

Dissertação – Artigo de Revisão Bibliográfica

Mestrado Integrado em Medicina, 2009/2010

REGENERAÇÃO HEPÁTICA E O PAPEL DAS PLAQUETAS

Rita Ribeiro da Silva

Orientador:

Prof. Doutor Eduardo Rocha

Porto, Junho de 2010

Preâmbulo

Comecei a interessar-me pelo tema da regeneração hepática enquanto estudante da unidade curricular de cirurgia, do 5ºano de Medicina. Não fazia parte do programa, nem tampouco foi um assunto abordado nas aulas. Surgiu numa conversa de circunstância, em que o Dr. Jaime Vilaça, médico especialista e professor assistente de cirurgia, partilhou comigo algumas ideias sobre um projecto de investigação laboratorial que estava a desenvolver. Logo aí, senti um grande desejo de integrar o projecto e comecei a informar-me, a procurar e ler artigos, com uma motivação crescente. Infelizmente esse projecto não chegou a realizar-se, por razões de força maior.

No contexto da unidade curricular do 6ºano “Dissertação/ Projecto/ Relatório de Estágio”, decidi dar continuação à pesquisa que já tinha iniciado, escrevendo um artigo de revisão bibliográfica de acordo com as normas do Jornal Português de Gastreenterologia.* O percurso desde então foi uma grande aprendizagem sobre as dificuldades em fazer uma revisão, particularmente pela minha pouca experiência. Mas é graças a essas dificuldades que agora vos apresento este artigo com mais satisfação e prazer.

Espero que este trabalho contribua para acrescentar algo aos conhecimentos dos seus leitores.

Rita Ribeiro da Silva

6 de Junho de 2010

* Faço notar que o artigo é apresentado como se fosse submetido à revista e não como um artigo já publicado na mesma, com excepção das figuras, aqui legendadas e distribuídas ao longo do texto, para uma maior facilidade na sua consulta.

ÍNDICE

PÁGINA DO TÍTULO	1
RESUMO	2
TEXTO	3
INTRODUÇÃO	3
Doenças hepáticas - Desafios do século XXI	3
Transplante hepático	3
Porquê indagar sobre a relação entre as plaquetas e o fígado	5
REGENERAÇÃO HEPÁTICA (RH)	7
Definição de regeneração e características gerais da RH	7
Células proliferativas na RH	8
Fases da RH mediada por hepatócitos adultos	10
Mecanismos de regulação da RH	11
ACÇÃO DAS PLAQUETAS NA RH	13
Caracterização das plaquetas	13
Promoção da RH pelas plaquetas	15
Importância da serotonina	19
CONSIDERAÇÕES FINAIS	20
BIBLIOGRAFIA	22
ANEXO - Normas de publicação do Jornal Português de Gastrenterologia	28

Regeneração hepática e o papel das plaquetas

Liver regeneration and the role of platelets

R.R. Silva

Estudante do 6º ano, profissionalizante, do Mestrado Integrado em Medicina

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Centro Hospitalar do Porto, EPE - Hospital de Santo António

E. Rocha

Professor Catedrático de Histologia e Embriologia

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Endereço para correspondência / Address for correspondence:

Rita Ribeiro da Silva

ICBAS, Laboratório de Histologia e Embriologia, Largo Prof. Abel Salazar 2, 4099-003 Porto

+351 222 062 220

rita.rbsilva@gmail.com

RESUMO

A patologia hepática tem uma importância significativa em termos epidemiológicos e económicos. O resultado dos tratamentos cirúrgicos que envolvem a remoção duma parte do fígado (*e.g.*, remoção de metástases hepáticas) depende do estado funcional da parte que é preservada. Assim, o desenvolvimento de métodos que potenciem a capacidade regenerativa deste órgão contribuirá para uma maior taxa de sucesso desses procedimentos terapêuticos.

Um grande número de experiências demonstrou que as plaquetas promovem a regeneração hepática (RH) em ratos, e evidências crescentes apontam para um papel semelhante no Homem. A libertação de serotonina dos grânulos densos parece ser um fenómeno essencial nessa promoção.

Espera-se que o esclarecimento dos mecanismos envolvidos na acção das plaquetas sobre a RH possa ter implicações clínicas futuras.

Palavras-chave: “regeneração hepática”, “plaquetas”, “hepatócitos”, “proliferação”

SUMMARY

The liver disease has a significant epidemiologic and economic importance. The outcome of surgical treatments involving partial hepatectomy (*e.g.*, liver metastasis resection) depends on the post-operative liver function. Thus, the development of methods that enhance the regenerative capacity of the organ will lead to greater success rate of these therapeutic procedures.

A large number of experiments with rats demonstrated that platelets promote liver regeneration (LR), and there is some evidence of a similar role of platelets in human LR. The release of serotonin from dense granules seems to be essential in the process.

The enlightenment of the mechanisms involved in the platelet action may hopefully have future clinical implication.

Key-words: “liver regeneration”, “platelets”, “hepatocytes”, “proliferation”

INTRODUÇÃO

Doenças hepáticas - Desafios do século XXI

Muitas patologias do fígado estão associadas a insuficiência hepática grave, quer na forma de apresentação inicial (*e.g.*, hepatite fulminante), quer numa fase mais tardia, na ausência de um tratamento médico e/ou cirúrgico instituído precocemente, ou na eventual ineficácia do(s) mesmo(s) perante a evolução da doença. Sem a realização de um transplante hepático (TH), e admitindo o seu sucesso, a insuficiência hepática terminal conduz invariavelmente à morte.

A incidência e prevalência das patologias hepáticas crónicas são muito elevadas. A título de exemplo, analisemos o caso da hepatite B: a nível mundial, 2 milhares de milhão de pessoas estiveram infectados pelo vírus da hepatite B (VHB) nalgum momento das suas vidas; 350 milhões de pessoas são portadoras do VHB; 150 milhões sofrem de hepatite B crónica; e 600.000 pessoas morrem anualmente devido a complicações desta doença [1]. Ao iniciar-se o século XXI estimou-se que só em Portugal existissem cerca de 150.000 portadores crónicos do VHB [2]; isto apesar da existência de uma vacina eficaz incluída no Plano Nacional de Vacinação. Acrescem estudos que indicam que esta infecção vírica evolui para cirrose em 20% a 50% dos casos crónicos e, em 10% destes casos, para cancro do fígado [3].

O elevado custo do TH (como tratamento da doença hepática terminal) [4] e a elevada prevalência das doenças hepáticas crónicas [5] (com custos inerentes) podem implicar um consumo significativo dos recursos de saúde disponíveis, por parte dos doentes com patologia hepática.

A situação actual requer pois o desenvolvimento de novas estratégias, quer para a prevenção, quer para o tratamento das patologias hepáticas. Assim, um dos grandes desafios da investigação na área é encontrar soluções alternativas ao TH eficazes e viáveis.

Transplante hepático

O TH ortotópico é o tratamento-padrão para a insuficiência hepática terminal, sendo a única opção disponível em Portugal para estes doentes. As indicações para TH estão listadas no

Quadro I. Existem dois tipos de TH com base na origem do órgão transplantado: TH de dador morto e TH de dador vivo. O mais utilizado é o primeiro, mas o segundo tem vindo a ganhar importância em crianças, para as quais é mais difícil encontrar órgãos disponíveis.

Indicações para transplante hepático	
Crianças	Adultos
Atrésia biliar Hepatite neonatal Doença de Byler Fibrose hepática congénita Doença de Alagille Deficiência de α 1-antitripsina Distúrbios hereditários do metabolismo: Doença de Wilson Tirosinemia Distúrbios de depósito de glicogénio Distúrbios lisossomais Protofíria Doença de Crigler-Najjar tipo I Hipercolesterolemia familiar Hiperoxalúria primária tipo I Hemofilia	Cirrose biliar primária Cirrose biliar secundária Colangite esclerosante primária Hepatite auto-imune Doença de Caroli Cirrose criptogénica Hepatite crónica com cirrose Trombose da veia hepática Hepatite fulminante Cirrose alcoólica Hepatite vírica crónica Adenomas hepáticos Esteatohepatite não-alcoólica Polineuropatia amiloidótica familiar Tumores malignos hepatocelulares

Quadro I: Indicações para transplante hepático. (Adaptado de Harrison's – Principles of Internal Medicine, 2008 [6])

O TH requer uma equipa multidisciplinar especializada e envolve inúmeras variáveis (disponibilidade de órgãos, distância do local de colheita, surgimento de complicações, entre outros) que tornam este procedimento extremamente complexo e dispendioso. O artigo “Cost of Liver Transplantation” atribui um custo médio de US\$163.438 (cerca de €133.000) por cada TH nos EUA [7]. Tanto quanto pudemos averiguar, não existem valores publicados em revistas internacionais sobre o custo do TH em Portugal. Há contudo estimativas disponíveis, como seja a da Associação Portuguesa para o Estudo do Fígado, de que o custo para o Serviço Nacional de Saúde é de 100.000 € / TH [8]. Apesar dos elevados custos, as estatísticas disponibilizadas pela Autoridade para os Serviços de Sangue e de Transplantação mostram que o número de TH realizados em Portugal tem vindo a aumentar [9] (Figura 1).

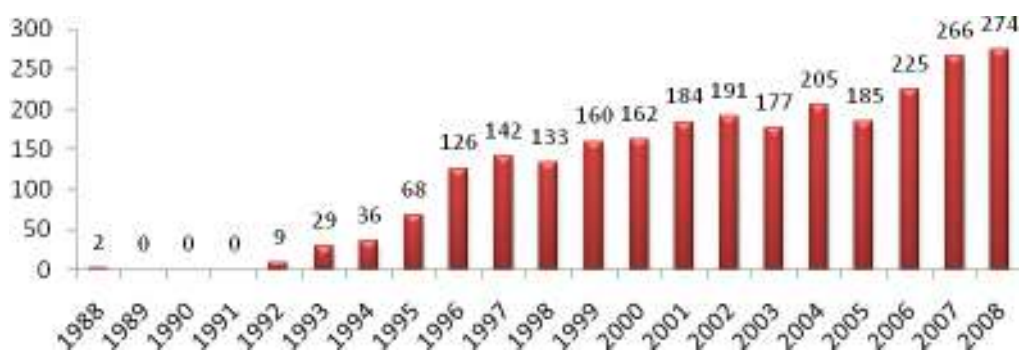


Figura 1: Número de transplantes hepáticos realizados por ano em Portugal, segundo o Relatório Estatístico de 2008 da Autoridade para os Serviços de Sangue e de Transplantação [9].

Um dos obstáculos que os centros de transplantação enfrentam é a escassez de órgãos doados. As listas de espera incluem milhares de pessoas: só nos EUA, 16.029 indivíduos esperam um TH [10]. Devido ao longo período de espera, muitos doentes acabam por morrer antes da cirurgia. Para além disso, a indisponibilidade de órgãos favorece o surgimento do tráfico de órgãos humanos – um problema médico, social e político.

Alguns centros especializados oferecem alternativas ao TH, como o transplante de hepatócitos isolados ou a utilização de sistemas artificiais de suporte hepático. Também há já centros a introduzir terapia com células estaminais extra-hepáticas, que mostram ser bastante promissoras [11]. Contudo, estas estratégias encontram-se numa fase experimental.

Porquê indagar sobre a relação entre as plaquetas e o fígado

A regeneração hepática (RH) é um fenómeno celular que confere ao fígado uma capacidade especial de resposta a estímulos lesivos. A RH contribui para o aumento da capacidade hepática funcional após alguns procedimentos terapêuticos, como o transplante de dadores vivos e a ressecção de metástases ou tumores hepáticos primários. O interesse pela RH tem aumentado exponencialmente nos últimos anos, como demonstrado pelos resultados de uma nossa pesquisa quanto ao número de artigos indexados publicados sobre o assunto (Figura 2).

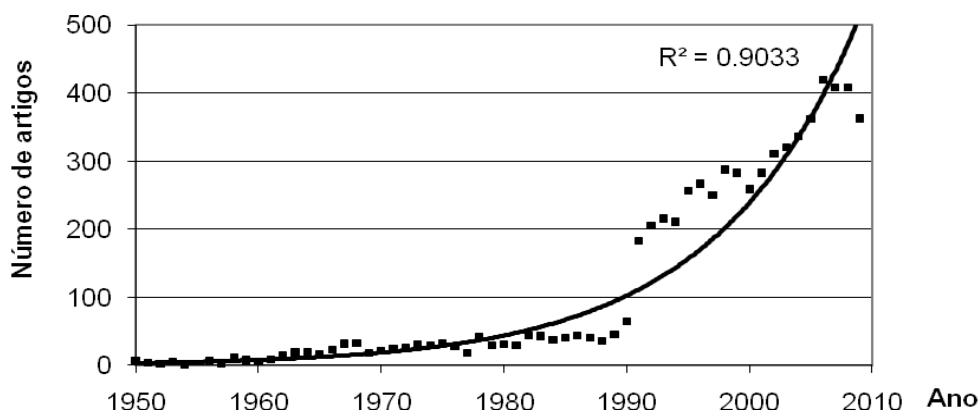


Figura 2: Número de artigos publicados sobre a regeneração hepática, segundo a sua indexação no ISI Web of Knowledge, de 1950 a 2009. R - coeficiente de correlação da regressão exponencial.

A influência das plaquetas na RH está na base de várias linhas de investigação, apesar da sua descoberta recente. Fazendo também uma pesquisa sobre os artigos indexados no ISI Web of KnowledgeSM e que incluem simultaneamente as expressões “plaquetas” e “regeneração hepática” no assunto, o primeiro data de 1991. Contudo, apenas em 2000 surge o primeiro artigo dirigido especificamente ao papel das plaquetas na RH [12].

Denotando a relevância da investigação sobre o assunto e a importância dos últimos desenvolvimentos, o artigo "Platelet-derived serotonin mediates liver regeneration", publicado em 2006 na revista Science [13], foi classificado como excepcional pela Faculty of 1000 Medicine (que avalia a qualidade e impacto de artigos), isto em termos de mérito individual do trabalho, tendo já recebido 108 citações noutros artigos (em 07/06/2010).

Perante o enorme potencial de aplicação clínica dos factores que influenciam a RH, este artigo tem como objectivo rever de forma integrada o conhecimento actualmente disponível sobre a RH e, em particular, apresentar e discutir o que se sabe, ou não, acerca da influência das plaquetas neste processo.

REGENERAÇÃO HEPÁTICA

Definição de regeneração e características gerais da RH

As primeiras publicações científicas sobre a regeneração como fenómeno biológico surgiram no começo do século XVIII [14]. O termo “regeneração” inclui vários mecanismos, abrangendo desde a renovação celular (*e.g.*, hematopoiese no Homem) até à reconstrução epimórfica de um membro (*e.g.*, salamandra), passando por vários processos de complexidade intermédia [15].

De acordo com Diegelmann *et al.* [16], a regeneração é uma das respostas possíveis face a uma lesão tecidular. De uma forma mais elaborada, Stoick-Cooper *et al.* [17] definem a regeneração como um processo que permite a um organismo recuperar a função de um órgão ou estrutura lesado/a por doença ou outro tipo de dano.

A RH difere de outros tipos de regeneração (*e.g.*, algumas formas de regeneração cutânea) na medida em que não há propriamente uma reconstituição da estrutura prévia à lesão. Em vez disso, ocorre um crescimento compensatório através de hiperplasia e hipertrofia celulares [18]. Após uma hepatectomia parcial (HP), a massa hepática atinge cerca de 100% da massa original após 7 a 10 dias, em roedores [19], e aproximadamente 3 meses, nos humanos [20]. Contudo, forma-se uma nova anatomia lobar, pelo que não há, de facto, recuperação da anatomia inicial [21].

Em condições normais, o fígado mantém uma renovação celular basal muito baixa, sendo que o tempo de vida média de um hepatócito adulto varia entre 200 e 300 dias [22]. Num fígado adulto normal, as taxas de hepatócitos detectados por marcadores de divisão celular e de apoptose são muito baixas ($< 0,1\%$) [21]. Quando o fígado é sujeito a um estímulo lesivo significativo, determinadas células são activadas e começam a proliferar, conduzindo à RH. O processo regenerativo possibilita a recuperação parcial ou total da capacidade funcional hepática perdida.

Os estímulos lesivos que desencadeiam a RH variam quanto à sua natureza, duração e intensidade. Esses estímulos podem ser mecânicos (*e.g.*, hepatectomia, trauma), químicos (*e.g.*, toxinas) ou infecciosos (*e.g.*, vírus da hepatite B). Dependendo da duração e intensidade do estímulo, diferentes tipos de células intrahepáticas entrarão em proliferação: os hepatócitos adultos ou as comumente denominadas células ovas. As células estaminais, localizadas na medula óssea, constituem uma terceira reserva celular, podendo contribuir para a RH após fusão com hepatócitos com défices metabólicos [23, 24, 25] (Figura 3).

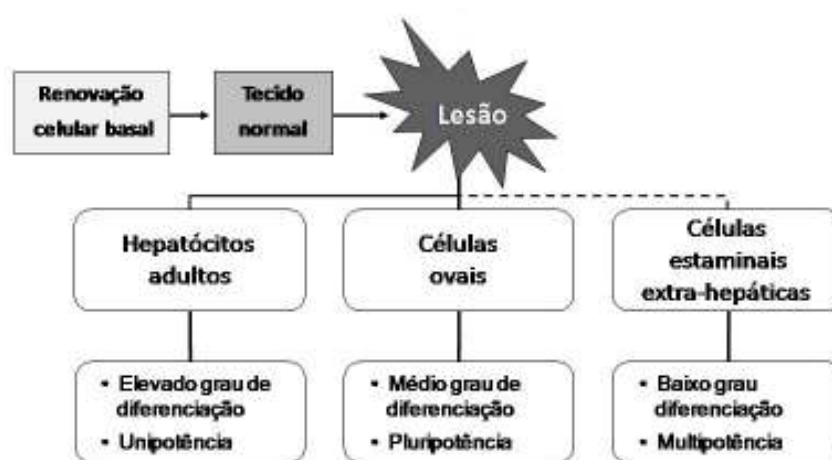


Figura 3: Células proliferativas activadas durante a regeneração hepática, de acordo com a duração e a intensidade do estímulo lesivo.

Células proliferativas na RH

Os hepatócitos ditos adultos são células diferenciadas que mantêm a sua capacidade de proliferação. Podemos considerá-los como as células proliferativas de primeira linha na RH, pois são as primeiras a entrar em divisão quando o fígado é sujeito a uma lesão aguda, como seja uma HP. A quantidade de fígado removido numa HP influencia determinantemente a evolução pós-cirúrgica da RH [26] (Quadro II).

Após HP, os hepatócitos sofrem entre um e dois ciclos celulares, restaurando a função hepática inicial [18]. Contudo, a sua capacidade proliferativa é de pelo menos 60 mitoses, como comprovam os estudos de transplantação celular de Overturf *et al.* [27].

Massa hepática removida	Resposta
< 30%	Ausência de proliferação sincronizada (apesar do aumento da massa hepática)
40 – 70%	Associação linear entre quantidade de tecido ressecado e grau de proliferação
> 70%	Proliferação celular insuficiente para evitar mortalidade aumentada

Quadro II: Efeito da quantidade de massa hepática removida numa hepatectomia parcial sobre a resposta celular proliferativa. (Elaborado com base no trabalho de Fausto e Riehle, 2005 [26])

Quando o fígado é sujeito a um estímulo lesivo prolongado no tempo, causado por toxinas, vírus ou fármacos hepatotóxicos, e a capacidade replicativa dos hepatócitos adultos fica comprometida, a RH fica a cargo de um outro tipo de células, as células ovais (CO) [28]. Estas devem o seu nome à morfologia ovóide observada em fígados de roedores. No fígado Humano estas células têm uma morfologia diferente, denominando-se frequentemente por células progenitoras hepáticas, sendo as restantes características são semelhantes às das CO [29].

As CO são células pluripotentes, capazes de se diferenciarem tanto em hepatócitos como em células epiteliais biliares [30, 31]. As CO localizam-se nos canais de Hering, que correspondem a espaços de transição entre o sistema canalicular hepatocitário e os ductos biliares terminais; aqueles canais situam-se na interface entre o parênquima e os espaços porta, sendo revestidos, em situação normal, por hepatócitos e por células com fenótipo de colangiócitos [28]. Depois de serem activadas e iniciarem a sua proliferação, as CO começam a infiltrar o parênquima hepático, ao longo dos canalículos biliares, em direcção à região centrolobular (Figura 4).

As células estaminais extra-hepáticas também podem contribuir para a RH. Em experiências com roedores modelo, foi demonstrado que algumas células estaminais hematopoiéticas (CEH) são mobilizadas e recrutadas para o fígado após uma lesão hepática [32, 33]. Contudo, o papel destas células na geração de novos hepatócitos não é muito significativo, quer sob condições patológicas, quer sob condições fisiológicas [34]. De facto, as CEH parecem ape-

nas originar até um máximo de 2% dos hepatócitos totais existentes no fígado, segundo o apurado após transplante de CEH em ratos sujeitos a mieloablação induzida por radiação [35].

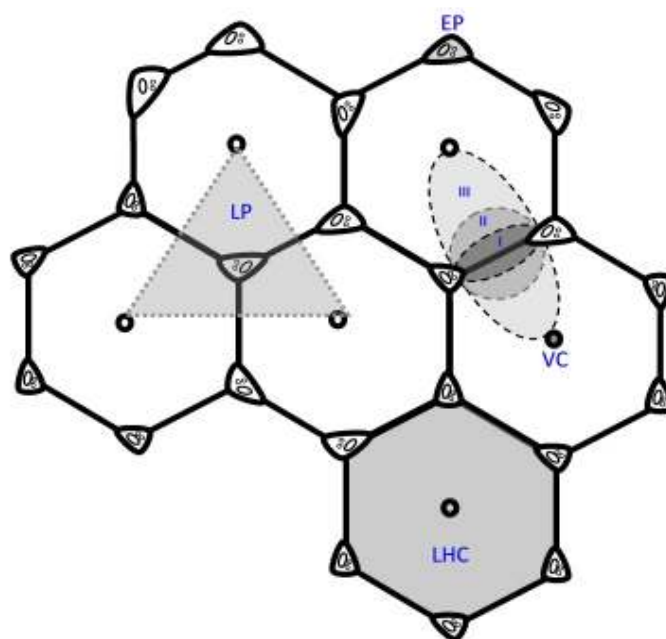


Figura 4: Lobulação hepática. As zonas assinaladas com I, II e III constituem o ácino hepático. LP - lóbulo portal; LHC - lóbulo hepático clássico; VC - veia central; EP - espaço porta.

Fases da RH mediadas por hepatócitos adultos

A RH mediada por hepatócitos adultos pode ser reproduzida em vários modelos experimentais, como é o caso da HP em ratos. Após uma HP, a RH inclui uma sequência de três fases: iniciação, expansão e conclusão. Estes eventos não são completamente independentes, partilhando vários mecanismos comuns [36].

Na fase de iniciação, os hepatócitos são activados e readquirem a capacidade de replicação, ou seja, passam de G_0 para o ponto de controlo G_1/S . Isso demora cerca de 12 horas após a HP em ratos, e 32 horas, em ratinhos [26].

Na fase de expansão, os hepatócitos entram na fase S do ciclo celular. A proliferação começa na zona periportal, estendendo-se à zona centrolobular ao fim de 36 a 48 horas. Nesta fase, as células não-parenquimatosas vão também proliferar, com um atraso de 24 a 48 horas

[36]. As células não-parenquimatosas incluem os endoteliócitos sinusoidais, as células de Kupffer, as células linfóides e as células estreladas hepáticas.

Na fase de conclusão, os hepatócitos regressam ao estado inicial aquiescente (G_0).

Para complementar a proliferação celular é necessária uma remodelação do parênquima neoformado, de forma a restaurar a estrutura histológica normal. Essa reparação é feita através de processos como recapilarização, síntese de proteínas da matriz extracelular e reconstituição do espaço de Disse, entre outros. Esta pode ser considerada como uma quarta fase da RH, a fase de remodelação.

Mecanismos de regulação da RH

A maioria dos estudos sobre os mecanismos de regulação da RH debruça-se sobre um de dois modelos: 1) activação dos hepatócitos adultos após HP; 2) activação das CO após estímulo químico prolongado associado ou não a HP.

No primeiro modelo, três “redes” vão modular a proliferação hepatocitária: factores de crescimento, citocinas e factores metabólicos. Todos estes agentes actuam de forma interligada, havendo redundância entre vários componentes de cada rede, o que permite, por exemplo, que a perda de um gene isolado raramente leve à inibição completa da RH [18].

Após uma HP ocorre um rápido aumento dos níveis da interleucina 6 (IL-6) e do factor de necrose tumoral α (TNF- α , sigla inglesa). Ambas as citocinas promovem a transição de G_0 para G_1 [36]. Acresce o facto de a IL-6 possuir não só efeitos proliferativos sobre os hepatócitos, mas também efeitos anti-apoptóticos [37].

A transição dos hepatócitos da fase G_1 para a fase S depende da sinalização do factor de crescimento (FC) hepatocitário (HGF, sigla inglesa) e do FC transformador α (TGF- α , sigla inglesa) [36]. Existem ainda outros factores com efeitos hepatotróficos na RH, nomeadamente o FC epidérmico (EGF, sigla inglesa) e a anfiregulina [29]. Por outro lado, os principais facto-

res envolvidos na terminação da RH após HP são o FC transformador $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) e as actinas, que inibem a síntese de ADN nos hepatócitos [38].

Os estudos baseados no segundo modelo (activação das CO), demonstram que a IL-6 e o TNF têm também um papel importante na regulação na RH mediada pelas CO [39]. Para além destas, outras citocinas e factores de crescimento produzidos pelas células de Kupffer, bem como alguns componentes da matriz extracelular, modulam a resposta das CO [40] (Figura 5).

As vias intracelulares envolvidas na acção de cada um dos elementos reguladores supra-mencionados, bem como a regulação da proliferação das células não-parenquimatosas fogem ao âmbito deste artigo de revisão, e como tal não serão aqui abordadas. Para os interessados, recomenda-se a leitura de outros trabalhos de revisão sobre o assunto (*e.g.*, Michalopoulos, 2010 [38]).

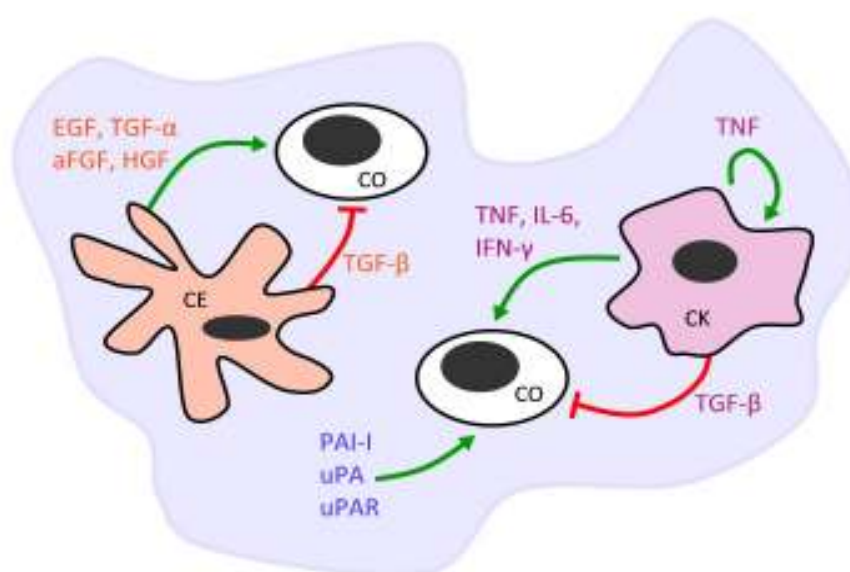


Figura 5: Citocinas, factores de crescimento e elementos da matriz extracelular envolvidos na regulação da proliferação das células ovais. aFGF - factor de crescimento fibroblástico ácido; CE - célula estrelada; CK - célula de Kupffer; CO - célula oval; EGF - factor de crescimento epidérmico; HGF - factor de crescimento hepatocitário; IL-6 - interleucina-6; IFN- γ - interferão gama; PAI-I – inibidor do activador do plasminogénio 1; TNF - factor de necrose tumoral; TGF- α - factor de crescimento transformador α ; TGF- β - factor de crescimento transformador β ; uPA - activador do plasminogénio tipo-urocinase; uPAR- receptor de UPA; seta: estimula(m); linha bloqueada: inibe.

ACÇÃO DAS PLAQUETAS NA REGENERAÇÃO HEPÁTICA

Caracterização das plaquetas

Ao microscópio óptico (Figura 6), as plaquetas são fragmentos celulares com aproximadamente 3 μm de diâmetro, sem núcleo, com forma e tamanho variáveis [41]. As plaquetas são os elementos celulares mais pequenos do sangue, sendo a sua contagem normal em adultos de $150\text{-}450 \times 10^9/\text{L}$. O seu tempo médio de vida é cerca de 9 dias [42].

As plaquetas resultam da fragmentação dos megacariócitos, grandes células polinucleadas da medula óssea. Várias hormonas e citocinas, como as interleucinas 3, 6 e 11, interferem no desenvolvimento dos megacariócitos, contudo o factor mais importante é a hormona trombo-poietina (TPO) [43], cuja produção ocorre essencialmente no fígado e rins.

Os componentes estruturais das plaquetas consistem, essencialmente, numa membrana citoplasmática, no citosqueleto, no sistema tubular denso, no sistema canalicular aberto e múltiplos grânulos de secreção (Figura 6).

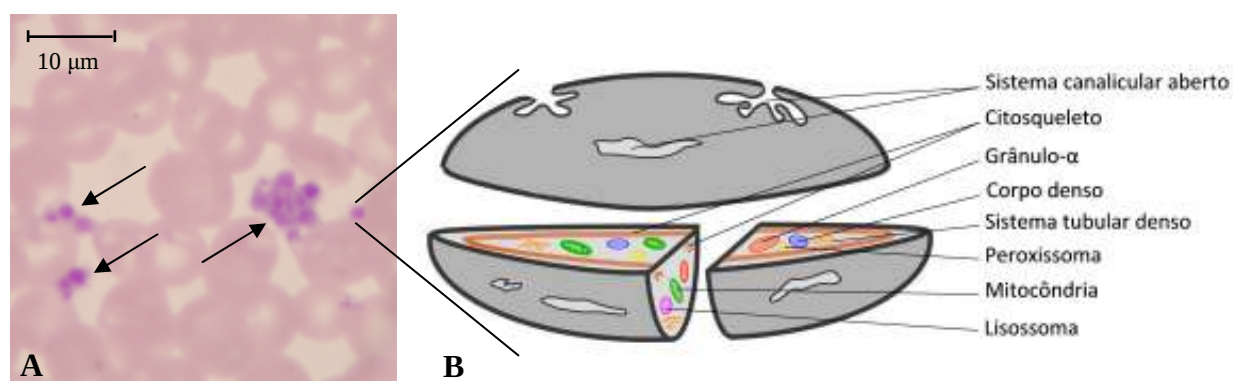


Figura 6: **A** - Esfregaço sanguíneo observado em microscopia óptica, com lente de imersão (objectiva de 100x). Setas: aglomerados de plaquetas. **B** - Estrutura plaquetária (ilustração original, inspirada em esquema de Bentfeld-Barker e Bainton, 1982 [44]).

A membrana citoplasmática das plaquetas é fundamental na sua fisiologia, visto que medeia as interacções entre o meio interno e o meio externo. É constituída por uma camada bifosfolipídica típica, contendo determinadas glicoproteínas e glicolípidos. A composição de

glicoproteínas da membrana plasmática é variável e depende do estado de activação das plaquetas [45].

O citosqueleto é composto por uma rede de estruturas filamentosas que mantém a forma da plaqueta e permite a sua contracção, consoante o seu estado de activação [46].

O sistema tubular denso é um conjunto de túbulos que se distribuem por todo o citoplasma, concentrando-se mais na periferia do que no centro da plaqueta. Constitui o principal local de armazenamento do cálcio intraplaquetário.

O sistema canalicular aberto consiste numa rede membranosa intracitoplasmática que comunica com o meio extracelular. Representa uma reserva de membrana que permite alterações rápidas da morfologia da superfície plaquetária e promove a libertação dos grânulos de secreção. Estes dividem-se em dois grupos: grânulos- α e corpos densos (também designados por grânulos- δ). Os primeiros contêm muitas moléculas importantes no seu lúmen e na parede membranar, existindo cerca de 80/plaqueta [47]. Na activação, eles fundem-se com o sistema canalicular aberto e superfície membranar, libertando o seu conteúdo. Os segundos, corpos densos, são organelos de armazenamento adicional cujo conteúdo é também libertado durante a activação. Estes organelos são raros, estimando-se que haja cerca de 5 corpos densos/plaqueta [47]. O conteúdo de ambos os tipos de grânulos plaquetários é apresentado no Quadro III.

As plaquetas desempenham um papel fundamental na hemostasia, intervindo rapidamente na presença de lesões endoteliais. No fluxo sanguíneo laminar, as plaquetas circulam na periferia do lúmen do vaso e podem detectar rapidamente essas lesões. Em resposta, ocorrem alterações estruturais e bioquímicas que promovem a formação de um trombo e a reparação da parede do vaso. Cerca de 15-20% das plaquetas são utilizadas diariamente na manutenção da integridade vascular [48].

Tipos						
Grânulos- α	Proteínas de adesão: Trombospondina Fibrinogénio Fibronectina Vibronectina	Factores de crescimento: PDGF TGF- α TGF- β EGF ILGF VEGF-A VEGF-C BFGF HGF IL-8	Quimocinas: FP-4 Tromboglobulina- β CTAP-3 NAP-2 RANTES MIP-1 α	Factores de coagulação: Factor V Factor VIII Glicoproteína IIb-IIIa PAI-1	Imunoglobulinas: IgM IgG IgA IgE	Outros: Proteínas catiónicas P-selectina FvW
Corpos densos	Catecolaminas: Adrenalina Noradrenalina Dopamina		Iões: Catiões divalentes (e.g., cálcio e magnésio)	Compostos fosforilados: ADP ATP GDP GTP	Outros: Serotonina Histamina	

Quadro III: Conteúdo dos grânulos plaquetários. (Adaptado de Lesurtel e Clavien, 2010 [52])

BFGF: factor de crescimento fibroblástico básico; CTAP-3: péptido 3 activador do tecido conjuntivo; EGF: factor de crescimento epidérmico; FP-4: factor plaquetário-4; FvW: factor de von Willebrand; HGF: factor de crescimento hepatocitário; IL-8: interleucina-8; ILGF: factor de crescimento tipo insulina; MIP-1 α : proteína inflamatória dos macrófagos; NAP-2: peptídeo peptídeo 2 activador dos macrófagos; PAI-1: inibidor do activador do plasminogénio 1; PDGF: factor de crescimento de origem plaquetária; RANTES: *regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted*; TGF- α : factor transformador de crescimento α ; TGF- β : factor transformador de crescimento β ; VEGF-A: factor de crescimento endotelial vascular A; VEGF-C: factor de crescimento endotelial vascular C.

Para além da sua acção bem conhecida na hemostase, evidências crescentes demonstram que as plaquetas estão também envolvidas em muitos outros mecanismos, como a angiogénese e a reparação tecidual [49], a inflamação [50] ou a aterosclerose [51]. De seguida detalha-se a interferência das plaquetas na RH.

Promoção da RH pelas plaquetas

As plaquetas contêm numerosos FC que podem contribuir teoricamente para a RH (Quadro III), havendo aparentemente um único estudo que contraria tal expectativa, dado que não se identificou qualquer correlação entre as plaquetas e a RH do rato, visto que esta ocorreu nor-

malmente em condições de trombocitopenia [53]. Contudo, grandes avanços técnicos e uso de outras abordagens experimentais ocorreram desde a publicação desse estudo, e vários estudos mais recentes demonstraram que a RH é claramente influenciada pelo número de plaquetas.

Tomikawa *et al.* [54] verificaram que a esplenectomia em ratos aumenta o número de plaquetas e que acelera a RH através de um mecanismo indeterminado. Posteriormente, Lesurtel *et al.* [13] demonstraram que a trombocitopenia compromete a RH, e que a administração de serotonina em ratinhos trombocitopénicos restaura a RH após HP. Tais factos sugerem que a serotonina derivada das plaquetas está intimamente envolvida na indução da RH.

Em 2007, Murata *et al.* [55] compararam a cinética de crescimento hepático após HP de 70% entre três grupos de ratinhos: um com contagem plaquetária normal; outro com trombocitose induzida por TPO; e o terceiro com trombocitopenia induzida por anticorpos anti-plaquetários. No final da experiência concluíram que um número de plaquetas aumentado induz maior RH, e que um número reduzido diminui este fenómeno.

Em 2008, os mesmos autores verificaram que um aumento do número de plaquetas pode compensar a redução da RH após HP causada pela depleção de células de Kupffer, em ratinhos, através de um aumento na produção de HGF e na fosforilação da proteína Akt [56]. Ainda nesse ano, o mesmo grupo analisou o efeito da TPO sobre a fibrose hepática antes de uma HP de 70% e a RH após a HP, em ratos com cirrose induzida pelo tratamento com demilnitrosamina (DMN) [57]. Vinte e quatro ratos foram divididos em quatro grupos: um grupo com cirrose hepática (CH) induzida por um tratamento com DMN; um grupo com CH induzida por DMN tratado com TPO; um grupo com CH, tratado com TPO e soro anti-plaquetário (SAP); e um grupo controlo. O estudo concluiu que, naquele contexto experimental, uma única administração de TPO reduz a fibrose e estimula a regeneração hepática através do aumento e acumulação de plaquetas no fígado cirrótico (Figura 7).

Também em 2008, Myronovych *et al.* [58] verificaram que a taxa de sobrevivência após HP de 90% em ratinhos sob condições de trombocitose e grande acumulação de plaquetas no fígado restante é significativamente maior quando comparada com a de ratinhos com contagens plaquetárias normais. Nesta experiência, a trombocitose foi induzida pela administração do factor de desenvolvimento de crescimento dos megacariócitos peguilado recombinante humano (PEG-rHuMGDF, sigla em inglês), mas um estudo posterior (de 2009) demonstrou que a infusão de plaquetas directamente na veia porta também promove uma maior RH após HP em ratos [59]. É preciso salientar que, sem a indução de trombocitose, a hepatectomia de 90% em ratinhos é fatal [60], e a ressecção de mais de 70% do fígado tem uma mortalidade aumentada (Quadro II).

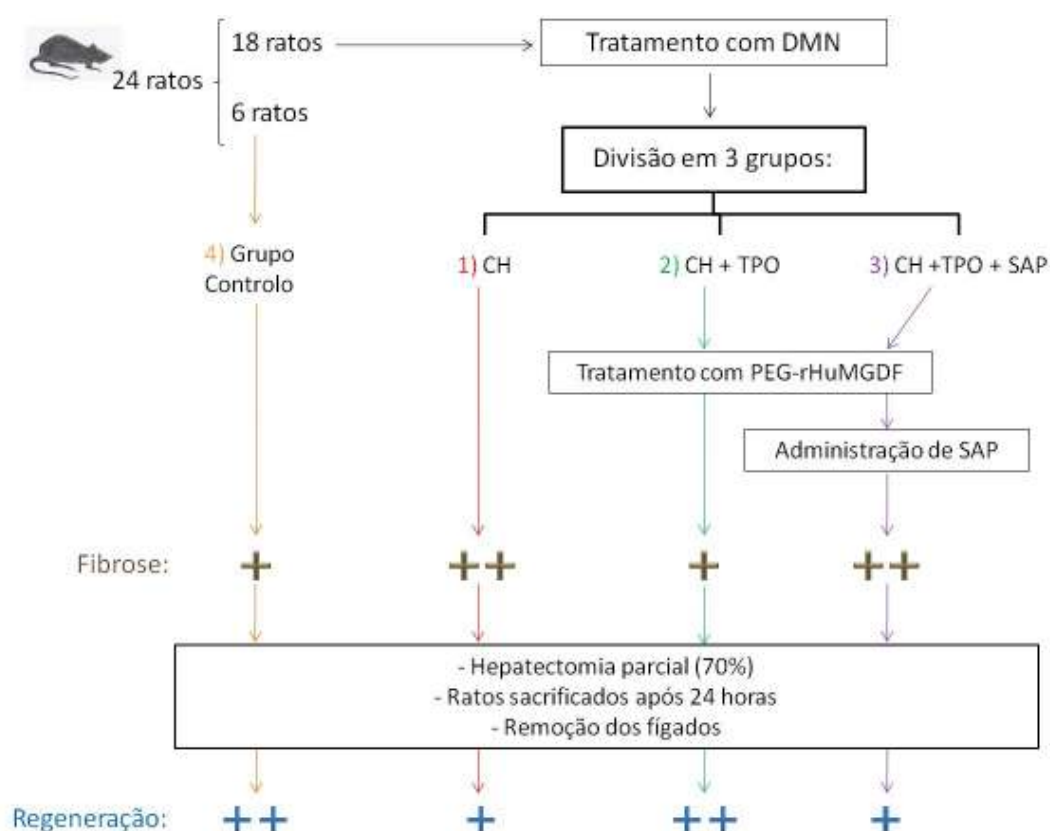


Figura 7: Esquema da experiência de Murata *et al.* [57] sobre a acção protectora da trombopoietina sobre a fibrose e a regeneração hepática em ratos. CH: cirrose hepática; DMN: dimetilnitrosamina; PEG-rHuMGDF: factor de desenvolvimento de crescimento dos megacariócitos peguilado recombinante humano; SAP: soro anti-plaquetário; TPO: trombopoietina.

A maioria dos estudos supracitados utiliza um modelo experimental com HP em ratos ou ratinhos. Contudo, a promoção da RH pelas plaquetas também ocorre quando o fígado sofre outros tipos de agressões, nomeadamente isquémicas. Nocito *et al.* [61] estudaram o papel das plaquetas e da serotonina derivada das plaquetas na reparação tecidular após isquemia hepática normotérmica, concluindo que há um efeito positivo sobre a reparação na presença destes elementos. As plaquetas também promovem a RH na cirrose induzida quimicamente, sem a realização de HP, como demonstraram Watanabe *et al.* [62] ao analisar a capacidade regenerativa do fígado de ratos após intoxicação por tetracloreto de carbono (CCl₄).

As evidências da interferência das plaquetas na RH em humanos têm vindo a crescer, não só pela publicação de experiências laboratoriais com culturas de células humanas, mas também de estudos clínicos. Kawasaki *et al.* [63] estudaram a inter-relação entre células endoteliais de sinusóides hepáticos (CESHs) humanos, imortalizadas, plaquetas e hepatócitos, também humanos, em cultura, concluindo que as plaquetas induzem um aumento da proliferação dos hepatócitos através da activação das CESHs.

Em 2010, Alkozai *et al.* [64] publicaram um estudo envolvendo 216 doentes sujeitos a HP, por metástases hepáticas de cancro colo-rectal, com o objectivo de determinar a relação entre a contagem plaquetária do período pós-cirúrgico imediato e a taxa de mortalidade e disfunção hepática pós-cirúrgicas. Os resultados sugerem que uma contagem reduzida de plaquetas é um factor de predição independente de atraso na recuperação da função hepática após HP e está associada a um aumento do risco de mortalidade pós-cirúrgica.

Por fim, e também em 2010, Kim *et al.* [65] publicaram um estudo retrospectivo sobre 87 transplantes hepáticos de dador vivo e concluíram que a quantidade total de plaquetas transfundidas, na primeira semana após a cirurgia, está positivamente relacionada com a regeneração do enxerto hepático.

Importância da serotonina

As plaquetas constituem a maior reserva periférica de serotonina. Cerca de 95% desta monoamina encontrada no sangue está armazenada nos corpos densos das plaquetas. A serotonina está presente no nosso organismo devido à sua produção endógena. De facto, apesar deste composto estar presente nos alimentos que ingerimos, a maior parte é metabolizada antes de atingir a corrente sanguínea.

A serotonina é sintetizada nas células enterocromafins e nos neurónios, a partir do aminoácido essencial triptofano, através de dois passos enzimáticos. O primeiro é a hidroxilação do triptofano pela enzima triptofano-hidroxilase 1 (TPH1), que produz 5-hidroxitriptofano (5-HTP), e que é a reacção limitante na produção de serotonina. O segundo passo enzimático é a descarboxilação do 5-HTP pela enzima aminoácido-decarboxilase (AAD) L-aromática [66].

As plaquetas possuem um mecanismo de captação de serotonina com alta afinidade, que envolve um transportador de recaptação da serotonina (SERT, sigla em inglês), ficando preenchidas com serotonina à medida que passam na circulação pulmonar e intestinal [67], onde a sua concentração é relativamente elevada.

A serotonina é rapidamente metabolizada nos tecidos, principalmente pela acção da enzima monoamino-oxidase (MAO). No fígado e nos rins, as enzimas MAO e aldeído-desidrogenase convertem a serotonina em 5-hidroxiindol-ácido acético (5-HIAA), que é excretado na urina.

A serotonina é um agente mitogénico potente e estimula a mitose de células de músculo liso, dos megacariócitos e dos fibroblastos [68, 69, 70]. Para além disso, experiências recentes sugerem que a serotonina derivada das plaquetas está envolvida no processo de iniciação da RH. Em ratinhos trombocitopénicos, um agonista da serotonina restaurou a proliferação hepática deficiente [13]. Neste último estudo, a expressão do mARN dos receptores da serotonina 2A e 2B aumentou 3 a 4 vezes após HP, e a administração de antagonistas desses receptores inibiu a RH. Para além disso, ratinhos *knock-out* TPH1-/-, sem serotonina periférica, exibiram

RH comprometida após HP, tendo esse comprometimento sido ultrapassado pela administração do precursor 5-HTP, cuja descarboxilação pela enzima AAD resulta na produção de serotonina [13].

Papadimas *et al.* [71] investigaram o efeito do bloqueio do receptor 5-HT₂ pela cetanserina na RH após HP em ratos. Concluiu-se que a administração deste antagonista da serotonina pode comprometer a RH apenas quando é feita perto do ponto de transição G1/S, o que sugere que a serotonina pode ser um co-factor para a síntese de ADN.

Uma vez determinada a importância da serotonina derivada das plaquetas na RH, podemos questionar-nos se a presença das plaquetas é necessária para o seu efeito na RH ou se a secreção do conteúdo dos seus grânulos é suficiente. Murata *et al.* [55] verificaram, por microscopia electrónica, a ocorrência de migração das plaquetas do espaço sinusoidal para o espaço de Disse e de contacto directo entre plaquetas e hepatócitos, 5 minutos após HP, em ratinhos com trombocitose. Matsuo *et al.* [72] afirmaram que o contacto directo entre as plaquetas e os hepatócitos é necessário para o efeito proliferativo das primeiras sobre os segundos. Estes autores concluíram que o contacto plaqueta-hepatócito inicia a transdução de sinal envolvida na activação dos factores HGF, VEGF e ILGF-1, que contribuem para a proliferação hepatocitária.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A relação entre o fígado e as plaquetas é bastante complexa. Trata-se de uma relação "bilateral", uma vez que ambas as partes se influenciam mutuamente, mas ao mesmo tempo "assimétrica", visto de um lado termos um órgão, que é por sinal o maior órgão interno humano, e do outro lado, elementos que nem sequer chegam a ser células.

As plaquetas desempenham claramente um papel importante na RH. Estudos experimentais demonstraram que um aumento do número de plaquetas acelera e/ou aumenta o processo

regenerativo do fígado, quer a trombocitose seja induzida por esplenectomia, pela administração de PEG-rHuMGDF ou pela infusão directa de plaquetas na veia porta. Esse efeito positivo das plaquetas sobre a RH ocorre após diferentes estímulos lesivos: mecânicos (*e.g.*, HP), isquémicos ou químicos (*e.g.*, DMN ou CCl₄). Por outro lado, a trombocitopenia compromete a RH, como comprovaram os estudos utilizando soro anti-plaquetário.

A serotonina é fundamental na mediação entre a acção das plaquetas e as suas consequências no fígado. Não está completamente esclarecido se é necessária a presença das plaquetas em si ou apenas deste seu derivado (em conjunto com outros, eventualmente) para que ocorra uma promoção da RH.

Face ao estado-da-arte, e com o objectivo de criar novas estratégias terapêuticas para os indivíduos com doenças hepáticas crónicas e/ou com indicação para TH ou HP, mais estudos experimentais e clínicos são necessários para um maior esclarecimento dos mecanismos de acção das plaquetas sobre o fígado e do papel da serotonina nesses processos. A aplicabilidade clínica é evidente, nomeadamente se considerarmos que a maior parte dos doentes com indicação para TH tem contagens plaquetárias baixas, tendo sido já equacionado o uso terapêutico de agonistas da serotonina [13].

BIBLIOGRAFIA

1. World Health Organization (2008) Hepatitis B. Acedido em 10 de Janeiro de 2010, em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/index.html>
2. Sociedade Portuguesa de Gastrenterologia (2001) Hepatites víricas. Acedido em 18 de Fevereiro de 2010, em: <http://www.spg.pt/textos/?imc=85n31n44n49n>
3. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders 2004; 934-936
4. Wong LL, McFall P, Wong LMF. The cost of dying of end-stage liver disease. Arch Intern Med 1997; 157:1429-1432
5. Baumeister SE, Völzke H, Marschall P, John U, Schmidt CO, Flessa S, *et al.* Impact of fatty liver disease on health care utilization and costs in a general population: a 5-year observation. Gastroenterology 2008; 134:85-94
6. Dienstag JL, Chung RT. Liver transplantation. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J. Harrison's – Principles of Internal Medicine. 17th edition. New York: The McGraw-Hill Companies 2008; 304:1983-1990
7. Perkins JD. Cost of liver transplantation. Liver Transpl 2009; 15:342-343
8. Associação Portuguesa para o Estudo do Fígado (2008) Transplante hepático/Destaques Acedido em 18 de Fevereiro de 2010, em: <http://www.apecf.com.pt/?d=73>
9. Autoridade para os Serviços de Sangue e de Transplantação (2008) Actividade de colheita e transplantes - Relatório Estatístico de 2008. Acedido em 21 de Fevereiro de 2010, em: <http://www.asst.min-saude.pt/transplantacao/Paginas/RelatoriosActividade.aspx>
10. United Network for Organ Sharing (2010) Data - Waiting list candidates. Acedido em 7 de Junho de 2010, em: <http://www.unos.org/data/>
11. Guido C, Antonio P, Rodolfo M, Ercole B, Annalisa C. Liver Stem Cells and Possible Clinical Applications. Curr Stem Cell Res Ther 2010; (in press) PMID: 20528756
12. Abe T, Doi H, Okohchi N, Satomi S, Nakamura M, Endo Y. Platelets accumulation in the liver after partial hepatectomy. The role of platelets in liver regeneration. J Hepatol 2000; 32:88
13. Lesurtel M, Graf R, Aleil B, Walther DJ, Tian Y, Jochum W, *et al.* Platelet-derived serotonin mediates liver regeneration. Science 2006; 312:104-107
14. Lenhoff HM, Lenhoff SG. Abraham Trembley and the origins of research on regeneration in animals. In: Dinsmore CE. A History of Regeneration Research: Milestones in

- the Evolution of a Science. 1st edition. New York: Cambridge University Press 1991; 4:47
15. Carlson BM. Some principles of regeneration in mammalian systems. *The Anat Rec (Part B: New Anat)* 2005; 287B:4–13
 16. Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci* 2004; 9:283-289
 17. Stoick-Cooper CL, Moon RT, Weidinger G. Advances in signaling in vertebrate regeneration as a prelude to regenerative medicine. *Genes Dev* 2007; 21:1292-1315
 18. Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration. *Hepatology* 2006; 43:S45-S53
 19. Bucher N. Regeneration of mammalian liver. *Int Rev Cytol* 1963; 15:245-300
 20. Marcos A, Fisher RA, Ham JM, Shiffman ML, Sanyal AJ, Luketic VA, *et al.* Liver regeneration and function in donor and recipient after right lobe adult to adult living donor liver transplantation. *Transplantation* 2000; 69:1375-1379
 21. Fausto N, Campbell JS. The role of hepatocytes and oval cells in liver regeneration and repopulation. *Mech Dev* 2003; 120:117-130
 22. Bucher NLR, Malt RA. Regeneration of liver and kidney. *N Engl J Med Prog Ser* 1971; 31:278
 23. Vassilopoulos G, Wang PR, Russel DW. Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature* 2003; 422:901-904
 24. Wang X, Willenbring H, Akkari Y, Torimaru Y, Foster M, Al-Dhalimy M, *et al.* Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature* 2003; 422:897-901
 25. Kallis YN, Alison MR, Forbes SJ. Bone marrow stem cells and liver disease. *Gut* 2007; 56:716-724
 26. Fausto N, Riehle KJ. Mechanisms of liver regeneration and their clinical implications. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2005; 12:181–189
 27. Overturf K, al-Dhalimy M, Ou CN, Finegold M, Grompe M. Serial transplantation reveals the stem-cell-like regenerative potential of adult mouse hepatocytes. *Am J Pathol* 1997; 151:1273-1280
 28. Roskans T, Libbrecht L, Desmet V. Progenitor cells in diseased human liver. *Semin Liver Dis* 2003; 23:385-396
 29. Alison MR, Islam S, Lim S. Stem cells in liver regeneration, fibrosis and cancer: the good, the bad and the ugly. *J Pathol* 2009; 217:282-298

30. Tee LB, Kirilak Y, Huang WH, Morgan RH, Yeoh GCT. Differentiation of oval cells into duct-like cells in preneoplastic liver of rats placed on choline-deficient diet supplemented with ethionine. *Carcinogenesis* 1994; 15:2747-2756
31. Lazaro CA, Rhim JA, Yamada Y, Fausto N. Generation of hepatocytes from oval cell precursors in culture. *Cancer Res* 1998; 58:5514-22
32. Fujii H, Hirose T, Oe S, Yasuchika K, Azuma H, Fujikawa T, *et al.* Contribution of bone marrow cells to liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *J Hepatology* 2002; 36:653-659
33. Kollet O, Shivtiel S, Chen YQ, Suriawinata J, Thung SN, Dabeva MD, *et al.* HGF, SDF-1, and MMP-9 are involved in stress-induced human CD34⁺ stem cell recruitment to the liver. *J Clin Invest* 2003; 112:160-169
34. Thorgeirsson SS, Grisham JW. Hematopoietic cells as hepatocyte stem cells: a critical review of the evidence. *Hepatology* 2006; 43:2-8
35. Theise ND, Badve S, Saxena R, Henegariu O, Sell S, Crawford JM, *et al.* Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology* 2000; 31:235-240
36. Zimmermann A. Regulation of liver regeneration. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19:iv6-iv10
37. Sakamoto T, Liu ZJ, Murase N, Ezure T, Yokomuro S, Poli V, *et al.* Mitosis and apoptosis in the liver of interleukin-6-deficient mice after partial hepatectomy. *Hepatology* 1999; 29:403-411
38. Michalopoulos GK. Liver Regeneration after partial hepatectomy – Critical analysis of mechanistic dilemmas. *Am J Pathol* 2010; 176:2-13
39. Nagy P, Kiss A, Schnur J, Thorgeirsson SS. Dexamethasone inhibits the proliferation of hepatocytes and oval cells but not bile duct cells in rat liver. *Hepatology* 1998; 28:423-429
40. Lowes KM, Croager EJ, Lynyk JK, Abraham LJ, Yeoh GCT. Oval cell-mediated liver regeneration: Role of cytokines and growth factors. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18:4-12
41. Frojmovic MM, Panjwani R. Geometry of normal mammalian platelets by quantitative microscopic studies. *Biophys J* 1976; 16:1071-1089
42. Harker LA, Finch CA. Thrombokinetics in man. *J Clin Invest* 1969; 48:963-974
43. Kaushansky K. Thrombopoietin: the primary regulator of platelet production. *Blood* 1995; 86:419-443

44. Bentfeld-Barker ME, Bainton DF. Identification of primary lysosomes in human megakaryocytes and platelets. *Blood* 1982; 59:472-481
45. Nieuwenhuis HK, Oosterhout JJG, Rozemuller E, Iwaarden F, Sixma JJ. Studies with a monoclonal antibody against activated platelets: evidence that a secreted 53.00-molecular weight lysosome-like granule protein is exposed on the surface of activated platelets in circulation. *Blood* 1987; 70:838-845
46. Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Clowes AW, George JN. *Thrombosis and hemostasis: Basic principles and clinical practice*. 4th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2001; 429-446
47. Sixma JJ, Slot JW, Geuze HJ. Immunocytochemical localization of platelet granule proteins. *Methods Enzymol* 1989; 169:301–311
48. George JN. Platelets. *Lancet* 2000; 355:1531-1539
49. Pietramaggiore G, Scherer SS, Mathews JC, Gennaoui T, Lancerotto L, Ragno G, *et al.* Quiescent platelets stimulate angiogenesis and diabetic wound repair. *J Surg Res* 2010; 160:169–177
50. Boilard E, Nigrovic PA, Larabee K, Watts GFM, Coblyn JS, Weinblatt ME, *et al.* Platelets amplify inflammation in arthritis via collagen-dependent microparticle production. *Science* 2010; 327:580-583
51. Palomo I, Toro C, Alarcon, M. The role of platelets in the pathophysiology of atherosclerosis (Review). *Mol Med Rep* 2008; 1:179-184
52. Lesurtel M, Clavien PA. Platelets: a new cell type in liver physiology. In: Dufour JF, Clavien PA. *Signaling Pathways in Liver Diseases*. 2nd edition. Berlin: Springer-Verlag 2010; 7:105-113
53. Kuwashima Y, Aoki K, Kohyama K, Ishikawa T. Hepatocyte regeneration after partial hepatectomy occurs even under severely thrombocytopenic conditions in rat. *J Cancer Res* 1990; 81:607-612
54. Tomikawa M, Hashizume M, Hashishi H, Ohta M, Sugimachi K. The role of the spleen, platelets, and plasma hepatocyte growth factor activity on hepatic regeneration in rats. *J Am Coll Surg* 1996; 182:12–16
55. Murata S, Ohkohchi N, Matsuo R, Ikeda O, Myronovych A, Hoshi R. Platelets promote liver regeneration in early period after hepatectomy in mice. *World J Surg* 2007; 31:808-816

56. Murata S, Matsuo R, Ikeda O, Myronovych A, Watanabe M, Hisakura K, *et al.* Platelets promote liver regeneration under conditions of Kupffer cell depletion after hepatectomy in mice. *World J Surg* 2008; 32:1088-1096
57. Murata S, Hashimoto I, Nakano Y, Myronovych A, Watanabe M, Ohkohchi N. Single administration of thrombopoietin prevents progression of liver fibrosis and promotes liver regeneration after partial hepatectomy in cirrhotic rats. *Ann Surg* 2008; 248:821-828
58. Myronovych A, Murata S, Chiba M, Matsuo R, Ikeda O, Watanabe M, *et al.* Role of platelets on liver regeneration after 90% hepatectomy in mice. *J Hepatol.* 2008; 49:363-372
59. Matsuo R, Nakano Y, Murata S, Ohkohchi N. Platelet infusion therapy promotes liver regeneration after an extended hepatectomy in rats. *J Hepatol* 2009; 50:S311
60. Makino H, Togo S, Kubota T, Morioka D, Morita T, Kobayashi T, *et al.* A good model of hepatic failure after excessive hepatectomy in mice. *J Surg Res* 2005; 127:171–176
61. Nocito A, Georgiev P, Dahm F, Jochum W, Bader M, Graf R, *et al.* Platelets and platelet-derived serotonin promote tissue repair after normothermic hepatic ischemia in mice. *Hepatology* 2007; 45:369-376
62. Watanabe M, Murata S, Hashimoto I, Nakano Y, Ikeda O, Aoyagi Y, *et al.* Platelets contribute to the reduction of liver fibrosis in mice. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24:78-89
63. Kawasaki T, Murata S, Takahashi K, Nozaki R, Ohshiro Y, Ikeda N, *et al.* Activation of human liver sinusoidal endothelial cell by human platelets induces liver proliferation. *J Hepatol* 2010; S367
64. Alkozai EM, Nijsten MW, de Jong KP, de Boer MT, Peeters PM, Slooff MJ, *et al.* Immediate postoperative low platelet count is associated with delayed liver function recovery after partial liver resection. *Ann Surg* 2010; 251:300-306
65. Kim J, Yi NJ, Shin WY, Kim T, Lee KU, Suh KS. Platelet transfusion can be related to liver regeneration after living donor liver transplantation. *World J Surg* 2010; 34:1052–1058
66. Tyce GM. Origin and metabolism of serotonin. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990; 16:S1–S7
67. Lesurtel M, Soll C, Graf R, Clavien PA. Role of serotonin in the hepato-gastroIntestinal tract: an old molecule for new perspectives. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65:940-952

68. Fanburg BL, Lee SL. A new role for an old molecule: serotonin as a mitogen. *Am J Physiol* 1997; 272:L795-L806
69. Yang M, Srikiatkachorn A, Anthony M, Chong BH. Serotonin stimulates megakaryocytopoiesis via the 5-HT₂ receptor. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996; 7:127–133
70. Julius D, Livelli TJ, Jessell TM, Axel R. Ectopic expression of the serotonin 1c receptor and the triggering of malignant transformation. *Science* 1989; 244:1057-1062
71. Papadimas GK, Tzirogiannis KN, Panoutsopoulos GI, Demonakou MD, Skaltsas SD, Hereti RI, *et al.* Effect of serotonin receptor 2 blockage on liver regeneration after partial hepatectomy in the rat liver. *Liver Int* 2006; 26:352-361
72. Matsuo R, Ohkohchi N, Murata S, Ikeda O, Nakano Y, Watanabe M, *et al.* Platelets strongly induce hepatocyte proliferation with IGF-1 and HGF in vitro. *J Surg Res* 2008; 145:279-286

ANEXO 1 - Normas de publicação do Jornal Português de Gastreenterologia

Normas de Publicação  Jornal Português de Gastreenterologia

NORMAS DE PUBLICAÇÃO / INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS

GE-Jornal Português de Gastreenterologia publica artigos originais, artigos de revisão e casos clínicos sobre todos os temas do aparelho digestivo. Os manuscritos submetidos para publicação devem ser preparados de acordo com os "Requisitos Uniformes para Apresentação de Manuscritos a Revistas Biomédicas" elaborados pela Comissão Internacional de Editores de Revistas Médicas (N Engl J Med 1991; 324: 424-428).

Os artigos aceites para publicação passarão a ser propriedade da Sociedade Portuguesa de Gastreenterologia, não podendo ser reproduzidos, no todo ou em parte, sem autorização por escrito do Corpo Editorial da Revista.

A aceitação dos originais enviados para publicação será feita após apreciação por elementos do Conselho Científico cujos pareceres serão sempre comunicados aos autores; estes disporão de um período de seis semanas para eventuais modificações propostas. Os manuscritos recebidos que não estejam de acordo com as normas definidas serão devolvidos aos autores sem serem revistos.

NORMAS GERAIS | Os originais, em Português ou Inglês, devem ser enviados, acompanhados da declaração de originalidade e da cedência dos direitos de propriedade, sob uma das seguintes formas:

1. Em disquete, escritos utilizando os processadores de texto mais comuns e acompanhados de três cópias impressas;
2. Dactilografados (em triplicado) a dois espaços em folhas A4 com margens laterais não inferiores a 2,5 cm.

Para: GE-Jornal Português de Gastreenterologia, Av. António José de Almeida, n.º 5 F- 8.º - 1000-042 Lisboa.

Devem ser preparados, segundo a seguinte ordem, iniciando-se cada item numa página separada:

1. Página do título
2. Resumo
3. Introdução
4. Material e Métodos
5. Resultados
6. Discussão
7. Bibliografia
8. Legendas
9. Figuras
10. Quadros.

Todas as páginas devem ser numeradas no canto superior direito. A numeração das referências, tabelas e quadros deve ser feita pela ordem de aparecimento no texto.

1. PÁGINA DO TÍTULO (deve conter)

1.1. Título Deve ser conciso, não conter abreviações e não ultrapassar os 120 caracteres. Poderá englobar um subtítulo com um máximo de 45 caracteres.

1.2. Autores A identificação dos autores deve ser feita com a(s) inicial(is) do(s) primeiro(s) nome(s) e com o apelido. Deverá ser feita a identificação completa do serviço, departamento ou instituição onde o trabalho foi realizado.

1.3. Patrocínios - Deverão ser referidas todas as entidades que patrocinaram o trabalho.

1.4. Correspondência Referir o nome, endereço, telefone, fax e e-mail do autor a quem deve ser enviada a correspondência.

2. RESUMO

Os resumos são redigidos em Português e Inglês, não devendo ultrapassar as 200 palavras no caso de trabalhos originais e as 120 se se tratar de caso clínico.

Devem ser organizados segundo os seguintes itens: Introdução, Objectivos, Métodos, Resultados e Conclusões. Não devem conter abreviações, referências ou notas em rodapé.

3. TEXTO

Não deve ultrapassar as 12 páginas nos artigos originais e as 6 páginas nos casos clínicos. Deve incluir referência a aprovação da Comissão de Ética da Instituição e aos métodos estatísticos utilizados. Todas as drogas devem ser referidas pelo seu nome genérico, sendo eventuais referências a nomes comerciais, acompanhadas do nome, cidade e país do fabricante, feitas em rodapé. As abreviaturas, que são desaconselhadas, devem ser especificadas na sua primeira utilização. Os parâmetros utilizados devem ser expressos em Unidades



Setembro/Outubro | VOL 95

Internacionais, com indicação dos valores normais. A identificação das figuras deverá ser feita em numeração árabe, e a dos quadros em numeração romana.

4. BIBLIOGRAFIA

Deve ser referenciada em numeração árabe, por ordem de aparecimento no texto. Nos artigos originais ou de revisão não há limite preestabelecido de referências. Nos casos clínicos não devem ultrapassar as 15. As referências de comunicações pessoais e de dados não publicados serão feitas directamente no texto, não sendo numeradas. Deverão ser feitas utilizando as abreviaturas do Index Medicus.

Revistas: relação de todos os autores se não ultrapassar os seis ou dos seis primeiros seguido de et al., título do artigo e identificação da revista (nome, ano, volume e páginas). Ex: Johnson CD, Ahlquist DA. Computed tomography colonography (virtual colonoscopy): a new method for colorectal screening. *Gut* 1997; 112: 24-8.

Livros: Nome(s) do(s) autor(es), título, cidade e nome da editora, ano de publicação e página. Ex: Sherlock S. Diseases of the liver and biliary system. 9th edition. London: Blackwell Scientific Publications; 1989. p. 145.

Artigos em livro: Nome(s) e iniciais do(s) autor(es) do artigo (ou capítulo); título ou número do artigo ou capítulo, nomes e iniciais dos editores, título do livro, cidade e nome da casa editora, número de edição, ano de publicação, primeira e última páginas do artigo. Ex: Hotz J, Goebell H. Epidemiology and pathogenesis of gastric Carcinoma. In: Hotz J, Meyer HJ, Schmoll HJ, eds. Gastric carcinoma. Classification, diagnosis and therapy. 1st edition. New York: Springer-Verlag; 1989. p. 3-15.

5. LEGENDAS

Devem ser dactilografadas a dois espaços em folhas separadas e numeradas em sequência. As legendas devem ser numeradas em algarismos árabes pela sequência da citação no texto, e fornecerem a informação suficiente para permitir a interpretação da figura sem necessidade de consulta do texto.

6. FIGURAS

Todas as figuras são enviadas em triplicado em fotografia a preto e branco (10x15 ou 12x18cm) ou em impressão a impressora laser. A sua identificação será feita através do número e do título da figura e das iniciais do primeiro autor escritos num autocolante colocado no verso, que deverá ainda conter sinalização clara da sua parte superior. As letras e símbolos que apareçam nas figuras não poderão ser manuscritas (utilizar de preferência símbolos/letras decalcadas), devendo ser legíveis após eventual diminuição das dimensões da figura.

O número máximo de figuras e quadros será de 8 para os artigos originais e de 5 para os casos clínicos. A inclusão de figuras ou quadros a cores será feita a expensas dos autores.

7. QUADROS

Devem ser enviados em folhas separadas, dactilografados a 2 espaços, identificados com o número de aparecimento no texto (algarismos árabes) e com um título informativo na parte superior. Na parte inferior serão colocadas todas as notas informativas (abreviaturas, significado estatístico, etc.).

REVISÃO

As provas tipográficas serão revistas pelos autores. Será claramente especificado o prazo para devolução das provas revistas. O não cumprimento do prazo implica a aceitação pelos autores da revisão das provas efectuada pelos serviços da Revista.

IMAGENS EM GASTROENTEROLOGIA E HEPATOLOGIA

Esta secção do Jornal Português de Gastroenterologia (JPG) destina-se à publicação de imagens (clínicas, radiológicas, histológicas, cirúrgicas) relacionadas com casos gastroenterológicos ou hepatológicos. Proceder-se-á à publicação de um caso por número do JGE. A apresentação para publicação deve respeitar as seguintes normas:

1. Página do Título: título, autores até um máximo de três, Serviço e Instituição. O

título não deve conter mais de oito palavras;

2. As imagens deverão ser de elevada qualidade, com valor didáctico e enviadas em duplicado. Poderão ser a cores ou a preto e branco. Serão publicadas até um máximo de três figuras. As dimensões deverão situar-se entre 12x17cm e 18x24cm. As legendas deverão ser curtas e informativas. Poderão ser colocados setas ou outros símbolos numa das imagens. Deverá ser assinalado no verso o nome do primeiro autor e a porção superior da imagem.

3. Texto até 200 palavras, sem quadros ou gráficos. O texto deve incluir uma curta história clínica e se se justificar dados relevantes ao exame objectivo, exames laboratoriais e evolução clínica.

4. Poderão ser incluídas até cinco referências em página própria seguindo a ordem de citação no texto e com as regras do JGE.

5. Em página separada, deve ser referido o autor para correspondência, endereço, telefone, Fax e e-mail.

INSTANTÂNEOS ENDOSCÓPICOS

Esta Secção do "JGE - Jornal Português de Gastroenterologia", denominada de "Instantâneos Endoscópicos", destina-se à publicação de casos raros, didácticos ou novas técnicas em Gastroenterologia Endoscópica.

A apresentação para publicação deve respeitar o seguinte:

1. Página do Título: Autores, Serviço e Instituição;

2. Texto até duas páginas, formato A4, a 2 espaços e com corpo de letra 12, sem quadros;

3. Até três figuras, com pequenas legendas; as figuras referidas podem ser a cores;

4. Até cinco referências bibliográficas, em página própria, seguindo a ordem de citação no texto e de acordo com as regras estabelecidas (para as referências bibliográficas) nas "Normas de Publicação" do "JGE";

5. Em página separada, deve ser referido o autor para correspondência e seu endereço. 