



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

Γ Χειρουργική Κλινική, Π.Γ.Ν. Αττικόν
Διευθυντής: Καθηγητής Εμμανουήλ Πικουλής

**Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας «Ν.Σ.
Χρηστέας»**

Διευθυντής: Καθηγητής Κωνσταντίνος Κόντζογλου

**Η επίδραση του ουρσοδεοξυχολικού οξέος σε
παθολογοανατομικούς δείκτες ηπατικής αναγέννησης
ύστερα από ηπατεκτομή**

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Χ. ΠΑΠΑΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ
ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΝ ΜΕΛΟΣ ΔΕΠ:
ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΙΔΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ
ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΖΑΒΡΑΣ

ΑΘΗΝΑ 2021

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Θεμα: Η επίδραση του ουρσοδεοξυχολικού οξέος σε παθολογοανατομικούς δείκτες ηπατικής αναγέννησης ύστερα από ηπατεκτομή

Παπακωνσταντίνου Δημήτριος, Γενικός Χειρουργός

ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Ημερομηνία αίτησης: 13/06/2016

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 11/10/2016

Ημερομηνία ορισμού του θέματος: 02/05/2017

Ημερομηνία καταθέσεως διδακτορικής διατριβής: 20/12/2021

Μέλη τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής

Ζάβρας Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής Παιδοχειρουργικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (Επιβλέπων).

Αναστάσιος Μαχαίρας, Ομότιμος Καθηγητής Χειρουργικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Παύλος Πατάπης, Καθηγητής Χειρουργικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Επταμελής Επιτροπή

1. Ζάβρας Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής Παιδοχειρουργικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (Επιβλέπων).

2. Αναστάσιος Μαχαίρας, Ομότιμος Καθηγητής Χειρουργικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

3. Παύλος Πατάπης, Καθηγητής Χειρουργικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

4. Εμμανουήλ Πικουλής, Καθηγητής Χειρουργικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

5. Ευάγγελος Μισιακός, Καθηγητής Χειρουργικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

6. Ανέστης Χαραλαμπόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

7. Κωνσταντίνος Νάστος, Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Πρόεδρος της Ιατρικής Σχολής: Καθηγητής Γεράσιμος Δ. Σιάσος.

Βαθμός της Διδακτορικής Διατριβής: Άριστα

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ	4
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	24
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	25
ABSTRACT	26
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	27
1. Ηπατική αναγέννηση	28
1.1 Εισαγωγή	28
1.2 Πρώιμη φάση ηπατικής αναγέννησης μετά από ηπατεκτομή.....	28
1.3 Ο ρόλος των κυττάρων του ηπατικού παρεγχύματος	29
1.4 Απώτερα γεγονότα και τερματισμός της ηπατικής αναγέννησης.....	32
2. Εξωκυτάρια μοριακά συστήματα στην ηπατική αναγέννηση.....	34
2.1 Εισαγωγή	34
2.2 Αυξητικοί παράγοντες	35
2.3 Ο ρόλος της συστηματικής φλεγμονώδους απόκρισης	38
3. Ο ρόλος της κυκλοξυγενάσης 2 (COX-2)	40
3.1 Εισαγωγή	40
3.2 Δομικές και λειτουργικές διαφορές μεταξύ COX-1 και COX-2.....	40
3.3 Η επίδραση της COX-2 στην ιστική αναγέννηση.....	42
3.4 Η σημασία της COX-2 στην ηπατική αναγέννηση.....	43
4. Τα Χολικά Οξέα στην ηπατική αναγέννηση.....	45
4.1 Εισαγωγή	45
4.2 Διαδικασία ρύθμισης της παραγωγής χολικών οξέων	45
4.3 Η σημασία της ομοίωσης των χολικών οξέων κατά την ηπατική αναγέννηση ...	47
4.5 Η επίδραση της εξωγενούς χορήγησης UDCA στην ηπατική αναγέννηση.....	50
5. Πειραματικά μοντέλα ηπατικής αναγέννησης μετά από ηπατεκτομή	51
5.1 Εισαγωγή	51
5.2 Μερική (2/3) ηπατεκτομή	51
5.3 Εκτεταμένη ηπατεκτομή	52
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	53
1. Εισαγωγή.....	54
2. Υλικό και Μέθοδοι.....	55
2.1 Ζωικά πρότυπα.....	55
2.2 Σχεδιασμός της μελέτης	56
2.3. Αναισθησία.....	56
2.4 Χειρουργική επέμβαση.....	56
2.5 Ανοσοϊστοχημική μελέτη και μέτρηση επιπέδων TNFα.....	57

2.6 Σκορ έκφρασης της COX-2.....	57
2.7 Στατιστική.....	59
3. Αποτελέσματα.....	60
3.1 Ποσοτικοποίηση της αναγεννητικής απόκρισης.....	60
3.2 Έκφραση COX-2 και ανοσοϊστοχημεία.....	60
3.3 Μέτρηση επιπέδων TNFα και συσχέτιση.....	63
4. Συζήτηση.....	65
ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ.....	69
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	70

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ

HGF = Hepatocyte Growth Factor, ηπατοκυτταρικός αυξητικός παράγοντας

uPA = Urokinase-type Plasminogen Activator

NF-kB = Nuclear Factor – kB

STAT3 = Signal Transducer and Activator of Transcription 3

TGF-b1 = Transforming Growth Factor – b1

FXR = Farnesoid X Receptor

YAP = Yes Associated Protein

mRNA = messenger Ribonucleic Acid

IL- = Interleukin –

TNF = Tumor Necrosis Factor

ECM = Extracellular Matrix

ILK = Integrin-Linked Kinase

HNF4a = Hepatocyte Nuclear Factor 4a

C/EPBa = CCAAT/enhancer-binding-protein alpha

EGFR = Epidermal Growth Factor Receptor

MAPK/ERK = Mitogen-Activated Protein Kinases

JNK = c-Jun terminal Kinases

Akt = Protein kinase B

CYP7A1 = Cholesterol 7 alpha-hydroxylase, cytochrome P450 A1

ICAM-1 = Intracellular Adhesion Molecule 1

MyD88 = Myeloid Differentiation Primary Response 88

TLR = Toll-Like Receptor

LPS = Lipopolysaccharide

REF-1 = Rubber Elongation Factor 1

GPx-1 = Glutathione Peroxidase 1

COX-2 = Cyclooxygenase 2

AA = Arachidonic Acid

PGG₂ = Prostaglandin G₂

PGH₂ = Prostaglandin H₂

Ptgs = Prostaglandin-Endoperoxide Synthase

cAMP = Cyclic Adenosine Monophosphate

PGI₂ = Prostaglandin I₂

TXA₂ = Thromboxane A₂

TGR5 = G-protein-coupled bile acid receptor 1

CYP7A1 = cholesterol-7 α -hydroxylase

FGF19 = Fibroblast Growth Factor 19

FGFR4 = Fibroblast Growth Factor Receptor 4

KLB = Klotho – Beta

Foxm1b = Forkhead box protein m1

TIMP-1 = Tissue Metalloproteinase Inhibitor 1

IQR = Interquartile range

Tmub1 = ubiquitin-like domain-containing protein 1

Nrf2 = nuclear factor-E2-related factor 2

Keap 1 = Kelch-like E3-associated protein

ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ ΚΕΙΜΕΝΟ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ
 ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥ-
 ΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ
 ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ, ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ
 ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ
 ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗ-
 ΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΑΥΤΟΥ ΑΔΕΛΦΕΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ
 ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝ-
 ΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΣ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ
 ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗ-
 ΣΕΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝΤΟΣ ΚΑΙ
 ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΞΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣ ΤΕ ΚΑΙ ΟΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ
 ΙΗΤΡΙΚΩ ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ, ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ’
 ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ
 ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗΝ ΕΙΡΞΕΙΝ, ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ
 ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ
 ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ.
 ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ
 ΤΗΝ ΕΜΗΝ, ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ
 ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙΝ ΠΡΗΒΙΟΙΣ ΤΗΣΔΕ, ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ
 ΕΣΙΩ, ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΑΠ’ ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ
 ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟ-
 ΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΕΙΩΝ,
 ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ, Α Δ’ ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ Η ΙΔΩ Η
 ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ
 ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ
 ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ
 ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧ-
 ΝΗΣ, ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟ-
 ΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΕΟΝΤΙ, ΤΑΛΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

ΟΡΚΙΖΟΜΑΙ ΣΤΟΝ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΤΟΝ ΙΑΤΡΟ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΑΣΚΛΗΠΙΟ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΠΑΝΑΚΕΙΑ ΚΑΙ Σ' ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΘΕΟΥΣ ΚΑΙ ΤΙΣ ΘΕΕΣ, ΠΟΥ ΒΑΖΩ ΜΑΡΤΥΡΕΣ, ΟΤΙ ΘΑ ΕΚΠΛΗΡΩΣΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ ΚΑΙ ΤΟ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ ΑΥΤΟ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ ΟΤΙ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΕΚΕΙΝΟΝ ΠΟΥ ΜΟΥ ΔΙΔΑΞΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗ ΊΣΟΝ ΜΕ ΤΟΥΣ ΓΟΝΕΙΣ ΜΟΥ, ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΚΑΝΩ ΚΟΙΝΩΝΟ ΤΟΥ ΒΙΟΥ ΜΟΥ, ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΥ ΠΡΟΣΦΕΡΩ ΑΠΟ ΤΑ ΔΙΚΑ ΜΟΥ ΟΤΙ ΧΡΕΙΑΖΕΤΑΙ ΤΟΥΣ ΑΠΟΓΟΝΟΥΣ ΤΟΥ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΩΣ ΑΔΕΛΦΟΥΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΥΣ ΔΙΔΑΞΩ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗ, ΑΝ ΕΠΙΘΥΜΟΥΝ ΝΑ ΜΑΘΟΥΝ ΧΩΡΙΣ ΜΙΣΘΟ ΚΑΙ ΧΩΡΙΣ ΣΥΜΦΩΝΙΑ, ΟΤΙ ΘΑ ΜΕΤΑΔΩΣΩ ΤΟΥΣ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΟΥΣ ΚΑΝΟΝΕΣ, ΤΑ ΘΕΩΡΗΤΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΙΣ ΥΠΟΛΟΙΠΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΣΤΟΥΣ ΓΙΟΥΣ ΜΟΥ, ΣΤΟΥΣ ΓΙΟΥΣ ΤΟΥ ΔΙΔΑΣΚΑΛΟΥ ΜΟΥ, ΚΑΙ ΣΕ ΜΑΘΗΤΕΣ ΠΟΥ ΘΑ ΕΧΟΥΝ ΣΥΝΔΕΘΗ ΜΑΖΙ ΜΟΥ ΜΕ ΟΡΚΟ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ, ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΥΝΗΘΕΙΑ ΤΩΝ ΙΑΤΡΩΝ, ΚΑΙ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ ΑΛΛΟ.

ΘΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΩ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΔΙΑΙΤΑ ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΩΦΕΛΕΙΑ ΤΩΝ ΑΡΡΩΣΤΩΝ, ΟΣΟ ΕΞΑΡΤΑΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ, ΚΑΙ (ΥΠΟΣΧΟΜΑΙ ΟΤΙ) ΘΑ ΤΟΥΣ ΠΡΟΦΥΛΑΞΩ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΒΛΑΒΗ ΚΑΙ ΑΔΙΚΙΑ.

ΔΕΝ ΘΑ ΧΟΡΗΓΗΣΩ ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΟ ΦΑΡΜΑΚΟ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ, ΟΣΟ ΚΑΙ ΑΝ ΠΑΡΑΚΛΗΘΩ, ΟΥΤΕ ΘΑ ΥΠΟΔΕΙΞΩ ΤΕΤΟΙΑ ΣΥΜΒΟΥΛΗ, ΕΠΙΣΗΣ ΔΕΝ ΘΑ ΔΩΣΩ ΣΕ ΓΥΝΑΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΟ ΕΚΤΡΩΤΙΚΟ. ΑΓΝΗ ΚΑΙ ΚΑΘΑΡΗ ΘΑ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΤΗ ΖΩΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ. ΔΕΝ ΘΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΗΣΩ ΟΠΩΣΔΗΠΟΤΕ ΑΥΤΟΥΣ ΠΟΥ ΠΑΣΧΟΥΝ ΑΠΟ ΠΕΤΡΑ, ΑΛΛΑ ΘΑ ΑΦΗΣΩ ΤΗΝ ΠΡΑΞΗ ΑΥΤΗ ΣΤΟΥΣ ΕΞΑΣΚΗΜΕΝΟΥΣ. ΣΕ ΟΣΑ ΣΠΙΤΙΑ ΠΡΟΣΚΑΛΟΥΜΑΙ, ΘΑ ΜΠΑΙΝΩ ΓΙΑ ΤΟ ΚΑΛΟ ΤΩΝ ΑΡΡΩΣΤΩΝ, ΚΡΑΤΩΝΤΑΣ ΤΟΝ ΕΑΥΤΟ ΜΟΥ ΜΑΚΡΙΑ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΘΕΛΗΜΑΤΙΚΗ ΑΔΙΚΙΑ Η ΑΛΛΗ ΔΙΑΦΘΟΡΑ ΚΑΙ ΠΡΟ ΠΑΝΤΩΝ ΜΑΚΡΙΑ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΑΦΡΟΔΙΣΙΑΚΗ ΠΡΑΞΗ ΣΕ ΣΩΜΑΤΑ ΓΥΝΑΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ Η ΔΟΥΛΩΝ.

ΟΣΑ ΔΕ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΘΑ ΔΩ Η ΘΑ ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΠΕΡΑ ΑΠΟ ΤΙΣ ΑΣΧΟΛΙΕΣ ΜΟΥ ΣΤΗΝ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗ ΖΩΗ, ΟΣΑ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΠΟΤΕ ΝΑ ΚΟΙΝΟΛΟΓΟΥΝΤΑΙ ΣΤΟΥΣ ΕΞΩ, ΘΑ ΤΑ ΑΠΟΣΙΩΠΩ, ΥΠΟΛΟΓΙΖΟΝΤΑΣ ΟΤΙ ΑΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΙΕΡΑ ΜΥΣΤΙΚΑ. ΟΣΟ ΛΟΙΠΟΝ ΘΑ ΤΗΡΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ, ΚΑΙ ΔΕΝ ΘΑ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΙΑΣΩ, ΕΙΘΕ ΝΑ ΠΕΤΥΧΑΙΝΩ ΣΤΗ ΖΩΗ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ, ΕΧΟΝΤΑΣ ΚΑΛΟ ΟΝΟΜΑ ΠΑΝΤΟΤΕ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ ΕΑΝ ΟΜΩΣ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΩ ΚΑΙ ΓΙΝΩ ΕΠΙΟΡΚΟΣ. ΝΑ ΠΑΘΩ ΤΑ ΑΝΤΙΘΕΤΑ.

Στην οικογένειά μου

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

ΟΝΟΜΑ: Δημήτριος

ΕΠΩΝΥΜΟ: Παπακωνσταντίνου

ΠΑΤΡΩΝΥΜΟ: Χρήστος

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: 05/01/1990

ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: Αθήνα, Αττική, Ελλάδα

E-MAIL: Dimpara7@hotmail.com

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- **Νοέμβριος 2016 – σήμερα:**

Υποψήφιος Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών με αριθμό πρωτοκόλλου:

Τίτλος Διατριβής: Η επίδραση του ουρσοδεοξυχολικού οξέος σε παθολογοανατομικούς δείκτες ηπατικής αναγέννησης ύστερα από ηπατεκτομή.

Επιβλέπων Καθηγητής: Αναπληρωτής Καθηγητής Παιδοχειρουργικής, Νικόλαος Ζάβρας.

- **Νοέμβριος 2016 – σήμερα:**

Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.Σ. Χρηστέας».

Αντικείμενο: πειραματική χειρουργική σε μοντέλα ηπατικής ανεπάρκειας σε επίμυες.

- **Σεπτέμβριος 2007 – Αύγουστος 2013:**

Ιατρική Σχολή Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Βαθμός πτυχίου: 8/10 (Λίαν Καλώς).

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

○ **Δεκέμβριος 2021 – σήμερα:**

Χειρουργός (σε παράταση ειδικότητας στη Γ' Πανεπιστημιακή Χειρουργική Κλινική του Π.Γ.Ν. «Αττικόν», Διευθυντής: Καθηγητής Εμμανουήλ Πικουλής.

○ **Μάρτιος 2021:**

Απόκτηση τίτλου ειδικότητας Χειρουργικής.

○ **Οκτώβριος 2020 – Νοέμβριος 2020:**

Εκπαιδευτική άδεια από το Π.Γ.Ν. «Αττικόν» με σκοπό την εκπαίδευση στην προηγμένη ελάχιστα επεμβατική χειρουργική πεπτικού, στο νοσοκομείο CHU-IHU, Στρασβούργο, Γαλλία

- Συμμετοχή σε λαπαροσκοπικά χειρουργία πεπτικού και κηλών του κοιλιακού τοιχώματος.
- Εκπαίδευση στη χρήση της ρομποτικής πλατφόρμας Da Vinci.
- Συμμετοχή σε ογκολογικά συμβούλια για κακοήθειες του παχέος εντέρου και του ορθού

○ **Μάρτιος 2015 – Δεκέμβριος 2021:**

Ειδικευόμενος Χειρουργός στη Γ' Πανεπιστημιακή Χειρουργική Κλινική του Π.Γ.Ν. «Αττικόν», Διευθυντής: Καθηγητής Εμμανουήλ Πικουλής (2018-2021) και Καθηγητής Αναστάσιος Μαχαίρας (2015-2018).

○ **Νοέμβριος 2013 – Νοέμβριος 2014:**

Ιατρός Υπηρεσίας Υπαίθρου στο Π.Ι. Αγίου Κωνσταντίνου – Κ.Υ. Αταλάντης
Ιατρός Τ.Ε.Π. του Γ.Ν. «Λαμίας».

ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ / ΗΜΕΡΙΔΕΣ

1. Σεπτέμβριος 2021: 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λαπαροενδοσκοπικής Χειρουργικής και 12^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής της Παχυσαρκίας, Λάρισα (22 CME/CPD credits).

2. Ιούνιος 2021: 32^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Forum, Θεσσαλονίκη (32 CME/CPD credits).
3. Σεπτέμβριος 2020: The International Hernia Symposium, webinar.
4. Νοέμβριος 2019: 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ογκολογίας, Αθήνα.
5. Οκτώβριος 2019: 16^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικών Λοιμώξεων, Θεσσαλονίκη (28 CME/CPD credits).
6. Ιούλιος 2019: 6th WSES Congress, Nijmegen, Netherlands.
7. Μάιος 2019: 2^ο εκπαιδευτικό σεμινάριο «Ελάχιστα Επεμβατική Χειρουργική Κηλών του Κοιλιακού Τοιχώματος», Αθήνα (11 CME/CPD credits).
8. Νοέμβριος 2018: 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Χειρουργικό Forum, Αθήνα (9 CME/CPD credits).
9. Νοέμβριος 2016: 30^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Χειρουργικό Forum, Θεσσαλονίκη.
10. Νοέμβριος 2016: Ελάχιστα επεμβατική χειρουργική κηλών του κοιλιακού τοιχώματος, Αθήνα (3 CME/CPD credits).

ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΑ ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ & ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

- ο Σεπτέμβριος 2021: Μετεκπαιδευτικό πρόγραμμα στη λαπαροσκοπική χειρουργική (Intensive Course in General Surgery) του Ινστιτούτου IRCAD/Université de Strasbourg, Στρασβούργο (32 CME/CPD)

- Φεβρουάριος 2020: Μετεκπαιδευτικό σεμινάριο της Ελληνικής Χειρουργικής εταιρείας με τίτλο «Χειρουργική Φροντίδα στις Καταστροφές», ΕΛΠΕΝ, Αθήνα (18 CME/CPD credits).
- Ιούνιος 2018: Συμμετοχή ως διδάσκων στο Π.Μ.Σ. «Κλινική Παιδιατρική και Νοσηλευτική Έρευνα» της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Τίτλος μαθήματος: «Ειδικά Παιδοχειρουργικά Θέματα», Αθήνα.
- Μάιος 2019: Εκπαιδευτικό σεμινάριο στο Ρομποτικό Σύστημα Da Vinci Xi, Αθήνα.
- Νοέμβριος 2018: Εκπαιδευτικό σεμινάριο τοποθέτησης port, picc και midline, με τίτλο: «Βασικά ανατομικά στοιχεία & αρχές αγγειακής προσπέλασης», Ηράκλειο.
- Μάιος 2018: Μετεκπαιδευτικό σεμινάριο της Ελληνικής Χειρουργικής εταιρείας με τίτλο «Βασικές αρχές λαπαροσκοπικής χειρουργικής», ΕΛΠΕΝ, Αθήνα (18 CME/CPD credits).
- United States Medical Licensing Exam (usmle) Step 1 (Score 264)
- United States Medical Licensing Exam (usmle) Step 2 (Score 268)

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ & ΟΜΙΛΙΕΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λαπαροενδοσκοπικής Χειρουργικής και 12^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής της Παχυσαρκίας (2021).
Αναρτημένη ανακοίνωση: «Η εφαρμοσιμότητα της λαπαροσκοπικής χειρουργικής στο Αττικό Νοσοκομείο. Η εμπειρία της κλινικής μας».
 Μπομπέτση Γ, Παπακωνσταντίνου Δ, Μάγιας Γ, Κωφόπουλος-Λυμπέρης Ε, Θεοδωρίδης Χ, Κιρκιλέσης Γ, Δελλαπόρτας Δ, Ναστός Κ, Πικούλης Ε.
2. 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λαπαροενδοσκοπικής Χειρουργικής και 12^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής της Παχυσαρκίας (2021).
Αναρτημένη ανακοίνωση: «Λαπαροσκοπική σκωληκοειδεκτομή στην καθημερινή κλινική πράξη: Η εμπειρία μιας πανεπιστημιακής κλινικής».

Μπαγιας Γ, **Παπακωνσταντίνου Δ**, Μπομπέτση Γ, Κωφόπουλος-Λυμπέρης Ε, Περδικάρης Μ, Θεοδωρίδης Χ, **Κιρκιλέσης Γ**, **Παχούλη Ε**, **Κωνσταντίνου Α**, **Καβέζου Φ**, **Πικουλής Ε**, **Μισιακός Ε**.

3. 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λαπαροενδοσκοπικής Χειρουργικής και 12^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής της Παχυσαρκίας (2021).

Αναρτημένη ανακοίνωση: «Λαπαροσκοπική οπισθοπεριτοναϊκή επινεφριδεκτομή για αδένωμα επινεφρίδιου: χειρουργική τεχνική».

Μπαγιας Γ, **Παπακωνσταντίνου Δ**, Μπομπέτση Γ, Κωφόπουλος-Λυμπέρης Ε, Περδικάρης Μ, Θεοδωρίδης Χ, Παχούλη Ε, Κωνσταντίνου Α, Καβέζου Φ, Πικουλής Ε, Νάστος Κ.

4. 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λαπαροενδοσκοπικής Χειρουργικής και 12^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής της Παχυσαρκίας (2021).

Προφορική ανακοίνωση: «Προσδοκίες και αποτίμηση πιλοτικής εκπαίδευσης στη λαπαροσκοπική χειρουργική με τη χρήση προσομοιωτών εικονικής πραγματικότητας και υψηλής ευκρίνειας: Η περίπτωση του κέντρου εκπαίδευσης του Αττικού Νοσοκομείου».

Πικουλής Ε, Κουλουβάρης Π, Λυκούδης Π, Καβεζού Φ, **Παπακωνσταντίνου Δ**, Νάστος Ν, Κωφόπουλος Ε, Καραμαγκιόλη Ε, Βασιλείου Π.

5. 32^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Forum (2021),

Προφορική ανακοίνωση: «Χειρουργική αντιμετώπιση ασθενούς με παγκρεατούπεζωκοτικό συρίγγιο μετά από σπληνεκτομή».

Κολιάκος Ν, **Παπακωνσταντίνου Δ**, Ρέππας Λ, Πολύμερος Δ, Ντόμη Β, Σταυράτης Φ, Περδικάρης Μ, Μπακόπουλος Α, Μαρτίκος Γ, Πικουλής Ε, Κωφόπουλος Ε.

6. 32^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Forum (2021),

Προφορική ανακοίνωση: «Σύνδρομο Mirizzi τύπου Ι σε ασθενή με ανατομική παραλλαγή οπίσθιου ελικοειδούς κυστικού πόρου».

Κολιάκος Ν, Περδικάρης Μ, **Παπακωνσταντίνου Δ**, Κολλάρας Β, Κωφόπουλος Ε, Ντόμη Β, Μπακόπουλος Α, Πολύμερος Δ, Χαραλαμπίδης Α, Πικουλής Ε.

7. 32^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Forum (2021),

Προφορική ανακοίνωση: «Η επιρροή της πανδημίας COVID-19 στη διαχείριση των επειγόντων χειρουργικών περιστατικών: Η εμπειρία ενός τεταρτοβάθμιου κέντρου αναφοράς».

- Κολιάκος Ν, **Παπακωνσταντίνου Δ**, Κολλάρας Β, Πασπάλα Α, Κωφόπουλος Ε, Μπακόπουλος Α, Νάστος Κ, Λυκούδης Π, Μαρτίκος Γ, Πικουλής Ε.
8. 32^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Forum (2021),
Αναρτημένη ανακοίνωση: «Σπάνια περίπτωση καρκίνου παραθυρεοειδούς σε αιμοκαθαρίσιμο ασθενή με σύνδρομο MEN-1».
 Πασπάλα Α, Νάστος Κ, **Παπακωνσταντίνου Δ**, Μπομπέτση Γ, Κιρκιλέσης Γ, Περδικάρης Μ.
9. 32^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Forum (2021),
Αναρτημένη ανακοίνωση: «Ο προγνωστικός ρόλος των μεταλλάξεων του RAS στην επιβίωση ασθενών με ηπατικές μεταστάσεις από κολοορθικό καρκίνο».
Παπακωνσταντίνου Δ, Θεοδοριδής Χ, Πασπάλα Α, Κολιάκος Ν, Κωφόπουλος Ε, Σταυράτης Φ, Μπομπέτση Γ, Νάστος Κ, Περδικάρης Μ, Πικουλής Ε.
10. 32^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Forum (2021),
Αναρτημένη ανακοίνωση: «Σύγκλιση ειλεοστομίας: νοσηρότητα κι επιπλοκές. Αναδρομική μελέτη σε ασθενείς με καλοήθη και κακοήθη νοσήματα παχέος εντέρου».
Παπακωνσταντίνου Δ, Χαραλαμπίδης Α, Κοπανάκης Κ, Κολιάκος Ν, Κωφόπουλος Ε, Μπομπέτση Γ, Παχούλη Ε, Κιρκιλέσης Γ, Πικουλής Ε.
11. 32^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Forum (2021),
Αναρτημένη ανακοίνωση: «Λαπαροσκοπική αφαίρεση ευμεγέθους κύστης σπληνός σε έφηβο».
 Δημοπούλου Α, Νικάκη Μ, Ιακωμίδης Ε, **Παπακωνσταντίνου Δ**, Δημοπούλου Δ, Φεσσάτου Σ, Σαλάκος Χ, Ζάβρας Ν.
12. 32^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Forum (2021),
Αναρτημένη ανακοίνωση: «Έκτοπος θυρεοειδικός ιστός σε έφηβο με συγγενή απλασία θυρεοειδούς αδένα. Παρουσίαση ενός σπάνιου περιστατικού».
 Δημοπούλου Α, Ιακωμίδης Ε, **Παπακωνσταντίνου Δ**, Δημοπούλου Δ, Δημοπούλου Κ, Προίκας Κ, Ζάβρας Ν.
13. 32^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Forum (2021),

Αναρτημένη ανακοίνωση: «Διατήρηση των σπληνικών αγγείων σε παγκρεατεκτομή λόγω βλενωδούς κυστικού νεοπλάσματος: Παρουσίαση περιστατικού».

Ζάβρας Ν, Δημοπούλου Α, Ιακωμίδης Ε, **Παπακωνσταντίνου Δ**, Κολιάκος Ν, Πασπάλα Α, Κωφόπουλος Ε, Πικουλής Ε.

14. 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ογκολογίας (2019),

Προφορική ανακοίνωση: «Προγνωστικοί βιοδείκτες για αναστομωτική διαφυγή μετά από κολεκτομή για κακοήθεια».

Παπακωνσταντίνου Δ, Σταυράτης Φ, Κολλάρας Β, Κολιάκος Ν, Πατάπης Π, Μισιακός Ε.

15. 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής Ογκολογίας (2019),

Αναρτημένη ανακοίνωση: «Η προεγχειρητική σαρκοπενία ως προγνωστικός δείκτης για μετεγχειρητικές επιπλοκές: μέτα-ανάλυση».

Παπακωνσταντίνου Δ, Πασπάλα Α, Κωφόπουλος Ε, Μπομπέτση Γ, Πατάπης Π, Χαραλαμπίδης Α.

16. 6th WSES Congress (2019),

Αναρτημένη ανακοίνωση: «Early predictors of injury severity in blunt trauma».

Papakonstantinou D, Kofopoulos E, Paspala A, Stavratou F, Ntomi V, Koliakos N, Kollaras B, Mprometsi G, Perdikaris M, Misiakos E

17. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Χειρουργικό Forum (2018),

Αναρτημένη ανακοίνωση: “Small bowel perforation due to overt peritoneal carcinomatosis from lung cancer.”

Παπακωνσταντίνου Δ, Μισιακός Ε, Πασπάλα Α, Κολιάκος Ν, Κωφόπουλος Ε, Πατάπης Π, Μαχαίρας Α.

18. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Χειρουργικό Forum (2018),

Αναρτημένη ανακοίνωση: «Σπάνια περίπτωση γιγαντιαίου ασυμπτωματικού φαιοχρωμοκυττώματος».

Παπακωνσταντίνου Δ, Μαχαίρας Ν, Κολιάκος Ν, Πασπάλα Α, Κολλάρας Β, Μισιακός Ε, Μαχαίρας Α.

19. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Χειρουργικό Forum (2018),

Αναρτημένη ανακοίνωση: «Ευμεγέθης επιπλεγμένης επιδερμοειδής κύστη περινέου και γλουτού».

Χαραλαμπόπουλος Α, **Παπακωνσταντίνου Δ**, Κολιάκος Νικόλαος, Πασπάλα Α, Κολλάρας Β, Κοπανάκης Κ, Ουζούνης Γ, Ζάβρας Ν, Πικουλής Ε.

20. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Χειρουργικό Forum (2018),

Αναρτημένη ανακοίνωση: «Πρωτοπαθές κακόηθες μελάνωμα 12δακτύλου σε εβδομηντάχρονη ασθενή: αναφορά μιας σπάνιας περίπτωσης».

Πασπάλα Α, Μαχαίρας Ν, **Παπακωνσταντίνου Δ**, Κολιάκος Ν, Κολλάρας Β, Μισιακός Ε, Πατάπης Π, Μαχαίρας Α.

21. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Χειρουργικό Forum (2018),

Αναρτημένη ανακοίνωση: «Σπάνια περίπτωση μεταστατικής βλάβης χοληδόχου πόρου από πλακώδες Ca πνεύμονα».

Πασπάλα Α, Μαχαίρας Ν, Βασιλεία Ν, Σχίζας Δ, **Παπακωνσταντίνου Δ**, Κολιάκος Ν, Μισιακός Ε, Μαχαίρας Α.

22. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Χειρουργικό Forum (2018),

Αναρτημένη ανακοίνωση: «Η επίδραση της προεγχειρητικής χορήγησης ουρσοδεοξυχολικού οξέος στην ηπατική αναγέννηση επίμυων μετά από εκτεταμένη ηπατεκτομή: Πειραματική μελέτη».

Πασπάλα Α, **Παπακωνσταντίνου Δ**, Μαχαίρας Ν, Παύλου Κ, Ντόμη Β, Κολιάκος Ν, Κολλάρας Β, Δανιάς Ν, Πατάπης Π, Μαχαίρας Α.

23. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Χειρουργικό Forum (2018),

Προφορική ανακοίνωση: «Συντηρητική vs χειρουργική θεραπεία στο πρώτο επεισόδιο οξείας σκωληκοειδίτιδας».

Χαραλαμπόπουλος Α, Κολιάκος Ν, **Παπακωνσταντίνου Δ**, Κολλάρας Β, Κοπανάκης Κ, Ουζούνης Γ, Ζάβρας Ν, Πικουλής Ε.

24. 13th International Hepato-Pancreato Biliary Association (IHPBA) congress (2018),

Αναρτημένη ανακοίνωση: “White blood cell and platelet indices as indicators of pancreatic tumor type and disease stage”.

Machairas N, Kostakis I, **Papaconstantinou D**, Paspala A, Koliakos N, Ntomi V, Zavras E, Misiakos E, Patapis P, Machairas A.

25. 30^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Forum (2016),
Προφορική ανακοίνωση: «Ενδοκοιλιακή λοίμωξη λόγω εναπομείναντων χολολίθων από προηγηθείσα λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή».
Παπακωνσταντίνου Δ, Κολιάκος Ν, Σωτηρόπουλος Δ, Ντόμη Β, Πασπάλα Α, Πατάπης Π, Μαρτίκος Γ, Τζανετής Π, Μαχαίρας Α.
26. 30^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Διεθνές Χειρουργικό Forum (2016),
 Στρογγυλή τράπεζα: Η ειδικότητα της χειρουργικής – προβλήματα και προοπτικές: Η άποψη του ειδικευόμενου.
 Προεδρείο: Παρασκευόπουλος Ι, Χατζηθεόκλητος Ε.
Ομιλία: «Η ειδικότητα σε πανεπιστημιακής χειρουργική κλινικής του κέντρου».

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ

1. Koliakos N, Renieris G, Domi V, **Papakonstantinou D**, Kollaras V, Paspala A, Perdikaris M, Bakopoulos A, Martikos G, Misiakos E, Pikoulis E. A study of sliding inguinal hernias in a patient population of a tertiary hospital in Greece. 42nd Annual European Hernia Society Congress 2020. *Hernia* 24, 1–112 (2020).
2. Koliakos N, Misiakos E, **Papakonstantinou D**, Paspala A, Mpompetsi G, Perdikaris M, Stavratz F, Domi V, Martikos G, Pikoulis E. Enterocutaneous fistula following laparoscopic repair of inguinal hernia: a case report. 42nd Annual European Hernia Society Congress 2020. *Hernia* 24, 1–112 (2020).
3. Koliakos N, **Papakonstantinou D**, Bakopoulos A, Kollaras V, Kofopoulos-Lymeris E, Theodoridis C, Domi V, Nastos K, Charalampopoulos A, Pikoulis E. Intestinal erosion following inguinal hernia repair: a systematic review. 42nd Annual European Hernia Society Congress 2020. *Hernia* 24, 1–112 (2020).
4. Machairas N, Kostakis I, **Papaconstantinou D**, Paspala A, Koliakos N, Ntomi V, et al. White blood cell and platelet indices as indicators of pancreatic tumor type and disease stage. *HPB*. 2018;20:S551.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ PEER-REVIEWED ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΣΤΟ PUBMED

1. **Papakonstantinou D**, Paspala A, Pikoulis E, Perrea DN, Machairas A, Agrogiannis G, Machairas N, Patapis P, Zavras NJ. The Modulating Effect of Ursodeoxycholic Acid on Liver Tissue Cyclooxygenase-2 Expression Following Extended Hepatectomy. *Cureus*. 2021 Jun 7;13(6):e15500. doi: 10.7759/cureus.15500.
2. Schizas D, **Papaconstantinou D**, Krompa A, Athanasiou A, Triantafyllou T, Tsekrekos A, Ruurda JP, Rouvelas I. Minimally invasive oesophagectomy in the prone versus lateral decubitus position: a systematic review and meta-analysis, *Diseases of the Esophagus*, 2021; doab042, <https://doi.org/10.1093/dote/doab042>.
3. Koliakos N, **Papaconstantinou D**, Tzortzis AS, Schizas D, Bistarakis D, Bakopoulos A. Pneumothorax as a rare complication during laparoscopic total extra-peritoneal inguinal hernia repair: A case report and review of the literature. *J Minim Access Surg*. 2021 Jul-Sep;17(3):385-388. doi: 10.4103/jmas.JMAS_34_21.
4. Paliogiannis P, Deidda S, Maslyankov S, Paycheva T, Farag A, Mashhour A, Misiakos E, **Papakonstantinou D**, Mik M, Losinska J, Scognamillo F, Sanna F, Feo CF, Porcu A, Xidas A, Zinellu A, Restivo A, Zorcolo L. C reactive protein to albumin ratio (CAR) as predictor of anastomotic leakage in colorectal surgery. *Surg Oncol*. 2021 Jun 10;38:101621. doi: 10.1016/j.suronc.2021.
5. Pikoulis E, **Papaconstantinou D**, Pikouli A, Wang J, Theodoridis C, Antonios Margonis G. Reevaluating the prognostic value of RAS mutation status in patients with resected liver metastases from colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. 2021 Jun 11. doi: 10.1002/jhbp.
6. Pikoulis E, Koliakos N, **Papaconstantinou D**, Pararas N, Pikoulis A, Stavratitis F, Nastos C, Bagias G, Boutati E, Coccolini F, Catena F. The effect of the COVID pandemic lockdown measures on surgical emergencies: experience and lessons learned from a Greek tertiary hospital. *World J Emerg Surg* 16, 22 (2021).

7. Ntomi V, Foukas P, **Papaconstantinou D**, Antonopoulou I, Pikoulis A, Panagiotides I, Pikoulis E, Syrigos K. The clinical significance of PD-L1 in colorectal cancer (Review). *Oncol Rep*. 2021 Jun;45(6):92
8. Koliakos N, **Papaconstantinou D**. Comment to: intestinal erosions following inguinal hernia repair-a systematic review. Author's reply. *Hernia*. 2021 Apr 15. doi: 10.1007/s10029-021-02384-x.
9. Paspala A, **Papakonstantinou D**, Prodromidou A, Danias N, Machairas A, Agrogiannis G, Machairas N, Zavras NJ, Patapis P, Pikoulis E. The Effects of Ursodeoxycholic Acid Pretreatment in an Experimental Setting of Extended Hepatectomy: A Feasibility Study. *Cureus*. 2020 Dec 17;12(12):e12120. doi: 10.7759/cureus.
10. Koliakos N, **Papaconstantinou D**, Nastos C, Kirkilesis G, Bompetsi G, Bakopoulos A, Ntomi V, Pikoulis E. Intestinal erosions following inguinal hernia repair: a systematic review. *Hernia*. 2020 Nov 2. doi: 10.1007/s10029-020-02324-1.
11. Nastos C, **Papaconstantinou D**, Kofopoulos-Lymeris E, Peppas M, Pikoulis A, Lykoudis P, Palazzo F, Patapis P, Pikoulis E. Optimal extent of initial parathyroid resection in patients with multiple endocrine neoplasia syndrome type 1: A meta-analysis. *Surgery*. 2021 Feb;169(2):302-310. doi: 10.1016/j.surg.2020.08.021.
12. Paliogiannis P, Deidda S, Maslyankov S, Paycheva T, Farag A, Mashhour A, Misiakos E, **Papakonstantinou D**, et al. Blood cell count indexes as predictors of anastomotic leakage in elective colorectal surgery: a multicenter study on 1432 patients. *World Journal of Surgical Oncology* 2020;18: 1-8.
13. **Papaconstantinou D**, Garoufalia Z, Kykalos S, Nastos C, Tsapralis D, Ioannidis O, Michalinos A, Chatzimavroudis G, Schizas D. Implications of the presence of the vermiform appendix inside an inguinal hernia (Amyand's hernia): a systematic review of the literature. *Hernia: the Journal of Hernias and Abdominal Wall Surgery* 2020.
14. **Papaconstantinou D**, Vretakakou K, Paspala A, Misiakos EP, Charalampopoulos A, Nastos C, Patapis P, Pikoulis E. The impact of preoperative sarcopenia on postoperative

- complications following esophagectomy for esophageal neoplasia: a systematic review and meta-analysis. *Dis Esophagus*. 2020 Mar 20;doaa002. doi: 10.1093/dote/doaa002.
15. Machairas N, **Papaconstantinou D**, Gaitanidis A, Hasemaki N, Paspala A, Stamopoulos P, Kykalos S, Sotiropoulos GC. Is Single-Incision Laparoscopic Liver Surgery Safe and Efficient for the Treatment of Malignant Hepatic Tumors? A Systematic Review. *J Gastrointest Cancer*. 2020 Jun;51(2):425-432. doi: 10.1007/s12029-019-00285-y.
 16. Montalvo-Jave EE, Rahnemai-Azar AA, **Papaconstantinou D**, Deloiza ME, Tsilimigras DI, Moris D, Mendoza-Barrera GE, Weber SM, Pawlik TM. Molecular pathways and potential biomarkers in gallbladder cancer: A comprehensive review. *Surg Oncol*. 2019 Dec;31:83-89. doi: 10.1016/j.suronc.2019.09.006.
 17. Machairas N, **Papaconstantinou D**, Tsilimigras DI, Moris D, Prodromidou A, Paspala A, Spartalis E, Kostakis ID. Comparison between robotic and open liver resection: a systematic review and meta-analysis of short-term outcomes. *Updates Surg*. 2019 Mar;71(1):39-48. doi: 10.1007/s13304-019-00629-0.
 18. Misiakos EP, Gouloumi AR, Schizas D, Damaskou V, Tsapralis D, Farrugia FA, Machairas N, **Papaconstantinou D**, Tzaneti A, Machairas A. Small bowel perforation with multiple intestinal metastases from lung carcinoma: A case report. *Oncol Lett*. 2019 Apr;17(4):3862-3866. doi: 10.3892/ol.2019.10031.
 19. **Papaconstantinou D**, Tsilimigras DI, Moris D, Michalinos A, Mastoraki A, Mpaili E, Hasemaki N, Bakopoulos A, Filippou D, Schizas D. Synchronous resection of esophageal cancer and other organ malignancies: A systematic review. *World J Gastroenterol*. 2019 Jul 14;25(26):3438-3449. doi: 10.3748/wjg.v25.i26.3438.
 20. Schizas D, **Papaconstantinou D**, Moris D, Koliakos N, Tsilimigras DI, Bakopoulos A, Karaolani G, Spartalis E, Dimitroulis D, Felekouras E. Management of Segmental Bile Duct Injuries After Cholecystectomy: a Systematic Review. *J Gastrointest Surg*. 2019 Feb;23(2):408-416. doi: 10.1007/s11605-018-4027-z.
 21. Paspala A, Machairas N, Prodromidou A, Spartalis E, Ioannidis A, Kostakis ID, **Papaconstantinou D**, Nikiteas N. Management of MANEC of the colon and rectum: A

- comprehensive review of the literature. *Mol Clin Oncol*. 2018 Aug;9(2):219-222. doi: 10.3892/mco.2018.1649.
22. Palaiodimos L, Miles J, Kokkinidis DG, Barkolias C, Jonnalagadda AK, **Papaconstantinou D**, Frountzas M, Misiakos EP, Schizas D. Reversal of Novel Anticoagulants in Emergent Surgery and Trauma: A Comprehensive Review and Proposed Management Algorithm. *Curr Pharm Des*. 2018;24(38):4540-4553. doi: 10.2174/1381612825666181226150629.
23. Machairas N, **Papaconstantinou D**, Papala A, Ioannidis A, Patapis P, Misiakos EP. A huge asymptomatic pheochromocytoma. *Clin Case Rep*. 2018 May 8;6(7):1366-1367. doi: 10.1002/ccr3.1566.
24. Machairas N, **Papaconstantinou D**, Stamopoulos P, Prodromidou A, Garoufalia Z, Spartalis E, Kostakis ID, Sotiropoulos GC. The Emerging Role of Laparoscopic Liver Resection in the Treatment of Recurrent Hepatocellular Carcinoma: A Systematic Review. *Anticancer Res*. 2018 May;38(5):3181-3186. doi: 10.21873/anticancerres.
25. **Papaconstantinou D**, Machairas N, Damaskou V, Zavras N, Kontopoulou C, Machairas A. Duodenal gangliocytic paraganglioma, successfully treated by local surgical excision-a case report. *International journal of surgery case reports*. 2017; 32:5-8.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ PEER-REVIEWED ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΕΚΤΟΣ PUBMED

1. Zavras N, Paspala A, Dimopoulou A, **Papakonstantinou D**, Machairas N. The Effectiveness of Open Distal Pancreatectomy with Spleen Vessels Preservation for the Treatment of Pancreatic Mucinous Cystic Neoplasm: Report of a Case. *Hellenic J Surg* 92, 201–204 (2020).
2. Charalampopoulos A, Kopanakis K, Kollaras V, **Papakonstantinou D**, Koliakos N, Farrugia F, et al. A large size complicated epidermal cyst of perineum and gluteal region, with a long fistulous tract to the coccygeal area. A rare entity, challenging in diagnosis and surgical treatment, *Chirurgia*, 32,5,280-3,2019.

3. Charalampopoulos A, Kopanakis K, Koliakos N, Dimopoulos I, Farrugia F, Karouta A, **Papaconstantinou D**, et al. Conservative treatment versus surgery for the first episode of acute appendicitis: retrospective analysis of 429 cases. *Chirurgia* 2019;32:300-5.
4. Skondras J, Valioulis P, **Papakonstantinou D**, Economopoulos N, Sourla A, Zavras N. Desmoid tumor in a laparotomy scar in a child: Case report and brief literature review. *Open Journal of Pediatrics*. 2013;3(04):386.
5. Zavras N, Christianakis E, **Papakonstantinou D**, Velaoras K, Tsilikas K, Ereikat K. Alimentary tract duplications in infancy and childhood. A 25-year experience with focus on rare types of the disease. *Iranian Journal of Otorhinolaryngology*. 2013;3(4).

COLLABORATOR ΣΕ ΠΟΛΥΚΕΝΤΡΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΣΤΟ PUBMED

1. Chapman S, Clerc D, Blanco-Colino R, Otto A, Nepogodiev D, Pagano G, Schaeff V, Soares A, Zaffaroni G, Žebrák R. Safety and efficacy of non-steroidal anti-inflammatory drugs to reduce ileus after colorectal surgery. *British Journal of Surgery* 2020;107(2): e161-e169.
Ρόλος: Local lead για το Π.Γ.Ν. «Αττικόν» & συλλογή δεδομένων.
2. Collaborative E, Chapman S, Blanco-Colino R, Pérez-Ajates S, Bautista OA, Hodson J, Blanco-Colino R, Chapman S, Glasbey J, Pata F. Safety of hospital discharge before return of bowel function after elective colorectal surgery. *British Journal of Surgery* 2020;107(5): 552-559.
Ρόλος: Local lead για το Π.Γ.Ν. «Αττικόν» & συλλογή δεδομένων.
3. Eurosurg Collaborative. Timing of nasogastric tube insertion and the risk of postoperative pneumonia: an international, prospective cohort study. *Colorectal Dis*, 22: 2288-2297.
Ρόλος: Local lead για το Π.Γ.Ν. «Αττικόν» & συλλογή δεδομένων.

ΣΥΓΓΡΑΦΗ ΚΕΦΑΛΑΙΩΝ ΣΕ ΒΙΒΛΙΑ

- **Papakonstantinou D**, Patapis P, Domi V, Misiakos E “Basic management of dead disaster victims”, In: Emergency Medicine, Trauma and Disaster Management, (Pikoulis E, Doucet J, eds.), Springer, Switzerland. DOI: 10.1007/978-3-030-34116-9.

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΤΑΙΡΕΙΕΣ

- Μέλος της Ελληνικής Χειρουργικής Εταιρείας από τον Ιούνιο του 2021.
- Μέλος του Ιατρικού Συλλόγου Αθηνών από το Μάρτιο του 2015.

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά (άριστη γνώση)

Γαλλικά (άριστη γνώση)

Ισπανικά (βασική γνώση)

ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ

- Άριστη γνώση της χρήσης των εφαρμογών office.
- Άριστη γνώση της μεθοδολογικής οργάνωσης συστηματικών βιβλιογραφικών αναλύσεων και μετα-αναλύσεων.
- Άριστη γνώση συγγραφής επιστημονικών δημοσιεύσεων και αλληλογραφίας.
- Πολύ καλή θεωρητική γνώση βιοστατιστικής και μοντέλων επιβίωσης.
- Πολύ καλή γνώση χρήση του λογισμικού SPSS.
- Άριστη γνώση χρήση των λογισμικών Review Manager, Open[Meta] Analyst και STATA για το σχεδιασμό και την εκτέλεση μετα-αναλύσεων.
- Προσκεκλημένος reviewer σε περιοδικά του pumbed.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Το πειραματικό κομμάτι της διδακτορικής διατριβής πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας «Ν.Σ. Χρηστέας» της Ιατρικής σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών υπο την καθοδήγηση και υπόδειξη των τέως Διευθυντών του εργαστηρίου κ. Δέσποινας Περρέα, κ. Νικόλαου Νικητέα και του νυν διευθυντή κ. Κωνσταντίνου Κόντζογλου, καθώς επίσης και με τη σημαντική αρωγή ολόκληρου του άρτια καταρτισμένου προσωπικού του πειραματικού εργαστηρίου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Αναπληρωτή Καθηγητή και επιβλέποντα της διαδακτορικής διατριβής κ. Νικόλαο Ζάβρα, για τη συνεχή καθοδήγηση και βοήθεια καθώς επίσης και να ευχαριστήσω θερμά τους Καθηγητές κ. Παύλο Πατάπη και κ. Αναστάσιο Μαχαίρα, μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής για τη συνεχή τους στήριξη όλα αυτά τα χρόνια. Θερμά ευχαριστώ επίσης, τον Καθηγητή Εμμανουήλ Πικουλή, Διευθυντή της Γ΄ Πανεπιστημιακής Χειρουργικής Κλινικής του Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ» για την αμέριστη βοήθειά και στήριξή, χωρίς την οποία η εκπόνηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής θα ήταν αδύνατη.

Ευχαριστώ επίσης την ομότιμη Καθηγήτρια Δέσποινα Περρέα για τη σημαντικότερη συμβολή της στο σχεδιασμό του πειραματικού σκέλους της διδακτορικής διατριβής καθώς επίσης και για τις πολύτιμες και καίριες συμβουλές της, μέχρι την περάτωση του ερευνητικού πρωτοκόλλου.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον Αναπληρωτή Καθηγητή Παθολογικής Ανατομίας κ. Γεώργιο Αγρογιάννη, καθώς και το προσωπικό του Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών για την επιμελή παθολογοανατομική μελέτη των ιστοτεμαχίων του πειράματος. Ευχαριστώ επίσης την κ. Ειρήνη Μαράτου για τη διενέργεια της τεχνικής ELISA για τη μέτρηση κυτταροκινών στο Εργαστήριο Έρευνας Διαβήτη του Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ».

Θερμά θα ήθελα να ευχαριστώ τη συνάδελφό μου και χειρουργό κ. Αννα Πασπάλα για την καθοριστική συμβολή της τόσο στο σχεδιασμό του πειράματος όσο και στην εκτέλεση του με επιμονή και υπομονή.

Τέλος, δεν θα μπορούσα να παραλείψω να ευχαριστήσω τους γονείς μου Χρήστο και Βικτωρία για την αδιάκοπη στήριξη και παρότρυνση καθ' όλη τη διάρκεια της εκπαιδευτικής μου πορείας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η ηπατική αναγέννηση είναι μία σύνθετη διαδικασία που εμπλέκει πολλαπλούς μοριακούς μηχανισμούς που λειτουργούν σε παραλληλία. Το ουρσοδεοξυχολικό οξύ (UDCA) θεωρείται πως ασκεί προστατευτική δράση έναντι του οξειδωτικού stress και της ενζυματικής αποδόμησης της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Ο στόχος της παρούσας μελέτης είναι να διερευνήσει την επίδραση της χορήγησης UDCA στα ιστικά επίπεδα έκφρασης κυκλοξυγενάσης 2 (COX-2), σε ένα περιβάλλον οξείας ηπατικής ανεπάρκειας έπειτα από εκτεταμένη (80%) ηπατεκτομή.

Υλικό και μέθοδοι: Εικοσιτέσσερις (24) ενήλικες επίμυες τύπου Sprague-Dawley, άρρενος φύλου, χωρίσθηκαν με τυχαιοποιημένη μέθοδο σε μία πειραματική ομάδα (ομάδα UDCA) και σε μία ομάδα ελέγχου. Τα πειραματόζωα στην ομάδα UDCA (n=12) έλαβαν προθεραπεία με per os χορηγούμενο UDCA για διάστημα 14 ημερών, ενώ η ομάδα ελέγχου (n=12) έλαβε διάλυμα placebo από φυσιολογικό ορό. Όλοι οι επίμυες υπεβλήθησαν σε 80% ηπατεκτομή και 48 ώρες μετεγχειρητικά, κατά τον τερματισμό του πειράματος συλλέχθηκαν δείγματα αναγεννώμενου ηπατικού ιστού και αίματος.

Αποτελέσματα: Ο μετεγχειρητικός μιτωτικός δείκτης και τα επίπεδα του Ki-67 υπήρξαν αυξημένα στην ομάδα UDCA (43 ± 11.4 και 13.7 ± 24.7 έναντι 31 ± 16.7 και 7.6 ± 5.7 , στην ομάδα ελέγχου), χωρίς ωστόσο στατιστική σημαντικότητα. Προθεραπεία με UDCA οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μείωση της έκφρασης COX-2 στο ηπατικό παρέγχυμα ($p=0.028$) όπως επίσης και των επιπέδων TNF α στον ορό του αίματος (37.3 ± 10.9 pg/mL έναντι 75.4 ± 14.4 pg/mL στην ομάδα ελέγχου, $p=0.004$). Το σκορ έκφρασης COX-2 στο εναπομείναν ήπαρ κατά τον τερματισμό του πειράματος εμφάνισε μη-συσχέτιση ($r=0$) με τα επίπεδα TNF α στην ομάδα ελέγχου, ενώ αντιθέτως στην ομάδα προθεραπείας με UDCA, η συσχέτιση μεταξύ των δύο παρατηρήθηκε αυξημένη έναντι της ομάδας ελέγχου ($r=0.45$).

Συμπεράσματα: Η προεγχειρητική χορήγηση UDCA καταστέλλει την ιστική έκφραση COX-2 μετά από εκτεταμένη 80% ηπατεκτομή και ενισχύει την αναγεννητική απόκριση μέσω μηχανισμών ευαισθητοποίησης (preconditioning) του ηπατικού ιστού στην επίδραση κυτταροκινών και ιδίως του TNF α . Η ασθενής συσχέτιση των επιπέδων COX-2 με το αντιγόνο Ki-67 υποστηρίζει ότι ο ρόλος της COX-2 κατά τη πρώιμη φάση της ηπατικής αναγέννησης είναι δευτερεύουσας σημασίας.

ABSTRACT

Introduction: Hepatic regeneration is a complex process involving a multitude of well-timed molecular operations. Ursodeoxycholic acid (UDCA) is postulated to exert a protective effect against oxidative stress and enzymatic degradation of the extracellular matrix, in turn potentiating the regenerative response. The aim of the present animal study is to evaluate the impact of UDCA administration in liver tissue expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in a setting of acute liver failure achieved by extended (80%) hepatectomy.

Materials and methods: Twenty-four adult male Sprague-Dawley rats were randomly assigned to an experimental (UDCA) and a control group. Animals in the UDCA received oral pretreatment with UDCA for 14 days, while animals in the control group received saline. All animals underwent resection of approximately 80% of the liver parenchyma. Tissue and blood sample collection were performed 48 hours postoperatively.

Results: The postoperative mitotic index and Ki-67 levels were found to be elevated in the UDCA group (43 ± 11.4 and 13.7 ± 24.7 versus 31 ± 16.7 and 7.6 ± 5.7), albeit without any statistical significance. Pretreatment with UDCA significantly decreased COX-2 expression levels ($p=0.028$) as well as serum tumor necrosis factor α (TNF α) levels (37.3 ± 10.9 pg/mL versus 75.4 ± 14.4 pg/mL, $p=0.004$). COX-2 expression score was observed to be weakly correlated to Ki-67 levels in both groups. Although COX-2 expression score was not correlated with serum TNF α levels in the control group, animals pretreated with UDCA exhibited moderate correlation ($r=0.45$).

Conclusion: Preoperative administration of UDCA exerts a suppressive effect on tissue expression of COX-2 following 80% hepatectomy and enforces a positive correlation between COX-2 and serum TNF α levels, suggesting that UDCA preconditions liver tissue to display an enhanced regenerative response to circulating cytokines, most notably TNF α . The weak association of COX-2 with Ki-67 expression levels suggests that COX-2 may be of secondary importance during the early phases of liver regeneration.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Ηπατική αναγέννηση

1.1 Εισαγωγή

Η σημασία του ήπατος υπήρξε γνωστή από την αρχαιότητα. Όπως αποτυπώνεται στον αρχαιοελληνικό μύθο του Προμηθέα, το ήπαρ ήταν αθάνατο και θρόνος της ψυχής [1]. Στην πραγματικότητα, το ήπαρ εκτελεί μεταβολικές λειτουργίες που είναι απαραίτητες για την επιβίωση όλων των σπονδυλωτών ζώων (θηλαστικά, ψάρια, κτλ) κι επομένως αποτελεί όργανο αναντικατάστατο [2]. Η αναγεννητική ικανότητα που διαθέτει είναι αυτό που καθιστά το ήπαρ ξεχωριστό από τα υπόλοιπα συμπαγή όργανα.

Η ηπατική αναγέννηση αποτελεί μία ιδιαίτερα πολύπλοκη βιολογική διεργασία, η οποία εκτελείται σε φάσεις και επηρεάζεται από πληθώρα ενδογενών κι εξωγενών παραγόντων. Ιδιαίτερα σημαντικό στην εξέλιξη της μοριακής διαδικασίας της ηπατικής αναγέννησης είναι το είδος του αρχικού τραυματισμού που καταστρέφει την ηπατοκυτταρική εφεδρεία του οργάνου επάγωντας έτσι την αναγεννητική διαδικασία. Συνηθέστερα, ο τραυματισμός του ήπατος είναι είτε **χημικός** (π.χ. από χορήγηση τετραχλωράνθρακα CCl₄) είτε **μηχανικός** (με την αφαίρεση ή μηχανική καταστροφή τμήματος του ηπατικού παρεγχύματος). Ο **μηχανικός τραυματισμός** του ήπατος μπορεί συνεπώς να αποτελέσει μοντέλο για την μελέτη της ηπατικής αναγέννησης μετά από χειρουργικές επεμβάσεις ηπατεκτομών. Ο απώτερος σκοπός της μελέτης αυτής, είναι η συστηματική παραμετροποίηση και βελτιστοποίηση της αναγεννητικής διαδικασίας, με αποτέλεσμα την επίτευξη καλύτερων περιεγχειρητικών αποτελεσμάτων και μικρότερης εγχειρητικής θνητότητας.

1.2 Πρώιμη φάση ηπατικής αναγέννησης μετά από ηπατεκτομή

Η πρώιμη ή αρχική φάση της ηπατικής αναγέννησης ξεκινά άμεσα μετεγχειρητικά και διαρκεί περίπου 2-5 ώρες. Κατά την άμεση μετεγχειρητική περίοδο, παρατηρείται ανακατανομή της ροής του αίματος της πυλαίας φλέβας στο εναπομείναν ηπατικό παρέγχυμα. Συνεπεία αυτού, αυξάνεται η πίεση στα ηπατικά κολποειδή και κατ'επέκταση στα ηπατοκύτταρα πέριξ αυτών. Αυτή η ηπατική υπεραϊμία φαίνεται να αποτελεί και βασικό εναρκτήριο ερέθισμα (**primer**) για την έναρξη της ηπατικής αναγέννησης [3]. Η συμφόρηση του ήπατος με πυλαίο αίμα δημιουργεί συνθήκες ιστικής ισχαιμίας που πιθανώς οδηγούν σε αυξημένη διακυτταρική επικοινωνία (**cell-cell signaling**), ενώ δευτερεύοντα ρόλο, σε αυτή την αρχική φάση, φαίνεται να διαδραματίζει η επίδραση κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων προερχόμενων από την πυλαία ή τη συστηματική κυκλοφορία.

Τα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με την ακριβή επίδραση, σε μοριακό επίπεδο, της ανακατανομής της πυλαίας ροής είναι λίγα και οι λεπτομέρειες της ηπατοκυτταρικής

μοριακής απόκρισης μετά το εναρκτήριο ερέθισμα (**primer**) παραμένουν ασαφείς. Η τελική κατάληξη σε κάθε περίπτωση είναι η ενεργοποίηση του μοριακού σηματοδοτικού μονοπατιού **WNT/β-catenin** με τελικό στόχο την επαγόμενη έκφραση του γονιδίου *CCND1* το οποίο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη **Cyclin-D1 (CD1)** που με τη σειρά της ελέγχει την είσοδο των ηπατοκυττάρων στη φάση S του κυτταρικού κύκλου και η έκφραση της οποίας κορυφώνεται σταδιακά εντός των πρώτων 72 ωρών [4, 5].

Παράλληλα, παρατηρείται αύξηση στη συγκέντρωση του ηπατοκυτταρικού αυξητικού παράγοντα (**Hepatocyte Growth Factor, HGF**), ο οποίος δρώντας αυτοκρινώς ή παρακρινώς, ενεργοποιεί το μοριακό μονοπάτι **HGH/c-MET**, με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση της σύνθεσης DNA και την επιτάχυνση της διαφοροποίησης των προγονικών κυττάρων (**progenitor cells**) του ήπατος [6, 7]. Καταλυτικό ρόλο σε αυτή τη διαδικασία πιθανολογείται ότι έχει το ένζυμο **urokinase-type plasminogen activator (uPA)**, το οποίο μετατρέπει τον HGF του εξωκυττάρου περιβάλλοντος από την ανενεργό στην ενεργό μορφή του (**εικόνα 1**) [8].

Γίνεται επομένως αντιληπτό ότι η ηπατική αναγέννηση δεν τελείται από ξεχωριστά σειριακά μοριακά συστήματα, αλλά είναι αποτέλεσμα μίας προσεκτικά ενορχηστρωμένης μοριακής απάντησης, ρυθμιζόμενης από μεγάλο αριθμό παραγόντων με διασταυρούμενα και αλληλεπιδρώντα ενδοκυττάρια μοριακά μονοπάτια που έχουν ως τελικό αποτέλεσμα την ηπατική αναπλαση, τόσο σε κυτταρικό επίπεδο, όσο και σε μακροσκοπικό, δομικό επίπεδο [9].

1.3 Ο ρόλος των κυττάρων του ηπατικού παρεγχύματος

Ηπατοκύτταρα

Αναμφισβήτητα, θεμελιώδη ρόλο στη διαδικασία της ηπατικής αναγέννησης κατέχουν τα ηπατοκύτταρα, τα οποία αποτελούν και τον πολυπληθέστερο κυτταρικό πληθυσμό του ηπατικού παρεγχύματος. Όπως αναφέρθηκε προγουμένως, η επίδραση του HGF στον υποδοχέα του (c-MET) καθώς επίσης και η ενδοκυττάρια αύξηση των επιπέδων β-catenin οδηγούν, εντός μίας ώρας από την ηπατεκτομή, σε ταχεία έκφραση περισσότερων από 100 γονιδίων, με τη μεσολάβηση των μεταγραφικών παραγόντων **NF-kB (Nuclear Factor- kB)** και **STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3)** [10]. Το αποτέλεσμα αυτής της μοριακής διεργασίας είναι η προετοιμασία για την είσοδο στη φάση S του κυτταρικού κύκλου, γεγονός που αποδεικνύει ότι τα ηπατοκύτταρα δεν είναι αδρανή κύτταρα αλλά έχουν τη δυνατότητα αντιγραφής γενετικού υλικού.

Η διαδικασία του ηπατοκυτταρικού πολλαπλασιασμού μεταδίδεται διαδοχικά στα μικροανατομικά διαμερίσματα του ηπατικού ιστού, ξεκινώντας από την περιπυλαία προς στην κεντρολοβιακή ζώνη του ηπατικού λοβίου και ολοκληρώνεται εντός 48 ωρών από την ηπατεκτομή. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι ο παράγοντας **TGF-b1 (Transforming Growth Factor – b1)** φαίνεται να μεσολαβεί στη διάδοση του «πολλαπλασιαστικού κύματος», καθότι διαπιστώθηκε πως η ενδοκυττάρια αύξηση της συγκέντρωσης του TGF-b1 συστηματικά προηγείται του ηπατοκυτταρικού πολλαπλασιασμού κατά 3 με 6 ώρες, ενώ μηδενίζεται μετά από 48 ώρες [11].

Ωοειδή κύτταρα (oval cells)

Τα ωοειδή κύτταρα θεωρούνται από πολλούς ότι αποτελούν προγονικά κύτταρα. Αν και η υπερπλασία του ηπατικού παρεγχύματος κατά την ηπατική αναγέννηση προκαλείται κυρίως από την πολυκλωνική έπτυξη ηπατοκυτταρικών πληθυσμών, τα ωοειδή κύτταρα παρουσιάζουν βλαστοκυτταρικά χαρακτηριστικά τα οποία τους επιτρέπουν το μετασχηματισμό σε ώριμα ηπατοκύτταρα ή χολαγγειοκύτταρα αναλόγως των μοριακών συνθηκών του εξωκυττάριου περιβάλλοντος [12]. Ιδιαίτερο ρόλο διαδραματίζουν στην αναγεννητική απόκριση μετά από εκλεκτικό τραυματισμό των ηπατοκυττάρων. Σε πειραματικό μοντέλο χημικού τραυματισμού του ήπατος με CCl₄, η ενεργοποίηση και ο πολλαπλασιασμός των περιπυλαίων ωοδών κυττάρων οδηγεί σε ταχεία αναπλήρωση του απολεσθέντος ηπατοκυτταρικού όγκου [13, 14].

Σε μοριακό επίπεδο παρατηρείται παρόμοιο αναγεννητικό μοτίβο όπως αυτό των ηπατοκυττάρων. Συγκεκριμένα, η ενεργοποίηση του c-MET μονοπατιού από τον παράγοντα TGF-b1 προκαλεί **επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση** των ωοειδών κυττάρων σε ηπατοκύτταρα ή χολαγγειοκύτταρα [15, 16]. Η διαδικασία αυτή ενισχύεται από την επαγωγή της έκφρασης του **FXR (Farnesoid X Receptor)**, ενός πυρηνικού υποδοχέα χολικών οξέων με κύριους συνδέτες το χολικό και χηνοδεοξυχολικό οξύ [14], που θα συζητηθεί παρακάτω εκτενέστερα.

Χολαγγειοκύτταρα

Κατά τη διάρκεια της αναγεννητικής διαδικασίας του ήπατος, ο πολλαπλασιασμός των χολαγγειοκυττάρων ξεκινά μερικές ώρες αργότερα από τα ηπατοκύτταρα [17]. Η ακριβής συνεισφορά τους στην ηπατική αναγέννηση δεν έχει, μέχρι σήμερα, διαλευκανθεί. Είναι γνωστό ότι μαζική αύξηση του χολαγγειοκυτταρικού πληθυσμού προκαλείται έπειτα από απόφραξη χοληφόρων. Αυτό φαίνεται να επιτελείται μέσω του μεταγραφικού ρυθμιστή **YAP**

(Yes Associated Protein) [18], ο οποίος ενεργοποιεί τη μεταγραφή γονιδίων σχετιζόμενων με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό με ταυτόχρονη καταστολή της έκφρασης προαποπτωτικών γονιδίων.

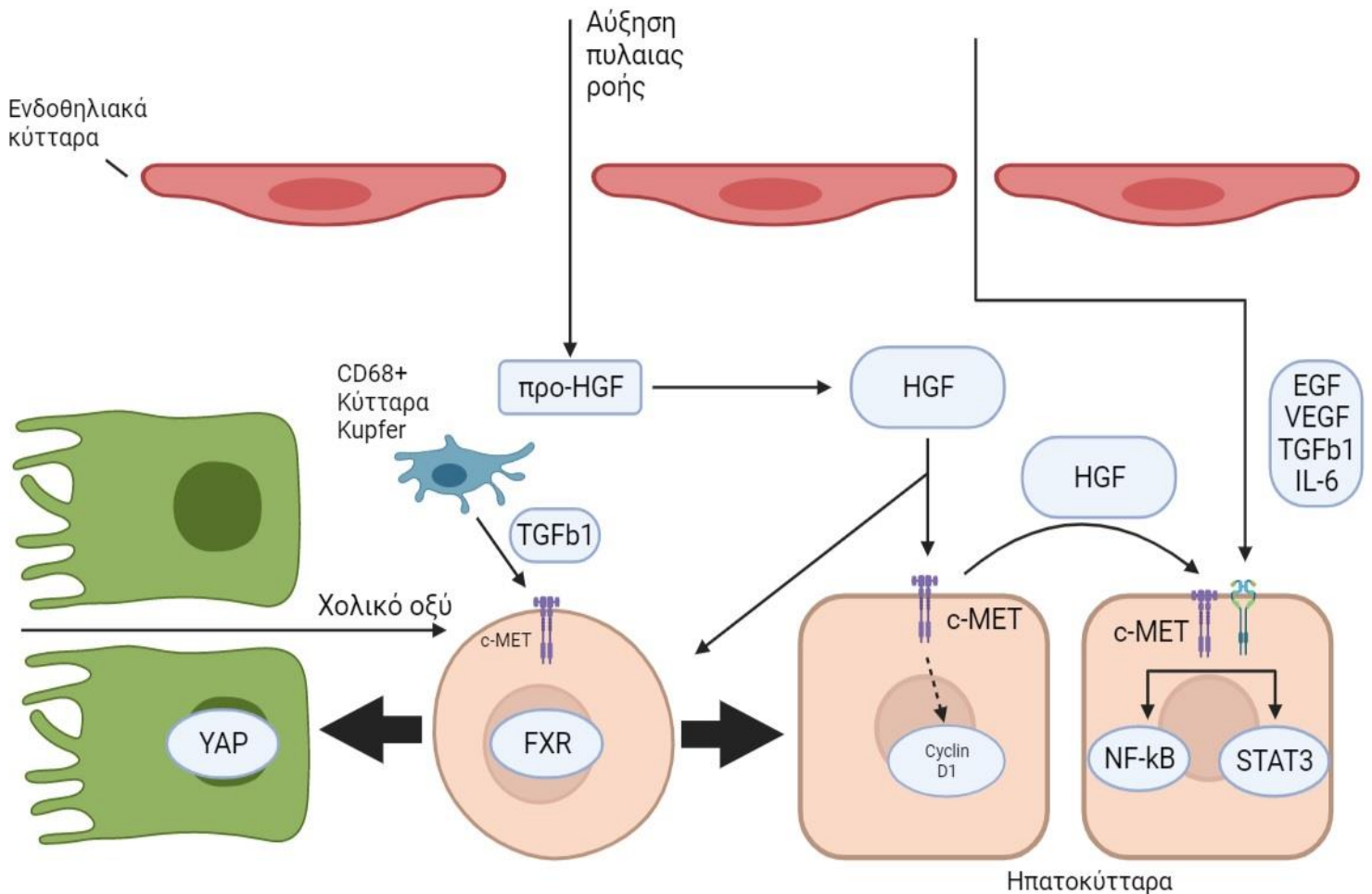
Κύτταρα Kupffer

Σημαντικό ρόλο στην ηπατική αναγέννηση φαίνεται να κατέχουν τα εξειδικευμένα ιστικά μακροφάγα του ήπατος (κύτταρα Kupffer) τα οποία συμμετέχουν στη διαδικασία μέσω της έκφρασης κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων. Σε πειραματικά μοντέλα ηπατεκτομών σε επίμυες, η εκλεκτική καταστροφή των κυττάρων Kupffer οδηγεί σε σημαντική μείωση της σύνθεσης mRNA που σχετίζεται με τις IL-6 και IL-10, μειώνει την ηπατική έκφραση του HGF και του TGF- β 1, με συνολικό αποτέλεσμα τη μειωμένη αναγεννητική απόκριση μετά τον αρχικό ηπατικό τραυματισμό [19, 20].

Κατά τα αρχικά στάδια της ηπατικής αναγέννησης, η «στρατολόγηση» κυττάρων Kupffer από το μυελό των οστών συνεισφέρει σημαντικά στην δημιουργία των απαραίτητων συνθηκών στο ηπατικό μικροπεριβάλλον, που επιτρέπουν τη βελτιστοποίηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Οι Nishiyama και συν. [21] διαπίστωσαν ότι εάν και ο συνολικός πληθυσμός κυττάρων Kupffer του ήπατος αυξάνεται κατά τη διάρκεια της ηπατικής αναγέννησης, στην πραγματικότητα είναι ο υποτύπος **CD68⁺ Kupffer-cell** (κυτταρικός πληθυσμός στρατολογημένος de novo από το μυελό των οστών) που οδηγεί στην αύξηση τόσο της συνολικής κυτταρικής μάζας όσο και της δραστηριότητας των ανοσοκυττάρων του ήπατος. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι ο κομβικός ρόλος των κυττάρων Kupffer μεσολαβείται μέσω του αποπτωτικού μοριακού μονοπατιού **TNF/Fas**.

Αστεροειδή κύτταρα

Τα αστεροειδή κύτταρα του ήπατος είναι μεσεγχυματικά κύτταρα με δυνατότητα σύνθεσης κολλαγόνου και ινικής ενώ παράλληλα αποτελούν την κύρια αποθήκη βιταμίνης A του οργανισμού. Ο ρόλος τους στην ηπατική αναγέννηση παραμένει μέχρι σήμερα ασαφής. Πιθανολογείται ότι η πρόσφυση των αστεροειδών κυττάρων στα ενεργά ηπατοκύτταρα, τα οποία έχουν εισέλθει στη φάση S του κυτταρικού κύκλου, αποτελεί κυρίαρχο ερέθισμα για την ενεργοποίησή τους. Με τον τρόπο αυτόν, ενδέχεται να συνεισφέρουν στην αναδιαμόρφωση του εξωκυττάρου συνδετικού σκελετού του αναγεννώμενου ηπατικού παρεγχύματος [22, 23].



Εικόνα 1. Σχεδιαγραμματική αναπαράσταση των πρώιμων γεγονότων της ηπατικής αναγέννησης.

1.4 Απώτερα γεγονότα και τερματισμός της ηπατικής αναγέννησης

Αν και η έναρξη της ηπατικής αναγέννησης έχει σαφή χρονικό προσδιορισμό (αρχίζει άμεσα μετά την εγκατάσταση της ηπατικής βλάβης ανεξαρτήτως του μηχανισμού που την προκαλεί), ο τερματισμός της διαδικασίας αποτελεί ένα περισσότερο σύνθετο φαινόμενο. Ο πολλαπλασιασμός των ηπατοκυττάρων σταματά 6 με 8 ημέρες μετά τον αρχικό τραυματισμό, ωστόσο οι αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση των ηπατοκυττάρων εμμένουν πέραν των 2 εβδομάδων μετά το αρχικό αναγεννητικό ερέθισμα, παρότι τα ηπατοκύτταρα μεταβαίνουν σταδιακά από την αντιγραφικά ενεργό σε αδρανή κατάσταση [24]. Συνεπώς, καθίσταται σαφές ότι η υπερπλασία του ηπατικού παρεγχύματος είναι ένα δυναμικό φαινόμενο το οποίο παρατείνεται για μεγάλο διάστημα μετά τον τερματισμό του πολλαπλασιασμού των δομικών κυττάρων που απαρτίζουν το ηπατικό παρέγχυμα επιτυγχάνοντας έτσι έως και 190% αύξηση του εναπομείναντος ηπατικού όγκου μέσα σε διάστημα 3 μηνών από τη τμηματική χειρουργική εξαίρεση του ήπατος [25].

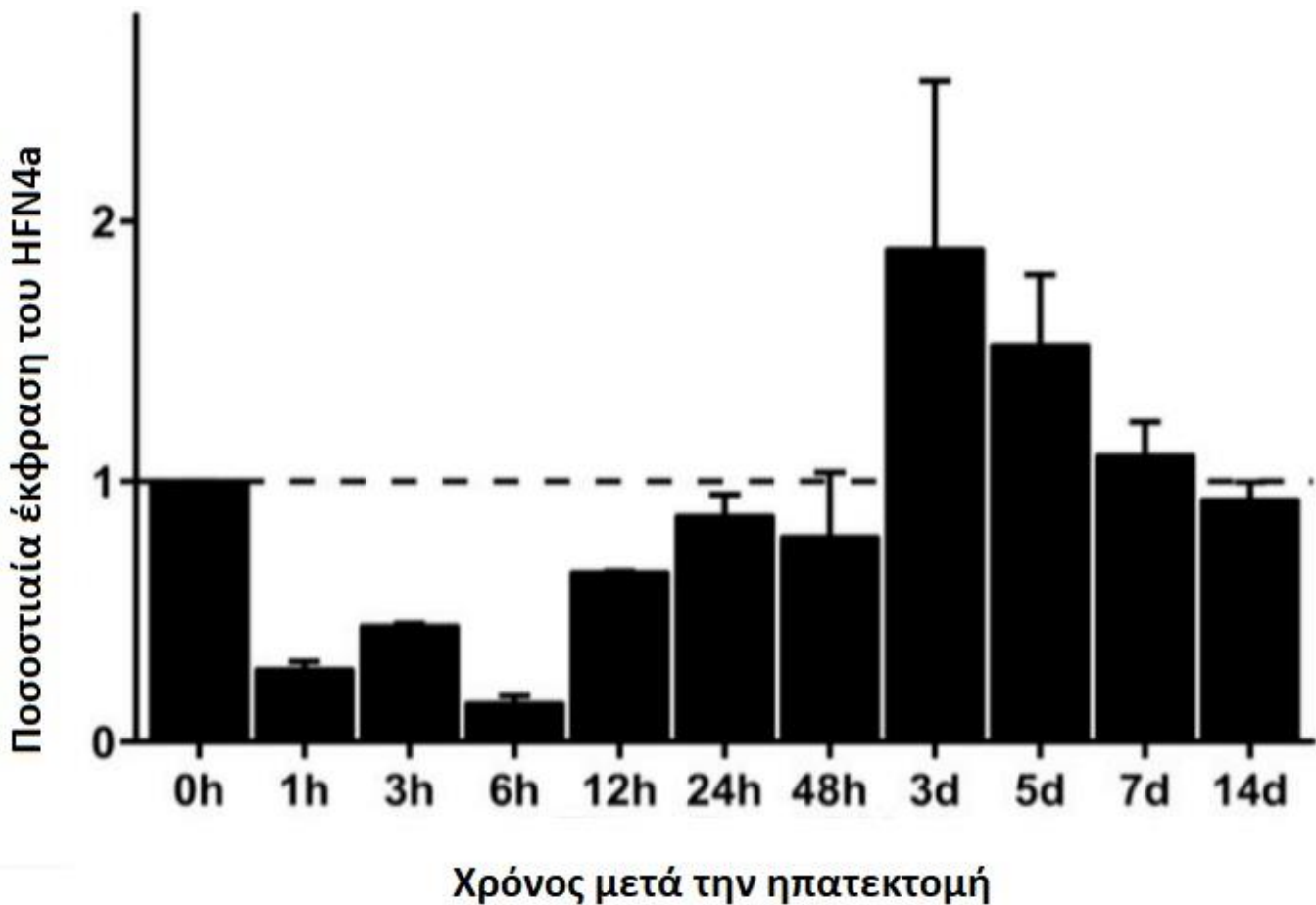
Εξέχοντα ρόλο στον τερματισμό της ηπατικής αναγέννησης κατέχει η αναδιάταξη του εξωκυττάριου χώρου (**extracellular matrix, ECM**) και πιο συγκεκριμένα η αύξηση της κυτταρικής διεπαφής και η αλληλεπίδραση μεταξύ ηπατοκυττάρων και αστεροειδών κυττάρων. Η επικοινωνία μεταξύ αυτών των δύο συγκεκριμένων τύπων κυττάρων εξασφαλίζεται μέσω διαμεμβρανικών υποδοχέων της οικογένειας των ιντεγκρινών (**integrin-linked kinase, ILK**). Η σημασία των μοριακών υποδοχέων **ILK** αναδεικνύεται σε πειραματικά πρωτόκολλα με διαγονιδιακά knock-out ζώα. Οι Gkretsi και συνεργάτες παρατήρησαν ότι η ελλιπής έκφραση ILK στο εξωκυττάριο στρώμα του αναγεννώμενου ήπατος οδηγεί σε αυξημένη απόπτωση ηπατοκυττάρων και ατελή διαφοροποίηση τους [26, 27], ενώ μετέπειτα, οι Donthamsetty και συνεργάτες διαπίστωσαν ότι επίμυες με *ILK* $-/-$ γονότυπο παρουσιάζουν παρατεταμένη αναγεννητική απόκριση με αποτέλεσμα την έως και 300% αύξηση του ηπατικού όγκου έναντι μόλις 180% σε πειρατόζωα με φυσιολογικό (wild type) γονότυπο [28]. Τα ευρήματα των μελετών αυτών, μεταξύ άλλων, υποστηρίζουν τη σημασία των υποδοχέων ILK τόσο για την οργάνωση του αναγεννώμενου ηπατικού ιστού όσο και για την εξασφάλιση της λειτουργικής του επάρκειας.

Σε μοριακό επίπεδο, ο έλεγχος του τερματισμού του κυτταρικού πολλαπλασιασμού αποκτά ιδιαίτερη κλινική σημασία, καθώς τα μοριακά σημεία ελέγχου (**molecular checkpoints**) ενοχοποιούνται για την αθανασία των ηπατοκυττάρων που εν τέλει οδηγεί σε καρκινογένεση [29, 30]. Δύο τέτοια μοριακά συστήματα είναι ο **ηπατοκυτταρικός πυρηνικός παράγοντας 4α (hepatocyte nuclear factor 4a, HNF4a)** και η **CCAAT/enhancer-binding-protein alpha (C/EPBa)**. Ο HNF4a είναι μεταγραφικός παράγοντας που αλληλεπιδρά με το σύστημα της β-κατενίνης και οδηγεί σε αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης της CD1.

Η έκφραση του HNF4a ακολουθεί ένα δίκροτο μοντέλο, με αυξημένη έκφραση εντός μίας ώρας μετά την ηπατεκτομή, εν συνεχεία πτώση της συγκέντρωσης για διάστημα τριών εικοσιτετραώρων και εκ νέου αύξηση μετά από 3 ημέρες (**εικόνα 2**), με τελικό αποτέλεσμα τον τερματισμό της ωρίμανσης των ηπατοκυττάρων και την οριστική έξοδο από τον κυτταρικό κύκλο [31].

Αντίστοιχη δράση φαίνεται να κατέχει και η C/EPBa, μία πρωτεΐνη που σχετίζεται με τον επιγενετικό έλεγχο της ηπατικής λειτουργίας μέσω της δημιουργίας συμπλεγμάτων με πρωτεϊνικούς πυρηνικούς συνδέτες χρωματίνης του DNA. Σε πειραματόζωα με ελλιπή έκφραση της λειτουργικής μορφής της C/EPBa, παρατηρείται διαιώνιση της ηπατικής αναγέννησης και ανεξέλεγκτος ηπατοκυτταρικός πολλαπλασιασμός, χωρίς όμως ο νεόπλαστος ιστός να παρουσιάζει ουσιαστική λειτουργικότητα [30]. Κατά συνέπεια, ομοίως

με τον HFN4a, η αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης της C/EPBa είναι απαραίτητη για τον τερματισμό της ηπατικής αναγέννησης. Εντούτοις, παραμένει ασαφές ποια γεγονότα οδηγούν σε ενδοκυττάρια αύξηση της έκφρασής της.



Εικόνα 2. Κινητική της έκφρασης του HFN4a κατά τη διάρκεια της ηπατικής αναγέννησης (προσαρμοσμένο από Huck και συν.).

2. Εξωκυττάρια μοριακά συστήματα στην ηπατική αναγέννηση

2.1 Εισαγωγή

Όπως γίνεται πλέον αντιληπτό, η ηπατική αναγέννηση είναι μία ιδιαίτερως περίπλοκη διαδικασία που απαιτεί τη συμμετοχή πλειάδας κυτταρικών και μοριακών συνιστωσών. Εξίσου σημαντικός όμως είναι ο συντονισμός της διαδικασίας ώστε ο νεόπλαστος ηπατικός ιστός να αποκτήσει δομική συνοχή η οποία θα εξασφαλίζει τη λειτουργικότητά του. Είναι απαραίτητο να τονισθεί ότι κατά την ηπατική αναγέννηση ο συνολικός αριθμός ηπατικών λοβίων (μικροσκοπική λειτουργική μονάδα ηπατικού παρεγχύματος) δεν αλλάζει [32].

Επομένως, η αύξηση της μιτωτικής δραστηριότητας των ηπατικών κυττάρων οδηγεί σε υπερπλασία (παρά πολλαπλασιασμό) των ηπατικών λοβίων, με διατήρηση της μικροσκοπικής αρχιτεκτονικής τους δομής [33].

Υψηλής σημασίας στη ρύθμιση της ηπατικής αναγέννησης είναι η παρουσία μεγάλου αριθμού εξωκυττάρων μοριακών συστημάτων-κλειδίων τα οποία μέσω της συστηματικής κυκλοφορίας συντονίζουν την αναγεννητική απόκριση του ηπατικού ιστού. Τέτοια μόρια-κλειδιά είναι αυξητικοί παράγοντες (όπως ο HGF που αναλύθηκε σε πορηγούμενο κεφάλαιο), αγγιογενετικές ουσίες και κυτταροκίνες.

2.2 Αυξητικοί παράγοντες

Ο πιο σημαντικός, ίσως, αυξητικός παράγοντας που δρα αναγεννητικά στο ηπατικό παρέγχυμα είναι ο **HGF**. Πρόκειται για ένα μόριο το οποίο βρίσκεται σε αφθονία στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία του ήπατος και ενεργοποιείται ενζυματικά με την εγκατάσταση ηπατικής βλάβης, ενώ συνοδεύεται από παράλληλη αύξηση της συγκέντρωσής του στη συστηματική κυκλοφορία [6]. Η σύνδεση του HGF στον μεμβρανικό υποδοχέα του **MET** οδηγεί σε ενεργοποίηση του ενδοκυττάριου τμήματός του το οποίο διαθέτει δραστηριότητα τυροσινικής κινάσης και πυροδοτεί τα μοριακά μονοπάτια **STAT**, **Wnt/β-catenin** και **Notch** (Πίνακας 1).

Εξίσου σημαντική θεωρείται και η επίδραση του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα **EGF** και του μεμβρανικού υποδοχέα του **EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor)**. Πρόκειται για έναν υποδοχέα της υπεροικογένειας διαμεμβρανικών υποδοχέων ErbB, ο οποίος μετά την ενεργοποίησή του από εξωκυττάρια σήματα διμερίζεται και αποκτά δραστηριότητα τυροσινικής κινάσης. Όσον αφορά τη διαδικασία της ηπατικής αναγέννησης, εξωτερικοί προσδέτες που επάγουν τη δραστηριότητα του EGFR είναι τόσο ο EGF όσο και ο TGF α . Ο EGF βρίσκεται σε αφθονία στο ηπατικό παρέγχυμα καθότι συντίθεται από του αδένες του Brunner στο δωδεκαδάκτυλο κι έπειτα μεταφέρεται στην ηπατική μικροκυκλοφορία διαμέσω του πυλαίου συστήματος [34]. Ο TGF α αντιθέτως, δεν εκφράζεται σε ανιχνεύσιμες ποσότητες στο φυσιολογικό ήπαρ αλλά εμφανίζει ταχεία αύξηση της συγκέντρωσής του μετά από μηχανικό τραυματισμό του ήπατος, ως αποτέλεσμα της ενζυματικής διάσπασης της μεταλλοπρωτεάσης της εξωκυττάριας ηπατικής θεμέλιας ουσίας, **ADAM17**. Αμφότεροι παράγοντες οδηγούν τελικώς σε ενεργοποίηση των ενδοκυττάρων σηματοδοτικών μονοπατιών **MAPK/ERK (Mitogen-Activated Protein Kinases)**, **JNK (c-Jun terminal Kinases)** και **Akt (Protein kinase B)** με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση της πρωτεϊνικής δραστηριότητας των μιτοχονδρίων και την επαγόμενη έκφραση πρωτεϊνών που σχετίζονται

με τη φάση S του κυτταρικού κυκλου [35, 36]. Ο EGF και ο TGF α ωστόσο δεν αποτελούν τους μοναδικούς συνδέτες του EGFR στην ηπατική αναγέννηση. Το γλυκοπεπτιδίο **Amphiregulin** (μέλος της οικογένειας αυξητικών παραγόντων ενδοθηλίου, EGF) συνδέεται και ενεργοποιεί τον EGFR με την ίδια επάρκεια όπως και οι δυο προαναφερθέντες αυξητικοί παράγοντες, ενώ η έκφρασή της ξεκινά κατά την πρώιμη φάση της ηπατικής αναγέννησης (εντός 30 λεπτών από την ηπατεκτομή). Η σημασία της συνεισφοράς της στην ηπατική αναγέννηση αναδεικνύεται σε πειραματικά μοντέλα με knock-out διαγονιδιακά ζώα, όπου η ομοζυγωτική έλλειψή της οδηγεί σε σημαντική καθυστέρηση και μείωση της αναγεννητικής απόκρισης [37].

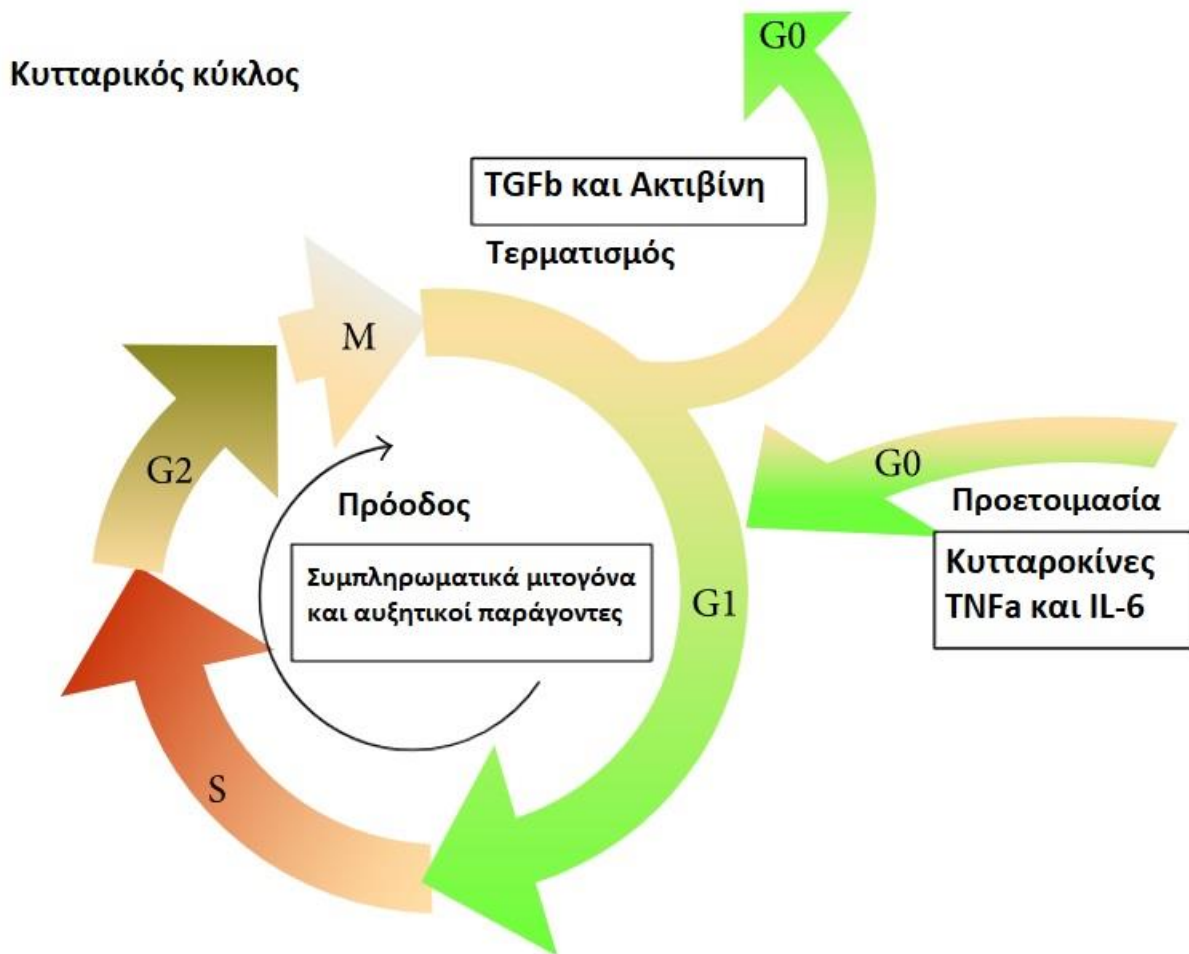
Ο αγγειακός-ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας **VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)** πέραν των γνωστών δράσεων που έχει και αφορούν την νεοαγγειογένεση σε ταχέως αναπλασόμενους ιστούς (και ιδίως σε καρκινικά περιβάλλοντα), κατέχει σημαντικό ρόλο και στην ηπατική αναγέννηση μέσω του ίδιου μηχανισμού. Τα περιπυλαία επίπεδα VEGF κορυφώνονται 48-72 ώρες μετά την ηπατεκτομή σε επίμυες, με συνοδό την αύξηση της αντιγραφικής/πολλαπλασιαστικής δραστηριότητας των ενδοθηλιακών κυττάρων [38, 39]. Κύρια πηγή έκφρασης του VEGF αποτελούν τα ίδια τα ηπατοκύτταρα, ενώ αντίστοιχα, ο πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων και η νεοαγγειογένεση στο ηπατικό μικροπεριβάλλον οδηγούν σε ενίσχυση, μέσω θετικής ανατροφοδότησης, του πολλαπλασιασμού των υπόλοιπων κυττάρων του αναγεννώμενου ήπατος [38] (**Πίνακας 1**).

Τη διαδικασία της ηπατικής αναγέννησης φαίνεται να ενισχύουν, επιπλέον των ανωτέρω, τα χολικά οξέα. Η παρατηρούμενη αύξηση της συγκέντρωσης των χολικών οξέων μετά την ηπατεκτομή σε επίμυες αποτελεί ιδιαίτερα σημαντικό παράγοντα της ομοιοτροπικής υπερπλασίας του ηπατικού παρεγχύματος εντός του πρώτου 48ώρου μετά την ηπατεκτομή, οπότε και τα επίπεδά τους κορυφώνονται [40]. Καθίσταται επομένως σαφές, ότι η ηπατική ομοίωση και ο διαδικαστικός έλεγχος της ηπατικής αναγέννησης εξαρτώνται από τη μεταβολική ενεργοποίηση κρίσιμων πυρηνικών υποδοχέων από τα παρακείμενα χολικά οξέα και συγκεκριμένα τα παράγωγα του χολικού και χηνοδεοξυχολικού οξέος. Σε αυτή τη διαδικασία, κρίσιμο ρόλο διαδραματίζει ο πυρηνικός υποδοχέας FXR, ο οποίος όπως αναφέρθηκε προηγουμένως ανευρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις τόσο εντός των αναγεννώμενων ηπατοκυττάρων όσο και των χολαγγειοκυττάρων (**εικόνα 1**). Αν και οι ακριβείς γονιδιακοί στόχοι του ενεργοποιημένου μεταγραφικού παράγοντα FXR δεν είναι σαφείς, έχει παρατηρηθεί ότι η δράση του έγκειται στη μείωση της έκφρασης του CYP7A1,

ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΟ ΜΟΡΙΟ	ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ	ΚΥΡΙΟΣ ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ	ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΟ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ
<i>Hepatocyte growth factor</i>	Ηπατικό παρέγχυμα, σπληνας, πνευμονες, συστηματική κυκλοφορία	C-MET	STAT, Wnt/ β -catenin, Notch
<i>Epidermal growth factor</i>	Αδένες Brunner δωδεκαδακτύλου	Epidermal growth factor receptor	MAPK, JNK, Akt
<i>Transforming growth factor α</i>	Εξωκυττάρια θεμέλια ουσία ήπατος	Epidermal growth factor receptor	MAPK, JNK, Akt
<i>Amphiregulin</i>	Μεμβράνη κυττάρων ηπατικού παρεγχύματος	Epidermal growth factor receptor	MAPK, JNK
<i>VEGF</i>	Ηπατοκύτταρα	Vascular endothelial growth factor receptor	MAPK, Akt
<i>Χολικά οξέα</i>	Χολαγγεία	FXR	-
<i>TNF</i>	Κύτταρα Kupffer	TNF-Receptor 1	NF- κ B, JNK, MAPK
<i>Ιντερλευκίνες</i>	Κύτταρα Kupffer	Interleukin-Receptor	STAT, MAPK, JNK, Akt

Πίνακας 1. Σημαντικά εξωγενή σηματοδοτικά μοριακά συστήματα της ηπατικής αναγέννησης και σχετιζόμενοι μοριακοί στόχοι/μοριακά μονοπάτια. MAPK = Mitogen-Activated Protein Kinases, JNK = c-Jun terminal Kinases, Akt = Protein kinase B, FXR = Farnesoid X Receptor, STAT = Signal Transducer and Activator of Transcription.

στην ενίσχυση της σηματοδότησης μέσω του μονοπατιού HGF/C-MET και στη συνολική αύξηση των ενδοκυττάρων επιπέδων CD1. Αντιθέτως, η ολική έλλειψη FXR (σε knock-out πειραματόζωα), οδηγεί σε σημαντική καθυστέρηση (αλλά όχι εξάλειψη) της ηπατικής αναγέννησης, ενώ παράλληλα αυξάνει και τη θνητότητα μετά την ηπατεκτομή [40, 41].



Εικόνα 3. Σχεδιαγραμματική αναπαράσταση της επίδρασης ενδογενών κι εξωγενών παραγόντων στην πρόοδο του κυτταρικού κύκλου κατά την ηπατική αναγέννηση.

2.3 Ο ρόλος της συστηματικής φλεγμονώδους απόκρισης

Τα ευρήματα πειραματικών ερευνών των παρελθόντων δεκαετιών αναδεικνύουν ότι η πολυπλοκότητα της ηπατικής αναγέννησης οφείλεται στο ρυθμιστικό δίκτυο τόσο αυξητικών παραγόντων όσο και προφλεγμονωδών μορίων που παράγονται είτε τοπικά στο ηπατικό παρέγχυμα είτε σε απομακρυσμένες θέσεις, φθάνοντας στο ήπαρ μέσω της συστηματικής κυκλοφορίας. Καθένας από τους εμπλεκόμενους παράγοντες, όταν μελετάται μεμονωμένα σε *in vitro* μοντέλα ηπατικής αναγέννησης παράγει μέτρια αποτελέσματα. Ωστόσο η συνδυασμένη κι ενορχηστρωμένη δράση τους τελικώς οδηγεί σε μία μείζονα αναγεννητική απόκριση (εικόνα 3).

Η συστηματική φλεγμονώδης απάντηση που συνοδεύει την ηπατεκτομή χαρακτηρίζεται από τρεις βασικές συνιστώσες: την επιστράτευση του ανοσοποιητικού μηχανισμού (**recruitment**), την ενεργοποίηση των ανοσοκυττάρων (**activation**) και τον

πολλαπλασιασμό τους κατόπιν έκθεσης στο προφλεγμωνώδες ερέθισμα (**proliferation**) [42]. Σε μοριακό επίπεδο, κατόπιν διατομής και εξαίρεσης του ηπατικού παρεγχύματος, τα κύτταρα Kupffer ενεργοποιούνται και ακολούθως εκκρίνουν TNF α , ο οποίος με τη σειρά του ενεργοποιεί τα ενδοθηλιακά κύτταρα των ηπατικών κολποειδών ώστε τελικώς αυτά να αυξήσουν την έκφραση της πρωτεΐνης ICAM-1 (**Intracellular Adhesion Molecule 1, CD54**) η οποία επιτρέπει την προσκόλληση και επιστράτευση μονοκυττάρων από τη συστηματική κυκλοφορία στον ηπατικό ιστό. Με τη σειρά τους, τα επιστρατευμένα μονοκύτταρα προάγουν την ηπατική αναγέννηση και την νεοαγγειογένεση μέσω των μοριακών μονοπατιών **Wnt/ β -catenin** και **Notch**, ομοίως με τη δράση του HGF που αναπτύχθηκε εκτενέστερα σε προηγούμενο κεφάλαιο [43].

Οι περισσότεροι μελετημένοι προφλεγμονώδεις παράγοντες που εμπλέκονται στη διαδικασία της ηπατικής αναγέννησης είναι ο TNF α και η IL-6. Αμφότεροι παράγονται από τα μόνιμα ιστικά μακροφάγα του ήπατος ως απάντηση στην ηπατοκυτταρική βλάβη και αποτελούν ισχυρά μιτογόνα ερεθίσματα, καθώς επίσης διαθέτουν ηπατοπροστατευτικές δράσεις (δρώντας ως αντι-αποπτωτικοί και αντι-νεκρωτικοί παράγοντες). Οι Cressman και συνεργάτες πρώτοι το 1996, διαπίστωσαν ότι πειραματόζωα με συγγενή έλλειψη της έκφρασης της IL-6 παρουσίαζαν διαταραγμένη ηπατική επούλωση έπειτα από μερική ηπατεκτομή, νεκρωτικές εστίες εντός του εναπομείναντος ηπατικού ιστού καθώς επίσης και αυξημένη μετεγχειρητική θνητότητα [44]. Τα μετέπειτα πειράματα των Campbell και συν. και των Seki και συν. σε πειραματικά μοντέλα επίμυων με συγγενή έλλειψη (knock-out) της έκφρασης της πρωτεΐνης **MyD88 (Myeloid Differentiation Primary Response 88)**, ενός κύριου συνυποδοχέα (μαζί με τους TLR, Toll-like Receptors) για το λιποπολυσακχαρίδιο (LPS) ανέδειξαν σημαντική μείωση στα κυκλοφορούντα επίπεδα τόσο του TNF α όσο και της IL-6, ενώ ταυτόχρονα η ενεργοποίηση της ενδοκυττάριας οδού του STAT3 ήταν σημαντικότερα μειωμένη [45, 46]. Τελικώς, τα πειραματόζωα που εμφάνιζαν μειωμένη έκφραση TNF α /IL-6 εμφάνιζαν σημαντικά επηρεασμένη ηπατική αναγεννητικότητα. Αν και ο ακριβής μοριακός μηχανισμός διαμέσω του οποίου οι κυτταροκίνες ασκούν την ηπατοπροστατευτική τους δράση δεν έχει επαρκώς διαλευκανθεί. Καθίσταται σαφές ότι η ενεργοποίηση των αναγεννητικών μονοπατιών Wnt/ β -catenin, Notch και Akt, σε συνδυασμό με την επαγόμενη ενεργοποίηση τους από έταιρους αυξητικούς εξωγενείς παράγοντες, συσσωρευτικά μεγιστοποιούν την αναγεννητική απόκριση. Επιπλέον, σύμφωνα με τους Jin και συνεργάτες, οι κυτταροκίνες και ιδίως η IL-6, μειώνουν το οξειδωτικό stress σε περιπτώσεις εκτεταμένων ηπατεκτομών και μειώνουν τη μιτοχονδριακή βλάβη δρώντας

μέσω της αύξησης των ενδοκυττάρων επιπέδων των πρωτεϊνών **REF-1 (Rubber Elongation Factor 1)** και **GPx-1 (Glutathione Peroxidase 1)** [47].

Συνοψίζοντας, η συστηματική φλεγμονώδης απόκριση που ακολουθεί την ηπατεκτομή ασκεί ευοδωτικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του ηπατικού παρεγχύματος. Η εξασφάλιση υψηλών επιπέδων TNFα και IL-6 είναι απαραίτητη για τον ομαλό συντονισμό της διαδικασίας, ενώ η έλλειψη της έκφρασής τους οδηγεί σε καταστροφικές συνέπειες και ιδιαίτερα υψηλή μετεγχειρητική θνητότητα.

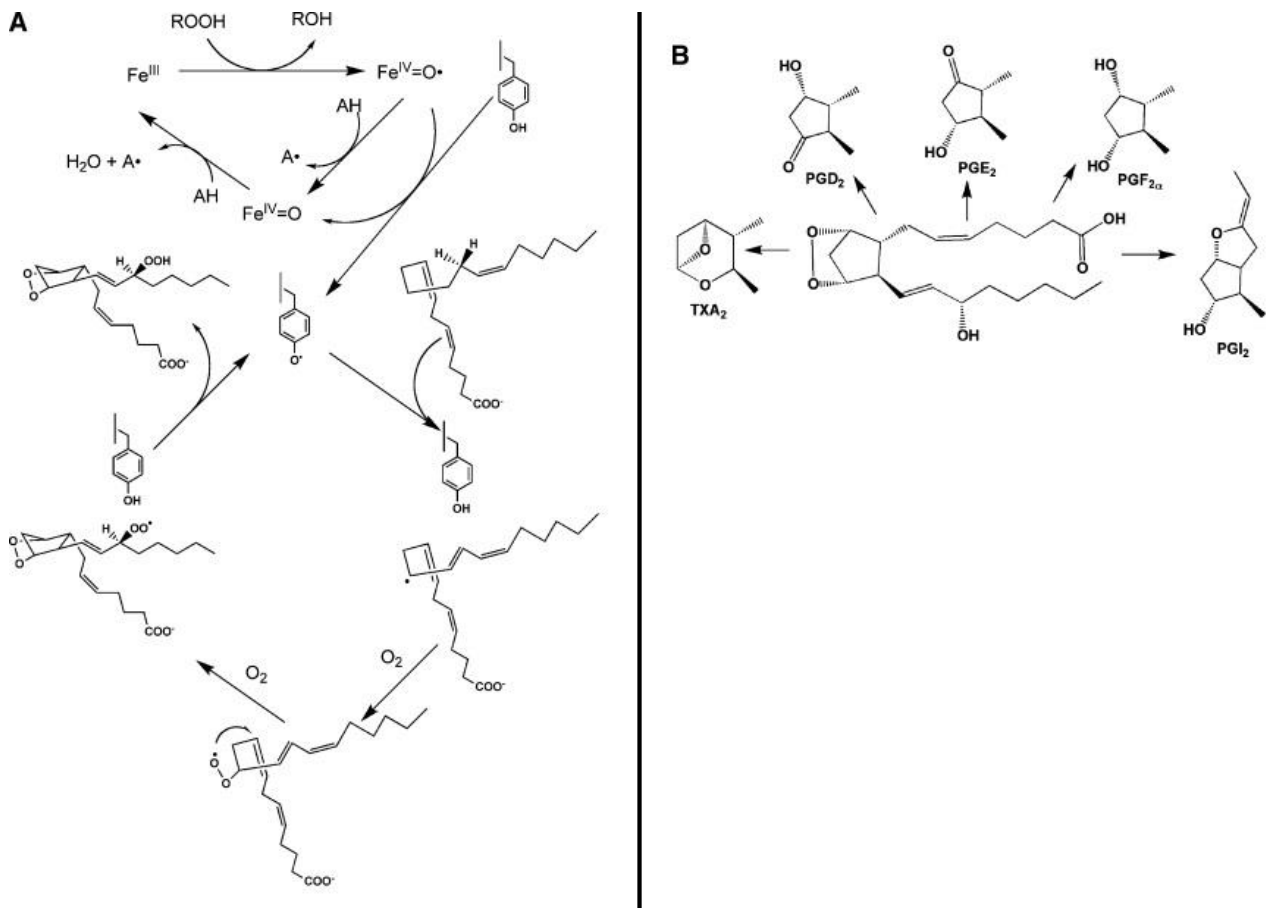
3. Ο ρόλος της κυκλοξυγενάσης 2 (COX-2)

3.1 Εισαγωγή

Οι κυκλοξυγενάσες αποτελούν ένζυμα που συμμετέχουν στην ενζυματική μετατροπή του αραχιδονικού οξέος (**AA**) σε προσταγλανδίνη G₂ (**PGG₂**) και προσταγλανδίνη H₂ (**PGH₂**). Με τη σειρά τους, οι εν λόγω προσταγλανδίνες συμμετέχουν σε ευρεία γκάμα βιολογικών διεργασιών που πραγματοποιούνται μέσω πρωτεϊνικών υποδοχέων συζευγμένων με G-πρωτεΐνες (G-protein coupled receptors). Οι ισομορφές 1 και 2 του ενζύμου (COX-1 και COX-2) αποτελούν τις πιο εκτενώς μελετημένες μορφές του ενζύμου, καθότι είναι σημαντικοί παράγοντες εδραίωσης και εξάπλωσης της φλεγμονώδους απόκρισης έπειτα από ιστική βλάβη, ενώ παράλληλα ο φαρμακευτικός αποκλεισμός τους αποτελεί ερευνητικό πεδίο με ιδιαίτερο ενδιαφέρον.

3.2 Δομικές και λειτουργικές διαφορές μεταξύ COX-1 και COX-2

Οι ανθρώπινες κυκλοξυγενάσες 1 και 2 είναι ομοδιμερή αποτελούμενα από 576 και 581 αμινοξέα αντιστοίχως (μοριακού βάρους 70 και 72 kDa) και περιέχουν τρία ολιγοσακχαρίδια με υψηλή περιεκτικότητα σε μαννόζη, τα οποία συνεπικουρούν στην πρωτεϊνική αναδίπλωση του μορίου και στην προστασία του από την πρωτεόλυση. Οι δύο ισομορφές του ενζύμου εμφανίζουν σημαντικές δομικές ομοιότητες (έως και 60%), γεγονός που τα καθιστά σχεδόν ταυτόσημα. Το ενεργό σημείο των ενζύμων COX-1 και COX-2 αποτελείται από κανάλι το οποίο περιβάλλεται από υδρόφοβα αμινοξέα, επιτρέποντας έτσι την πρόσδεση του AA, ώστε ακολούθως να πραγματοποιηθεί η ενζυματική μετατροπή του σε PGG₂ και PGH₂ (**εικόνα 4**).



Εικόνα 4. Η ενζυματική διαδικασία καταλυτικής μετατροπής του Αραχιδονικού οξέος (AA) σε PGG₂ και PGH₂. **(Α)** Ο αρχικός κύκλος της υπεροξειδάσης οδηγεί σε αφαίρεση ενός υδρογονοκατιόντος από γειτονικό αμινοξύ Tyr-385, σχηματίζοντας έτσι μία ενεργή τυροσυλική ρίζα, ενεργοποιώντας παράλληλα το ενεργό ενζυματικό κέντρο. Κατόπιν, η τυροσυλική ρίζα αποσπά ένα υδρογονοκατιόν από το άτομο C-13 του AA, καταλύοντας το πρώτο βήμα της ενζυματικής διαδικασίας. **(Β)** Μετατροπή της PGH₂ σε βιολογικά ενεργές προσταγλανδίνες.

Η βασική διαφορά μεταξύ των δύο ισομορφών του ενζύμου COX έγκειται στη διαφορική έκφραση του στους ανθρώπινους ιστούς. Συγκεκριμένα, η COX-1 εκφράζεται συστηματικά στους περισσότερους ανθρώπινους κυτταρικούς πληθυσμούς μέσω μεταγραφής του γονιδίου *Ptgs-1* (Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 1) που κωδικοποιεί ένα mRNA μήκους 2.8 κιλοβάσεων. Αντιθέτως, το γονίδιο *Ptgs-2* (Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 2) δεν εκφράζεται στη βασική κατάσταση αλλά ενεργοποιείται από πληθώρα προφλεγμονωδών και μιτωτικών ερεθισμάτων, όπως οι ιντερλευκίνες και κωδικοποιεί ένα mRNA μήκους 4 κιλοβάσεων, γεγονός που το καθιστά λιγότερο σταθερό κι επομένως με μικρότερο χρόνο ημιζωής. Το διαφορετικό μοτίβο στην έκφραση των δύο γονιδίων

υποδηλώνει ότι η COX-1 παρέχει τις προσταγλανδίνες που είναι απαραίτητες για τις βασικές ομοιοστατικές κυτταρικές και ιστικές λειτουργίες, ενώ η COX-2 διαδραματίζει κυρίαρχο ρόλο σε περιπτώσεις φλεγμονής και ογκογένεσης. Τελικώς, η διαφορά μεταξύ της COX-1 και COX-2 αφορά περισσότερο το διαφορετικό μοτίβο έκφρασής τους και όχι την ενζυματική τους δραστηριότητα. Ωστόσο, οι δομικές διαφορές που υπάρχουν μεταξύ των δύο ισομορφών αποκτούν ιδιαίτερο νόημα σε περιπτώσεις όπου η στοχευμένη αλληλεπίδραση (συνηθέστερα με τη COX-2) είναι επιθυμητή με απώτερο στόχο την τροποποίηση υποκείμενων βιολογικών διεργασιών που επηρεάζονται από τη λειτουργία (ή μη) του ενζύμου [48].

3.3 Η επίδραση της COX-2 στην ιστική αναγέννηση

Εκτός από τις προφλεγμονώδεις δράσεις της COX-2, σημαντική φαίνεται να είναι και η συνεισφορά της στην επαρκή ιστική αναγέννηση πολυάριθμων ανθρώπινων κυτταρικών πληθυσμών. Οι Futagami και συνεργάτες, σε πειραματική μελέτη εκτομής δέρματος σε επίμυες, διαπίστωσαν ότι η γενόμενη ιστική κάκωση έχει ως επακόλουθο την επαγόμενη έκφραση της COX-2 στη βασική στιβάδα του τραυματισμένου χείλους της επιδερμίδος, και ιδίως στο αναγεννητικό άκρο του τραύματος το οποίο συγκριτικά με το παρακείμενο υγιές δέρμα εμφανίζει σημαντικά αυξημένα επίπεδα COX-2 [49]. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι ενώ τα επίπεδα της COX-2 αυξάνονται, τα αντίστοιχα ιστικά επίπεδα της ισομορφής 1 δεν εμφανίζουν διαφοροποίηση στην έκφρασή τους προ και μετά την εγκατάσταση της δερματικής βλάβης. Η αύξηση της συγκέντρωσης της COX-2 φαίνεται να ξεκινά εντός 12 ωρών από το αρχικό αναγεννητικό ερέθισμα και κορυφώνεται 72 ώρες αργότερα, ενώ η χορήγηση αναστολέων του ενζύμου (όπως π.χ. ινδομεθακίνη) οδηγεί σε καθυστερημένη επανεπιθηλιοποίηση. Αντίστοιχα ήταν τα ευρήματα στην μετέπειτα μελέτη των Ren και συνεργατών, όπου 40 επίμυες υπεβλήθησαν σε αυτομεταμοσχεύσεις δερματικών κρημνών με σκοπό τη συγκριτική μελέτη της επούλωσης του τραύματος στην πειραματική ομάδα (η οποία έλαβε προθεραπεία με τον COX-2 αναστολέα *parecoxib sodium*) και την ομάδα ελέγχου (η οποία έλαβε placebo) [50]. Τελικώς, οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η πειραματική ομάδα παρουσίαζε στατιστικά σημαντικά μειωμένη ιστική επούλωση, με αυξημένη πιθανότητα εγκατάστασης νέκρωσης του αυτομοσχεύματος οφειλόμενη, τουλάχιστον εν μέρει, στη μείωση της νεοαγγειογένεσης και στην καταστολή της έκφρασης του VEGF. Η σημασία της COX-2 δεν εξαντλείται στο αναγεννώμενο δέρμα. Αντίστοιχης σημασίας είναι η δράση της στην οστική και μυϊκή αναγέννηση, διατηρώντας την ίδια ενζυματική κινητική, επιτελώντας όμοιες βιολογικές λειτουργίες και εμφανίζοντας εξίσου σημαντική καθυστέρηση της επούλωσης σε περιπτώσεις φαρμακευτικού αποκλεισμού της δράσης της [51–54]. Είναι

επομένως σαφές ότι η βιολογική λειτουργία της COX-2, τουλάχιστον σε ότι αφορά την ιστική αναγέννηση, είναι καθολικά απαραίλακτη και ανεξάρτητη συστήματος ή ιστού στην οποία εκτελείται.

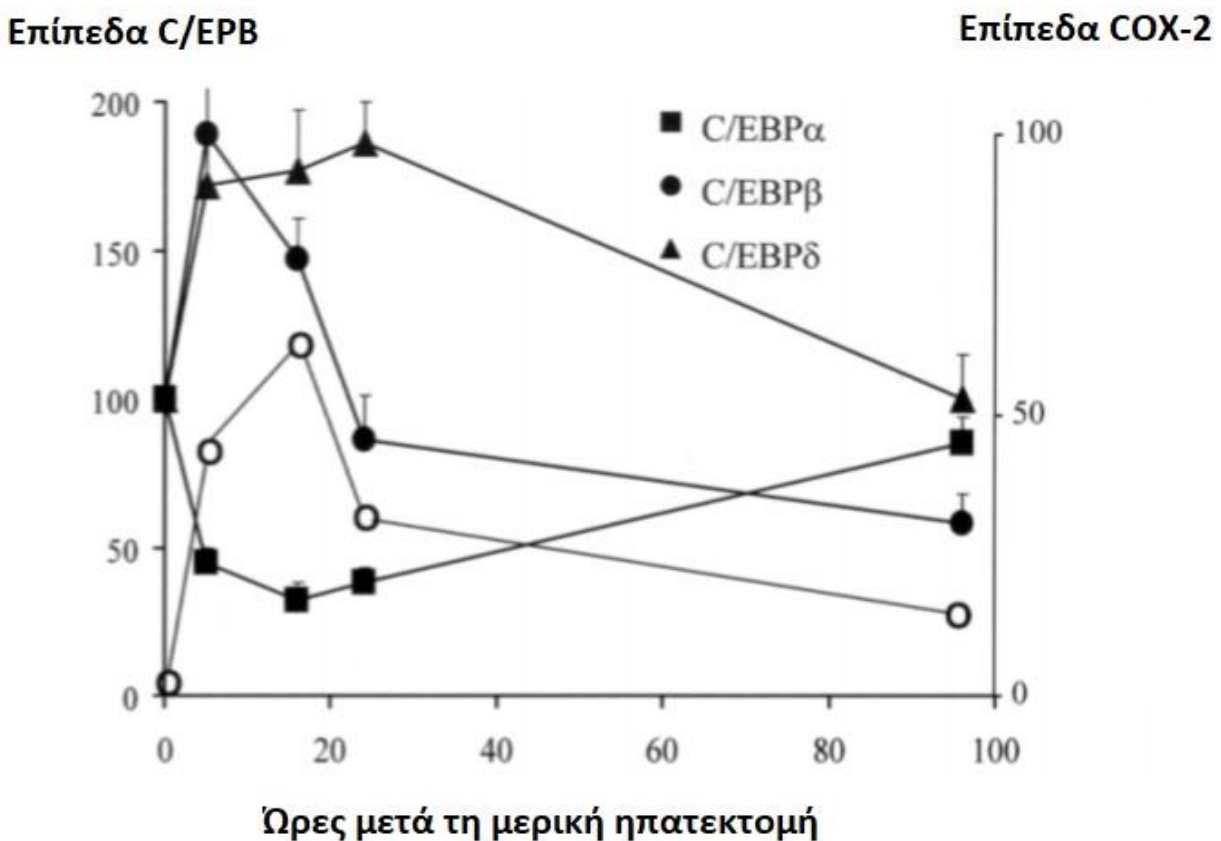
Παρότι ο μη αναστρέψιμος φαρμακευτικός αποκλεισμός της COX-2 αποδεικνύεται επιβλαβής στη δερματική αναγέννηση, η υπορύθμιση (downregulation) της έκφρασης της COX-2 αποδεικνύεται από το ότι όχι μόνο δεν καταστέλλει την αναγεννητική διαδικασία αλλά παραδόξως την ευοδώνει. Η μείωση των τοπικών επιπέδων NF-kB, PGE₂ και COX-2 μέσω χρήσης τοπικών φαρμακευτικών θεραπειών ασκεί σημαντική ρυθμιστική δράση στην επούλωση του τραύματος μέσω δύο μηχανισμών: 1) αύξηση της λειτουργικής επάρκειας των αντιοξειδωτικών μοριακών μηχανισμών (κυρίως της καταλάσης και της υπεροξειδικής δισμουτάσης) και 2) μέσω της μείωσης της δράσης των εξωκυττάρων μεταλλοπρωτεϊνών και συνεπώς της αύξησης της εναπόθεσης κολλαγόνου τύπου I και ελαστίνης [55, 56]. Συνεπώς, η συμμετοχή της COX-2 στις οργανικές αναγεννητικές διαδικασίες δεν πραγματοποιείται μεμονωμένα αλλά ενσωματώνεται σε ένα ευρύτερο ρυθμιστικό πλαίσιο, το οποίο όπως αποδεικνύεται, επιδέχεται ρυθμιστικών τροποποιήσεων διαμέσω εξωγενών φαρμακευτικών παραγόντων. Το επαναλαμβανόμενο μοτίβο που παρουσιάζεται στις προηγουμένως συζητηθείσες πειραματικές μελέτες μπορεί να συνοψισθεί ως εξής: η πλήρης και μη αναστρέψιμη αναστολή της λειτουργικότητας της COX-2 οδηγεί σε μειωμένη επάρκεια των μοριακών και κυτταρικών αναγεννητικών μηχανισμών, ωστόσο, η υπορύθμιση της έκφρασης της COX-2 εμμέσως οδηγεί σε ενδυναμωμένη αναγεννητική απόκριση.

3.4 Η σημασία της COX-2 στην ηπατική αναγέννηση

Τα ενήλικα διαφοροποιημένα ηπατοκύτταρα δεν εκφράζουν την COX-2, ανεξαρτήτως της έκθεσής τους σε προφλεγμονώδη ερεθίσματα [57]. Αντιθέτως η έκφραση της COX-2 επάγεται σε σημαντικό βαθμό στα κύτταρα Kupffer του αναγεννώμενου ηπατικού παρεγχύματος [58]. Οι Callejas και συνεργάτες παρατήρησαν ότι η απώλεια της έκφρασης της COX-2 κατά την «ενηλικίωση» των ηπατοκυττάρων συμπίπτει με την αύξηση των ενδοκυττάρων επιπέδων C/EPBa, ενώ όταν τα επίπεδα του εν λόγω παράγοντα πέφτουν σε *in vitro* καλλιέργειες ηπατοκυττάρων, τότε επάγεται η έκφραση της COX-2 [59]. Μετά την ηπατεκτομή και την πυροδότηση της αναγεννητικής διαδικασίας του ήπατος είναι γνωστό ότι τα επίπεδα του C/EPBa εμφανίζουν διακυμάνσεις. Συγκεκριμένα, εντός 24 ωρών από την ηπατεκτομή σε επίμυες, τα επίπεδα του mRNA του C/EPBa μειώνονται ενώ παράλληλα αυξάνονται τα αντίστοιχα επίπεδα των C/EPBb και C/EPBd, καθώς τα κύτταρα του ηπατικού ιστού εισέρχονται στην πολλαπλασιαστική φάση της ηπατικής αναγέννησης [60, 61]. Όπως γίνεται αντιληπτό, μέσω αυτής της έμμεσης μοριακής σηματοδότησης, η έκφραση της COX-

2 αποκαθίσταται στα διεγερμένα, αναγεννώμενα ηπατοκύτταρα (**εικόνα 5**). Ταυτόχρονα, όπως συζητήθηκε προηγουμένως, ο φαρμακολογικός αποκλεισμός της δράσης της COX-2 κατά τα πρώιμα στάδια της ηπατικής αναγέννησης διαταράσσει την ιστική απόκριση στα κυκλοφορούντα ερεθίσματα, τονίζοντας έτσι τον κεντρικό ρόλο της COX-2 στην ηπατική αναγέννηση [62].

Τα βιολογικώς ενεργά παράγωγα του αραχιδονικού οξέος ασκούν διπλή δράση στην ηπατική αναγέννηση δρώντας διαμέσω της παραγωγής **κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP)**. Αφενός προάγουν την αγγειογένεση και ρυθμίζουν τον αγγειακό τόνο στο αναγεννώμενο ήπαρ (δράσεις οφειλόμενες κατά βάση στη **θρομβοξάνη A₂, TXA₂** και στην **προσταγλανδίνη I₂, PGI₂**) και ακολούθως επάγουν τον πολλαπλασιασμό του γενετικού υλικού μέσω του CREB (cAMP Response Element Binding Protein) [63–65].



Εικόνα 5. Κινητική της συγκέντρωσης των επιπέδων C/EBP και COX-2 μετά την εγκατάσταση ηπατικής βλάβης μέσω μερικής ηπατεκτομής. (Προσαρμοσμένο από τους Casado και συν.).

4. Τα Χολικά Οξέα στην ηπατική αναγέννηση

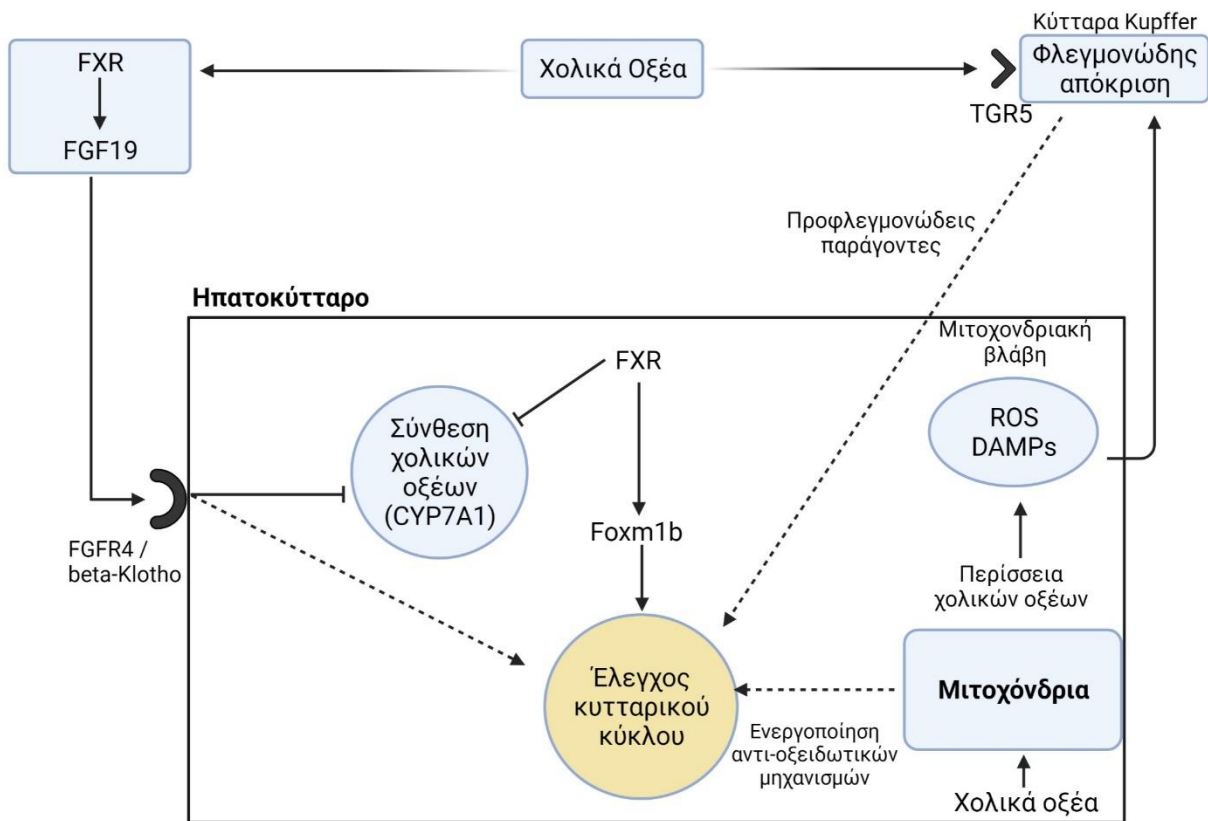
4.1 Εισαγωγή

Τα χολικά οξέα αποτελούν βασικά προϊόντα του καταβολισμού της χοληστερόλης. Η σύνθεσή τους πραγματοποιείται αποκλειστικά στο ήπαρ και ανακυκλώνονται μέσω του εντεροηπατικού κύκλου. Στον ανθρώπινο οργανισμό τα κύρια χολικά οξέα που απαντώνται είναι το ταυροχολικό οξύ, το ταυροχηνοδοεοξυχολικό οξύ, το γλυκοχολικό οξύ και το γλυκοχηνοδοεοξυχολικό οξύ. Οι παραπάνω οργανικές ενώσεις αποτελούν περίπου το 80% του περιεχομένου της χολής και δρουν ως επιφανειοδραστικοί παράγοντες που σχηματίζουν μυκήλια, επιτρέποντας κατ'αυτόν τον τρόπο την απορρόφηση λιπιδίων και σχετιζόμενων με αυτά θρεπτικών συστατικών.

Η βιολογική σημασία των χολικών οξέων ωστόσο, δεν εξαντλείται στη λειτουργία της πέψης καθώς διαθέτουν σηματοδοτικές λειτουργίες οι οποίες μεσολαβούνται μέσω μεμβρανικών αλλά και ενδοκυττάρων υποδοχέων όπως ο **TGR5 (G-protein-coupled bile acid receptor 1)** και ο **FXR** [40, 41, 66]. Επιπλέον, τα χολικά οξέα όταν ξεπεράσουν ένα συγκεκριμένο κατώφλι ενδοκυττάρια συγκέντρωσης, αποδιοργανώνουν τις κυτταρικές μεμβράνες και κατά συνέπεια οδηγούν σε καταστροφή της ακεραιότητας των μιτοχονδρίων με αποτέλεσμα την παραγωγή ενεργών ριζών οξυγόνου που αφενός επιδεινώνουν την ηπατοκυτταρική βλάβη και αφετέρου ενεργοποιούν τα παρακείμενα κύτταρα Kupffer [67]. Αντιθέτως, όταν τα χολικά οξέα ανευρίσκονται σε μικρότερες συγκεντρώσεις, διεγείρουν την ηπατική αναγέννηση ενισχύοντας παράλληλα τους υπάρχοντες κυτταρικούς αντι-οξειδωτικούς μηχανισμούς [68]. Είναι επομένως ιδιαίτερα σημαντική η κατανόηση της αλληλεπίδρασης των χολικών οξέων με τους υπόλοιπους μοριακούς μηχανισμούς της ηπατικής αναγέννησης καθώς επίσης και η διαλεύκανση των μοριακών διεργασιών που διέπουν τη ρύθμιση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσής τους και της διακύμανσής της στις διάφορες φάσεις της ηπατικής αναγέννησης.

4.2 Διαδικασία ρύθμισης της παραγωγής χολικών οξέων

Σε βιοχημικό επίπεδο, η ρύθμιση της σύνθεσης των χολικών οξέων διενεργείται μέσω του ενζύμου **CYP7A1 (cholesterol-7 α -hydroxylase)**. Η σημασία του CYP7A1 έχει αποδειχθεί σε πειραματικά μοντέλα με knock-out πειραματόζωα τα οποία εμφανίζουν υψηλότατα ποσοστά νεογνικής θνησιμότητας και νευρολογικών ελλειμμάτων [69]. Ο πυρηνικός υποδοχέας FXR αποτελεί ένα μοριακό ορόσημο, ελέγχοντας την ομοιόσταση των χολικών οξέων μέσω του συντονισμού των διαδικασιών της σύνθεσης, πρόσληψης και απέκκρισής τους.



Εικόνα 6. Διαγραμματική απεικόνιση της δυναμικής επίδρασης των χολικών οξέων στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου.

Ο FXR εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στον τελικό ειλεό, το ήπαρ, τα νεφρά και τα επινεφρίδια και ενεργοποιείται από τα χολικά οξέα, με το χηνοδεοξυχολικό οξύ να εμφανίζει τη μεγαλύτερη συγγένεια [70]. Επί της ουσίας, ο FXR είναι ένας ενδογενής αισθητήρας της συγκέντρωσης χολικών οξέων. Η ενεργοποίησή του FXR στα εντεροκύτταρα του τελικού ειλεού κυρίως και δευτερευόντως στα ηπατοκύτταρα, οδηγεί σε σημαντική καταστολή της μεταγραφής του ενζύμου CYP7A1 μέσω της επαγόμενης έκφρασης του παράγοντα **FGF19 (Fibroblast Growth Factor 19)** ο οποίος δρα επιτελικά στα ηπατοκύτταρα μέσω του υποδοχέα **FGFR4 (Fibroblast Growth Factor Receptor 4)** και του ενδοκυττάριου μονοπατιού **KLB (Klotho beta)** [71, 72]. Παράλληλα, ο ενεργοποιημένος FXR που εντοπίζεται εντός των ηπατοκυττάρων, αναστέλλει άμεσα την έκφραση του CYP7A1, συνεπικουρώντας έτσι στη δράση του FGF19 και ταυτόχρονα ενεργοποιεί το μεταγραφικό παράγοντα **Foxm1b (Forkhead box protein m1b)** ο οποίος εμπλέκεται άμεσα και ενεργά στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου [73]. Οι Padrisa-Altes και συνεργάτες, μέσω πειραματικών μοντέλων σε επίμυες, ανέδειξαν ότι πειραματόζωα που παρουσίαζαν συγγενή έλλειψη του γονιδίου που σχετίζεται με τον FGFR4 εμφάνιζαν αυξημένα ενδοκυττάρια

επίπεδα CYP7A1 και κατ' επέκταση αυξημένες ενδοκυττάρειες συγκεντρώσεις χολικών οξέων εντός των ηπατοκυττάρων [74]. Επιπλέον, τα επίπεδα των μεταγραφικών παραγόντων STAT3 και Foxm1b ήταν ελαττωμένα με τελικό αποτέλεσμα την ηπατοκυτταρική νέκρωση και την ανεπαρκή ηπατική αναγέννηση, αποσαφηνίζοντας έτσι το ρόλο των ανωτέρω μηχανισμών και πρωτίστως του FXR στη διαδικασία της ηπατοκυτταρικής υπερπλασίας και παραγχυματικής αναγέννησης.

Ο **TGR5** είναι ένας μεμβρανικός υποδοχέας με εγγενή δραστηριότητα G-πρωτεϊνικής κινάσης, ο οποίος ενεργοποιείται, όπως και ο FXR, από τα κυκλοφορούντα χολικά οξέα. Ο TGR5 εκφράζεται στα χολαγγειοκύτταρα, στα κύτταρα Kupffer και στα ενδοθηλιακά κύτταρα του ηπατικού παρεγχύματος, αλλά όχι στα ηπατοκύτταρα [75]. Έπειτα από διέγερσή του υποδοχέα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα αυξάνουν την απελευθέρωση μονοξειδίου του αζώτου (NO) που αυξάνει την αιματική ροή εντός του ηπατικού λοβίου και ταυτόχρονα ενεργοποιούνται τα ιστικά μακροφάγα του ήπατος πυροδοτώντας τον προφλεγμωνώδη καταρράκτη που εμπλέκεται στην ηπατική αναγέννηση [75, 76]. Επιπλέον, ασκεί αρνητική ανατροφοδότηση στην παραγωγή και ροή της παραγώμενης χολής και συνεπώς, διαγραφή του γονιδίου που κωδικοποιεί τον TGR5 προβλέπεται οδηγεί σε διαταραγμένη ροή της χολής καθώς επίσης και αυξημένη έκκριση διπτανθρακικών και ανιόντων χλωρίου. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η εγκατάσταση εκτεταμένης ηπατοκυτταρικής βλάβης, νέκρωσης και χολόστασης [77]. Συνεπώς, ο TGR5 είναι ουσιώδους σημασίας στη ρύθμιση της χολικής ομοιόστασης, μέσω μηχανισμών διαφορετικών από αυτούς που εμπλέκονται στο σηματοδοτικό μονοπάτι του FXR.

4.3 Η σημασία της ομοιόστασης των χολικών οξέων

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι τα χολικά οξέα και άλατα αποτελούν σημαντικούς παράγοντες που εμπλέκονται ενεργά στα μοριακά μονοπάτια της ηπατικής αναγέννησης. Επομένως, η επάρκεια της «αποθήκης» χολικών οξέων (bile acid pool) είναι ζωτικής σημασίας προκειμένου να διαφυλαχθεί η απρόσκοπτη αναγεννητική λειτουργία. Οι αρχικές μελέτες των Iyomasa και συνεργατών (1992) και των Suzuki και συνεργατών (1994) ανέδειξαν ότι η εσωτερική (χολοπεπτική) παροχέτευση των χολικών οξέων δεν επιδρά αρνητικά στη μείωση της αναγεννητικής απόκρισης του ήπατος, σε αντίθεση με την εξωτερική παροχέτευση η οποία οδηγεί σε σημαντικά επηρεασμένη αναγέννηση μετά από ηπατεκτομή [78, 79]. Ομοίως, οι Dong και συνεργάτες διαπίστωσαν ότι η εξάντληση των αποθηκών χολικών οξέων μέσω χορήγησης χολεστυραμίνης (μίας χολοδεσμευτικής ρητίνης) οδήγησε σε κατά 50% μείωση της ηπατικής αναγέννησης [80].

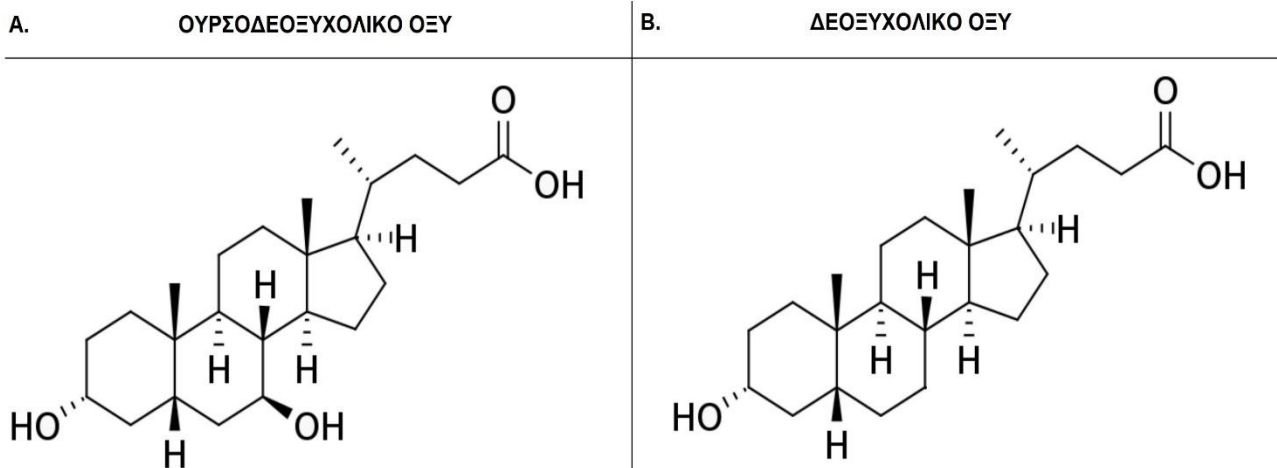
Έπειτα από ηπατεκτομή, έχει παρατηρηθεί ότι οι συγκεντρώσεις χολικών οξέων τόσο στη συστηματική κυκλοφορία όσο και στο ηπατικό παρέγχυμα αυξάνονται [81, 82], λόγω της αύξησης της πυλαίας ροής αλλά και της παροδικής ηπατικής ανεπάρκειας που συνοδεύει την ηπατεκτομή κατά την πρώιμη φάση της. Τελικώς, η φυσιολογική εντεροηπατική κυκλοφορία των χολικών οξέων αποκαθίσταται εντός 24 με 48 ωρών από την ηπατεκτομή, με τα επίπεδα των χολικών οξέων να ανακάμπτουν πλήρως στα προ-ηπατεκτομής επίπεδά τους [81–83]. Σε κυτταρικό επίπεδο, η πλήρης απώλεια των χολικών οξέων μετά από την εγκατάσταση μιας οποιασδήποτε ηπατικής βλάβης (μηχανικής ή χημικής) οδηγεί σε συνολική μείωση της μιτωτικής δραστηριότητας η οποία εμμένει πέραν των 48 ωρών μετά τον αρχικό κυτταρικό τραυματισμό [82]. Η σημασία των παραπάνω ευρημάτων είναι διπλή: αφενός, τονίζεται ο ρόλος των χολικών οξέων στην ηπατική αναγέννηση και διαφαίνεται η ιδιαίτερα αρνητική επίδραση της έλλειψής τους και αφετέρου, διαπιστώνεται ότι η εξωγενής παρέμβαση τόσο στην επάρκεια όσο και στη σύνθεση των χολικών δεξαμενών του οργανισμού οδηγεί σε πλήρως προβλεπόμενα και αναπαραγώγιμα αποτελέσματα που ενδέχεται κατά περίπτωση να επηρεάσουν θετικά ή αρνητικά την ηπατική αναγέννηση. Σε αυτή τη βάση, η βελτιστοποίηση κι εξωγενής ρύθμιση της αναγεννητικής διαδικασίας με φαρμακευτικές (και όχι μόνο) παρεμβάσεις αποκτά κλινικό ενδιαφέρον.

4.4 Συνθετικά ανάλογα: Το Ουρσοδεοξυχολικό οξύ (UDCA) και οι εφαρμογές του

Το **ουρσοδεοξυχολικό οξύ** ή αλλιώς **ουρσοδιόλη (ursodiol)** αποτελεί ένα δευτερογενές χολικό οξύ που αποτελεί προϊόν βακτηριακού μεταβολισμού στο έντερο των θηλαστικών. Η ονομασία του προέρχεται από τη λατινική λέξη *ursus* (αρκούδα), λόγω της προέλευσης του από αποξηραμένη χολή αρκούδας που αποτελούσε παραδοσιακό φάρμακο σε πολλές Ασιατικές χώρες, χρήσιμο στην καταπολέμηση πεπτικών διαταραχών και κοιλιακού άλγους [84].

Το UDCA επιδρά στο ανθρώπινο ήπαρ μέσω πολλαπλών πολύπλοκων μηχανισμών, οι οποίοι, αν και δεν έχουν διαλευκανθεί πλήρως, πιστεύεται ότι κινούνται γύρω από τέσσερις θεραπευτικούς άξονες:

- 1. Κυτταροπροστατευτικός ρόλος:** Το UDCA ασκεί προστατευτική δράση στα ηπατοκύτταρα και χολαγγειοκύτταρα του ηπατικού παρεγχύματος προστατεύοντας τόσο την κυτταροπλασματική μεμβράνη όσο και τις μεμβράνες των μιτοχονδρίων τα οποία είναι ιδιαίτερος ευάλωτα σε εξωγενείς παράγοντες. Παράλληλα, μειώνει την παραγωγή ROS από τα κύτταρα Kupffer, μειώνοντας έτσι το συνολικό κυτταρικό οξειδωτικό φορτίο [85].



Εικόνα 7. Η προσθήκη μίας ρίζας υδροξυλίου (-OH) στη θέση C-7 αποτελεί τη μοναδική χημική διαφορά μεταξύ (A) ουρσοδεοξυχολικού και (B) δεοξυχολικού οξέος. Η πρόσθετη υδροξυλική ρίζα αυξάνει την υδροφιλικότητα του μορίου του ουρσοδεοξυχολικού οξέος.

- 2. Μεταβολή της σύστασης της χολής:** Το UDCA είναι υδρόφιλο μόριο, σε αντίθεση με τα πρωτογενή χολικά οξέα δεοξυχολικό και χηνοδεοξυχολικό οξύ τα οποία είναι υδρόφοβα (**εικόνα 7**). Τα υδρόφοβα χολικά οξέα ενοχοποιούνται για τοξικές δράσεις σε κυτταρικό επίπεδο λόγω της ικανότητας να διαπερνούν μεμβράνες που εμφανίζουν και πιθανολογείται ότι εμπλέκονται στην ενεργοποίηση αποπτωτικών μηχανισμών [85]. Το UDCA αποδεικνύεται ότι ασκεί ανταγωνιστική δράση στην απορρόφηση των χολικών οξέων στον ανθρώπινο ειλεό, με αποτέλεσμα την εκτόπησή τους από την εντεροηπατική κυκλοφορία και τη συνολική μείωση των κυκλοφορούντων επιπέδων τους [86].
- 3. Αντιχολοστατική δράση:** Όπως ισχύει και για τα υπόλοιπα χολικά οξέα, το UDCA έχει την εγγενή δυνατότητα να επάγει την παραγωγή και έκκριση χολής, αυξάνοντας έτσι τη συνολική ροή της χωρίς το τοξικό προφίλ που συνοδεύει τα υπόλοιπα υδρόφοβα χολικά οξέα. Οι κύριοι μηχανισμοί πίσω από αυτή τη δράση του UDCA φαίνεται να είναι η αύξηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου η οποία ενισχύει τη δράση κυτταροσκελετικών μεταφορικών πρωτεϊνών και ενισχύει την εξωκυττάρωση μεμβρανικών κυστιδίων [87]. Επιπλέον, επάγει την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν μεταφορικές πρωτεΐνες υπεύθυνες για τη μεταφορά των χολικών οξέων και ιόντων στον εξωκυττάριο χώρο [86].
- 4. Ανοσοτροποποιητική δράση:** Το UDCA έχει την ιδιαίτερη ιδιότητα να ρυθμίζει την ανοσιακή απόκριση του οργανισμού σε απάντηση στην ηπατική βλάβη. Τόσο σε πειραματικά μοντέλα όσο και σε ανθρώπινες μελέτες, η χορήγηση UDCA παρατηρήθηκε ότι μειώνει την παραγωγή IL-1a, IL-1b, IL-2, IL-6 και TNFα, παράλληλα μειώνοντας την ενεργοποίηση των σηματοδοτικών μονοπατιών JNK, MAPK και NF-κΒ [88–90].

Βάσει των ανωτέρω, το UDCA ασκεί ευεργετική δράση σε παθήσεις στις οποίες η απορρύθμιση της χολικής ομοιόστασης κατέχει κυρίαρχο παθοφυσιολογικό ρόλο. Τέτοιες παθήσεις είναι η πρωτοπαθής χολική κίρρωση, η πρωτοπαθής σκληρυντική χολαγγειίτιδα, η καλοήθης χολόσταση της εγκυμοσύνης καθώς επίσης και η λιθογένεση που αποτελεί απότοκο βαριατρικών επεμβάσεων ή χειρουργείων γαστρεκτομής.

4.5 Η επίδραση της εξωγενούς χορήγησης UDCA

Τα παραπάνω δεδομένα υποδηλώνουν πιθανή ηπατοτροπική δράση του UDCA, η οποία πιθανολογείται ότι επιδρά σημαντικά στους μηχανισμούς της ηπατικής αναγέννησης. Οι Buryoga και συνεργάτες [91] διερεύνησαν την αλληλεπίδραση του UDCA με τον παράγοντα **ADAM17** σε κυτταρικές καλλιέργειες ανθρώπινων ηπατοκυττάρων με κακοήθη εξαλλαγή (HepG2). Οι ερευνητές κατέληξαν στη διαπίστωση ότι το UDCA καταστέλλει την ενεργοποίηση του ADAM17 και συνεπεία αυτού μειώνονται τα κυκλοφορούντα επίπεδα TNF α ενώ παράλληλα αυξάνεται η έκφραση του παράγοντα **TIMP-1 (Tissue Metalloproteinase Inhibitor 1)** ο οποίος μεσολαβεί την ενζυματική αποδόμηση του τραυματισμένου ηπατικού παρεγχύματος.

Οι Uzun και συνεργάτες [92] μελέτησαν την επίδραση του UDCA στην ηπατική αναγέννηση έπειτα από μερική ηπατεκτομή σε επίμυες με μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος. Η συγκεκριμένη ερευνητική ομάδα κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το UDCA ενισχύει την ηπατική αναγεννητική απόκριση διαμέσω της θωράκισης έναντι του οξειδωτικού stress. Συγκεκριμένα, η pre op προθεραπεία με UDCA οδήγησε σε στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα γλουταθειόνης και στατιστικά μειωμένα επίπεδα μαλονδιαλδεΰδης στο αναγεννώμενο ηπατικό παρέγχυμα.

Ασχέτως του μοριακού μηχανισμού που εμπλέκεται στην προαναγεννητική δράση του UDCA, το πλέον αναπαραγώγιμο αποτέλεσμα της δράσης του είναι η καταστολή των επιπέδων προφλεγμονωδών παραγόντων, ιδίως του TNF α και της IL-6 [90, 93, 94]. Ωστόσο, όπως συζητήθηκε εκτενέστερα στο κεφάλαιο 2.3, η επίδραση των συγκεκριμένων προφλεγμονωδών παραγόντων έχει επανειλημμένως αποδειχθεί σημαντική για την ομαλή αναγέννηση του τραυματισμένου ήπατος. Δεδομένου του γεγονότος ότι το UDCA αυξάνει σημαντικά τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό τόσο στις πρώιμες όσο και στις όψιμες φάσεις της ηπατικής αναγέννησης, διαπιστώνεται μια παραδοξικότητα στη δράση του. Αφενός το UDCA μειώνει τη φλεγμωνώδη απόκριση που συνοδεύει την ηπατική αναγέννηση, αφετέρου δε αυξάνει την συνολική αναγεννητική απόκριση. Αυτή η παρατήρηση υποδηλώνει την ύπαρξη μηχανισμών δράσης του UDCA που δεν έχουν διελευκανθεί

πλήρως. Ιδιαίτερη έμφαση θα πρέπει να δοθεί στην αλληλεπίδραση του UDCA με την COX-2, καθώς τα σχετικά βιβλιογραφικά δεδομένα είναι μέχρι σήμερα ελάχιστα.

5. Πειραματικά μοντέλα ηπατικής αναγέννησης μετά από ηπατεκτομή

5.1 Εισαγωγή

Η χρήση του όρου «πειραματική ηπατεκτομή» στη διαδικτυακή βιβλιοθήκη MEDLINE αρχίζει από τη δεκαετία του 1940. Ωστόσο, η πρώτη περιγραφή πειραματικής ηπατεκτομής σε επίμυες δημοσιεύθηκε ήδη από τους Higgins και Anderson το 1931 [95]. Στο συγκεκριμένο πειραματικό μοντέλο, οι ερευνητές πραγματοποίησαν επιτυχώς εκτομή του 70% του συνολικού ηπατικού παρεγχύματος με ελάχιστη μετεγχειρητική θνητότητα και αναπαραγωγιμότητα. Η χρήση επίμυων ως ζωικό πρότυπο προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα που αφορούν το κόστος και τη συντήρηση, και συνεπώς ενδείκνυνται για την πειραματική μελέτη της ηπατικής αναγέννησης.

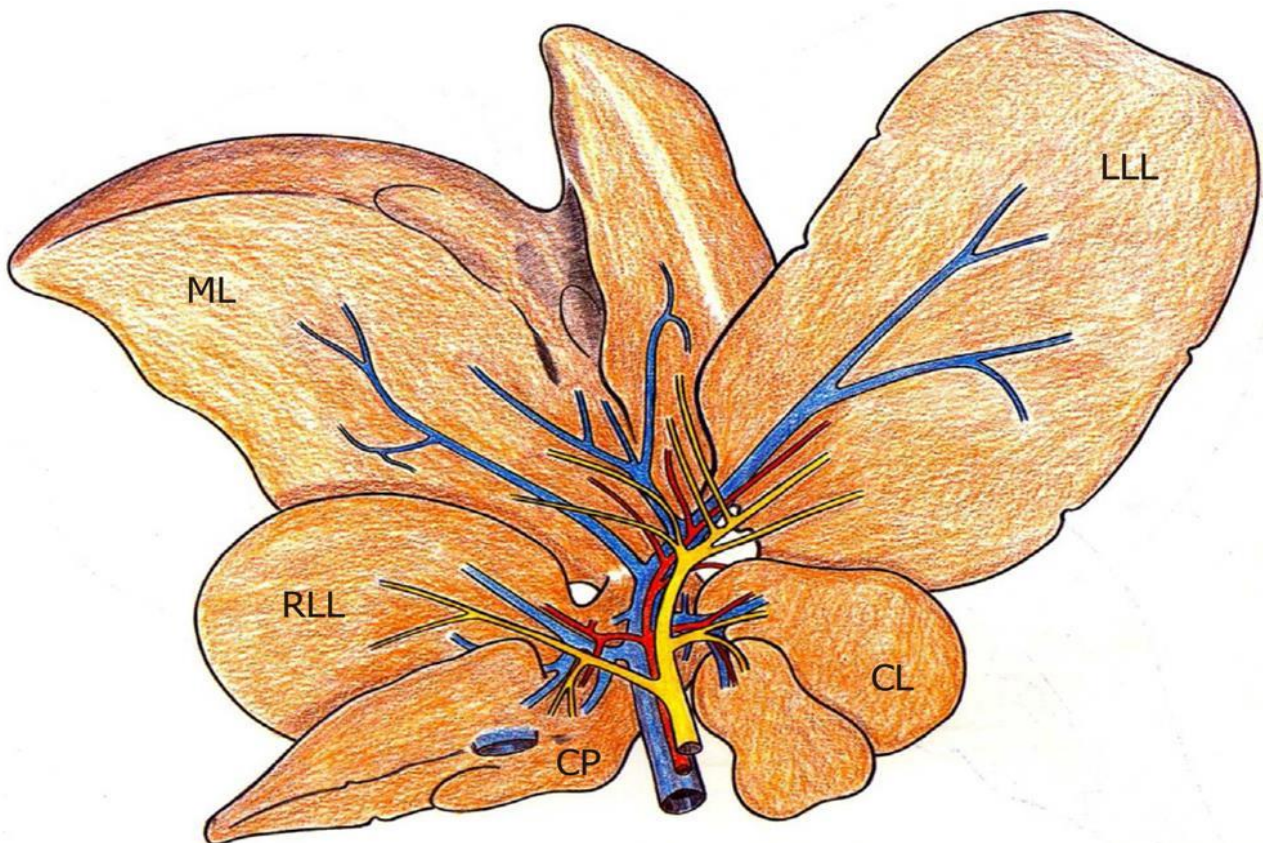
5.2 Μερική (2/3) ηπατεκτομή

Το ήπαρ του επίμυος χωρίζεται σε τέσσερις λοβούς και μίας αποφύσης (**εικόνα 7**). Η τεχνική της πειραματικής μερικής ηπατεκτομής (partial hepatectomy), επομένως, βασίζεται στη ιδιαίτερη λόβωση του οργάνου που επιτρέπει εύκολα την ταυτόχρονη ηπατεκτομή και αιμόσταση με τη χρήση απολινώσεων στο μίσχο του εκάστοτε ηπατικού τμήματος. Στην επονομαζόμενη 70% ή 2/3 ηπατεκτομή [95], αφαιρούνται ο αριστερός πλάγιος, και ο μέσος λοβός, μαζί με τη χοληδόχο κύστη. Πολλές διαφορετικές τεχνικές έχουν δημοσιευθεί με τη χρήση ενός, δύο ή τριών απολινώσεων καθώς επίσης και με τη χρήση μικροχειρουργικής [95–99]. Το συγκεκριμένο μοντέλο πυροδοτεί άμεσα και αποτελεσματικά τη διαδικασία της ηπατικής αναγέννησης, με την αύξηση του βάρους του εναπομείναντος ήπατος από τις 36 ώρες μετεγχειρητικά και έπειτα [98].

Ο αριθμός των ηπατοκυττάρων που θα εκκινήσουν τη διαδικασία του πολλαπλασιασμού, αυξάνεται όσο αυξάνεται ο αριθμός των εξαιρεθέντων λοβών [100]. Ωστόσο αν αφαιρεθεί περισσότερο από το 70% του ηπατικού παρεγχύματος, τότε η εναπομείνουσα ηπατική μάζα ανεπαρκεί στη διατήρηση των επιπέδων γλυκόζης και οδηγεί σε πτωχά μετεγχειρητικά αποτελέσματα. Στον αντίποδα, η εκτομή μεγαλύτερου όγκου ήπατος επιτρέπει τη μελέτη της ηπατικής αναγέννησης στις ακραίες συνθήκες της ηπατικής ανεπάρκειας λόγω έλλειψης όγκου ήπατος, όπου η αναγεννητική απόκριση επηρεάζεται σημαντικά από το σύνδρομο small-for-size.

5.3 Εκτεταμένη ηπατεκτομή

Στο πειραματικό μοντέλο μερικής ηπατεκτομής του επίμουσ, ο μέσος λοβός αντιστοιχεί στο 30% του συνολικού ποσοστού ηπατικού όγκου, ενώ ο αριστερός πλάγιος λοβός στο 40%, ο δεξιός πλάγιος λοβός στο 24% και ο κερκοφόρος λοβός στο 6% [101]. Η εκτεταμένη ηπατεκτομή είναι, από τεχνικής πλευράς, εξίσου εφικτή με τη 2/3 μερική ηπατεκτομή με την αφαίρεση δύο ή τριών λοβών αντί για έναν. Πολλαπλές μελέτες δείχνουν ότι η οξεία ηπατική ανεπάρκεια είναι αρκετά συχνό φαινόμενο μετά από 90% ηπατεκτομή [101–104]. Η συγκεκριμένη μέθοδος ηπατεκτομής συνεπώς έχει το χαρακτηριστικό ότι προσομοιάζει καλύτερα τις συνθήκες ηπατικής ανεπάρκειας που εμφανίζεται σε ανθρώπους που υποβάλλονται σε ηπατεκτομή λόγω εκτεταμένων όγκων ή σε περιπτώσεις ηπατικής μεταμόσχευσης με μικρά ή ανεπαρκή μοσχεύματα. Αν και η θνητότητα της εκτεταμένης ηπατεκτομής υπήρξε στο παρελθόν απαγορευτική, η βελτιστοποίηση και τυποποίηση της περιεγχειρητικής διαδικασίας πλέον επιτρέπει την ασφαλή εφαρμογή της [101, 104].



Εικόνα 7. Ανατομική αναπαράσταση του ήπατος του επίμουσ. ML=Median Lobe (μέσος λοβός), RLL= Right Lateral Lobe (δεξιός πλάγιος λοβός), LLL=Left Lateral Lobe (αριστερός πλάγιος λοβός), CP=Caudate Process (κερκοφόρος απόφυση), CL=Caudate Lobe (κερκοφόρος λοβός). (Προσαρμοσμένο από τους Aller και συν.).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Εισαγωγή

Σημαντική πρόοδος έχει πραγματοποιηθεί στο πεδίο της ηπατικής χειρουργικής τον 20^ο αιώνα. Η ασφάλεια και ακρίβεια των εμπλεκόμενων τεχνικών έχει αυξηθεί σημαντικά, καθιστώντας την ηπατεκτομή ως βασική μέθοδο αντιμετώπισης πολλών ηπατικών παθήσεων, ενώ η μεταμόσχευση αποτελεί τη μοναδική μακροπρόθεσμη θεραπεία για ασθενείς με τελικού σταδίου ηπατική ανεπάρκεια. Τα αρχικώς πτωχά μετεγχειρητικά αποτελέσματα αποδίδονταν σε ελλιπή αιμόσταση και ανεπαρκή περιεγχειρητική φροντίδα με αποτέλεσμα οι πρώτες ηπατεκτομές να συνδέονται με απαράδεκτα υψηλά ποσοστά μετεγχειρητικής θνητότητας. Πράγματι, η πρώτη περιγραφή ηπατεκτομής στη βιβλιογραφία αναφέρεται από τον Lius το 1886, ο οποίος αφαίρεσε ένα ευμέγεθες ηπατικό αδένωμα από 67-χρονη ασθενή η οποία όμως κατέληξε λίγες ώρες μετά την επέμβαση. Η σταδιακή ωρίμανση των χειρουργικών τεχνικών ηπατεκτομής καθώς επίσης και η σημαντική συνεισφορά του Pringle με την εφαρμογή του ομώνυμου χειρισμού αγγειακού ελέγχου της ηπατικής πύλης οδήγησαν τελικώς σε σημαντική μείωση της θνητότητας της επέμβασης στο 14-16% εν έτει 1968 [105–107].

Αυτή η θεαματική βελτίωση των μετεγχειρητικών αποτελεσμάτων της ηπατεκτομής έθεσε τα θεμέλια για τη μελέτη της διαδικασίας της ηπατικής αναγέννησης, καθότι ήδη από τη δεκαετία του 1970 παρατηρήθηκε ότι η περαιτέρω βελτιστοποίηση των αποτελεσμάτων των ηπατεκτομών, από πλευράς επιβίωσης, εξαρτάται σε πολύ μεγάλο βαθμό από την εξασφάλιση επαρκούς λειτουργικού όγκου εναπομείναντος ηπατικού παρεγχύματος. Οι ερευνητικές προσπάθειες των τελευταίων τριών δεκαετιών, με πειραματικά ζωικά μοντέλα έχουν αναδείξει, μεταξύ άλλων, το σημαντικό ρόλο που κατέχει η συστηματική και τοπική φλεγμονώδης απόκριση στη μοριακή ρύθμιση των μηχανισμών κυτταρικού πολλαπλασιασμού μετά από τραυματισμό ή εκτομή ηπατικού ιστού. Ιδιαίτερη μνεία γίνεται στο ρόλο ενζύμου COX-2, φαρμακευτικός αποκλεισμός του οποίου αποδεδειγμένα οδηγεί σε καταστολή της ηπατικής αναγέννησης [62, 108].

Ταυτόχρονα, παρατηρήθηκε ότι η ηπατική αναγέννηση είναι δυνατόν να ευοδωθεί από τη χορήγηση εξωγενών παραγόντων που στοχεύουν στα διάφορα κυτταρικά αναγεννητικά μονοπάτια. Το UDCA είναι μία τέτοια ουσία με πλειοτροπικές δράσεις, η οποία αυξάνει σε σημαντικό βαθμό τόσο την κυτταρική μιτωτική δραστηριότητα αλλά και το ρυθμό υπετροφίας του εναπομείναντος ήπατος μετά από μερική ηπατεκτομή [91–93]. Είναι σημαντικό, ωστόσο, να αναφερθεί ότι το UDCA οδηγεί σε σημαντική καταστολή της έκφρασης της COX-2 σε ταχέως αναγεννώμενους κυτταρικούς πληθυσμούς όπως αυτοί των επιθηλιακών κυττάρων του παχέος εντέρου και του οισφάγου [109–111]. Στην πραγματικότητα, η

εκλυόμενη καταστολή της COX-2 έπειτα από εξωγενή χορήγηση UDCA είναι τόσο ισχυρή ώστε να προκαλεί μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του παχέος εντέρου, στην παθογένεση του οποίου εμπλέκεται, ως γνωστόν, η COX-2 [112, 113].

Στο αναγεννώμενο ήπαρ η αλληλεπίδραση του UDCA με τη COX-2 δεν έχει, μέχρι σήμερα, μελετηθεί. Δεδομένου ότι το UDCA μειώνει την έκφραση του COX-2 σε μεταβολικά ενεργούς εξωηπατικούς κυτταρικούς πληθυσμούς, παρόμοια επίδραση αναμένεται να έχει και στο αναγεννώμενο ήπαρ. Εντούτοις, η μειωμένη δράση της COX-2, ως απότοκο της χορήγησης UDCA, με τα υπάρχοντα βιβλιογραφικά πειραματικά δεδομένα, θα αναμενόταν να καταστείλει την ηπατική αναγέννηση, κάτι το οποίο όχι μόνο δεν ισχύει αλλά αντιθέτως το UDCA ενισχύει την ηπατική αναγέννηση.

Με σκοπό την καλύτερη κατανόηση της βιολογικής δράσης του UDCA στην ηπατική αναγέννηση, μελετήσαμε την επίδραση της χορήγησης UDCA ως προ-θεραπεία σε πειραματικό μοντέλο εκτεταμένης (80%) ηπατεκτομής σε επίμυες. Στόχος της μελέτης είναι να διαλευκάνει την επίδραση του UDCA στην έκφραση της COX-2 στο αναγεννώμενο ηπατικό παρέγχυμα προκειμένου να αναδείξει το βιολογικό τρόπο αλληλεπίδρασης των δύο μορίων που έχει ως απότοκο την ενίσχυση της ηπατικής αναγέννησης.

2. Υλικό και Μέθοδοι

2.1 Ζωικά πρότυπα

Στην παρούσα πειραματική μελέτη χρησιμοποιήθηκαν συνολικά εικοσιτέσσερις (24) αρσενικοί επίμυες Sprague-Dawley ηλικίας τεσσάρων μηνών και βάρους $259,3 \pm 15,1$ gr. Τα ζωικά πρότυπα διέμεναν σε ατομικά κλουβία από ανοξείδωτο χάλυβα σε απομονωμένο δωμάτιο με ελεγχόμενες συνθήκες περιβάλλοντος με θερμοκρασία 19 ± 1 °C, υγρασία 55-66% και δωδεκάωρους εναλλασσόμενους κύκλους φωτός/σκότους. Τα πειραματόζωα είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε τροφή και νερό τόσο προεγχειρητικά όσο και μετεγχειρητικά.

Το ερευνητικό πρωτόκολλο έλαβε άδεια από τη Διεύθυνση της Κτηνιατρικής Υπηρεσίας της Νομαρχίας Αθηνών (Αριθμός Άδειας: 908/23-02-2016), καθώς επίσης και από την επιτροπή Δεοντολογίας και Έρευνας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Η μελέτη είναι πλήρως εναρμονισμένη με τις οδηγίες του Συμβουλίου της Ευρωπαϊκής Κοινότητας 200/63/EU. Όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας «Ν.Σ. Χρηστέας» του Ιατρικού τμήματος του Πανεπιστημίου Αθηνών.

2.2 Σχεδιασμός της μελέτης

Αρχικώς, οι επίμυες χωρίσθηκαν με τυχαιοποιημένη μέθοδο σε δύο ομάδες: μία ομάδα ελέγχου (control group) και μία ομάδα παρέμβασης (UDCA group). Κάθε ομάδα αποτελούνταν από δώδεκα επίμυες, με μέσο βάρος $263,6 \pm 14,8$ gr στην ομάδα ελέγχου και $256,4 \pm 15,7$ gr στην ομάδα UDCA. Στη συνέχεια, στην ομάδα UDCA εφαρμόστηκε προθεραπεία με ουρσοδεοξυχολικό οξύ σε δοσολογία 25 mg/kg/ημέρα και για διάρκεια 14 ημερών. Το UDCA χορηγήθηκε στους επίμυες δια της στοματικής οδού ως διάλυμα το οποίο παρασκευάστηκε με διάλυση μίας κάψουλας 250 mg ουρσοδεοξυχολικού οξέος (Ursofalk, Galenica SA, Athens, Greece) σε 50 mL φυσιολογικού ορού. Στην ομάδα ελέγχου χορηγήθηκαν 50 mL φυσιολογικού ορού ως εικονικό φάρμακο (placebo).

Μετά την ολοκλήρωση της προθεραπείας όλοι οι επίμυες υπεβλήθησαν σε εκτεταμένη (80%) ηπατεκτομή που πραγματοποιήθηκε με την ίδια μέθοδο και υπο τις ίδιες συνθήκες. Οι χειρουργικές επεμβάσεις παραγματοποιήθηκαν υπο στείρες συνθήκες μεταξύ 10:00 π.μ. και 1:30 μ.μ. Το πείραμα ολοκληρώνεται 48 ώρες μετά το χειρουργείο οπότε τα ζωικά πρότυπα θυσιάζονται υπο βαθιά καταστολή και συλλέγονται δείγματα ηπατικού ιστού και αίματος.

2.3. Αναισθησία

Κάθε πειραματόζωο παρέμεινε νήστις για δώδεκα ώρες προ της χειρουργικής επέμβασης. Για την επίτευξη αναισθησίας χορηγούνταν 35 mg/kg κεταμίνης (ketamine, Rhône Mérieux, Lyon, France) και 5 mg/kg ξυλαζίνης (xylazine, Bayer Animal Health, Leverkusen, Germany) ενδομυϊκά κατά την προεγχειρητική προετοιμασία, ενώ κατά τη διάρκεια της επέμβασης, χορηγούνταν διαυθλαιθέρας από μάσκα σε συνεχή ροή (**εικόνα 8Α-Γ**). Μετά την ακινητοποίησή των ζωικών προτύπων, ακολουθούσε ξύρισμα της κοιλιακής χώρας και αντισηψία του χειρουργικού πεδίου με διάλυμα 10% ιωδιούχου ποβιδόνης.

2.4 Χειρουργική επέμβαση

Υπο στείρες συνθήκες πραγματοποιείται τομή μήκους τεσσάρων εκατοστών στη μέση γραμμή του πειραματοζώου με σταδιακή διάνοιξη των στρωμάτων του κοιλιακού τοιχώματος μέχρις εισόδου εντός της περιτοναϊκής κοιλότητας. Κατόπιν διενεργείται διερεύνηση των ενδοκοιλιακών οργάνων και του ήπατος και εφόσον δεν ανευρεθούν συγγενείς ανωμαλίες, οι επίμυες υποβάλλονται σε εκτεταμένη ηπατεκτομή με την τεχνική των Martins και συνεργατών [101] κατά την οποία αφαιρούνται ο μέσος λοβός, ο δεξιός και ο αριστερός πλάγιος λοβός.

Η κινητοποίηση του ήπατος πραγματοποιείται με τη διατομή του δρεπανοειδούς συνδέσμου με χρήση ψαλιδιού μικροχειρουργικής, χειρισμός που επιτρέπει την ανάρτηση του ήπατος έπειτα από ήπια απώθηση με τη χρήση αποστειρωμένου βαμβακοφόρου στυλεού. Η ηπατεκτομή πραγματοποιείται με τοποθέτηση διπλής απολίνωσης Vicryl 3-0 (Ethicon Inc, New Jersey, USA) στη βάση κάθε λοβού. Η συγκεκριμένη μέθοδος οδηγεί σε θρυματισμό του ηπατικού παρεγχύματος γύρω από τον πυλαίο μίσχο του κάθε λοβού, επιτρέποντας έτσι την επίτευξη αιμόστασης και ταυτόχρονα την αποφυγή διαρροών από τα κολοβώματα των ενδοηπατικών χολαγγείων. Μετά την απολίνωση των ηπατικών λοβών, πραγματοποιείται εκτομή των παρασκευασμάτων με τη χρήση νυστεριού (**εικόνα 8Δ**).

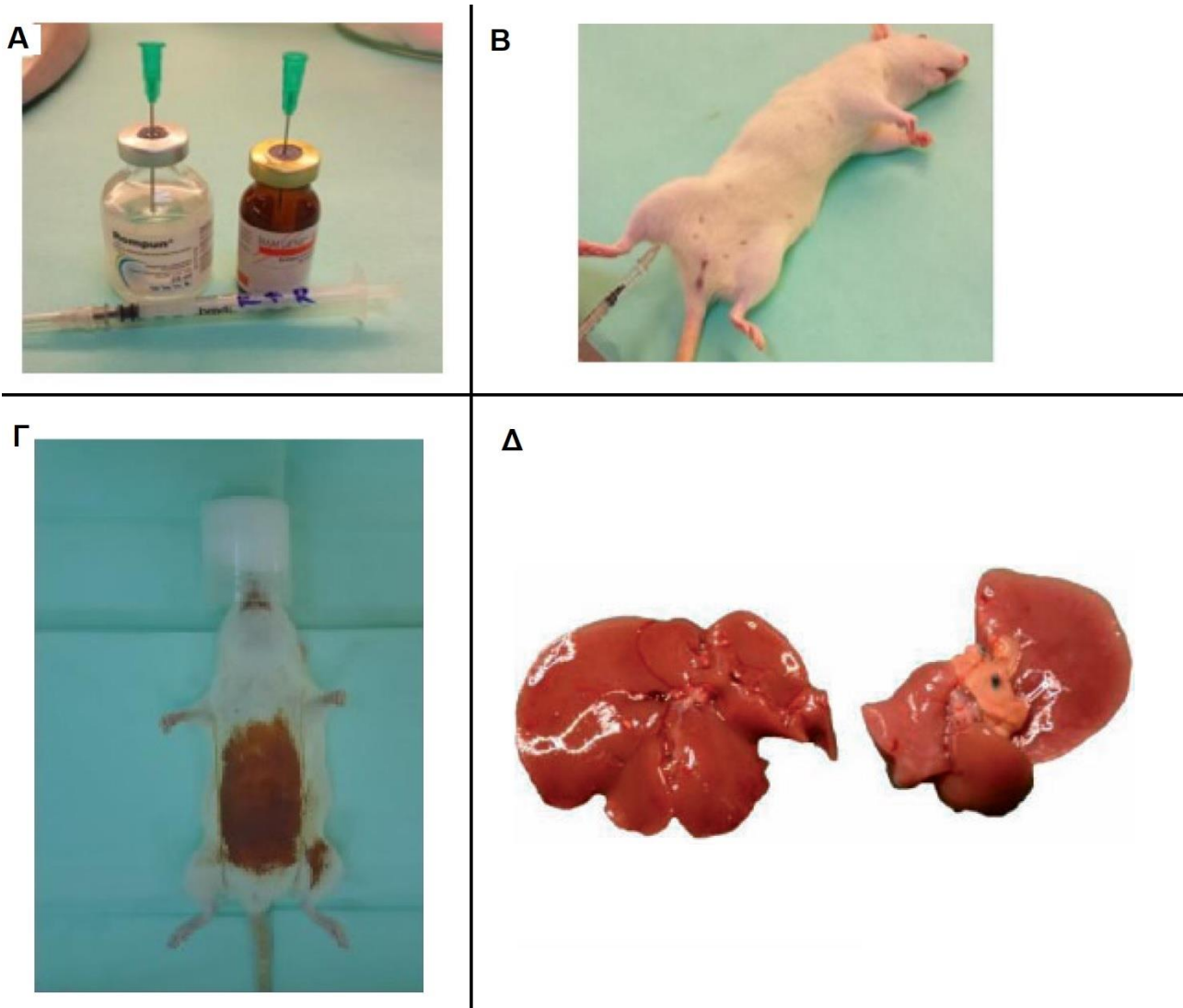
Μετά την ολοκλήρωση της ηπατεκτομής, η κοίτη εκτομής ελέγχεται ως προς την αιμόσταση και επισκοπείται η διαφραγματική επιφάνεια για τον αποκλεισμό τραυματισμών. Εγχύονται 10 mL φυσιολογικού ορού εντός της περιτοναϊκής κοιλότητας προς μετεγχειρητική ενυδάτωση και τέλος, συγκλείεται το κοιλιακό τοίχωμα σε δύο στρώματα με συνεχόμενες ραφές. Κατά την άμεση μετεγχειρητική περίοδο οι επίμυες λαμβάνουν αναλγητική αγωγή με χορήγηση 0,1 mg/kg βουπρενορφίνης υποδορίως σε ημερήσια βάση. Δεν υπήρξαν περιπτώσεις επιπλοκών ή θανάτων στη μετεγχειρητική πορεία των πειραματοζώων.

2.5 Ανοσοϊστοχημική μελέτη και μέτρηση επιπέδων TNF α

Τα ιστοτεμάχια του αναγεννώμενου ήπατος που συλλέχθηκαν κατά τον τερματισμό του πειράματος τοποθετήθηκαν σε μονιμοποιητικό διάλυμα 10% φορμόλης και απεστάλησαν για περαιτέρω μικροσκοπικό έλεγχο. Κατά τη μακροσκοπική εξέταση ελήφθησαν δύο αντιπροσωπευτικές τομές από κάθε ιστοτεμάχιο οι οποίες στη συνέχεια εγλείσθηκαν σε κύβους παραφίνης και μέσω μικροτόμου κατασκευάστηκαν λεπτότερες τομές πάχους 5-6 μm και χρωματίσθηκαν με αιματοξυλίνη - ηωσίνη. Κάθε δείγμα υπεβλήθη σε ανοσοϊστοχημική μελέτη της έκφρασης του αντιγόνου Ki-67 και του ενζύμου COX-2 (Lyophilized Mouse Monoclonal Antibody Cyclooxygenase-2, Leica Biosystems, Newcastle, United Kingdom). Όλα τα ιστοτεμάχια εξετάσθηκαν από τον ίδιο Παθολογοανατόμο. Τα μετεγχειρητικά επίπεδα TNF α μετρήθηκαν μέσω της μεθόδου ELISA χρησιμοποιώντας ένα εμπορικά διαθέσιμο kit (TNF α mouse ELISA Kit, Cayman, Michigan, USA).

2.6 Σκορ έκφρασης της COX-2

Το σκορ έκφρασης COX-2 χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να ποσοτικοποιηθεί η ιστική έκφραση του ενζύμου. Το σκορ αυτό περιγράφεται από τους Qiu και συνεργάτες [114] και συνυπολογίζει



Εικόνα 8. Περιγραφή της περιεγχειρητικής διαδικασίας. (Α) Η εισαγωγή στην αναισθησία πραγματοποιήθηκε με τη συνδυαστική χρήση κεταμίνης/ξυλαζίνης με ενδομυϊκή έγχυση (Β). (Γ) Η διατήρηση της αναισθησίας κατά τη διάρκεια του χειρουργείου επιτεύχθει με μάσκα αιθέρα. (Δ) Ενδεικτικό χειρουργικό παρασκεύασμα ηπατεκτομής.

την ένταση (0 = αρνητική χρώση, 1 = ασθενώς θετική, 2 = μετρίως θετική, 3 = ισχυρά θετική) και την έκταση (0 = αρνητική χρώση, 1 = 1-25% των συνολικών παρατηρούμενων κυττάρων, 2 = 26-50% των κυττάρων, 3 = 51-75% των κυττάρων και 4 = 76-100%) της ανοσοϊστοχημικής χρώσης (**πίνακας 2**). Τα επιμέρους σκορ της έντασης και της έκτασης αθροίζονται προκειμένου να καθορισθεί το συνολικό σκορ έκφρασης της COX-2 στο αναγεννώμενο ήπαρ, με τιμές από 0 μέχρι 7, όπου τιμές 0 μέχρι 4 υποδηλώνουν χαμηλή έκφραση COX-2 και από 5 μέχρι 7 υψηλή, σύμφωνα με τους Jeong και συνεργάτες [115].

2.7 Στατιστική

Η εκτίμηση της κανονικότητας της κατανομής δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το Shapiro-Wilk's test. Το μη παραμετρικό Mann-Whitney-U (two tailed) test χρησιμοποιήθηκε στις συγκρίσεις του βάρους των πειραματοζώων, του σκορ έκφρασης COX-2 και των επιπέδων TNFα μεταξύ των ομάδων UDCA και control. Η σχέση μεταξύ του σκορ έκφρασης της COX-2 και των επιπέδων TNFα και Ki-67 μελετήθηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Pearson's correlation. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση για ποσοτικά δεδομένα ή ως διάμεση και διατεταρτημοριακό διάστημα (IQR) σε περιπτώσεις κατηγορικών δεδομένων. Συγκρίσεις μεταξύ κατηγορικών δεδομένων πραγματοποιήθηκαν με το Fischer's exact test. Τα αποτελέσματα θεωρούνται στατιστικά σημαντικά για τιμές p-value μικρότερες του 0,05.

ΣΚΟΡ ΕΝΤΑΣΗΣ		ΣΚΟΡ ΕΚΤΑΣΗΣ	
<i>Αρνητική</i>	0	<i>Αρνητική</i>	0
<i>Ασθενώς θετική</i>	1	<i>1-25% των κυττάρων</i>	1
<i>Μετρίως θετική</i>	2	<i>26-50% των κυττάρων</i>	2
<i>Ισχυρά θετική</i>	3	<i>51-75% των κυττάρων</i>	3
		<i>76-100% των κυττάρων</i>	4

Πίνακας 2. Σκορ έκφρασης της COX-2 στο εναπομείναν αναγεννώμενο ηπατικό παρέγχυμα. Το τελικό σκορ υπολογίζεται από το άθροισμα των σκορ έντασης και έκτασης.

3. Αποτελέσματα

3.1 Ποσοτικοποίηση της αναγεννητικής απόκρισης

Ιστολογική εξέταση του μιτωτικού δείκτη, δηλαδή του αριθμού των πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων ανα 40 οπτικά πεδία (per 40x high powered field, HPF), ανέδειξε μη στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της ομάδας UDCA ($43 \pm 11,4$ μιτώσεις/40 HPF) και της ομάδας ελέγχου ($31 \pm 16,7$, $p=0,053$). Αντίστοιχα, ανοσοϊστοχημική χρώση έναντι του δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67 ανέδειξε μη στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των συγκρινόμενων ομάδων ($13,7 \pm 24,7$ στην ομάδα UDCA έναντι $7,6 \pm 5,7$ στην ομάδα ελέγχου). Εντούτοις, σε αμφότερες τις περιπτώσεις καταγράφηκε σαφής τάση προς αυξημένη ηπατική αναγέννηση στην ομάδα που έλαβε προθεραπεία με UDCA, όπως μαρτυράται από την κατα 39% αύξηση της μέσης τιμής του μιτωτικού δείκτη και την κατά 80% αύξηση της έκφρασης του Ki-67 (**πίνακας 3**).

3.2 Έκφραση COX-2 και ανοσοϊστοχημεία

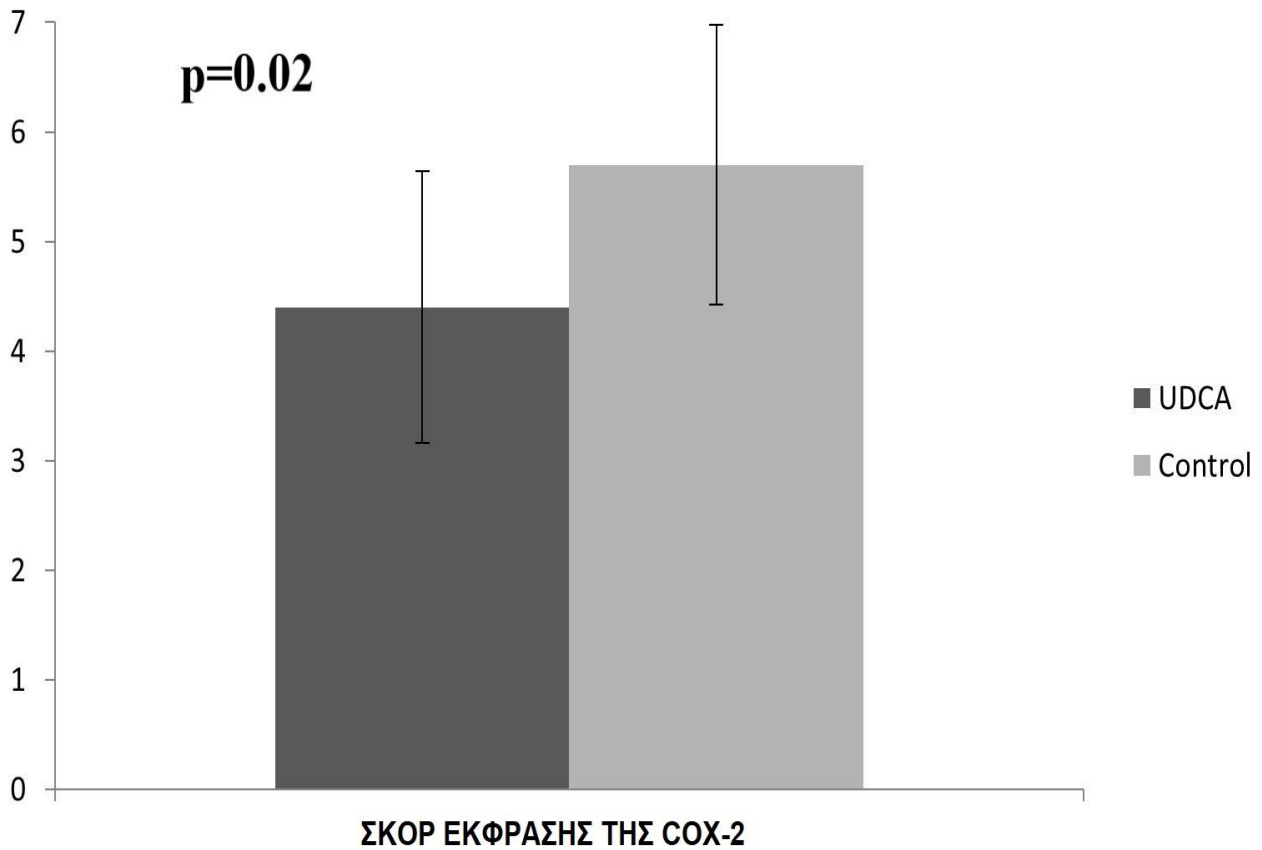
Ανοσοϊστοχημική χρώση έναντι της κυτταροπλασματικής COX-2 πραγματοποιήθηκε στις ιστολογικές τομές από τα παρασκευάσματα του αναγεννώμενου ήπατος. Έπειτα από μικροσκοπικό έλεγχο, παρατηρήθηκε ότι η έκταση της θετικής χρώσης για COX-2 ήταν αυξημένη σε στατιστικά σημαντικό βαθμό στην ομάδα ελέγχου (διάμεση τιμή 4, IQR 1) έναντι της ομάδας UDCA (διάμεση τιμή 3 IQR 0,5, $p=0,013$). Όσον αφορά την ένταση της χρώσης για COX-2, η διάμεση τιμή ήταν 2,5 (IQR 2) στην ομάδα ελέγχου και 1 (IQR 1) στην ομάδα UDCA, χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά στη μεταξύ τους σύγκριση ($p=0,15$).

Το τελικό, σύνθετο, σκορ έκφρασης της COX-2 στα κύτταρα του αναγεννώμενου ηπατικού ιστού στο τέλος του πειράματος είχε διάμεση τιμή 6 (IQR 2,5) στην ομάδα ελέγχου και 4 (IQR 1,5), καταδεικνύοντας στατιστικά σημαντικά μειωμένη κατά 50% συνολική έκφραση της COX-2 στην ομάδα που έλαβε προθεραπεία με UDCA (**εικόνα 9**, $p=0,028$).

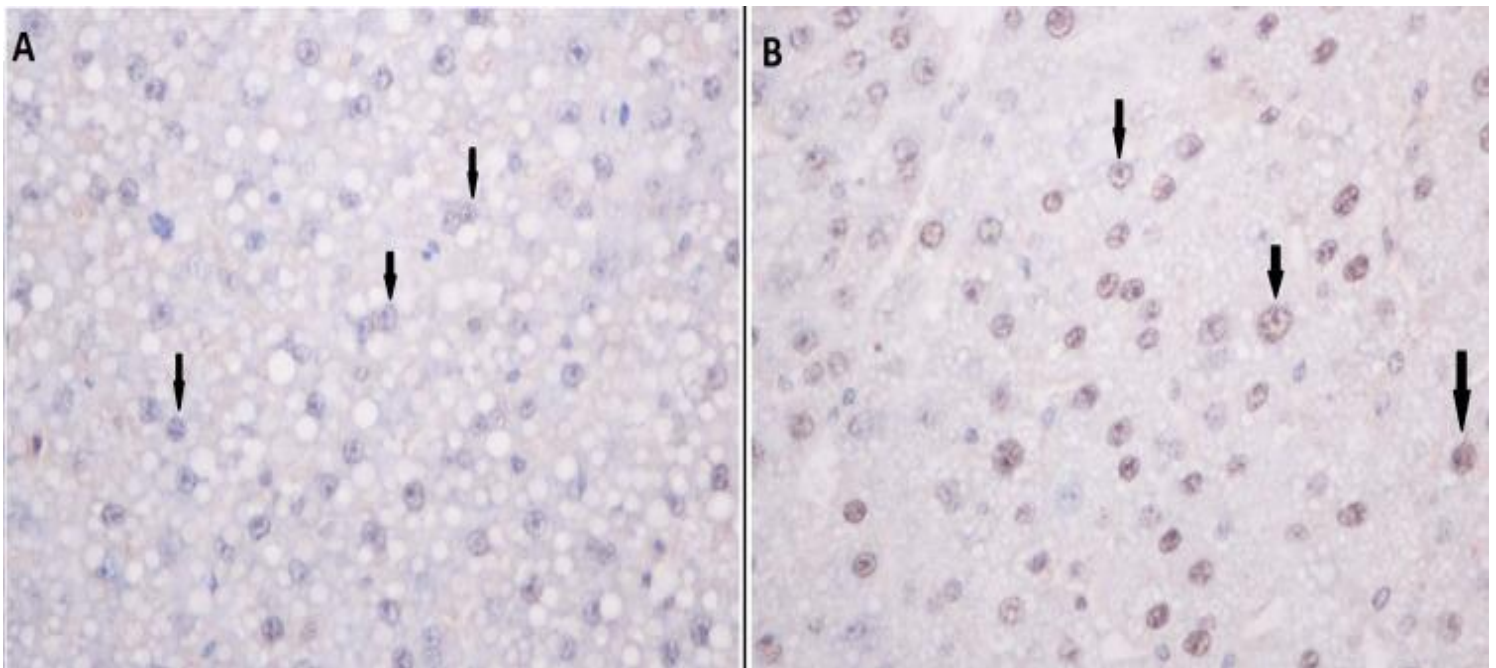
Στην **εικόνα 10** απεικονίζονται δύο ιστοικά δείγματα με το μέγιστο σκορ έκφρασης της COX-2, στις ομάδες UDCA (A) και ελέγχου (B) αντίστοιχα. Όταν τα δείγματα χωρίστηκαν σε υπο-ομάδες υψηλής και χαμηλής έκφρασης της COX-2, αναλόγως του καταλογιζόμενου σκορ (0-4 χαμηλή έκφραση, 5-7 υψηλή έκφραση), διαπιστώθηκε ότι ο αριθμός των δειγμάτων με υψηλή έκφραση COX-2 ήταν μεγαλύτερος στην ομάδα ελέγχου σε σύγκριση με την ομάδα UDCA (75% έναντι 41,7%, αντίστοιχα) χωρίς ωστόσο η διαφορά να παρουσιάζει στατιστική σημαντικότητα (**εικόνα 11**, $p=0,21$).

	Ομάδα ελέγχου (n=12)	Ομάδα UDCA (n=12)	Τιμή p
Βάρος ζώων	263,6±14.8 gr	256,4±15,7 gr	0,5
Ki-67	7.6±5.7	13.7±24.7	0,073
Μιτωτικός δείκτης	31±16,7 /40 HPF	43±11,4 /40 HPF	0,053
Έκταση χρώσης COX-2*	4 (1)	3 (0.05)	0,013
Ένταση χρώσης COX-2*	2.5 (2)	1 (1)	0,15
Σκορ έκφρασης COX-2*	6 (2.5)	4 (1.5)	0,028
TNFα	75,4±14,4 pg/mL	37,3±10,9 pg/mL	0,004

Πίνακα 3. Σύγκριση των παραμέτρων στις δύο ομάδες επίμυων του πειράματος. * Οι τιμές εκφράζονται ως διάμεση και (IQR).



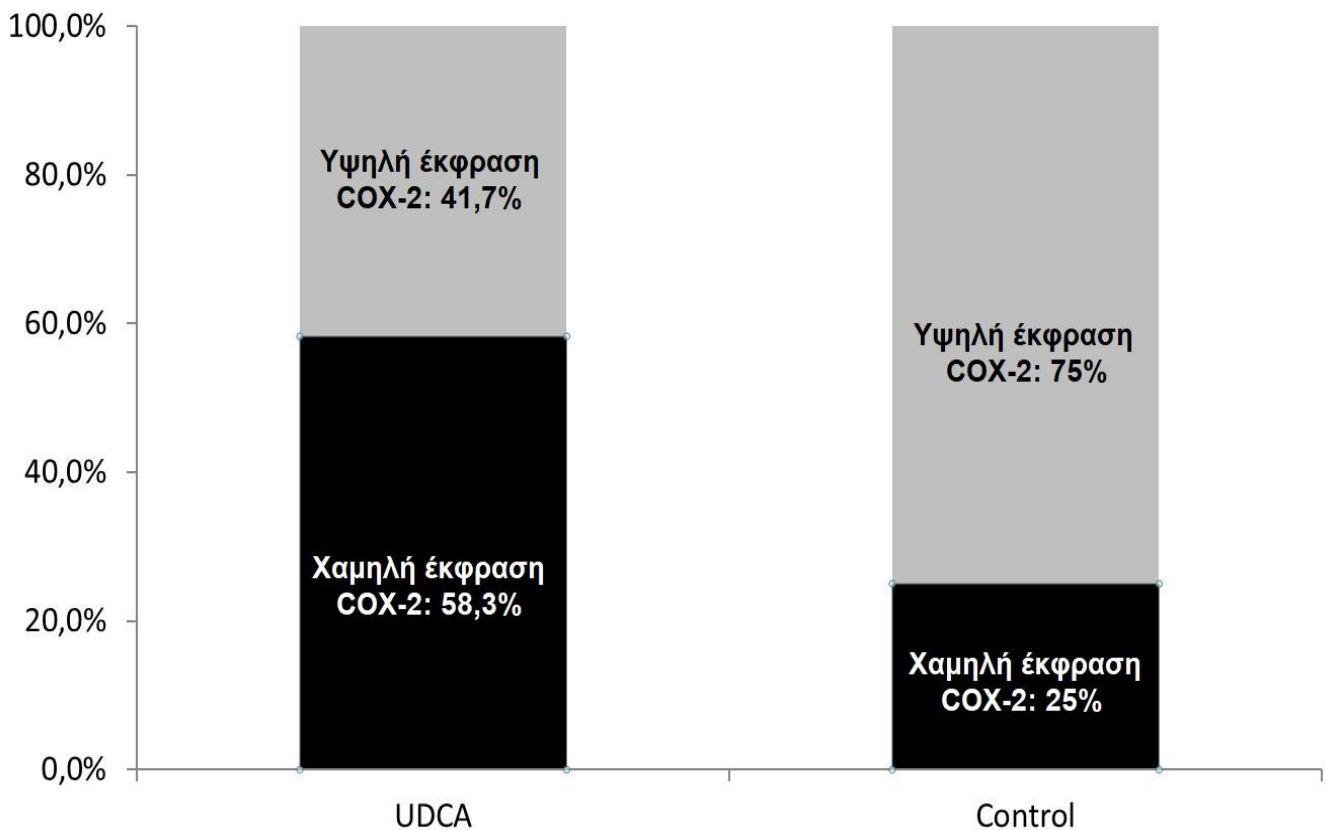
Εικόνα 9. Αντιπαράθεση των σκορ έκφρασης COX-2 στο αναγεννώμενο ήπαρ της ομάδα UDCA (αριστερά) και της ομάδας ελέγχου (δεξιά).



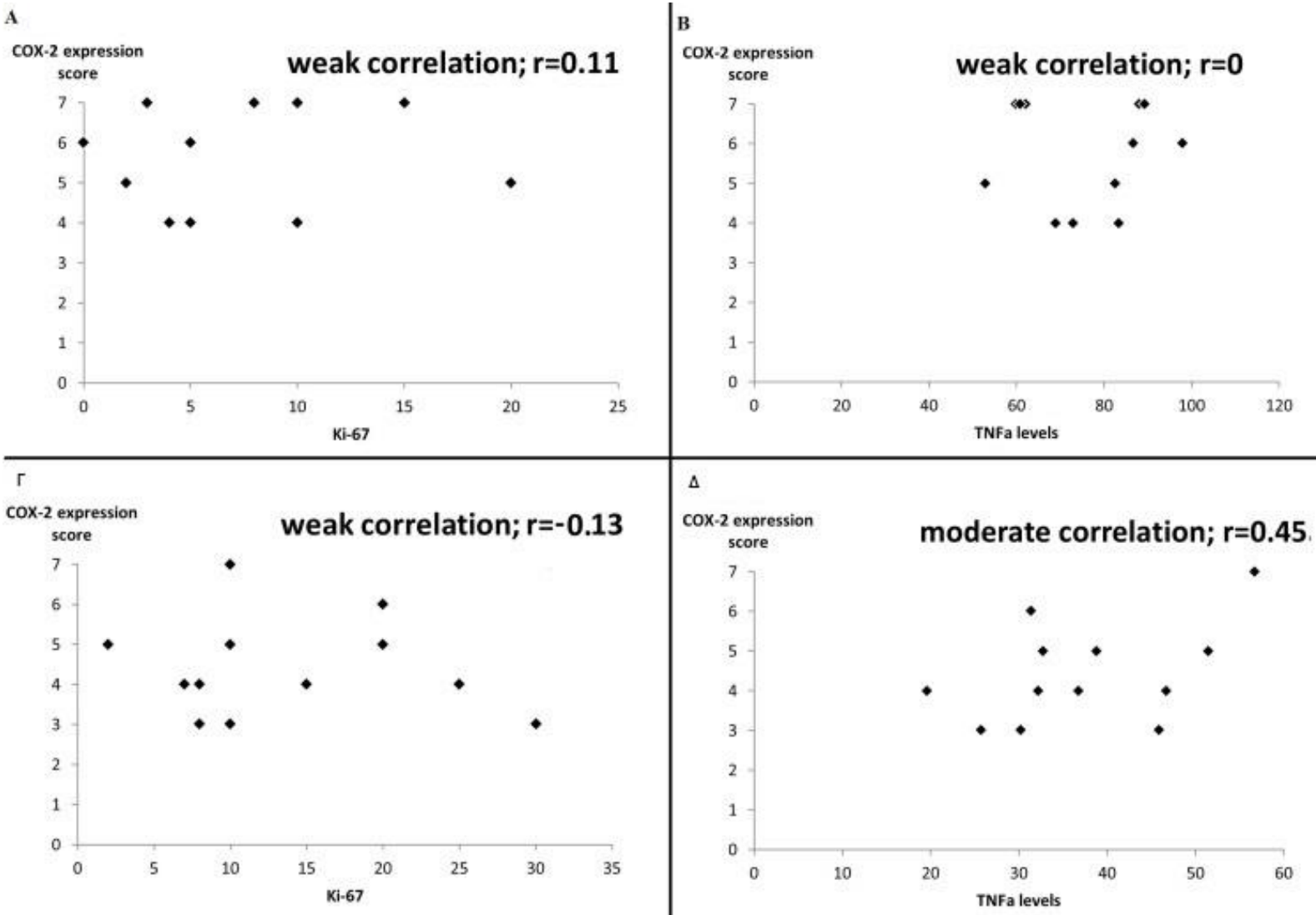
Εικόνα 10. Ανοσοϊστοχημική χρώση για κυτταροπλασματική έκφραση της COX-2 (μαύρα βέλη) στις ομάδες UDCA (A) και ελέγχου (B) αντίστοιχα. Αμφότερες οι περιπτώσεις αποτελούν αντιπροσωπευτικά δείγματα ιστοτεμαχίων που εκφράζουν το μέγιστο σκορ έκφρασης COX-2.

3.3 Μέτρηση επιπέδων TNFα και συσχέτιση

Τα επίπεδα TNFα που μετρήθηκαν στον ορό αίματος επίμυων μετά την ολοκλήρωση του πειράματος παρουσίαζαν στατιστικά σημαντική αύξηση στην ομάδα control, με τιμές $75,4 \pm 14,4$ pg/mL έναντι $37,3 \pm 10,9$ pg/mL στην ομάδα UDCA ($p=0.004$). Ο έλεγχος συσχέτισμού με Pearson's correlation ανέδειξε ασθενή συσχέτιση του σκορ έκφρασης COX-2 με την έκφραση του αντιγόνου πολλαπλασιασμού Κί-67 στους ηπατικούς ιστούς τόσο της ομάδας ελέγχου όσο και της ομάδας UDCA ($r=0,11$ και $-0,13$ αντίστοιχα). Όσον αφορά τη συσχέτιση COX-2 με τα επίπεδα του TNFα, στην ομάδα ελέγχου ουδεμία συσχέτιση παρατηρήθηκε ($r=0$), αντιθέτως με την ομάδα UDCA όπου εμφάνιζε μέτρια συσχέτιση με συντελεστή $r=0,45$, (εικόνα 12).



Εικόνα 11. Ποσοστό κυττάρων με υψηλή και χαμηλή έκφραση COX-2 στις ομάδες UDCA (αριστερά) και ελέγχου (δεξιά).



Εικόνα 12. Σχεδιαγράμματα συσχετισμού των τιμών του σκορ έκφρασης COX-2 και των επιπέδων TNFα ή της έκφρασης Ki-67, στις ομάδες UDCA (Γ και Δ) και ελέγχου (Α και Β).

4. Συζήτηση

Στην παρούσα πειραματική μελέτη αναδεικνύεται η κατασταλτική δράση του ουρσοδεοξυχολικού οξέος στην ηπατική έκφραση COX-2. Η έκφραση του ισοενζύμου υπήρξε εμφανώς μειωμένη στην ομάδα επίμυων που έλαβαν προθεραπεία (διάμεσο σκορ έκφρασης 4 έναντι 6 στην ομάδα ελέγχου, $p=0.028$) με παρατηρούμενη 33.3% συνολική μείωση στον αριθμό παρασκευασμάτων που εμφάνιζαν υψηλή έκφραση COX-2 (**εικόνα 11**).

Οι Khare και συνεργάτες [109] ήταν οι πρώτοι ερευνητές που παρατήρησαν ότι το δια του στόματος χορηγούμενο UDCA δρα ρυθμιστικά στην έκφραση της COX-2, μειώνοντας τα επίπεδά της σε καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου μέσω της καταστολής της δραστηριότητας του μονοπατιού C/EPBb που οδηγεί σε ενεργοποίηση του υποκινητή του γονιδίου που κωδικοποιεί την COX-2. Οι Liu και συνεργάτες [116] στη συνέχεια διαπίστωσαν ότι η μειωμένη ενεργοποίηση του C/EPBb οδηγεί σε μείωση της εξαρτώμενης από Ιντερλευκίνες λειτουργία της πρωτεΐνης Tmub1 (ubiquitin-like domain-containing protein 1), η οποία με τη σειρά της αποτελεί σημαντικό ενδοκυττάριο ελεγκτή της ηπατικής αναγέννησης, επιδρώντας στο μοριακό σηματοδοτικό καταρράκτη του παράγοντα STAT3. Μπορεί επομένως να θεωρηθεί ότι οι ηπατοπροστατευτικές ιδιότητες του UDCA μπορούν να αποδοθούν στην ελάττωση της φλεγμονώδους απόκρισης τόσο σε τοπικό όσο και συστηματικό επίπεδο [89, 93]. Ωστόσο, ο εξ'ολοκλήρου αποκλεισμός της λειτουργίας της COX-2 αποδεικνύεται καταστροφικός για την αναγεννητική διαδικασία προκαλώντας ιστική έλλειψη προσταγλανδίνης PGE₂. Η εν λόγω προσταγλανδίνη πιθανολογείται ότι κατέχει κεντρικό ρόλο στα πρώιμα στάδια της ηπατικής αναγέννησης, με τα επίπεδά της να αυξάνονται στο ηπατικό παρέγχυμα με διφασικό χρονικό μοτίβο [117]. Οι κορυφές της έκφρασης PGE₂ εντοπίζονται στις 3 και 10 ώρες μετά το χειρουργείο μερικής ηπατεκτομής. Στην περίπτωση όπου έχει προηγηθεί προθεραπεία με UDCA, η αλληλεπίδραση μεταξύ του εξωγενώς χορηγούμενων χολικών οξέων και της COX-2 κατά τη δεύτερη κορυφή της έκφρασης PGE₂ φαίνεται να εξηγεί το συνολικά θετικό αντίκτυπο του UDCA στην ηπατική αναγέννηση, παρά τη διαφαινόμενη έλλειψη προσταγλανδινών που προκαλεί.

Το ερευνητικό πρωτόκολλο της εκτεταμένης (80%) ηπατεκτομής επιλέχθηκε προσεκτικά με σκοπό τη μεγιστοποίηση της αναγεννητικής απόκρισης και τον σχετιζόμενο με αυτή μοριακό φλεγμονώδη καταρράκτη, σε ένα περιβάλλον οξείας ηπατικής ανεπάρκειας, επιπλεγμένης από small-for-size σύνδρομο [93]. Η πρόσφατη βιβλιογραφία στηρίζει την αποτελεσματικότητα και την αναπαραγωγικότητα του μοντέλου καθότι σωστή εφαρμογή του συνδέεται με μικρά ποσοστά μετεγχειρητικής θνητότητας [118, 119]. Η έκφραση της COX-2

στον ηπατικό ιστό μετά από ηπατεκτομή μεγιστοποιείται 16 ώρες μετεγχειρητικά, με τα επίπεδά της να σταθεροποιούνται μετά από 96 ώρες, εξηγώντας έτσι την επιλογή για τερματισμό του πειράματος 48 ώρες μετεγχειρητικά.

Αυξημένα επίπεδα TNF α στον ορό του αίματος συμπίπτουν με αυξημένη ενδοκυττάρια έκφραση COX-2 ασχέτως του είδους της προηγηθείσας ηπατικής βλάβης [120]. Ο παράγοντας NF-kB είναι ένας σημαντικός μοριακός διαμεσολαβητής των προφλεγμονωδών δράσεων του TNF α μέσω της επίδρασής του στην ενίσχυση της μοριακής σηματοδότησης μέσω του μονοπατιού STAT3 που εν τέλει οδηγεί σε επαγόμενη μεταγραφή του γονιδίου για την COX-2 [121, 122]. Συνεπώς, τα ιστικά επίπεδα COX-2 και TNF α αυξάνονται ταυτόχρονα έπειτα από εκτεταμένη ηπατεκτομή και μπορούν να θεωρηθούν εκδηλώσεις του ίδιου προφλεγμονώδους φαινομένου που συνοδεύει την ηπατική αναγέννηση και όχι ανεξάρτητα φαινόμενα [93]. Όσον αφορά τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, ωστόσο, τα επίπεδα της έκφρασης της COX-2 στους ηπατικούς ιστούς δεν συσχετίζονταν ουσιωδώς με τα επίπεδα TNF α στην ομάδα ελέγχου ($r=0$, **εικόνα 12B**). Προθεραπεία με UDCA φάνηκε να ασκεί θετική ρυθμιστική επίδραση στην έκφραση της COX-2, όπως μαρτυράται από την ισχυρότερη θετική συσχέτιση με τον TNF α που παρατηρήθηκε στα πειραματόζωα της ομάδα UDCA ($r=0.45$, **εικόνα 12Δ**). Αυτό το συγκεκριμένο εύρημα μπορεί να ερμηνευθεί από τη θεωρία ότι το UDCA και ο TNF α δρουν συνεργιστικά και συγκεκριμένα, ότι το UDCA μεγιστοποιεί την επίδραση του TNF α κι επομένως της τοπικής συνιστώσας της φλεγμονώδους απόκρισης στους αναγεννώμενους ιστούς, πιθανώς μέσω κυκλωμάτων θετικής ανατροφοδότησης μεσολαβούμενων από τον NF-kB [123]. Ταυτόχρονα, μειώνει τη συστηματική συνιστώσα της φλεγμονής με τους μηχανισμούς που αναφέρθηκαν νωρίτερα.

Η έκφραση του Ki-67, αντιθέτως, δεν παρουσίασε συσχέτισμό με τα επίπεδα COX-2 σε καμία από τις δύο πειραματικές ομάδες (**εικόνα 12A, 12Γ**). Το αποτέλεσμα αυτό υποδεικνύει την ανεξαρτησία της έκφρασης COX-2 από την ηπατοκυτταρική αναγέννηση και κατά συνέπεια η αλληλεπίδραση UDCA και COX-2, κατά την ηπατική αναγέννηση, μπορεί να θεωρηθεί δευτερευούσης σημασίας στο πλαίσιο της συνολικής προαναγεννητικής επίδρασης του UDCA.

Η παρούσα μελέτη παρουσιάζει συγκεκριμένους περιορισμούς. Πρώτον, η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε με στόχο την καταγραφή διαφορών στην έκφραση του COX-2 και του TNF α . Ως εκ τούτου, είναι δυνατόν το στατιστικό δείγμα της μελέτης να μην είχε την απαραίτητη ισχύ ώστε να αναδείξει στατιστικά σημαντικές διαφορές σε άλλες παραμέτρους όπως ο Ki-67 και ο μίτωτικός δείκτης (στατιστικό σφάλμα τύπου II). Επιπλέον, αν και τα

ανωτέρω περιγραφόμενα αποτελέσματα δείχνουν σημαντική μείωση των ιστικών επιπέδων COX-2 μετά από χορήγηση UDCA, ο ρόλος της COX-2 στην πρώιμη φάση της ηπατικής αναγέννησης μελετήθηκε εμμέσως, ενώ οι μοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ UDCA και COX-2 παραμένουν ασαφείς. Παρά τους περιορισμούς, ωστόσο, η μελέτη αυτή αναδεικνύει τη μέθοδο της εκτεταμένης (80%) ηπατεκτομής ως κατάλληλη για τη μελέτη της αλληλεπίδρασης των συστηματικών και τοπικών προφλεγμονωδών παραγόντων στο αναγεννώμενο ηπατικό παρέγχυμα, ιδίως κατά τις πρώτες 48 ώρες μετά την ηπατεκτομή.

Όπως γίνεται αντιληπτό, σημαντική πρόοδος στην κατανόηση των θεμελιωδών μηχανισμών ηπατικής αναγέννησης αναμένεται να υπάρξει την ερχόμενη πενταετία, δεδομένου οι κλινικές προεκτάσεις του ζητήματος είναι αρκετές και σημαντικές. Για το λόγο αυτό, το ερευνητικό πεδίο της ηπατικής αναγέννησης φαίνεται να εξελίσσεται από το στάδιο της απλής καταγραφής των μοριακών διαδικασιών στο στάδιο της εξωγενούς παρέμβασης και βελτιστοποίησής τους. Το κρίσιμο χρονικό διάστημα που καθορίζει την ανάρρωση μετά από μερική ηπατεκτομή είναι οι πρώτες 5-7 μετεγχειρητικές ημέρες. Παρεμβάσεις σε αυτό το χρονικό πλαίσιο μπορεί να δρουν ευεργετικά για την εξέλιξη της ηπατικής αναγέννησης. Αντίστοιχα αποτελέσματα έχουν αναφερθεί στο παρελθόν για διάφορες ουσίες όπως ο αντιοξειδωτικός παράγοντας bicycloI, η N-ακετυλοκυστεΐνη, το υπερβαρικό οξυγόνο, η α-τοκοφερόλη και πλειάδα άλλων αντίστοιχων φαρμακευτικών παραγόντων [124–127].

Κοινός παρονομαστής που χαρακτηρίζει τη δράση όλων των ανωτέρω ουσιών είναι η αντιοξειδωτική τους δράση σε μικροσκοπικό επίπεδο. Τέτοια δράση φαίνεται πως έχει και το UDCA το οποίο φαίνεται να ενεργοποιεί τα αντιοξειδωτικά και αποτοξινωτικά ενδοκυττάρια μονοπάτια που εμπλέκουν τον παράγοντα Nrf2 (nuclear factor-E2-related factor 2). Ο συγκεκριμένος παράγοντας δρα ως ενδοκυττάριος ανιχνευτής οξειδωτικού stress και δεσμεύεται στο κυτταρόπλασμα από την πρωτεΐνη Keap 1 (Kelch-like ECH-associated protein). Σε συνθήκες οξειδωτικού stress, τροποποίηση των σουλφυδρυλικών ομάδων του Keap 1 οδηγούν σε απελευθέρωση του παράγοντα Nrf2 ο οποίος επάγει την έκφραση του παράγοντα anti-oxidant responsive element/electrophile-response element που δεσμεύει τις ελεύθερες ρίζες και αυξάνει την αντιοξειδωτική χωρητικότητα του συστήματος της γλουταθειονικής περοξειδάσης [92, 128]. Παράλληλα, το UDCA ασκεί προστατευτική δράση μέσω της μείωσης της δραστηριότητας των μεταλλοπρωτεασών στρώματος και των παραγόντων της οικογένειας ADAM, τόσο στο αναγεννώμενο ήπαρ όσο και σε εξωηπατικούς ιστούς με απτά κλινικά αποτελέσματα [91, 129, 130].

Συμπερασματικά, το UDCA μειώνει αποτελεσματικά τα επίπεδα COX-2 στο αναγεννώμενο (αλλά όχι στο αδρανές) ηπατικό παρέγχυμα, ομοίως με άλλους επιθηλιακούς ιστούς όπως του οισοφάγου και του παχέος εντέρου. Η χορήγηση του UDCA αυξάνει την ηπατική αναγέννηση και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ωστόσο δεν φαίνεται να συσχετίζεται με τα επίπεδα της COX-2. Το γεγονός αυτό υποστηρίζει ότι το UDCA ασκεί την ευοδωτική, ως προς την ηπατική αναγέννηση, δράση του κυρίως μέσω άλλων μηχανισμών με την αλληλεπίδραση UDCA/COX-2 να είναι δευτερευούσης σημασίας. Με βάση τα ανωτέρω, η αντιοξειδωτική δράση του UDCA φαίνεται να είναι ο επικρατέστερος ηπατοπροστατευτικός μηχανισμός σε καταστάσεις οξείας ηπατικής ανεπάρκειας ή small-for-size συνδρόμου.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

- Papakonstantinou D, Paspala A, Pikoulis E, Perrea DN, Machairas A, Agrogiannis G, Machairas N, Patapis P, Zavras NJ. The Modulating Effect of Ursodeoxycholic Acid on Liver Tissue Cyclooxygenase-2 Expression Following Extended Hepatectomy. *Cureus*. 2021 Jun 7;13(6):e15500. doi: 10.7759/cureus.

- Paspala A, Papakonstantinou D, Prodromidou A, Danias N, Machairas A, Agrogiannis G, Machairas N, Zavras NJ, Patapis P, Pikoulis E. The Effects of Ursodeoxycholic Acid Pretreatment in an Experimental Setting of Extended Hepatectomy: A Feasibility Study. *Cureus*. 2020 Dec 17;12(12):e12120. doi: 10.7759/cureus.12120.

- Παπακωνσταντίνου Δ, Πασπάλα Α, Μαχαίρας Ν, Παύλου Κ, Ντόμη Β, Κολιάκος Ν, Κολλάρας Β, Δανιάς Ν, Πατάπης Π, Μαχαίρας Α. Η επίδραση της προεγχειρητικής χορήγησης ουρσοδεοξυχολικού οξέος στην ηπατική αναγέννηση επίμυων μετά από εκτεταμένη ηπατεκτομή: Πειραματική μελέτη. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργικής & Χειρουργικό Forum (2018).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Power C, Rasko JEJ (2008) Whither prometheus' liver? Greek myth and the science of regeneration. *Ann Intern Med* 149:421–426. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-149-6-200809160-00009>
2. Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ (2006) Liver regeneration. *Hepatology* 43:S45-53. <https://doi.org/10.1002/hep.20969>
3. Marubashi S, Sakon M, Nagano H, et al (2004) Effect of portal hemodynamics on liver regeneration studied in a novel portohepatic shunt rat model. *Surgery* 136:1028–1037. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2004.03.012>
4. Torre C, Benhamouche S, Mitchell C, et al (2011) The transforming growth factor- α and cyclin D1 genes are direct targets of β -catenin signaling in hepatocyte proliferation. *J Hepatol* 55:86–95. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.10.021>
5. Monga SP, Padiaditakis P, Mule K, et al (2001) Changes in WNT/beta-catenin pathway during regulated growth in rat liver regeneration. *Hepatology* 33:1098–1109. <https://doi.org/10.1053/jhep.2001.23786>
6. Ishii T, Sato M, Sudo K, et al (1995) Hepatocyte growth factor stimulates liver regeneration and elevates blood protein level in normal and partially hepatectomized rats. *J Biochem* 117:1105–1112. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a124814>
7. Hasuike S, Ido A, Uto H, et al (2005) Hepatocyte growth factor accelerates the proliferation of hepatic oval cells and possibly promotes the differentiation in a 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy model in rats. *J Gastroenterol Hepatol* 20:1753–1761. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2005.03922.x>
8. Mars WM, Kim TH, Stolz DB, et al (1996) Presence of urokinase in serum-free primary rat hepatocyte cultures and its role in activating hepatocyte growth factor. *Cancer Res* 56:2837–2843
9. Tsomaia K, Patarashvili L, Karumidze N, et al (2020) Liver structural transformation after partial hepatectomy and repeated partial hepatectomy in rats: A renewed view on liver regeneration. *World J Gastroenterol* 26:3899–3916. <https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i27.3899>

10. Sánchez A, Factor VM, Schroeder IS, et al (2004) Activation of NF-kappaB and STAT3 in rat oval cells during 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy-induced liver regeneration. *Hepatology* 39:376–385. <https://doi.org/10.1002/hep.20040>
11. Jirtle RL, Carr BI, Scott CD (1991) Modulation of insulin-like growth factor-II/mannose 6-phosphate receptors and transforming growth factor-beta 1 during liver regeneration. *J Biol Chem* 266:22444–22450
12. Chien C-S, Chen Y-H, Chen H-L, et al (2018) Cells responsible for liver mass regeneration in rats with 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy injury. *J Biomed Sci* 25:39. <https://doi.org/10.1186/s12929-018-0441-5>
13. Oh S-H, Witek RP, Bae S-H, et al (2007) Bone marrow-derived hepatic oval cells differentiate into hepatocytes in 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy-induced liver regeneration. *Gastroenterology* 132:1077–1087. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.01.001>
14. Szücs A, Paku S, Sebestyén E, et al (2020) Postnatal, ontogenic liver growth accomplished by biliary/oval cell proliferation and differentiation. *PLoS One* 15:e0233736. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233736>
15. Almalé L, García-Álvaro M, Martínez-Palacián A, et al (2019) c-Met Signaling Is Essential for Mouse Adult Liver Progenitor Cells Expansion After Transforming Growth Factor- β -Induced Epithelial-Mesenchymal Transition and Regulates Cell Phenotypic Switch. *Stem Cells* 37:1108–1118. <https://doi.org/10.1002/stem.3038>
16. Chen Y-H, Chang M-H, Chien C-S, et al (2013) Contribution of mature hepatocytes to small hepatocyte-like progenitor cells in retrorsine-exposed rats with chimeric livers. *Hepatology* 57:1215–1224. <https://doi.org/10.1002/hep.26104>
17. GRISHAM JW (1962) A morphologic study of deoxyribonucleic acid synthesis and cell proliferation in regenerating rat liver; autoradiography with thymidine-H3. *Cancer Res* 22:842–849
18. Pepe-Mooney BJ, Dill MT, Alemany A, et al (2019) Single-Cell Analysis of the Liver Epithelium Reveals Dynamic Heterogeneity and an Essential Role for YAP in Homeostasis and Regeneration. *Cell Stem Cell* 25:23-38.e8. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.04.004>

19. Meijer C, Wiezer MJ, Diehl AM, et al (2000) Kupffer cell depletion by Cl₂MDP-liposomes alters hepatic cytokine expression and delays liver regeneration after partial hepatectomy. *Liver* 20:66–77. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0676.2000.020001066.x>
20. TAKEISHI T, HIRANO K, KOBAYASHI T, et al (1999) The Role of Kupffer Cells in Liver Regeneration. *Arch Histol Cytol* 62:413–422. <https://doi.org/10.1679/aohc.62.413>
21. Nishiyama K, Nakashima H, Ikarashi M, et al (2015) Mouse CD11b+Kupffer Cells Recruited from Bone Marrow Accelerate Liver Regeneration after Partial Hepatectomy. *PLoS One* 10:e0136774
22. Mabuchi A, Mullaney I, Sheard P, et al (2004) Role of Hepatic Stellate Cells in the Early Phase of Liver Regeneration in Rat: Formation of Tight Adhesion to Parenchymal Cells. *Comp Hepatol* 3:S29. <https://doi.org/10.1186/1476-5926-2-S1-S29>
23. Ge J-Y, Zheng Y-W, Tsuchida T, et al (2020) Hepatic stellate cells contribute to liver regeneration through galectins in hepatic stem cell niche. *Stem Cell Res Ther* 11:425. <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01942-x>
24. Apte U, Gkretsi V, Bowen WC, et al (2009) Enhanced liver regeneration following changes induced by hepatocyte-specific genetic ablation of integrin-linked kinase. *Hepatology* 50:844–851. <https://doi.org/10.1002/hep.23059>
25. Sable SA, Maheshwari S, Sharma S, et al (2018) Kinetics of liver regeneration in donors after living donor liver transplantation: A retrospective analysis of “2/3rd partial hepatectomy” model at 3 months. *Indian J Gastroenterol Off J Indian Soc Gastroenterol* 37:133–140. <https://doi.org/10.1007/s12664-018-0838-9>
26. Gkretsi V, Bowen WC, Yang Y, et al (2007) Integrin-linked kinase is involved in matrix-induced hepatocyte differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 353:638–643. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.12.091>
27. Gkretsi V, Mars WM, Bowen WC, et al (2007) Loss of integrin linked kinase from mouse hepatocytes in vitro and in vivo results in apoptosis and hepatitis. *Hepatology* 45:1025–1034. <https://doi.org/10.1002/hep.21540>

28. Donthamsetty S, Bowen W, Mars W, et al (2010) Liver-specific ablation of integrin-linked kinase in mice results in enhanced and prolonged cell proliferation and hepatomegaly after phenobarbital administration. *Toxicol Sci* 113:358–366. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfp281>
29. Walesky C, Gunewardena S, Terwilliger EF, et al (2013) Hepatocyte-specific deletion of hepatocyte nuclear factor-4 α in adult mice results in increased hepatocyte proliferation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 304:G26-37. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00064.2012>
30. Jin J, Hong I-H, Lewis K, et al (2015) Cooperation of C/EBP family proteins and chromatin remodeling proteins is essential for termination of liver regeneration. *Hepatology* 61:315–325. <https://doi.org/10.1002/hep.27295>
31. Huck I, Gunewardena S, Espanol-Suner R, et al (2019) Hepatocyte Nuclear Factor 4 Alpha Activation Is Essential for Termination of Liver Regeneration in Mice. *Hepatology* 70:666–681. <https://doi.org/10.1002/hep.30405>
32. Papp V, Dezső K, László V, et al (2009) Architectural changes during regenerative and ontogenic liver growth in the rat. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc* 15:177–183. <https://doi.org/10.1002/lt.21665>
33. Hoehme S, Brulport M, Bauer A, et al (2010) Prediction and validation of cell alignment along microvessels as order principle to restore tissue architecture in liver regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:10371–10376. <https://doi.org/10.1073/pnas.0909374107>
34. Skov Olsen P, Boesby S, Kirkegaard P, et al (1988) Influence of epidermal growth factor on liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *Hepatology* 8:992–996. <https://doi.org/10.1002/hep.1840080503>
35. Talarmin H, Rescan C, Cariou S, et al (1999) The mitogen-activated protein kinase kinase/extracellular signal-regulated kinase cascade activation is a key signalling pathway involved in the regulation of G(1) phase progression in proliferating hepatocytes. *Mol Cell Biol* 19:6003–6011. <https://doi.org/10.1128/MCB.19.9.6003>
36. Seki E, Brenner DA, Karin M (2012) A liver full of JNK: signaling in regulation of cell function and disease pathogenesis, and clinical approaches. *Gastroenterology* 143:307–320. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.06.004>

37. Berasain C, García-Trevijano ER, Castillo J, et al (2005) Amphiregulin: an early trigger of liver regeneration in mice. *Gastroenterology* 128:424–432. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.11.006>
38. Taniguchi E, Sakisaka S, Matsuo K, et al (2001) Expression and role of vascular endothelial growth factor in liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *J Histochem Cytochem Off J Histochem Soc* 49:121–130. <https://doi.org/10.1177/002215540104900112>
39. Shimizu H, Miyazaki M, Wakabayashi Y, et al (2001) Vascular endothelial growth factor secreted by replicating hepatocytes induces sinusoidal endothelial cell proliferation during regeneration after partial hepatectomy in rats. *J Hepatol* 34:683–689. [https://doi.org/10.1016/s0168-8278\(00\)00055-6](https://doi.org/10.1016/s0168-8278(00)00055-6)
40. Huang W, Ma K, Zhang J, et al (2006) Nuclear receptor-dependent bile acid signaling is required for normal liver regeneration. *Science* 312:233–236. <https://doi.org/10.1126/science.1121435>
41. Borude P, Edwards G, Walesky C, et al (2012) Hepatocyte-specific deletion of farnesoid X receptor delays but does not inhibit liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *Hepatology* 56:2344–2352. <https://doi.org/10.1002/hep.25918>
42. Karin M, Clevers H (2016) Reparative inflammation takes charge of tissue regeneration. *Nature* 529:307–315. <https://doi.org/10.1038/nature17039>
43. Melgar-Lesmes P, Edelman ER (2015) Monocyte-endothelial cell interactions in the regulation of vascular sprouting and liver regeneration in mouse. *J Hepatol* 63:917–925. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.05.011>
44. Cressman DE, Greenbaum LE, DeAngelis RA, et al (1996) Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice. *Science* 274:1379–1383. <https://doi.org/10.1126/science.274.5291.1379>
45. Campbell JS, Riehle KJ, Brooling JT, et al (2006) Proinflammatory cytokine production in liver regeneration is Myd88-dependent, but independent of Cd14, Tlr2, and Tlr4. *J Immunol* 176:2522–2528. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.4.2522>
46. Seki E, Tsutsui H, Jimuro Y, et al (2005) Contribution of Toll-like receptor/myeloid differentiation factor 88 signaling to murine liver regeneration. *Hepatology* 41:443–

450. <https://doi.org/10.1002/hep.20603>
47. Jin X, Zhang Z, Beer-Stolz D, et al (2007) Interleukin-6 inhibits oxidative injury and necrosis after extreme liver resection. *Hepatology* 46:802–812. <https://doi.org/10.1002/hep.21728>
48. Rouzer CA, Marnett LJ (2009) Cyclooxygenases: structural and functional insights. *J Lipid Res* 50 Suppl:S29–S34. <https://doi.org/10.1194/jlr.R800042-JLR200>
49. Futagami A, Ishizaki M, Fukuda Y, et al (2002) Wound Healing Involves Induction of Cyclooxygenase-2 Expression in Rat Skin. *Lab Invest* 82:1503–1513. <https://doi.org/10.1097/01.LAB.0000035024.75914.39>
50. Ren H, Lin D, Mou Z, Dong P (2013) The Adverse Effect of Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitor on Random Skin Flap Survival in Rats. *PLoS One* 8:e82802
51. Bondesen BA, Mills ST, Kegley KM, Pavlath GK (2004) The COX-2 pathway is essential during early stages of skeletal muscle regeneration. *Am J Physiol Cell Physiol* 287:C475-83. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00088.2004>
52. Alvarez AM, DeOcesano-Pereira C, Teixeira C, Moreira V (2020) IL-1 β and TNF- α Modulation of Proliferated and Committed Myoblasts: IL-6 and COX-2-Derived Prostaglandins as Key Actors in the Mechanisms Involved. *Cells* 9:. <https://doi.org/10.3390/cells9092005>
53. Tiseo BC, Namur GN, de Paula E JL, et al (2006) Experimental study of the action of COX-2 selective nonsteroidal anti-inflammatory drugs and traditional anti-inflammatory drugs in bone regeneration. *Clinics (Sao Paulo)* 61:223–230. <https://doi.org/10.1590/s1807-59322006000300007>
54. Shen W, Prisk V, Li Y, et al (2006) Inhibited skeletal muscle healing in cyclooxygenase-2 gene-deficient mice: the role of PGE₂ and PGF₂ α . *J Appl Physiol* 101:1215–1221. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01331.2005>
55. Altoé LS, Alves RS, Miranda LL, et al (2021) Doxycycline Hyclate Modulates Antioxidant Defenses, Matrix Metalloproteinases, and COX-2 Activity Accelerating Skin Wound Healing by Secondary Intention in Rats. *Oxid Med Cell Longev* 2021:4681041. <https://doi.org/10.1155/2021/4681041>

56. Vabeiryureilai M, Lalrinzuali K, Jagetia GC (2021) NF- κ B and COX-2 repression with topical application of hesperidin and naringin hydrogels augments repair and regeneration of deep dermal wounds. *Burns*.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.burns.2021.04.016>
57. Martín-Sanz P, Callejas NA, Casado M, et al (1998) Expression of cyclooxygenase-2 in foetal rat hepatocytes stimulated with lipopolysaccharide and pro-inflammatory cytokines. *Br J Pharmacol* 125:1313–1319. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702196>
58. Zhang F, Warskulat U, Wettstein M, et al (1995) Hyperosmolarity stimulates prostaglandin synthesis and cyclooxygenase-2 expression in activated rat liver macrophages. *Biochem J* 312 (Pt 1:135–143. <https://doi.org/10.1042/bj3120135>
59. Callejas NA, Boscá L, Williams CS, et al (2000) Regulation of cyclooxygenase 2 expression in hepatocytes by CCAAT/enhancer-binding proteins. *Gastroenterology* 119:493–501. <https://doi.org/10.1053/gast.2000.9374>
60. Mischoulon D, Rana B, Bucher NL, Farmer SR (1992) Growth-dependent inhibition of CCAAT enhancer-binding protein (C/EBP α) gene expression during hepatocyte proliferation in the regenerating liver and in culture. *Mol Cell Biol* 12:2553–2560. <https://doi.org/10.1128/mcb.12.6.2553-2560.1992>
61. Diehl AM, Yang SQ (1994) Regenerative changes in C/EBP α and C/EBP β expression modulate binding to the C/EBP site in the c-fos promoter. *Hepatology* 19:447–456. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/hep.1840190225>
62. Casado M, Callejas NA, Rodrigo J, et al (2001) Contribution of cyclooxygenase 2 to liver regeneration after partial hepatectomy. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol* 15:2016–2018. <https://doi.org/10.1096/fj.01-0158fje>
63. Gryglewski RJ, Dembínska-Kieć A, Korbut R (1978) A possible role of thromboxane A₂ (TXA₂) and prostacyclin (PGI₂) in circulation. *Acta Biol Med Ger* 37:715–723
64. Mohamed YS, Abdelsalam RM, Attia AS, et al (2020) Regulation of liver regeneration by prostaglandin E(2) and thromboxane A(2) following partial hepatectomy in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 393:1437–1446.
<https://doi.org/10.1007/s00210-020-01848-8>
65. Rudnick DA, Perlmutter DH, Muglia LJ (2001) Prostaglandins are required for CREB

activation and cellular proliferation during liver regeneration. *Proc Natl Acad Sci* 98:8885 LP – 8890. <https://doi.org/10.1073/pnas.151217998>

66. Duboc H, Taché Y, Hofmann AF (2014) The bile acid TGR5 membrane receptor: From basic research to clinical application. *Dig Liver Dis* 46:302–312. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.dld.2013.10.021>
67. Zhang Y, Hong J-Y, Rockwell CE, et al (2012) Effect of bile duct ligation on bile acid composition in mouse serum and liver. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver* 32:58–69. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2011.02662.x>
68. Portincasa P, Grattagliano I, Petruzzelli M, et al (2008) Taurodeoxycholate-induced intestinal injury is modulated by oxidative stress-dependent pre-conditioning like mechanisms. *Toxicol Lett* 182:36–41. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.08.001>
69. Ishibashi S, Schwarz M, Frykman PK, et al (1996) Disruption of cholesterol 7 α -hydroxylase gene in mice. I. Postnatal lethality reversed by bile acid and vitamin supplementation. *J Biol Chem* 271:18017–18023. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.30.18017>
70. Wang H, Chen J, Hollister K, et al (1999) Endogenous bile acids are ligands for the nuclear receptor FXR/BAR. *Mol Cell* 3:543–553. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(00\)80348-2](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(00)80348-2)
71. Lin BC, Wang M, Blackmore C, Desnoyers LR (2007) Liver-specific Activities of FGF19 Require Klotho beta *. *J Biol Chem* 282:27277–27284. <https://doi.org/10.1074/jbc.M704244200>
72. Kim I, Ahn S-H, Inagaki T, et al (2007) Differential regulation of bile acid homeostasis by the farnesoid X receptor in liver and intestine. *J Lipid Res* 48:2664–2672. <https://doi.org/10.1194/jlr.M700330-JLR200>
73. Chen W-D, Wang Y-D, Zhang L, et al (2010) Farnesoid X receptor alleviates age-related proliferation defects in regenerating mouse livers by activating forkhead box m1b transcription. *Hepatology* 51:953–962. <https://doi.org/10.1002/hep.23390>
74. Padrissa-Altés S, Bachofner M, Bogorad RL, et al (2015) Control of hepatocyte proliferation and survival by Fgf receptors is essential for liver regeneration in mice.

Gut 64:1444–1453. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-307874>

75. Keitel V, Häussinger D (2012) Perspective: TGR5 (Gpbar-1) in liver physiology and disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 36:412–419.
<https://doi.org/10.1016/j.clinre.2012.03.008>
76. Keitel V, Reinehr R, Gatsios P, et al (2007) The G-protein coupled bile salt receptor TGR5 is expressed in liver sinusoidal endothelial cells. *Hepatology* 45:695–704.
<https://doi.org/10.1002/hep.21458>
77. Péan N, Doignon I, Garcin I, et al (2013) The receptor TGR5 protects the liver from bile acid overload during liver regeneration in mice. *Hepatology* 58:1451–1460.
<https://doi.org/10.1002/hep.26463>
78. Suzuki H, Iyomasa S, Nimura Y, Yoshida S (1994) Internal biliary drainage, unlike external drainage, does not suppress the regeneration of cholestatic rat liver after partial hepatectomy. *Hepatology* 20:1318–1322
79. Iyomasa S, Terasaki M, Kuriki H, et al (1992) Decrease in Regeneration Capacity of Rat Liver after External Biliary Drainage. *Eur Surg Res* 24:265–272.
<https://doi.org/10.1159/000129215>
80. Dong X, Zhao H, Ma X, Wang S (2010) Reduction in bile acid pool causes delayed liver regeneration accompanied by down-regulated expression of FXR and c-Jun mRNA in rats. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci = Hua zhong ke ji da xue xue bao Yi xue Ying wen ban = Huazhong keji daxue xuebao Yixue Yingdewen ban* 30:55–60. <https://doi.org/10.1007/s11596-010-0110-8>
81. Monte MJ, Martinez-Diez MC, El-Mir MY, et al (2002) Changes in the pool of bile acids in hepatocyte nuclei during rat liver regeneration. *J Hepatol* 36:534–542.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(01\)00296-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-8278(01)00296-3)
82. Naugler WE (2014) Bile Acid Flux Is Necessary for Normal Liver Regeneration. *PLoS One* 9:e97426
83. Uriarte I, Fernandez-Barrena MG, Monte MJ, et al (2013) Identification of fibroblast growth factor 15 as a novel mediator of liver regeneration and its application in the prevention of post-resection liver failure in mice. *Gut* 62:899–910.
<https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302945>

84. Makino I, Tanaka H (1998) From a choleric to an immunomodulator: historical review of ursodeoxycholic acid as a medicament. *J Gastroenterol Hepatol* 13:659–664. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.1998.tb00707.x>
85. Ljubuncic P, Fuhrman B, Oiknine J, et al (1996) Effect of deoxycholic acid and ursodeoxycholic acid on lipid peroxidation in cultured macrophages. *Gut* 39:475–478. <https://doi.org/10.1136/gut.39.3.475>
86. Zhang Y, Jiang R, Zheng X, et al (2019) Ursodeoxycholic acid accelerates bile acid enterohepatic circulation. *Br J Pharmacol* 176:2848–2863. <https://doi.org/10.1111/bph.14705>
87. Lazaridis KN, Gores GJ, Lindor KD (2001) Ursodeoxycholic acid “mechanisms of action and clinical use in hepatobiliary disorders”. *J Hepatol* 35:134–146. [https://doi.org/10.1016/s0168-8278\(01\)00092-7](https://doi.org/10.1016/s0168-8278(01)00092-7)
88. Miyaguchi S, Mori M (2005) Ursodeoxycholic acid (UDCA) suppresses liver interleukin 2 mRNA in the cholangitis model. *Hepatogastroenterology* 52:596–602
89. Ko W-K, Lee S-H, Kim SJ, et al (2017) Anti-inflammatory effects of ursodeoxycholic acid by lipopolysaccharide-stimulated inflammatory responses in RAW 264.7 macrophages. *PLoS One* 12:e0180673. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180673>
90. O’Dwyer AM, Lajczak NK, Keyes JA, et al (2016) Ursodeoxycholic acid inhibits TNF α -induced IL-8 release from monocytes. *Am J Physiol Liver Physiol* 311:G334–G341. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00406.2015>
91. Buryova H, Chalupsky K, Zbodakova O, et al (2013) Liver protective effect of ursodeoxycholic acid includes regulation of ADAM17 activity. *BMC Gastroenterol* 13:155. <https://doi.org/10.1186/1471-230X-13-155>
92. Uzun MA, Koksall N, Aktas S, et al (2009) The effect of ursodeoxycholic acid on liver regeneration after partial hepatectomy in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 39:814–821. <https://doi.org/10.1111/j.1872-034X.2009.00511.x>
93. Paspala A, Papakonstantinou D, Prodromidou A, et al (2020) The Effects of Ursodeoxycholic Acid Pretreatment in an Experimental Setting of Extended Hepatectomy: A Feasibility Study. *Cureus* 12:e12120.

<https://doi.org/10.7759/cureus.12120>

94. Wan J-F, Chu S-F, Zhou X, et al (2018) Ursodeoxycholic acid protects interstitial Cajal-like cells in the gallbladder from undergoing apoptosis by inhibiting TNF- α expression. *Acta Pharmacol Sin* 39:1493–1500.
<https://doi.org/10.1038/aps.2017.206>
95. Higgins GM, Anderson R (1931) Experimental pathology of liver: restoration of liver of white rat following partial surgical removal. *Am Med Assoc Arch Pathol* 186–202
96. RALLI EP, DUMM ME (1951) Simplified technic for partial hepatectomy in rats with fatty livers. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med (New York, NY)* 77:188–190.
<https://doi.org/10.3181/00379727-77-18719>
97. Mitchell C, Willenbring H (2008) A reproducible and well-tolerated method for 2/3 partial hepatectomy in mice. *Nat Protoc* 3:1167–1170.
<https://doi.org/10.1038/nprot.2008.80>
98. Nevzorova YA, Tolba R, Trautwein C, Liedtke C (2015) Partial hepatectomy in mice. *Lab Anim* 49:81–88. <https://doi.org/10.1177/0023677215572000>
99. Aller M-A, Arias N, Prieto I, et al (2012) A half century (1961-2011) of applying microsurgery to experimental liver research. *World J Hepatol* 4:199–208.
<https://doi.org/10.4254/wjh.v4.i7.199>
100. BUCHER NL, SWAFFIELD MN (1964) THE RATE OF INCORPORATION OF LABELED THYMIDINE INTO THE DEOXYRIBONUCLEIC ACID OF REGENERATING RAT LIVER IN RELATION TO THE AMOUNT OF LIVER EXCISED. *Cancer Res* 24:1611–1625
101. Martins PNA, Theruvath TP, Neuhaus P (2008) Rodent models of partial hepatectomies. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver* 28:3–11.
<https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2007.01628.x>
102. Makino H, Togo S, Kubota T, et al (2005) A good model of hepatic failure after excessive hepatectomy in mice. *J Surg Res* 127:171–176.
<https://doi.org/10.1016/j.jss.2005.04.029>
103. Hori T, Ohashi N, Chen F, et al (2011) Simple and sure methodology for massive hepatectomy in the mouse. *Ann Gastroenterol* 24:307–318

104. Thiebaud MJL, Cervantes-Alvarez E, Navarro-Alvarez N (2019) Towards the Study of Liver Failure: Protocol for a 90% Extended Hepatectomy in Mice
105. Keen WW (1899) IV. Report of a Case of Resection of the Liver for the Removal of a Neoplasm, with a Table of Seventy-six Cases of Resection of the Liver for Hepatic Tumors. *Ann Surg* 30:267–283. <https://doi.org/10.1097/00000658-189907000-00023>
106. Pringle JH (1908) V. Notes on the Arrest of Hepatic Hemorrhage Due to Trauma. *Ann Surg* 48:541–549. <https://doi.org/10.1097/00000658-190810000-00005>
107. Kokudo N, Takemura N, Ito K, Mihara F (2020) The history of liver surgery: Achievements over the past 50 years. *Ann Gastroenterol Surg* 4:109–117. <https://doi.org/10.1002/ags3.12322>
108. Schoen Smith JM, Lauth WW (2005) The role of prostaglandins in triggering the liver regeneration cascade. *Nitric oxide Biol Chem* 13:111–117. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2005.05.006>
109. Khare S, Mustafi R, Cerda S, et al (2008) Ursodeoxycholic acid suppresses Cox-2 expression in colon cancer: roles of Ras, p38, and CCAAT/enhancer-binding protein. *Nutr Cancer* 60:389–400. <https://doi.org/10.1080/01635580701883003>
110. Khare S, Cerda S, Wali RK, et al (2003) Ursodeoxycholic acid inhibits Ras mutations, wild-type Ras activation, and cyclooxygenase-2 expression in colon cancer. *Cancer Res* 63:3517–3523
111. Bozikas A, Marsman WA, Rosmolen WD, et al (2008) The effect of oral administration of ursodeoxycholic acid and high-dose proton pump inhibitors on the histology of Barrett's esophagus. *Dis esophagus Off J Int Soc Dis Esophagus* 21:346–354. <https://doi.org/10.1111/j.1442-2050.2007.00782.x>
112. Huang W-K, Hsu H-C, Liu J-R, et al (2016) The Association of Ursodeoxycholic Acid Use With Colorectal Cancer Risk: A Nationwide Cohort Study. *Medicine (Baltimore)* 95:e2980–e2980. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002980>
113. Kim E-K, Cho JH, Kim E, Kim YJ (2017) Ursodeoxycholic acid inhibits the proliferation of colon cancer cells by regulating oxidative stress and cancer stem-like cell growth. *PLoS One* 12:e0181183–e0181183. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181183>

114. Qiu D-K, Ma X, Peng Y-S, Chen X-Y (2002) Significance of cyclooxygenase-2 expression in human primary hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 8:815–817. <https://doi.org/10.3748/wjg.v8.i5.815>
115. Jeong SW, Jang JY, Lee SH, et al (2010) Increased expression of cyclooxygenase-2 is associated with the progression to cirrhosis. *Korean J Intern Med* 25:364–371. <https://doi.org/10.3904/kjim.2010.25.4.364>
116. Liu M, Yuan T, Liu H, Chen P (2014) CCAAT/enhancer-binding protein β regulates interleukin-6-induced transmembrane and ubiquitin-like domain containing 1 gene expression in hepatocytes. *Mol Med Rep* 10:2177–2183. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2457>
117. Tsujii H, Okamoto Y, Kikuchi E, et al (1993) Prostaglandin E2 and rat liver regeneration. *Gastroenterology* 105:495–499. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(93\)90725-r](https://doi.org/10.1016/0016-5085(93)90725-r)
118. Madrahimov N, Dirsch O, Broelsch C, Dahmen U (2006) Marginal hepatectomy in the rat: from anatomy to surgery. *Ann Surg* 244:89–98. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000218093.12408.0f>
119. Thiebaud MJL (2021) Towards the Study of Liver Failure: Protocol for a 90% Extended Hepatectomy in Mice. In: Cervantes-Alvarez E (ed). IntechOpen, Rijeka, p Ch. 13
120. Yu J, Ip E, Dela Peña A, et al (2006) COX-2 induction in mice with experimental nutritional steatohepatitis: Role as pro-inflammatory mediator. *Hepatology* 43:826–836. <https://doi.org/10.1002/hep.21108>
121. Dela Peña A, Leclercq I, Field J, et al (2005) NF-kappaB activation, rather than TNF, mediates hepatic inflammation in a murine dietary model of steatohepatitis. *Gastroenterology* 129:1663–1674. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.09.004>
122. Fujita J, Marino MW, Wada H, et al (2001) Effect of TNF gene depletion on liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *Surgery* 129:48–54. <https://doi.org/10.1067/msy.2001.109120>
123. Inoue H, Tanabe T, Umesono K (2000) Feedback control of cyclooxygenase-2 expression through PPARgamma. *J Biol Chem* 275:28028–28032.

<https://doi.org/10.1074/jbc.M001387200>

124. Uzun MA, Koksal N, Kadioglu H, et al (2009) Effects of N-acetylcysteine on regeneration following partial hepatectomy in rats with nonalcoholic fatty liver disease. *Surg Today* 39:592–597. <https://doi.org/10.1007/s00595-008-3930-4>
125. Yao X-M, Zhao J, Li Y, Li Y (2009) Effects of bicyclol on liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *Dig Dis Sci* 54:774–781. <https://doi.org/10.1007/s10620-009-0715-6>
126. Ozden TA, Uzun H, Bohloli M, et al (2004) The effects of hyperbaric oxygen treatment on oxidant and antioxidants levels during liver regeneration in rats. *Tohoku J Exp Med* 203:253–265. <https://doi.org/10.1620/tjem.203.253>
127. Andiran F, Ayhan A, Tanyel FC, et al (2000) Regenerative capacities of normal and cirrhotic livers following 70% hepatectomy in rats and the effect of alpha-tocopherol on cirrhotic regeneration. *J Surg Res* 89:184–188. <https://doi.org/10.1006/jsre.2000.5825>
128. Okada K, Shoda J, Taguchi K, et al (2008) Ursodeoxycholic acid stimulates Nrf2-mediated hepatocellular transport, detoxification, and antioxidative stress systems in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 295:G735-47. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.90321.2008>
129. Liu W, Wang B, Wang T, et al (2016) Ursodeoxycholic Acid Attenuates Acute Aortic Dissection Formation in Angiotensin II-Infused Apolipoprotein E-Deficient Mice Associated with Reduced ROS and Increased Nrf2 Levels. *Cell Physiol Biochem* 38:1391–1405. <https://doi.org/10.1159/000443082>
130. Moon S-J, Jeong J-H, Jhun JY, et al (2014) Ursodeoxycholic Acid ameliorates pain severity and cartilage degeneration in monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in rats. *Immune Netw* 14:45–53. <https://doi.org/10.4110/in.2014.14.1.45>