

REGENERAÇÃO HEPÁTICA: O MITO DE PROMETEU REVISADO

Liver regeneration: Prometheus' myth revisited

José Luiz de Godoy, Jorge Eduardo Fouto Matias e Júlio Cezar Uilli Coelho

RESUMO

A identificação da capacidade do fígado regenerar-se permitiu novas perspectivas terapêuticas na cirurgia hepática. Ressecções hepáticas ampliadas e transplante hepático passaram a ser empregados rotineiramente para tratar lesão hepática neoplásica e insuficiência hepática aguda ou crônica, respectivamente. No transplante hepático, a regeneração hepática permitiu técnicas de transplante hepático com enxerto reduzido e bi-partição hepática (split-liver). O transplante com enxerto hepático reduzido ao segmento lateral esquerdo (segmentos II e III) retirado de doador vivo permitiu a resolução do obstáculo representado pelo tamanho do enxerto x tamanho do receptor para pacientes pediátricos. O transplante hepático intervivos também pode ser visto como uma modalidade independente para complementar doações cadavéricas. As bases do mecanismo extremamente complexo da regeneração hepática permanecem pouco conhecidas dos profissionais envolvidos na moderna cirurgia hepática. Este trabalho descreve os mecanismos envolvidos na regeneração hepática, no ciclo celular dos hepatócitos, fatores de crescimento e o papel de células-tronco da medula óssea.

Descritores: Regeneração Hepática, Hepatectomia, Ciclo Celular, Fatores de Crescimento, Células-tronco

INTRODUÇÃO:

A menção mais antiga sobre regeneração hepática encontra-se na mitologia grega. Na peça de teatro Prometeu Acorrentado de Ésquilo, o titã Prometeu rouba do Olimpo o segredo do fogo e transmite-o aos mortais. Os mortais aprendem a fazer fogo, e Prometeu, punido por Zeus é acorrentado em um rochedo no monte Cáucaso. Todo dia, um abutre vinha comer parte de seu fígado. À noite, o fígado de Prometeu regenerava, para ser novamente parcialmente comido pelo abutre no dia seguinte. Assim, o tormento de Prometeu foi eterno. (Fig. 1)



Figura 1. Estátua representando o tormento de Prometeu. Como narrado na mitologia grega, Zeus puniu o titã Prometeu por ter roubado do Olimpo o segredo do fogo e transmitido-o aos mortais. Acorrentado no topo do monte Cáucaso, todo dia um abutre vinha comer parte do fígado de Prometeu. Entretanto, o órgão constantemente crescia durante a noite, para novamente ser parcialmente comido pelo abutre no dia seguinte, tornando eterno o tormento de Prometeu. Este pode ser considerado o primeiro exemplo de regeneração hepática descrito na literatura. Foto tirada da estátua Prometeu Acorrentado, Jardin des Tuileries, Paris, França.

Instituição:

Serviço de Transplante Hepático do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR

Correspondência:

José Luiz de Godoy

Rua Benjamin Constant, 242 - ap. 142

80.060-020 - Curitiba - PR - Brasil

Fax: 55 41 3244.5927

E-mail: de_godoy@yahoo.com

Recebido em: 16.06.2006

Aceito em: 30.06.2006

Com exceção do mito de Prometeu, o modelo clássico de estudo da regeneração hepática foi descrito em 1931 no artigo "Experimental pathology of the liver. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal",¹ onde uma hepatectomia parcial de 2/3 é realizada no rato. Os pedículos vascular/biliar dos lobos médio e lateral esquerdo são ligados. Esses dois lobos são ressecados sem traumatismo para os lobos residuais. Não há interferência com a vascularização/drenagem biliar dos lobos residuais nem reação inflamatória/necrótica significativa no coto dos lobos ressecados (Fig. 2). Foi observado que, de sete a dez dias após hepatectomia parcial de 2/3, o fígado do rato recupera a sua massa, restabelecendo a relação normal entre peso do fígado/peso do corpo, que no rato corresponde a 3.58%.¹

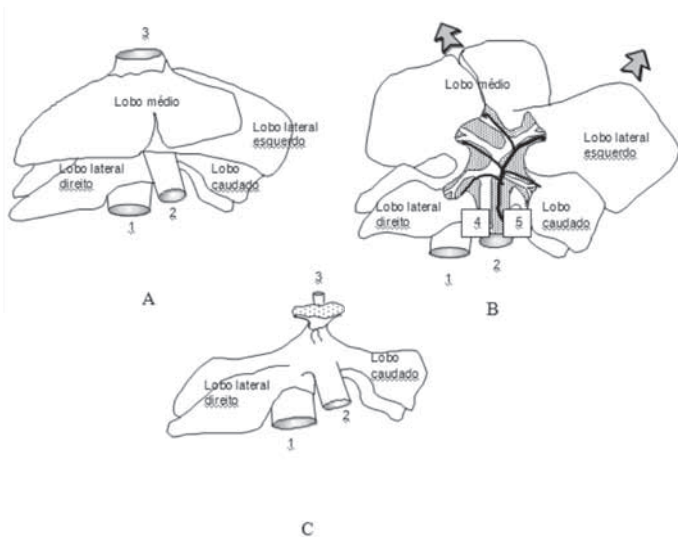


Figura 2. Hepatectomia parcial de 2/3 segundo a técnica de Higgins e Anderson. O pedículo vascular e biliar dos lobos médio e lateral esquerdo são ligados em bloco e, a seguir, o parênquima hepático destes lobos é seccionado próximo à ligadura. Não existe interferência com a vascularização e a drenagem biliar dos lobos lateral direito e caudado e nem lesão do parênquima destes lobos residuais. (A) Fígado em sua posição anatômica; (B) Os lobos médio e lateral esquerdo foram tracionados em direção à cabeça do rato, expondo os lobos lateral direito e caudado; (C) Configuração anatômica após hepatectomia parcial. 1: veia cava infra-hepática; 2: veia porta; 3: veia cava supra-hepática; 4: via biliar; 5: artéria hepática. Extraído de Higgins e Anderson.¹

Definição de regeneração dada por Aurélio: regenerar (do latim regenerare) significa "formar-se de novo".² A regeneração hepática induzida por hepatectomia parcial não ocorre de acordo com a definição ad integrum de regenerar, porque ela se desenvolve a partir da atividade regenerativa dos lobos hepáticos residuais.

No fígado do rato, como no fígado humano, o segmento hepático ressecado durante a hepatectomia parcial não se forma de novo. Por definição estrita, não há regeneração verdadeira, tal como possuem os anfíbios, cuja cauda perdida pode ser reconstituída *ad integrum*.³ O fígado recupera sua massa (peso ou volume), mas não recupera sua forma original.

O fígado é um órgão extremamente complexo. Laboratório por excelência, possui mais de cinco mil funções. É o único órgão que

possui duas vascularizações sanguíneas distintas: (i) esplâncnica, a partir da veia porta e (ii) arterial sistêmica, a partir do tronco celíaco.^{4,5} Nesse órgão, a regeneração hepática possui início após uma perda celular causada por lesão tóxica, física ou infecciosa.³ Uma complexa sinalização em cascata inicia-se imediatamente após uma perda celular, como após hepatectomia parcial: mais de 100 genes extremamente precoces são expressos nos hepatócitos dos lobos residuais já no primeiro minuto após hepatectomia parcial.⁶ Todas funções hepáticas essenciais à homeostasia são mantidas durante a regeneração hepática; ao mesmo tempo em que o fígado se regenera, não há interrupção na produção de bile, fatores de coagulação e albumina, entre outros.⁴

No fígado normal, as diferentes células - parenquimatosas e não parenquimatosas - estão em fase G0 ou fase de repouso em relação ao ciclo celular. São células quiescentes. Após hepatectomia parcial, as células passarão imediatamente a ciclar para se dividirem e restituírem a população celular do fígado, restabelecendo a relação peso do fígado/peso do corpo.

Ao ciclar, as células hepáticas passarão pelas quatro fases do ciclo celular: G1, fase S ou fase de síntese de ADN, G2 e mitose.⁷ Uma vez realizado o ciclo celular, as células hepáticas poderão retornar a seu estado de repouso (G0) ou realizar uma nova divisão celular. (Fig. 3)

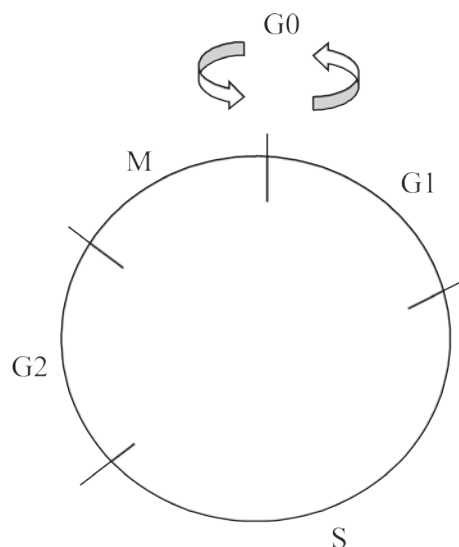


Figura 3. O ciclo celular. O ciclo celular é tradicionalmente dividido em quatro fases. G1: gap 1; S: síntese (de ADN); G2: gap 2; M: mitose. G0: célula em repouso

A atividade de ciclo celular das células hepáticas, principalmente dos hepatócitos em fígado normal e em regeneração, é estudada com marcadores de atividade replicativa nas células, mais precisamente da fase S do ciclo celular (fase de síntese de ADN). Os marcadores mais utilizados são os análogos da timidina: a timidina triada (3*H-timidina) e a bromodeoxiuridina (BrdU). Na fase S do ciclo celular, esses produtos são incorporados por competição ao ADN da célula no lugar da timidina. Posteriormente, utilizando-se auto-radiografia ou anticorpos anti-BrdU, métodos radiológicos ou imunohistoquímicos permitem a detecção da 3*H-timidina ou do

BrdU incorporados no ADN da célula, respectivamente.⁸⁻¹²

Após hepatectomia parcial, a regeneração hepática ocorre graças à proliferação das diferentes células que compõem os lobos hepáticos residuais: hepatócitos, célula epitelial biliar, célula endotelial (sinusóide), célula de Kupffer e célula de Ito (célula estrelar).¹³

Os hepatócitos são as principais células hepáticas. Eles representam 60 a 80% da população celular do fígado. O hepatócito é tipicamente uma célula quiescente (G0), com uma vida média de 200 a 400 dias.¹⁴ A renovação hepatocitária no fígado normal é extremamente rara. Nele, a ausência de estímulo para regeneração existe somente $0.45 \pm 0.05\%$ de hepatócitos na fase S do ciclo celular.¹⁵ A renovação hepatocelular em um fígado normal não é um processo sincrônico.

Os hepatócitos que sintetizam ADN no fígado normal apresentam distribuição lobular característica no ácino: 82,7% localizam-se na zona 1, 15,4% localizam-se na zona 2 e 1,9% estão localizados na zona 3.¹⁵

As zonas 1, 2 e 3 correspondem respectivamente à região periportal, mediolobular e centrolobular do ácino descrito por Rappaport. No fígado normal, os hepatócitos em fase de mitose são raros, havendo um hepatócito em mitose para cada vinte mil hepatócitos examinados.¹⁶ Ou seja, $0,06 \pm 0,06\%$ dos hepatócitos estão em mitose no fígado normal.¹⁷ A renovação das células não parenquimatosas no fígado normal também é rara: $0,08 \pm 0,12\%$ das células epiteliais biliares e $0,76 \pm 0,53\%$ das células endoteliais estão em fase S.¹⁷

A proliferação hepatocitária induzida por hepatectomia parcial também não é um processo sincrônico.¹⁸ Os hepatócitos que estão sintetizando ADN no fígado em regeneração também apresentam distribuição lobular característica no ácino. A regeneração hepática ocorre por ondas de mitose nos hepatócitos. Elas se iniciam na região periportal e avançam em direção às regiões mediolobular e centrolobular do ácino hepático.¹⁸

Existem poucos hepatócitos sintetizando ADN nas primeiras horas após a indução da regeneração hepática por hepatectomia parcial no rato. Doze horas após, $1,27 \pm 0,6\%$ dos hepatócitos estão ativamente sintetizando seu ADN. Este número aumenta rapidamente: vinte horas após iniciada a regeneração hepática, $29,4 \pm 6,2\%$ dos hepatócitos encontram-se em fase S do ciclo celular. O pico de síntese de ADN pelos hepatócitos ocorre 24 horas após a hepatectomia parcial, momento em que 35% dos hepatócitos estão ativamente sintetizando seu ADN.¹⁷

No momento do pico de síntese de ADN, a distribuição no ácino mostra predomínio dos hepatócitos ciclando na região periportal e menos intenso nas regiões mediolobular e centrolobular.³ A cinética da proliferação hepatocitária mostra que destes 35% de hepatócitos que estão ciclando durante o pico de síntese de ADN, 75% estão localizados na região periportal, 20% na região mediolobular e 5% em torno da veia centrolobular.¹⁹ As figuras de mitose aumentam rapidamente até 5%, 33 horas após a hepatectomia parcial.¹⁹ Um segundo pico - menos intenso - de síntese de ADN nos hepatócitos ocorre entre 36 e 48 horas após hepatectomia parcial.¹⁸ A duração da fase de síntese de ADN é de aproximadamente oito horas e a de mitose de uma hora.

Considerando-se que existem hepatócitos que realizarão mais de um ciclo celular - como os hepatócitos da zona periportal - e

hepatócitos que não realizarão nenhum ciclo celular - como alguns hepatócitos da região em torno da veia centrolobular, de acordo com as ondas de mitose originadas a partir da região periportal, estima-se que a restauração do número original de hepatócitos é obtida a partir de 1,66 ciclos celulares por hepatócito residual após hepatectomia parcial.³ Entretanto, a capacidade replicativa dos hepatócitos é maior do que 1,66 ciclos celulares: o transplante de hepatócitos em modelos murinos demonstrou que hepatócitos podem ciclar 70 vezes ou mais quando recrutados para reconstituir o fígado.²⁰

Entretanto, a proliferação hepatocelular que se segue após a indução da regeneração hepática por hepatectomia parcial é realizada também pelas células não parenquimatosas.¹³

A síntese de ADN ocorre 48 horas após a hepatectomia parcial nas células epiteliais biliares e células de Kupffer, e após 96 horas nas células endoteliais (sinusóides).²¹

O mecanismo hepático de regeneração é extremamente complexo e o determinismo ontogênico do fígado para regenerar ainda é mal compreendido nos dias atuais. A regeneração hepática torna-se ainda mais peculiar, pois ela também se desenvolve em condições *ex-vivo*.

Quando estudada em condições *ex-vivo*, em aparelho com fígado de rato isolado-perfundido, a regeneração hepática se desenvolve de maneira similar à regeneração hepática *in vivo* em termos de *timing*, quantidade e também na distribuição lobular dos hepatócitos que estão ativamente duplicando o seu ADN.²²

Três a quatro dias após a hepatectomia parcial, a atividade mitótica dos hepatócitos é bastante diminuída. A região periportal possui agrupamentos de 10-14 hepatócitos (*clusters*) sem sinusóides nem matriz extra-celular. Nos agrupamentos existem hepatócitos na periferia do grupo e em contato com sinusóides. No interior dos agrupamentos existem hepatócitos sem contato com a superfície vascular. As células de Ito começam a exteriorizar finos prolongamentos entre os hepatócitos no interior dos agrupamentos, e as células endoteliais parecem seguir as células de Ito e começam a vascularizar os agrupamentos. A seguir, as células endoteliais dividem os agrupamentos, formando espaços vasculares sobre no mínimo duas faces dos hepatócitos, dando origem à arquitetura das traves de hepatócitos.²³ Três tipos de células hepáticas são capazes de sintetizar os diferentes componentes da matriz extra-celular: hepatócitos, células endoteliais e células de Ito.²⁴

As células endoteliais formam a parede dos sinusóides hepáticos, que se caracterizam por (i) possuírem grandes fenestrações e por (ii) não possuírem membrana basal. O resultado dessa arquitetura do sinusóide hepático é permitir uma troca bidirecional rápida de macromoléculas entre o plasma e os hepatócitos.²³

Os fatores de crescimento são fatores hepatotróficos que estão presentes no sangue da veia porta após hepatectomia parcial.²⁵ Os fatores de crescimento mitóticos são fatores que conseguem induzir a síntese de ADN e a mitose nos hepatócitos em cultura celular em meio de cultura sem adição de soro. Várias substâncias foram descritas com essa propriedade, entre elas EGF (*epidermal growth factor*), KGF (*keratinocyte growth factor*) e notadamente HGF (*hepatocyte growth factor*).²⁶ Este último é o mais potente fator mitótico para o hepatócito. Seu nível plasmático aumenta rapidamente (17 a 20 vezes) uma a

duas horas após a hepatectomia parcial.²⁷

Os fatores de crescimento co-mitóticos são substâncias que não possuem efeito proliferativo direto sobre os hepatócitos em cultura. Eles podem potencializar o efeito dos fatores mitóticos completos e diminuir os efeitos inibidores de outros fatores. São exemplos de fatores co-mitóticos a insulina, o glucagon, hormônios do córtex da suprarenal, hormônios da tireóide, neurotransmissores, cálcio, vitamina D, entre outros.²⁸

Ao contrário, existem substâncias que foram identificadas e caracterizadas, que podem inibir a regeneração hepática, entre elas alguma interleucinas e TGF- β 1 (transforming growth factor- β 1). O TGF- β 1 é capaz de inibir a proliferação de hepatócitos em cultura, as células não sendo mais sensíveis a seu efeito inibidor imediatamente antes da transição G1/S28. A diminuição da atividade mitótica na regeneração hepática três a quatro dias após sua indução por hepatectomia parcial está relacionada com o aparecimento de fatores inibidores de crescimento, entre eles o TGF- β 1. TGF- β 1, que atinge seu plateau entre 48 e 72 horas após hepatectomia parcial, quando em a atividade de síntese de ADN pelos hepatócitos é diminuída. TGF- β 1 tem sido considerado como sinal do fim da regeneração hepática.³

A regeneração hepática torna-se mais singular quando estudada em condições *ex-vivo*: em um aparelho de fígado de rato isolado-perfundido, ela se desenvolve independentemente da presença de fatores hepatotróficos de origem portal, presentes no sangue da veia porta durante a regeneração hepática *in-vivo* induzida por hepatectomia parcial no rato.²² A regeneração hepática desenvolve-se similarmente à regeneração hepática *in vivo* em termos de timing, quantidade e distribuição lobular dos hepatócitos que estão ativamente duplicando o seu ADN.²²

Nos últimos seis anos, vários artigos demonstraram que células-tronco da medula óssea podem se transdiferenciar em células hepáticas, como célula do epitélio biliar, célula endotelial e hepatócito. Essa nova propriedade das células-tronco da medula óssea criou enorme interesse, e abriu a possibilidade de que essas células poderiam ser usadas como alternativa terapêutica no tratamento de lesão hepática e na insuficiência hepática aguda ou crônica.

A transdiferenciação de células-tronco da medula óssea em células hepáticas foi demonstrada pela primeira vez em ratas

(XX) irradiadas, que receberam transplante de medula óssea de ratos (XY) congênicos. Para induzir a regeneração, seus fígados foram lesados com tetracloreto de carbono. As ratas receberam concomitantemente 2-acetilaminofluorene, um bloqueador da divisão dos hepatócitos, bloqueando a proliferação hepatocitária e a regeneração hepática induzida pela lesão química. A detecção de hepatócitos cromossoma Y-positivo demonstrou que células-tronco da medula óssea podem originar hepatócitos contendo o cromossoma Y.²⁹

Camundongos knockout FAH – (cujo gene fumaril aceto acetato hidrolase foi negativamente por *knockout*, modelo experimental da tirosinemia hereditária humana) foram submetidos a transplante de medula óssea proveniente de camundongos FAH+ (que expressam o gene fumaril aceto acetato hidrolase). Após transplante de medula óssea, biópsias hepáticas mostraram hepatócitos FAH+ expressando o gene fumaril aceto acetato hidrolase. A substituição de hepatócitos FAH- por hepatócitos FAH+ originados de células-tronco da medula óssea é um evento raro e lento. O primeiro hepatócito gerado a partir de célula-tronco surge aproximadamente sete semanas após o transplante de medula óssea. A reconstituição de 30% do fígado inteiro só é obtida 22 semanas após o transplante de medula óssea.³⁰

A participação da medula óssea na regeneração hepática foi demonstrada através do quimerismo celular após transplante hepático. A detecção de 0,5 a 2% de hepatócitos contendo o cromossoma Y no enxerto hepático captado de doador do sexo feminino (XX) transplantado em receptor do sexo masculino (XY) mostra que embora de forma lenta e ineficiente, os hepatócitos podem ser gerados a partir de células-tronco da medula óssea.³¹ Embora rara, lenta e ineficiente, a transdiferenciação é amplamente aceita como real. Muitas questões permanecem, e as respostas por vezes são divergentes. Trata-se de um processo normal ou ele é dependente/condicionado ao dano hepático? O estímulo que induz células-tronco da medula óssea a se transdiferenciarem em hepatócitos permanece ainda por ser identificado, assim como a importância fisiológica desse fenômeno.^{32, 33}

Após hepatectomia parcial, a replicação de hepatócitos nos lobos residuais é a maneira mais rápida e eficiente de gerar hepatócitos para a regeneração hepática. A capacidade replicativa dos hepatócitos é única entre as células diferenciadas de mamíferos. O hepatócito é a mais eficiente “célula-tronco” para o fígado.

ABSTRACT

After realising the liver's ability to regenerate propitiated new therapeutic perspectives for the hepatic surgery. Major liver resections and liver transplantations are now routinely used to treat liver tumors and acute or chronic liver failure. Focusing the liver transplantation, liver regeneration allowed the reduced liver graft and the split liver techniques. Living-related liver transplantation of the left lateral segment (segments II and III) allowed to overcome the obstacle posed by the liver graft size x the recipient size in pediatric liver transplantations. Living-related liver transplantation may be considered an independent modality added to the cadaver donation. The basis for the very complex mechanism of the liver regeneration still remains poorly understood by professionals practicing modern hepatic surgeries. This article supplies a resumed description of the liver regeneration mechanisms, the hepatocytes cell's cycle, growth factors, and the role played by the bone marrow stem cells.

Keywords: Liver Regeneration, Hepatectomy, Cell Cycle, Growth Factors, Stem Cells

REFERENCES

1. Higgins G, Anderson R. Experimental pathology of the liver I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch Pathol.* 1931;12:186-212.
2. Aurélio. Novo dicionário da língua portuguesa, 2a edição. Rio de Janeiro: Nova Fronteira;1986.
3. Michalopoulos G, DeFrances M. Liver regeneration. *Science.* 1997;276:60-6.
4. Columbano A, Shinozuka H. Liver regeneration versus direct hyperplasia. *FASEB J.* 1996;10:1118-28.
5. LaBrecque D. Liver regeneration: a picture emerges from the puzzle. *Am J Gastroent.* 1994;89:S86-S96.
6. Haber BA, Mohn KL, Diamond RH, Taub R. Induction patterns of 70 genes during nine days after hepatectomy define the temporal course of liver regeneration. *J Clin Invest.* 1993;91:1319-26.
7. Watson JD, Gilman M, Witkowski J, Zoller M. *Recombinant DNA*, 2nd edition. New York: Scientific American Books; 1992. p. 369-88.
8. Bucher N, Swaffield M, Ditroia J. The influence of age upon the incorporation of thymidine 2 14 C into DNA of regenerating rat liver. *Cancer Res.* 1964;24:509-12.
9. Dolbeare F. Bromodeoxyuridine: a diagnostic tool in biology and medicine, Part I: Historical perspectives, histochemical methods and cell kinetics. *Histochem J.* 1995;27:339-69.
10. Dolbeare F, Beisker W, Pallavicini M, Vanderlaan M, Gray J. Cytochemistry for bromodeoxyuridine/DNA analysis: stoichiometry and sensitivity. *Cytometry.* 1985;6:521-30.
11. Gonchoroff N, Greipp P, Kyle R, Katzmann J. A monoclonal antibody reactive with 5-bromo-2-deoxyuridine that does not require DNA denaturation. *Cytometry.* 1985;6:506-12.
12. Gonchoroff N, Katzmann J, Currie R, Evans E. S-phase detection with an antibody to bromodeoxyuridine. Role of DNase pretreatment. *J Immunol Methods.* 1986 93:97-101.
13. Fausto N, Laird A, Webber E. Role of growth factors and cytokines in hepatic regeneration. *FASEB J.* 1995;9:1527-36.
14. MacDonald R. "Lifespan" of liver cells. *Arch Intern Med.* 1961;107:335-43.
15. Jezequel A, Paolucci F, Benedetti A, Mancini R, Orlandi F. Enumeration of S-phase cells in normal rat liver by immunohistochemistry using bromodeoxyuridine-antibromodeoxyuridine system. *Dig Dis Sci.* 1991;36:482-4.
16. Steer C. Liver regeneration. *FASEB J.* 1995;9:1396-1400.
17. Grisham J. A morphologic study of deoxyribonucleic acid synthesis and cell proliferation in regenerating rat liver ; autoradiography with thymidine-H3*. *Cancer Res.* 1962;22:842-9.
18. Rabes H, Wirsching R, Tuzcek H, Iseler G. Analysis of cell cycle compartments of hepatocytes after partial hepatectomy. *Cell Tissue Kinet.* 1976;9:517-32.
19. Fabrikant J. The kinetics of cellular proliferation in regenerating liver. *J Cell Biol.* 1968;36:551-65.
20. Overturf K, Al-Dhalimy M, Tanguay R, Brantly M, Ou C, Finegold M et al. Hepatocytes corrected by gene therapy are selected in vivo in a murine model of hereditary tyrosinaemia type I. *Nature Genet* 1996;12:266-73.
21. Taub R. Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nature.* 2004;5:836-46
22. De Godoy JL, Fabre M, Cherruau B, McIntyre M, Soubrana O, Houssin D et al. Hepatic regeneration in the isolated perfused rat liver followed by liver transplantation. *Hepatology.* 1998;27:697-702
23. Martinez-Hernandez A, Amenta P. The extracellular matrix in hepatic regeneration. *FASEB J.* 1995;9:1401-10.
24. Friedman S, Roll F, Boyles J, Bissell D. Hepatic lipocytes : the principal collagen-producing cells of normal rat liver. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1985;82:8681-5.
25. Michalopoulos G, Zarnegar R. Hepatocyte growth factor. *Hepatology.* 1992;15:149-55.
26. Nakamura T, Nishizawa T, Hagiya M, Seki T, Shimonishi M, Sugimura A, et al. Molecular cloning and expression of human hepatocyte growth factor. *Nature.* 1989;342:440-3.
27. Lindroos P, Zarnegar R, Michalopoulos G. Hepatocyte growth factor (Hepatopoietin A) rapidly increases in plasma before DNA synthesis and liver regeneration stimulated by partial hepatectomy and carbon tetrachloride administration. *Hepatology.* 1991;13:743-50.
28. Thoresen G, Refsnes M, Christoffersen T. Inhibition of hepatocyte DNA synthesis by transforming growth factor b1 and cyclic AMP : effect immediately before the G1/S border. *Cancer Res.* 1992;52:3598-603.
29. Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science.* 1999;284:1168-70.
30. Wang X, Montini E, Al-Dhalimy M, Lagasse E, Finegold M, Grompe M. Kinetics of liver repopulation after bone marrow transplantation. *Am J Pathol.* 2002;161:565-74
31. Alison MR, Poulosom R, Jeffery R, Dhillon AP, Quaglia A, Jacob J et al. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature.* 2000;406:257.
32. Fausto N. Liver regeneration and repair: hepatocytes, progenitor cells, and stem cells. *Hepatology.* 2004;39:1477-87.
33. Mitchell C, Fausto N. Bone marrow-derived hepatocytes. Rare but promising. *Am J Pathol.* 2002;161:349-50.