estímulo. Este processo pode ser desencadeado através da hepatectomia parcial¹³.

A regeneração hepática após hepatectomia parcial a 70% é um dos modelos de regeneração de células, órgãos e tecidos mais estudados. A complexidade das reações que sinalizam o início e o término deste processo tem fornecido paradigmas para a medicina regenerativa. Muitos aspectos dos mecanismos de sinalização envolvidos na regeneração hepática estão sob estudo¹⁰.

Com a finalidade de documentar de forma concisa a presença e extensão da atividade regenerativa hepática, modelos experimentais foram criados. Atualmente, o que melhor desencadeia estímulo para a regeneração do fígado é a hepatectomia parcial, que implica na ressecção cirúrgica dos lobos lateral esquerdo e mediano do fígado de ratos, assim preservando cerca de 30% do órgão. Neste modelo, o início do processo de reconstituição do fígado ocorre após 12 a 16 horas, atingindo o primeiro pico de síntese de ácido desoxirribonucléico (ADN) após 24 horas do estímulo regenerativo, seguido de outro menos intenso até 36

a 48 horas. A recuperação da massa hepática removida acontece no período de duas a três semanas⁷.

Além da capacidade proliferativa do hepatócito, as funções fundamentais para manutenção da homeostase são preservadas, como a regulação do nível glicêmico, síntese de proteínas plasmáticas e fatores de coagulação, secreção de bile, ciclo da uréia e degradação de toxinas⁴.

O processo de regeneração hepática, depois de desencadeado, pode ser avaliado por diversos métodos, tais como o peso do fígado, o número de mitoses, os componentes do ADN, o índice de síntese de antígenos nucleares avaliados por imunistoquímica, a expressão de genes, as variações dos níveis de proteínas séricas, testes sorológicos, determinações enzimáticas de marcadores de proliferação e citometria de fluxo².

Doenças venoclusivas, dentre outras situações, podem alterar a drenagem venosa hepática, provocando quadro de hipertensão portal. Baixo débito hepático provoca dilatação e congestão na microcirculação, alterando o aporte de nutrientes e fatores hepatotróficos. O efeito é mais intenso na zona 3, frequentemente acompanhado de atrofia dos hepatócitos. Lesões nos sinusóides podem evoluir para fibrose e insuficiência hepática, tendo como consequência a perda do órgão ou enxerto implantado⁹.

Os objetivos desta pesquisa foram estudar o(a):
1. efeito da hipertensão portal sobre a regeneração do fígado; 2. regeneração hepática; 3. angiogênese hepática; 4. presença de fibras colágenas no tecido hepático; 5. função hepática

MÉTODOS

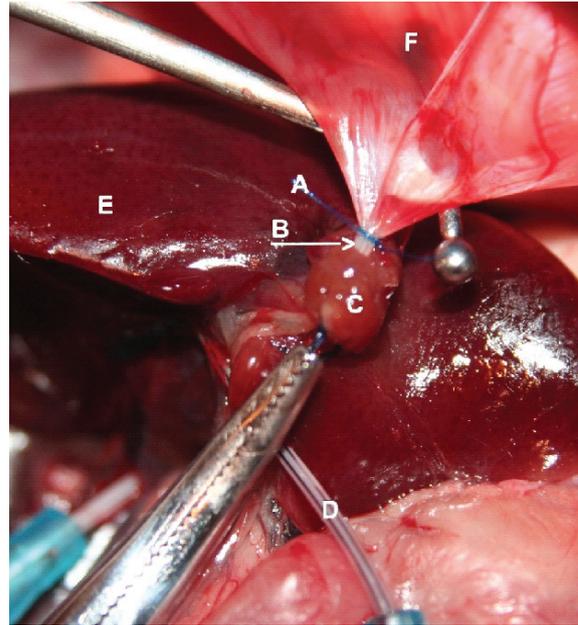
O experimento foi realizado no Instituto de Pesquisas Médicas (IPEM) do Programa de Pós-Graduação em Princípios da Cirurgia do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba/Faculdade Evangélica do Paraná, no período entre janeiro de 2007 a dezembro de 2010. O estudo histológico foi feito no Citolab – Laboratório de Citologia Clínica e Histopatologia S/S Ltda. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Sociedade Evangélica de Curitiba.

Foram utilizados 50 ratos da linhagem Wistar *Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia* adultos jovens, machos, com peso variando entre 242 e 348 g. Os ratos foram divididos em cinco grupos de dez animais, de forma aleatória.

Todos foram submetidos à laparotomia e hepatectomia em 70% - lobos mediano e lateral esquerdo⁷. Também tiveram a veia porta direita e a veia cava inferior acima das veias renais puncionadas e aferidas as pressões portal e da veia cava inferior, mantendo-se as punções venosas até o término do experimento cirúrgico. Após a retirada das punções, efetuou-se revisão da cavidade peritoneal e fechamento

da parede abdominal.

Os animais do grupo controle (CTL) somente submeteram-se ao procedimento cirúrgico. Os do grupo I, além dele, tiveram plicatura da veia cava inferior supra-hepática e veia hepática direita até a elevação em 25% da pressão portal e pressão de veia cava inferior; os do grupo II, mesmo procedimento com elevação até 50%; os do grupo III, até 75% e os do grupo IV, até 100% (Figura 1).



NOTA: (A) plicatura da veia cava inferior supra-hepática; (B) veia cava inferior supra-hepática e veia hepática direita; (C) ligadura dos lobos ressecados; (D) cateter na veia porta; (E) lobo direito do fígado; (F) diafragma

FIGURA 1 - Plicatura da veia cava inferior supra-hepática

Após 240 horas da intervenção cirúrgica realizou-se outra laparotomia, repetindo-se a punção da veia porta direita e da veia cava inferior acima das veias renais e aferição das pressões portal e da veia cava inferior, obtendo-se biópsias dos fígados remanescentes e coleta de 4 ml de sangue. Em seguida, todos os animais foram mortos com dose letal inalatória de éter e imediatamente submetidos à hepatectomia total do fígado restante.

Os fígados obtidos dos ratos do grupo CTL foram pesados, e o calibre de suas veias cava inferiores supra-hepáticas medido. Os ressecados dos animais dos grupos I, II, III, IV foram pesados, o calibre de suas veias cava inferiores supra-hepáticas medido. A seguir, a plicatura foi desfeita e tiveram o diâmetro das veias cava inferiores supra-hepáticas medido novamente (Figura 2).

As biópsias hepáticas coletadas na segunda operação forneceram fragmentos de aproximadamente 1 cm³, os quais foram mergulhados em formol tamponado. A seguir, esse material foi encaminhado ao laboratório para processamento, inclusão, corte



FIGURA 2 - Medida do diâmetro da veia cava supra-hepática com plicatura

dos blocos histológicos para imunoistoquímica com marcadores Ki-67 e fator VIII, e tricrômico de Masson. As amostras do sangue coletado foram enviadas em frascos específicos ao laboratório para a realização das análises bioquímicas e hematológicas.

Os resultados obtidos foram avaliados utilizando-se o software SPSS17 for Windows e, para comparações, os testes ANOVA, Kruskal-Wallis e tabela de contingência com Qui-quadrado.

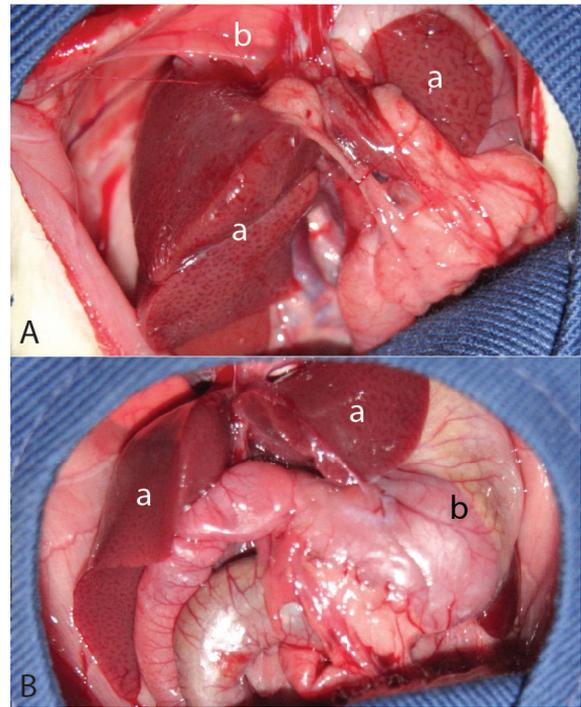
RESULTADOS

No grupo CTL todos os animais sobreviveram; morreram dois animais do grupo I entre 96 e 144 horas; três do grupo II, entre 96 e 168 horas; dois do grupo III entre 96 e 120 horas; oito do grupo IV nas primeiras 48 horas. Todos os mortos apresentavam peritonite. Também apresentaram peritonite, no momento da reoperação, dois animais do grupo I, um animal do grupo II e um animal do grupo III.

Por ocasião da segunda operação, os animais do grupo CTL apresentavam seus fígados de coloração vinho clara, brilhante, sem sinais de necrose, sangrando quando biopsiados e apresentavam poucas aderências na cavidade peritoneal envolvendo o fígado (Figura 3A).

No grupo I, os ratos tinham o tecido hepático com edema, sangraram após a realização da biópsia, apresentavam muitas aderências na cavidade peritoneal inclusive envolvendo grande parte do fígado. No grupo II possuíam fígado de aspecto pouco congesto, cor vinho escura, com sangramento na área de biópsia. No grupo III possuíam fígado de aspecto congesto, cor vinho escura e pouco heterogênea, vascularizados no local de biópsia. No grupo IV possuíam fígado de aspecto congesto, cor vinho escura e heterogênea, mas com vascularização no local de biópsia (Figura 3B).

Com relação ao peso corporal inicial, não houve diferença com significância estatística entre o grupo controle e os quatro grupos de estudo. No peso final, não houve diferença com significância estatística entre



NOTA: Aspecto da cavidade peritoneal com poucas aderências (A) e fígado congesto (B); (a) fígado remanescente; (b) estômago

FIGURA 3 - Fígado dos grupos CTL e IV após 240 horas

o grupo controle e os quatro grupos de estudo. Entre o inicial e final entre os grupos, não houve diferença significativa, mas foi observada diferença significativa entre todos os animais no peso inicial e final ($p=0,023$).

Com relação aos pesos dos fígados ressecados, estimado, regenerado e o percentual de regeneração hepática, não houve diferença estatisticamente significante (Tabela 1).

TABELA 1 - Diferença entre os pesos do fígado e a regeneração hepática

Peso do fígado (g)		Soma dos quadrados	df	Média quadrada	F	p
Hepatectomia	entre os grupos	5	4	1	2	0,113
	dentro dos grupos	17	30	0,566		
	Total	22	34			
(Estimado)	entre os grupos	9	4	2	2	0,112
	dentro dos grupos	35	30	1		
	Total	44	34			
Regenerado	entre os grupos	11	4	3	0,966	0,44
	dentro dos grupos	86	30	3		
	Total	97	34			
Regeneração hepática (%)	entre os grupos	1.234	4	309	2	0,215
	dentro dos grupos	6.000	30	200		
	Total	7.234	34			

Observou-se existir diferença com significância estatística na relação peso estimado do fígado/peso corporal inicial, com peso regenerado do fígado/

peso corporal final dos animais, mas não observou-se diferença entre os grupos analisados.

Os valores descritivos relacionados à pressão pós-hepatectomia ou inicial na veia porta, à pressão experimental na veia porta e à pressão final na veia porta após dez dias do estímulo para a regeneração são mostrados na Tabela 2.

TABELA 2 - Valores das pressões portais inicial, experimental e final

	Grupos	n	Média	Dp
Pressão veia porta inicial	CTL	10	11,74	1,2322
	I	8	11,275	0,8844
	II	7	11,429	1,5063
	III	8	12,113	1,2766
	IV	2	12,6	1,1314
	Total	35	11,706	1,2175
Pressão veia porta experimental	CTL	10	11,74	1,2322
	I	8	13,937	1,0056
	II	7	16,743	2,1839
	III	8	20,7	2,1461
	IV	2	24,8	1,9799
	Total	35	16,037	4,3265
Pressão veia porta final	CTL	10	11,76	1,069
	I	8	11,763	0,9942
	II	7	13,8	1,4776
	III	8	16,35	1,2524
	IV	2	20,45	1,0607
	Total	35	13,714	2,7517

Existem diferenças com significância estatística para as medidas da pressão portal inicial e pressão portal experimental ($p=0,00001$), e houve interação entre os grupos e a aferição inicial e experimental ($p=0,0001$)

O índice de proliferação dos hepatócitos, utilizando o marcador Ki-67, mostrou somente existir diferença com significância estatística entre o grupo CTL e o grupo II ($p=0,0121$).

O índice de proliferação endotelial para o marcador FVIII relativos à angiogênese através da comparação dos grupos, constatou-se que existe diferença significativa entre eles. Entre o grupo CTL e o grupo I não se observou significativa diferença ($p=0,207$). Entre o grupo CTL e o grupo II constatou-se diferença com significância estatística ($p=0,002$). Entre o grupo CTL e o grupo III evidenciou-se diferença significativa ($p=0,003$). Entre o grupo CTL e o grupo IV não se observou diferença com significância estatística.

Através da coloração tricrômico de Masson verificou-se a deposição de fibras colágenas no fígado após 240 horas do estímulo regenerativo. Os valores referentes à sua presença e à distribuição nos grupos não demonstrou diferença com significância estatística entre os grupos ($p=0,117$).

A avaliação estatística dos valores observados para ALT, AST, bilirrubinas totais, bilirrubinas diretas e bilirrubinas indiretas não demonstrou diferença significativa. A análise estatística dos valores obtidos para fosfatase alcalina e para gamaglutamiltranspeptidase não demonstrou diferença significativa. A avaliação

estatística dos valores observados para glicemia e TTPA não demonstrou diferença significativa. Houve diferença significativa nos grupos para as variáveis colesterol ($p=0,02$), proteínas totais ($p=0,008$), albumina ($p=0,000$) e globulinas ($p=0,058$). Houve diferença significativa entre os grupos para a variável tempo e atividade de protrombina ($p=0,001$)

DISCUSSÃO

A semente da curiosidade científica para a pesquisa da regeneração hepática foi plantada na Grécia Antiga, quando foi divulgado o mito de Prometeus, onde seu fígado era lesado diariamente e regenerava todas as noites a fim de ser submetido à nova injúria no dia seguinte. A extraordinária capacidade deste órgão em atingir a total restauração após grave injúria é um elemento atrativo para a pesquisa e investigação permanente.

O processo de regeneração hepática pode ser induzido experimentalmente por qualquer intervenção que promova remoção ou morte celular do tecido hepático. A perda de unidades funcionais do fígado promove estímulo para proliferação celular visando à restauração da massa original ou necessária para a homeostase.

A hepatectomia a 70% no rato⁷ tem sido o modelo cirúrgico mais usado, pois se trata de uma técnica simples e facilmente reproduzível. Neste estudo o rato *Wistar Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia* foi utilizado por sua disponibilidade e característica regenerativa, por possuir significativa resistência à infecção e apresentar baixa mortalidade cirúrgica. Neste estudo, nos animais sobreviventes houve significativa perda de peso, variando entre 21,22% e 37,64% abaixo do peso corporal original. Os animais que morreram com peritonite, foram a óbito nos primeiros sete dias, sendo que quanto maior o grau de hipertensão portal, menor foi o tempo de sobrevivência após o início do experimento.

Nesta avaliação percebeu-se que o volume hepático foi restaurado em dez dias para os animais que tiveram apenas o estímulo regenerativo através da hepatectomia parcial e o aspecto final aparentava uma versão aumentada das porções não ressecadas. Porém, quando acrescentado o fator de congestão venosa, ocorreu atraso nessa recuperação de massa. A congestão venosa hepática pode se manifestar em decorrência de extensas ressecções, restando pouco parênquima a restaurar, como ocorre em hepatectomias para ressecção de tumores, em transplantes de fígado onde o receptor recebe um órgão pequeno para suas necessidades ou quando para preservar a VCI de um doador vivo, utiliza-se a técnica de pyggyback.

A congestão venosa provoca dilatação do leito vascular que retorna ao normal após recuperação

da massa hepática original, permitindo a redução de calibre para comportar todo o influxo portal. Neste estudo foi observado que a estenose executada na veia hepática direita e na veia cava inferior supra-hepática com o objetivo de provocar regime de hipertensão portal também manteve a congestão venosa com ectasia vascular após dez dias. Portanto, a manutenção da obstrução parcial à drenagem venosa hepática mantém a congestão venosa intra-hepática, mesmo após a restauração do volume do fígado.

A hepatectomia parcial a dois terços é estímulo suficiente para aumentar o fluxo sanguíneo portal em duas ou três vezes seu volume basal, fato que conduz à lesão da microcirculação apenas dez minutos após a ressecção dos lobos hepáticos mediano e lateral esquerdo. Com o aumento do fluxo sanguíneo portal em um leito vascular reduzido - o qual provoca aumento da resistência vascular -, evidencia-se elevação na pressão da veia porta em 30-40%¹¹, caracterizando quadro de hipertensão portal. O controle da pressão portal e do fluxo sanguíneo portal em condições próximas às fisiológicas é necessário, uma vez que perfusão em baixa pressão pode resultar em diminuição do volume hepático devido à distribuição não homogênea do fluxo sanguíneo dentro do fígado, e perfusão com alta pressão pode causar aumento do leito vascular intra-hepático com consequente barotrauma do parênquima hepático. Neste estudo evidenciou-se que, após dez dias de observações, mantinha-se situação de hipertensão portal uma vez que, em nenhum dos grupos, os valores pressóricos encontravam-se inferiores à pressão basal pós-ressecção hepática, marcadamente nos grupos III e IV. No leito vascular dos sinusóides hepáticos ocorre fusão dos poros, formando grandes espaços que permitem a saída de macromoléculas para o espaço perisinusoidal. No líquido extravasado dos sinusóides encontram-se células sanguíneas, moléculas de gordura, nutrientes e fatores que contribuem para o início e a manutenção do processo regenerativo. Após 240 horas, o volume do fígado está próximo da massa hepática prévia ao insulto cirúrgico e os sinusóides reassumem suas características anátomo-fisiológicas normais com pequenas fenestrações⁵. Contudo, lesões nos sinusóides podem evoluir para fibrose e insuficiência hepática, tendo como consequência a perda do órgão⁹.

Acrescentar um fator complicador à hepatectomia parcial para a restauração hepática, desperta interesse para a investigação científica. Durante a regeneração, tanto fatores de crescimento como alterações metabólicas podem induzir o período de iniciação. A expressão de 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 crescimento secretados no fígado ou em outros órgãos. Estas reações adaptativas desencadeiam, em

conjunto, a cascata de eventos que culmina com a replicação do ADN. A proliferação dos hepatócitos é regulada predominantemente por mecanismos autócrinos, a partir da liberação de fatores de crescimento por hepatócitos já iniciados no ciclo celular para divisão celular, mas que também respondem a fatores de crescimento produzidos por outras células hepáticas, constituindo a regulação parácrina. Existe a participação de células de outros órgãos, promovendo a regulação endócrina. Portanto, durante o período de proliferação, a progressão do processo depende de mecanismos autócrinos, parácrinos e endócrinos⁸. Porém, a criação de um obstáculo à drenagem venosa do fígado agrava a congestão venosa e tem como consequência a elevação da pressão portal, acima dos valores registrados após a retirada de parte da massa funcional do fígado. O aporte de nutrientes e fatores de crescimento que estimulam a regeneração diminui. O processo de restauração ocorre lentamente, com permanência da proliferação por tempo mais prolongado, acompanhada de atraso na angiogênese e demora na restauração da matriz extracelular⁶.

Neste estudo executou-se, após a hepatectomia a dois terços, quatro diferentes graus de obstrução da drenagem venosa hepática para avaliar o efeito da hipertensão portal resultante sobre a regeneração e um grupo controle sem obstrução do fluxo sanguíneo de saída do fígado. Considerando o aspecto cirúrgico, a dissecação da veia hepática direita do rato, após hepatectomia parcial, é tecnicamente difícil e com alta taxa de mortalidade. A obstrução parcial da drenagem das veias hepáticas foi induzida pela obstrução parcial da veia cava inferior cranialmente às veias hepáticas, como descrito na literatura¹, resultando em imediata elevação da pressão portal. Desta forma, o intuito de provocar um quadro de hipertensão portal para avaliação, foi obtido. As pressões portal e caval anteriores à hepatectomia não foram medidas e para fins de análise consideraram-se como valores basais aqueles aferidos após a remoção dos lobos mediano e lateral esquerdo do fígado dos ratos.

Os animais apresentaram perda de peso média de 16% após dez dias de experimento. A recuperação do peso para os valores pré-operatórios ocorrem entre 25 e 28 dias⁷, e os resultados deste estudo são compatíveis com os apresentados na literatura.

O estímulo regenerativo é seguido pelo desencadeamento do processo de proliferação celular, inicialmente executado pelos hepatócitos e a seguir por ductos biliares, células de Kupffer e células estreladas do fígado e finalmente por células do endotélio sinusoidal. O efeito potencializador da congestão venosa, provocado pela elevação da pressão portal por obstrução a drenagem venosa hepática, tem como consequência atraso no processo proliferativo como constatado pela persistência do número de mitoses e núcleos de hepatócitos corados por Ki-67 no grupo II em relação aos demais.

Quanto maior o nível pressórico, maior é o atraso da regeneração, porém no grupo III, evidenciaram-se valores elevados de Ki-67, mas sem diferença estatística significativa com o CTL, diverso do grupo IV onde não se constatou proliferação de hepatócitos após dez dias.

Após a proliferação de hepatócitos diminuir, inicia-se a proliferação vascular. A hipóxia nos aglomerados de hepatócitos em proliferação estimula a angiogênese que, neste estudo, foi avaliada pelo fator de von Willebrand. Valores muito baixos demonstram atraso na angiogênese, como ocorreu com os animais do grupo II. A expressão de ARNm para o fator VIII é mais fortemente positiva na fase de capilarização dos sinusóides e cirrose hepática³. Desta maneira, quando os índices de proliferação do FVIII encontram-se muito elevados, representam capilarização dos sinusóides, situação em que ocorre perda das fenestrações e com isso perda da distribuição de nutrientes, fatores de crescimento e substâncias que necessitem ser metabolizadas nos hepatócitos, podendo ocasionar hipotrofia dos hepatócitos recém-formados. No grupo III e IV os valores de fator VIII sugerem capilarização dos vasos sinusoidais.

A restauração da matriz extracelular completa o processo de regeneração do fígado lesado apresentando tecido hepático novo e funcional. A deposição de colágeno representa a reconstituição da matriz extracelular. Valores nulos ou baixos de colágeno demonstram atraso na formação de nova matriz e, portanto, atraso na regeneração. Neste estudo pôde-se evidenciar que pressões portais superiores a 25% do valor basal obtido com a hepatectomia parcial a dois terços, provocam atraso da regeneração como evidenciado no grupo II que, mesmo após 240 horas do estímulo regenerativo, mantinha-se na fase proliferativa dos hepatócitos com proliferação vascular insignificante e discreta deposição de colágeno. Para níveis pressóricos superiores a 50%, a manutenção da hipertensão portal em níveis muito elevados após dez dias do início do experimento pode ocasionar mudanças na microcirculação com consequente capilarização dos sinusóides hepáticos.

Ressecções extensas do fígado podem acarretar insuficiência hepática aguda. Nos estudos realizados com hepatectomia a 70%, as provas de função hepática permanecem dentro dos limites da normalidade. Neste estudo, mostrou-se que houve alteração da função hepática no fígado remanescente relacionada aos níveis de colesterol, proteínas totais, albumina e globulinas e TAP. As transaminases ALT e AST, a fosfatase alcalina, a gama glutamil transpeptidase, a glicemia, TTPA, bem como a excreção de bilirrubinas, apresentaram valores dentro da normalidade. Os valores de referência sorológicos considerados neste estudo foram aqueles obtidos no grupo CTL.

A regeneração hepática é processo clinicamente importante, mas também um excelente modelo de estudo em medicina regenerativa. Atualmente existem muitos estudos a respeito das vias de sinalização que contribuem para a iniciação e terminação do processo de restauração do fígado, incluindo eventos circulatórios e contribuição de outros órgãos, mas estudos com carcinomas hepatocelulares sugerem outras vias que regulam o crescimento dos hepatócitos. Pesquisas sobre regeneração podem contribuir para o entendimento de situações adversas como falência hepática e até óbito após ressecções hepáticas extensas. Portanto, a regeneração do fígado permanece como objeto de estudos e de profunda análise com o objetivo de entender muitas doenças hepáticas e assim contribuir para diminuir inclusive a morbidade humana. A participação de outros órgãos na regeneração é foco de extenso campo para pesquisa, como o papel do pâncreas e dos intestinos. Existe a necessidade de mais estudos a respeito de nutrientes que contribuem com a aceleração da regeneração, como glutamina e arginina. A suplementação nutricional pré e pós operações sobre o fígado pode influir nos resultados e representa campo fértil para a pesquisa. Tanto quanto os mecanismos que estimulam a proliferação, torna-se de vital importância o estudo da maneira como ocorre a inibição do evento regenerativo, contribuindo talvez para o entendimento e êxito no tratamento de processos proliferativos.

CONCLUSÃO

Ratos submetidos à hepatectomia parcial a 70% e hipertensão portal, após 240 horas, apresentam:

1. atraso no processo regenerativo diretamente proporcional aos níveis pressóricos no sistema porta;
2. após dez dias, persiste a proliferação de hepatócitos proporcionalmente mais intensa quanto maior a elevação da pressão no sistema porta, porém níveis extremos de pressão portal inibem a proliferação, e, no estímulo para regeneração do fígado, demonstrou-se atraso da angiogênese influenciado pelos valores de pressão portal;
3. hipertensão portal extrema promove elevação da expressão de fator VIII, o que sugere capilarização dos sinusóides;
4. quanto mais elevados os níveis de pressão portal, menor será a quantidade de colágeno depositada, podendo-se inferir que o aumento da pressão portal ocasiona atraso na restauração da matriz extracelular;
5. a análise da função hepática evidenciou que a hepatectomia parcial a 70%, após dez dias, não interferiu com a fisiologia hepática, a qual permaneceu dentro dos limites da normalidade, mas com a hipertensão portal pode haver comprometimento funcional do fígado remanescente durante o processo regenerativo.

REFERÊNCIAS

1. Abralde JG, Pasarín M, García-Pagán JC. Animal models of portal hypertension. *World J Gastroenterol.* 2006 Nov 7;12(41):6577-84.
2. Assy N, Minuk GY. Liver regeneration: methods for monitoring and their applications. *J Hepatol.* 1997 Apr;26(4):945-52.
3. Baruch Y, Neubauer K, Shenkar L, Sabo E, Ritzel A, Wilfling T, Ramadori G. Von Willebrand factor in plasma and in liver tissue after partial hepatectomy in the rat. *J Hepatol.* 2002 Oct;37(4):471-7.
4. Biondo-Simões ML, Matias JEF, Montibeller GR, Siqueira LCD, Nunes ES, Grassi CA. Effect of aging on liver regeneration in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira* 2006; 21(4): 197-202.
5. Braet F, Shleper M, Paizi M, Brodsky S, Kopeiko N, Resnick N, Spira G. Liver sinusoidal endothelial cell modulation upon resection and shear stress in vitro. *Comp Hepatol.* 2004 Sep 1;3(1):7
6. Farion LR. Regeneração do fígado em ratos com oclusão parcial da drenagem venosa hepática. 66 f. Dissertação (Mestrado em Princípios da Cirurgia) - Faculdade Evangélica do Paraná, Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, Instituto de Pesquisas Médicas, Curitiba, 2006.
7. Higgins GM, Andreson RM. Experimental pathology of the liver: Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch. Pathol.* 1931; 12:186-202.
8. Jesus RP, Waitzberg DL, Campos FG. Regeneração hepática: papel dos fatores de crescimento e nutrientes. *Rev Ass Méd Brasil* 2000; 46(3): 242-54.
9. Kreimer F, Araújo-Jr GC, Campos JM, Martins-Filho ED, D'Albuquerque LAC, Ferraz AAB. Resultados iniciais da oxigenoterapia hiperbárica em pacientes em lista de espera para o transplante hepático. *ABCD Arq Bras Cir Dig.* 2011; 24(1):48-51.
10. Michalopoulos GK. Liver regeneration after partial hepatectomy: critical analysis of mechanistic dilemmas. *Am J Pathol.* 2010 Jan;176(1):2-13
11. Morsiani E, Mazzoni M, Aleotti A, Gorini P, Ricci D. Increased sinusoidal wall permeability and liver fatty change after two-thirds hepatectomy: an ultrastructural study in the rat. *Hepatology.* 1995 Feb;21(2):539-44.
12. Paes-Barbosa FC, Ferreira, FG, Szutan LA. Planejamento pré-operatório em hepatectomias. *Rev Col Bras Cir.* 2010; 37(5):370-375.
13. Tatsumi K, Ohashi K, Taminishi S, Takagi S, Utoh R, Yoshioka A, Shima M, Okano T. Effects on coagulation factor production following primary hepatomitogen-induced direct hyperplasia.