

Actividad celular proliferativa regenerante en ratones jóvenes hepatectomizados parcialmente

Proliferative activity of regenerating liver in young partially hepatectomized mice

 **Fernández Blanco, Ayelen**

Cátedra de Citología, Histología y Embriología, Departamento de Ciencias Morfológicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

ayelenfblanco@med.unlp.edu.ar

Rearte, Ignacio José

Cátedra A de Patología, Departamento de Articulación de las Ciencias Básicas y Clínicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

Rossi, Noé

Cátedra de Citología, Histología y Embriología, Departamento de Ciencias Morfológicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

García, Marcela Nilda

Cátedra de Citología, Histología y Embriología, Departamento de Ciencias Morfológicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

Analecta Veterinaria
vol. 45, e094, 2025
Universidad Nacional de La Plata, Argentina
ISSN: 0365-5148
ISSN-E: 1514-2590
Periodicidad: Frecuencia continua
analecta@fcv.unlp.edu.ar
Recepción: 22 abril 2024
Revisado: 08 noviembre 2024
Aprobación: 15 noviembre 2024
DOI: <https://doi.org/10.24215/15142590e094>

Resumen En ratones parcialmente hepatectomizados la respuesta regenerativa presenta un ritmo circadiano en la actividad proliferativa de los hepatocitos. El objetivo del trabajo fue analizar la actividad mitótica de hepatocitos de las zonas periportales y perivenulares de ratones jóvenes, a diferentes horas poshepatectomía parcial. Se utilizaron 18 ratones macho de la cepa CH3/S, 6 por punto horario analizado. A la edad de 28 días, los animales fueron parcialmente hepatectomizados y sacrificados a las 12/50, 16/54 y 20/58 hora del día/hora poshepatectomía parcial (HD/HPH), previa inyección de colcemid 4 horas antes. Se calculó la media de la actividad mitótica, para cada punto horario y zona. No se encontraron diferencias significativas entre las zonas periportal y perivenular. Los puntos horarios de las 16/54 y de las 20/58 HD/HPH presentaron valores de actividad mitótica mínimos. Debido a que la regeneración hepática puede manifestarse con una respuesta bifásica, pensamos que los bajos valores observados en los tiempos de las 16/54 y de las 20/58 HD/HPH, podrían deberse a que estos hepatocitos regenerantes se encuentran entre una ola proliferativa y la siguiente.

Palabras clave: hepatectomía parcial, regeneración hepática, ritmo circadiano.

Abstract: In partially hepatectomized mice, the regenerative response presents a circadian rhythm in the proliferative activity of hepatocytes. The aim of this work was to analyze the mitotic activity of hepatocytes in periportal and perivenular areas of young mice at different times after partial hepatectomy. Eighteen male mice of the CH3/S strain were used, 6 for each time point studied. At 28 days of age, the animals were partially hepatectomized and sacrificed at 12/50, 16/54, and 20/58 hour of day/hour post-partial hepatectomy (HD/HPH) after injection of colcemid 4 hours before. The mean mitotic activity (MA) was determined for each time point and zone. No significant differences in MA were found between periportal and perivenular zones. The 16/54 and 20/58 HD/HPH time points presented minimum MA values. Since liver regeneration can manifest with a biphasic response, it is likely that the low values observed at 16/54, and 20/58 HD/HPH time points could be because these regenerating hepatocytes are between one proliferative wave and the next..

Keywords: partial hepatectomy, liver regeneration, circadian rhythm.

Introducción

El hígado es un órgano que se caracteriza por su capacidad de regeneración tras un daño, ya sea químico, viral o por remoción quirúrgica. Debido a la amplia gama de funciones que desempeña este órgano y a las demandas que recibe del resto del organismo, su capacidad de regeneración ha sido fortalecida a través de procesos evolutivos. Estos eventos han dotado al hígado de una habilidad extraordinaria para regenerarse ([Cascales Angosto, 2009](#)). Esta facultad de poder restaurar sus propias células mediante el mecanismo de regeneración hepatocelular también se considera de relevancia fisiológica en numerosas enfermedades hepáticas, tales como en la hepatitis, tanto sea aguda, viral o alcohólica, en las alteraciones metabólicas o después de una cirugía hepática ([Mehendale, 1991](#)).

La regeneración hepática poshepatectomía parcial es el modelo más estudiado para evaluar la respuesta a la pérdida de tejido hepático ([Cascales Angosto, 2009](#)). En los ratones y ratas sometidos a una hepatectomía parcial del 70%, el hígado se regenera completamente luego de 5-7 días posteriores a la cirugía, por medio de una combinación de mecanismos de hipertrofia e hiperplasia ([Miyaoka et al., 2012; Miyaoka & Miyajima, 2013](#)). La regeneración hepática que ocurre en los lóbulos remanentes luego de la extirpación del tejido hepático, en realidad, corresponde a una hiperplasia compensatoria tendiente a aumentar la masa del órgano hasta que se alcanza su tamaño original ([Columbano & Shinosuka, 1996](#)).

La actividad proliferativa del hígado puede ser evaluada a través del análisis de la síntesis de ADN (ADNs) y de la actividad mitótica (AM) de los hepatocitos ([Fausto et al., 2006](#)). La AM es un indicador muy valioso del crecimiento hepático de los animales debido a que aporta información acerca de la cantidad de células que se están dividiendo al momento del sacrificio ([Echave Llanos & Sadnik, 1964](#)). Por otro lado, se sabe que la extensión y momento en que ocurre la regeneración hepática varía, dependiendo de los ritmos circadianos y de la especie de roedor empleada ([Fausto et al., 2006](#)). En ratones parcialmente hepatectomizados, bajo condiciones estandarizadas de luz y de oscuridad, la regeneración hepática involucra un ritmo circadiano tanto en la ADNs como en la AM de los hepatocitos ([Andrini et al., 2011; García et al., 2009](#)).

Tradicionalmente, los hepatocitos son clasificados como periportal y perivenulares teniendo en cuenta su localización dentro del *lobulillo hepático clásico*, como así también las diferencias zonales en el metabolismo y en la proliferación ([Ohtake et al., 2004](#)). Este lobulillo es una de las tres formas posibles de describir la estructura del hígado en términos de unidad funcional, la cual también considera una zona intermedia entre las dos mencionadas anteriormente, denominada mediozonal. Otra unidad funcional que describe la estructura hepática es la de *acino hepático*. En este caso, los hepatocitos se distribuyen en tres zonas elípticas concéntricas. Los de la *zona 1*, son las células más cercanas a la rama de la arteria hepática y vena porta y reciben un mayor suministro de oxígeno y de nutrientes. Esta zona se corresponde con la periferia del lobulillo clásico (zona periportal). La *zona 3*, que es la más cercana a la vena centrolobulillar (y la más alejada de la zona 1), corresponde al centro del lobulillo clásico y, por lo tanto, estos hepatocitos reciben un menor aporte de oxígeno y nutrientes. Finalmente, la *zona 2*, se ubica de manera intermedia entre las otras zonas antes mencionadas ([Pawlina, 2020](#)).

La regeneración del tejido hepático remanente siguiente a una hepatectomía parcial ocurre mediante varias ondas secuenciales de ADNs y mitosis ([Michalopoulos & Bhushan, 2021](#); [Rabes et al., 1976](#)). Ohtake *et al.* ([2004](#)) observaron que existe una diferencia zonal en la proliferación analizada mediante la ADNs y la AM, entre los hepatocitos periportales y hepatocitos perivenulares (HPP y HPV, respectivamente) de ratas parcialmente hepatectomizadas. Otros trabajos que también analizaron la zonación hepática encontraron que el potencial de regeneración de los hepatocitos es heterogéneo, siendo unos más proliferantes que otros. Sin embargo, esta heterogeneidad a la que los autores hacen referencia es dinámica y estaría dada por mecanismos epigenéticos. Estos mecanismos son responsables de que haya hepatocitos que satisfagan los requerimientos metabólicos o de proliferación del hígado, otorgándoles identidad y funciones diversas según la zona hepática y el tipo de daño provocado en el órgano ([Chen et al., 2023](#)).

En una publicación previa, en la que se tuvieron en cuenta las diferentes zonas hepáticas, se demostró la presencia de un ritmo circadiano en la AM de los hepatocitos de ratones jóvenes parcialmente hepatectomizados, los cuales presentaron valores mínimos de proliferación desde las 12/26 hasta las 04/42 hora del día/horas poshepatectomía (HD/HPH), y un pico de actividad a las 08/46 HD/HPH, tanto para las zonas periportal como perivenular ([Fernández Blanco, 2016](#)). Sobre la base de lo mencionado previamente, el objetivo de este trabajo fue analizar el comportamiento de la proliferación hepatocítica, mediante el análisis de los valores de la AM de los HPP y HPV de ratones jóvenes, a diferentes horas poshepatectomía posteriores al pico de las 08/46 HD/HPH.

Materiales y métodos

Animales

Se utilizaron 18 ratones macho CH3/S, de 28 días de edad, obtenidos por endocría en el bioriego de la cátedra de Citología, Histología y Embriología de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP, mantenidos en un cuarto bajo condiciones estándares de 12 h de luz artificial (06:00 h-18:00 h), alternando con 12 h de oscuridad (18:00 h-06:00), y de temperatura ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), con acceso a bebida y alimento ad libitum, para análisis de la periodicidad de la actividad mitótica.

Las condiciones relativas al manejo de animales respetaron plenamente la política y mandatos del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP (Número de Protocolo: Po6-03-2015).

Técnica de hepatectomía parcial

Se utilizaron 18 ratones macho CH3/S, de 28 días de edad, obtenidos por endocría en el bioriego de la cátedra de Citología, Histología y Embriología de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP, mantenidos en un cuarto bajo condiciones estándares de 12 h de luz artificial (06:00 h-18:00 h), alternando con 12 h de oscuridad (18:00 h-06:00), y de temperatura ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), con acceso a bebida y

alimento ad libitum, para análisis de la periodicidad de la actividad mitótica.

Las condiciones relativas al manejo de animales respetaron plenamente la política y mandatos del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP (Número de Protocolo: Po6-03-2015).

Administración de colcemid y sacrificio de los animales

Los ratones fueron sacrificados a las 12/50, 16/54 y a las 20/58 HD/HPH. Cuatro horas previas a su sacrificio, se les administró por vía intraperitoneal una solución de colcemid (10 µg/ml de N-deacetil-N-metilocolchicina, Gibco), concentración 2 µg/g peso corporal suspendido en 0,01 ml de solución fisiológica, para la detención de los hepatocitos en metafase. Estas células tienen un aspecto característico y son de fácil reconocimiento, ya que a consecuencia de la administración del colcemid se produce la disruptión del huso mitótico y la consecuente falta de organización de los cromosomas en la placa ecuatorial. A estas células detenidas en metafase se las denomina metafases colcemídicas y su identificación es mediante conteo directo en microscopio óptico ([Wright & Appleton, 1980](#)).

Recolección de las muestras

Las muestras del lóbulo triangular del hígado de los ratones (remanente de la subhepatectomía) se trajeron rápidamente, luego del sacrificio de los animales, y se fijaron en formalina tamponada al 10% durante 24 h. Luego, fueron procesadas según la técnica histológica de rutina. Se realizaron cortes de las muestras de hígado de 5 µm de espesor y se colorearon con eosina y hematoxilina de Meyer.

Análisis de las muestras

Los cortes de hígado fueron observados con un microscopio óptico con objetivo 10X, para el registro de las células en división (metafases colcemídicas). Para diferenciar las 2 zonas a estudiar de cada muestra, se cuantificaron los hepatocitos en mitosis incluidos hasta 5 hileras alrededor de la zona periportal y de la vena centrolobulillar (perivenular), observándose un total de 1500 HPP y 1500 HPV. Se analizó una muestra de hígado por animal y 6 animales por cada punto horario (n=6) ([Nagy et al., 2001](#)). Se obtuvo el índice mitótico de cada animal (metafases colcemídicas x100/hepatocitos totales x10), y con estos datos, se calculó la media ± ESM (n=6) para la zona periportal y perivenular de cada punto horario (lote). Los valores zonales dentro de cada lote fueron comparados mediante el t-test de Student. Además, se utilizó ANOVA para comparar los valores de las medias de AM por zona, a las 12/50, 16/54 y a las 20/58 HD/HPH, considerando como estadísticamente significativa una diferencia entre los grupos de p<0,05, y el pos test de Comparaciones Múltiples de Tukey-Kramer.

Con el objetivo de que se pudiese analizar y comparar la AM de los hepatocitos

periportales y perivenulares de los lotes de las 12/50, 16/54 y de las 20/58 HD/HPH con algún valor de AM previamente estudiado, se incluyó en el análisis estadístico el punto horario de las 08/46 HD/HPH ([Fernández Blanco, 2016](#)). Por tal motivo, no se consideraron los animales de este punto horario en el total de ratones utilizados.

Los valores de la AM se encuentran en un “valle” cuando son mínimos y tienen diferencias estadísticamente significativas respecto de un valor de AM máximo previo.

Resultados

Cuando se compararon los valores de las medias de AM, desde las 08/46 ([Fernández Blanco, 2016](#)) hasta las 20/58 HD/HPH, se observó que existían diferencias muy significativas entre las 08/46 (valor máximo) y las 16/54 y 20/58 HD/HPH (valores mínimos), para ambas zonas analizadas ($p < 0,01$) (Figura 1, Tabla 1). Además, en la zona periportal, se observaron diferencias significativas entre los puntos horarios de las 12/50 HD/HPH (valor máximo) con el de las 16/54 HD/HPH y con el de las 20/58 HD/HPH (valores mínimos) (Tabla 1).

No se encontraron diferencias significativas en la AM de los hepatocitos periportales y perivenulares punto a punto en ninguno de los tiempos estudiados: 12/50, 16/54 y 20/58 HD/HPH ($p > 0,05$).

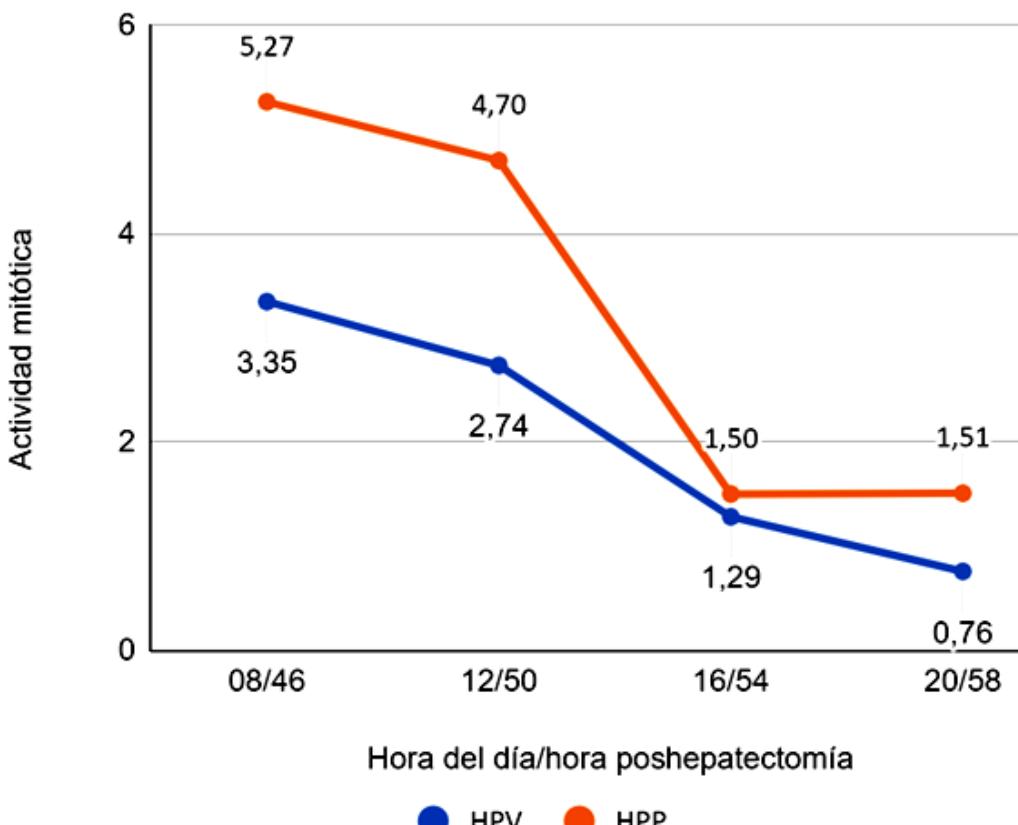


Figura 1. Comparación de las curvas de las medias de la actividad mitótica de los hepatocitos regenerantes perivenulares y periportales a diferentes horas poshepatectomía. HPV: hepatocitos perivenulares, HPP: hepatocitos periportales.

Tabla 1. Comparación de los valores de las medias de actividad mitótica de los hepatocitos regenerantes entre los puntos horarios analizados.

HPV		HPP	
HD/HPH vs HD/HPH	p	HD/HPH vs HD/HPH	p
08/46* vs 12/50	NS	08/46 vs 12/50	NS
08/46 vs 16/54	<0,05	08/46 vs 16/54	<0,01
08/46 vs 20/58	<0,01	08/46 vs 20/58	<0,01
12/50 vs 16/54	NS	12/50 vs 16/54	<0,05
12/50 vs 20/58	NS	12/50 vs 20/58	<0,05
16/54 vs 20/58	NS	16/54 vs 20/58	NS

Hepatocitos regenerantes perivenulares y periportales a diferentes horas poshepatectomía. HPV: hepatocitos perivenulares, HPP: hepatocitos periportales.

Discusión y conclusiones

Se sabe que la capacidad replicativa del ADN de los hepatocitos, en condiciones normales, es muy baja, ya que se encuentran en un estado quiescente. Sin embargo, ante cualquier tipo de lesión esta situación se revierte. En el modelo de regeneración hepática que se produce tras una hepatectomía parcial, donde se extirpan dos tercios del hígado, el tejido hepático remanente experimenta un crecimiento hasta restaurar la masa hepática original. Los hepatocitos responden a factores de crecimiento liberados en respuesta, produciéndose la activación de genes tempranos, y comienzan a proliferar, como resultado de que entran sincrónicamente a la fase G1 del ciclo celular, continúan en la fase S y ocurre la mitosis ([Cascales Angosto, 2009](#); [Michalopoulos, 2010](#)). En este sentido, se ha demostrado que los ratones jóvenes que habían sido sometidos a una hepatectomía parcial presentaban variaciones de la ADNs de los hepatocitos, con dos picos, uno situado a las 20/34 (zona periportal) y otro, a las 00/38 HD/HPH (zona perivenular) ([Fernández Blanco et al., 2015](#)). Cuando se analiza el crecimiento del hígado mediante la AM, también se observan variaciones en sus niveles. Sin embargo, en este caso, el pico para los HPP y HPV ocurre a la misma hora (08/46 HD/HPH) ([Fernández Blanco, 2016](#)). De esta manera, y en concordancia con los eventos del ciclo celular, el pico de AM ocurre entre unas 8 y 12 h después del pico de la ADNs ([Furnus et al., 2003](#)).

Cuando analizamos los resultados de este trabajo, observamos que los hepatocitos que presentaban un pico de AM a las 08/46 HD/HPH ([Fernández Blanco, 2016](#)) mantienen niveles elevados de proliferación durante 4 h más (12/50 HD/HPH), tras la cual, la AM disminuye bruscamente, alcanzando un valle entre las 16/54 y 20/58 HD/HPH, en ambas zonas. Sin embargo, cuando nos enfocamos en el área periportal, la curva de AM se acentúa, con una caída aún más pronunciada de los valores desde las 12/50 HD/HPH hasta las 16/54 y 20/58 HD/HPH, lo cual en parte se debe a que los valores de AM observados a las 12/50 HD/HPH presentan valores máximos similares a los de las 08/46 HD/HPH ([Fernández Blanco, 2016](#)), mientras que los valores de las 16/54 y 20/58 HD/HPH siguen manteniéndose bajos como los de la zona perivenular. A pesar de que no se encontraron diferencias en la AM entre los HPP y los HPV punto a punto, existe una tendencia de los hepatocitos periportales a presentar un ritmo de proliferación más evidente que los de la zona perivenular. Esto podría ser explicado, al menos en parte, a que los HPP reciben un mayor aporte de oxígeno y de nutrientes.

Diferentes autores demostraron que el pico de AM del hígado de ratones hepatectomizados ocurre a las 08 h del día, como es el caso de Russo & Echave

Llanos (1964), que analizaron la AM durante 3 días consecutivos, o como Andolini *et al.* (2013), que estudiaron la misma variable en ratones adultos portadores de un tumor. Este hecho demostraría que un reloj biológico controla la transición G2/M del ciclo celular, lo cual explicaría la coincidencia en la hora de máxima proliferación hepatocítica en los diferentes experimentos, incluyendo el de las 08/46 HD/HPH (Fernández Blanco, 2016), realizado en ratones jóvenes subhepatectomizados con anterioridad.

La regeneración hepática *in vivo* parece presentar una respuesta bifásica. Durante la primera ronda de división, los hepatocitos son las únicas células hepáticas que se encuentran involucradas en la replicación del ADN y en la actividad mitótica. La segunda ronda mitótica, que es menos sincrónica, ocurre más tarde y en ella participan todas las células hepáticas, tanto parenquimáticas como no parenquimáticas. A los tres días de la resección quirúrgica, el hígado ha recuperado más de la mitad de las células perdidas, y el proceso regenerativo finaliza entre los ocho y los diez días (Cascales Angosto, 2009).

Echave Llanos *et al.* (1985) analizaron la AM de los hepatocitos de ratones adultos hepatectomizados desde las 20 h siguientes a la hepatectomía parcial, hasta alcanzar las 240 HPH. En cada periodo circadiano, los valores de AM de los hepatocitos del hígado adulto alcanzaron valores máximos cerca del mediodía, exhibiendo un primer pico a las 48 h posteriores a la cirugía, y valores mínimos o de AM nula, en el período de oscuridad (noche). De manera similar, en los ratones jóvenes la AM de los hepatocitos fue máxima 46 HPH (Fernández Blanco, 2016), mientras que los valores mínimos se ubicaron cercanos al inicio del periodo de oscuridad (18 h), coincidiendo en este aspecto también con los autores. Por otra parte, el segundo pico de AM en los ratones adultos se alcanza 20 h después del primero. Como existen algunas similitudes en el momento donde se expresa la máxima y mínima AM de los hepatocitos entre los ratones adultos y jóvenes y como, además, hay 20 h de diferencia entre el primer y segundo pico de AM de los adultos, podríamos pensar, que el segundo pico de AM en los jóvenes podría ocurrir con posterioridad y en un lapso cercano a los valores mínimos hallados para este grupo. Esto podría estar apoyado por las observaciones realizadas por Fausto *et al.* (2006) quienes encontraron que después de la hepatectomía parcial, el 95% de los hepatocitos de ratones jóvenes se replican entre 30 y 69 h posteriores a la hepatectomía.

En un trabajo previo en el que se analizó la ADNs de los HPP y de los HPV de hígado regenerante poshepatectomía parcial, desde las 12/26 HD/HPH y cada 4 h hasta las 08/46 HD/HPH, se pudo demostrar que la ADNs de los hepatocitos periportales y perivenulares de ratones de 28 días presentaban variaciones circadianas y que sus valores máximos se encontraban comprendidos en un periodo entre las 20/34 y las 00/38 HD/HPH (Fernández Blanco *et al.*, 2015). Estos resultados coinciden con lo hallado por García *et al.*, (2010), quienes estudiaron la ADNs desde las 12/26 hasta las 12/50 HD/HPH en los hepatocitos de ratones adultos subhepatectomizados. De esta manera, se puede inferir, que la ADNs en el hígado de estos ratones no varía con la edad. Esto podría deberse a que las ADNs no es una variable que depende de un reloj circadiano, por lo que ocurre 36 h posteriores a la hepatectomía parcial, independientemente de la hora en que se haya realizado la cirugía (Fausto *et al.*, 2006). También se confirma la cronobiología de los eventos de la proliferación celular con los estudios realizados en los hepatocitos jóvenes, dado que el valor máximo de AM de los hepatocitos regenerantes (poshepatectomía parcial) ocurre aproximadamente 8 h posteriores al pico ADNs (Furnus *et al.*, 2003).

A pesar de que los hepatocitos parecen similares, numerosos estudios de

perfíles funcionales y de expresión han revelado su diversidad funcional y anatómica; esta diversidad de los hepatocitos es un requisito previo crítico para mantener la función hepática ([Martini et al., 2023](#)). Para asegurar las funciones metabólicas y la cantidad de células en el hígado, se requiere la división de estas funciones para lograr un balance entre el metabolismo y la proliferación. Sun *et al.* ([2021](#)), determinaron que los hepatocitos de la zona 2 del acino hepático (que corresponde a los hepatocitos mediozonales, ubicados entre los HPP y HPV) eran células proliferantes y que presentan una menor expresión de genes metabólicos. Siguiendo con estos autores, así como en la zona 2 existe un predominio de la función proliferativa, en las zonas periportal y perivenular (equivalentes de las zonas 1 y 3, respectivamente), podría haber un aumento de la activación de genes metabólicos en sus respectivas zonas, con lo cual habría hepatocitos encargados de mantener las funciones metabólicas vitales del hígado y otros, responsables del mantenimiento del *pool* de hepatocitos ([Martini et al., 2023](#)). Cuando analizamos los resultados de nuestro estudio observamos que la proliferación hepatocítica de los HPP y HPV, es similar y con valores más bajos respecto del pico de las 08/46 HD/HPH. Esto nos lleva a pensar que los hepatocitos de las zonas periportal y perivenular podrían tratarse de células que, al menos en el intervalo de tiempo considerado y bajo el tipo de injuria de una hepatectomía parcial, se corresponden con los hepatocitos cuya identidad se relaciona más con las funciones metabólicas, y no tanto con una renovación del *pool* celular, lo cual concuerda con los bajos índices mitóticos hallados en los HPP y HPV entre las 50 y 58 h luego de la hepatectomía parcial.

En relación con lo antes expuesto, se puede afirmar que los bajos valores de AM de los hepatocitos correspondientes a las 54 y a las 58 h poshepatectomía parcial, se encuentran entre una ola proliferativa y la siguiente. Al mismo tiempo, estas células podrían estar desempeñando un papel distinto al de la renovación celular tras la hepatectomía parcial.

Para finalizar, como la identidad hepatocítica es dinámica y está en directa relación con la demanda metabólica y/o proliferativa del hígado, y del tipo de injuria, será necesario incluir en el diseño de futuros trabajos de investigación el estudio de las tres zonas hepáticas (periportal, mediozonal y perivenular) con el fin de evaluar no sólo la actividad proliferativa de los hepatocitos en un intervalo de tiempo determinado poshepatectomía, sino también, los distintos parámetros metabólicos.

Financiación

Este trabajo fue realizado con fondos correspondientes al Proyecto de Incentivos para Docentes e Investigadores de la UNLP (11/M160).

Agradecimientos

Agradecemos al personal técnico del Bioterio y del laboratorio de técnicas histológicas de la Cátedra de Citología, Histología y Embriología de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP, por la buena predisposición y la permanente colaboración brindada para la realización de este estudio.

.

Declaración autorías

Los autores contribuyeron al trabajo de la siguiente manera: Fernández Blanco, Ayelen: Análisis formal, Conceptualización, Curación de datos, Escritura, Investigación, Metodología y Supervisión. Rearte, Ignacio José: Análisis formal, Conceptualización e Investigación. Rossi, Noé: Investigación y Metodología. García, Marcela Nilda: Escritura, revisión y edición, recursos y supervisión.

Declaración de conflicto de intereses

No existe conflicto de intereses, incluyendo entre estos últimos las relaciones financieras, personales o de otro tipo con otras personas u organizaciones, que pudieran influir de manera inapropiada en el trabajo.

Referencias

- Andrini L, Blanco AF, Inda A, García M, García A, Errecalde A. 2011. VEGF expression in hepatectomized tumour-bearing mice. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*. 32(4):318-25. <https://doi.org/10.1080/15321819.2011.569806>
- Andrini LB, García MN, Inda AM, Errecalde AL. 2013. Study of DNA synthesis and mitotic activity of hepatocytes and its relation to angiogenesis in hepatectomised tumour bearing mice. *Cell Biology International*. 37(11):1233-7. <https://doi.org/10.1002/cbin.10159>
- Brues AM, Drury DR, Brues MC. 1936. A quantitative study of cell growth in regenerating liver. *Archives of Pathology*. 22:658-63. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:86902674>
- Cascales Angosto M. 2009. Bases celulares y moleculares de la regeneración hepática. 15^a Ed. Madrid, Instituto de España. <http://bibliotecavirtual.ranm.es/ranm/es/consulta/registro.do?id=100327>
- Chen F, Schönberger K, Tchorz JS. 2023. Distinct hepatocyte identities in liver homeostasis and regeneration. *Journal of Hepatology Reports*. 5(8):100779. <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2023.100779>
- Columbano A, Shinosuka H. 1996. Liver regeneration versus direct hyperplasia. *The Faseb Journal*. 10(10):1118-28. <https://doi.org/10.1096/fasebj.10.10.8751714>
- Echave Llanos J. 1967. Experimental sources of variations in the study of liver regeneration. *Epatologia*. 13:117-32.
- Echave Llanos JM, Moreno FR, Badrán AF. The growth of hepatocytes and sinusoid litoralcells during liver regeneration. 1985. *Comunicaciones Biológicas*, 4(2):151-8.
- Echave Llanos JM, Sadnik I. 1964. Preparation of liver tissue for the evaluation of mitotic activity. *Stain Technology*. 39(5):289-94. <https://doi.org/10.3109/10520296409061246>
- Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. 2006. Liver Regeneration. *Hepatology*. 32(suppl. 1):19-31. <https://doi.org/10.1002/hep.20969>
- Fernández Blanco A. 2016. Estudio de la expresión del VEGF y su relación con la proliferación celular durante la regeneración hepática en ratones jóvenes. Tesis de doctorado, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata. <https://doi.org/10.35537/10915/52599>
- Fernández-Blanco A, Inda AM, Errecalde AL. 2015. DNA synthesis in periportal and perivenous hepatocytes of intact and hepatectomized young mice. *Journal of Immunoassay and*

- Immunohistochemistry. 36(5):456-63. <https://doi.org/10.1080/15321819.2014.981828>
- Furnus CC, Inda AM, Andrini LB, García MN, García AL, Badrán AF, Errecalde AL. 2003. Chronobiology of the proliferative events related to angiogenesis in mice liver regeneration after partial hepatectomy. *Cell Biology International.* 27(4):383-6. [https://doi.org/10.1016/s1065-6995\(02\)00289-5](https://doi.org/10.1016/s1065-6995(02)00289-5)
- García MN, Andrini LB, Errecalde AL, Cerutti R, Barbeito CG. 2009. Changes in DNA synthesis circadian rhythms in a hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *Biology Rhythm Research.* 40(4):325-35. <https://doi.org/10.1080/09291010802402204>
- García MN, Andrini LB, Inda AM, Ronderos JR, Hijano JC, Errecalde AL. 2010. Changes in VEGF expression and DNA synthesis in hepatocytes from hepatectomized and tumour-bearing mice. *Cell Biology International.* 34(3):283-6. <https://doi.org/10.1042/CBI20090282>
- Martini T, Naef F, Tchorz JS. 2023. Spatiotemporal metabolic liver zonation and consequences on pathophysiology. *Annual Review of Pathology.* 18:439-66. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-031521-024831>
- Mehendale HM. 1991. Role of hepatocellular regeneration and hepatolobular healing in the final outcome of liver injury. *Biochemical Pharmacology.* 42(6):1155-62. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(91\)90249-5](https://doi.org/10.1016/0006-2952(91)90249-5)
- Michalopoulos GK. 2010. Liver regeneration after partial hepatectomy: critical analysis of mechanistic dilemmas. *The American Journal of Pathology.* 176(1):2-13. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.090675>
- Michalopoulos GK, Bhushan B. 2021. Liver regeneration: biological and pathological mechanisms and implications. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology.* 18:40-55. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0342-4>
- Myaoka Y, Ebato K, Kato H, Arakawa S, Shimizu S, Miyajima A. 2012. Hypertrophy and unconventional cell division of hepatocytes underlie liver regeneration. *Current Biology.* 22(13):1166-75. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.05.016>
- Myaoka Y, Miyajima A. 2013. To divide or not to divide: revisiting liver regeneration. *Cell Division.* 8(1):8. <https://doi.org/10.1186/1747-1028-8-8>
- Nagy P, Teramoto T, Factor VM, Sanchez A, Schnur J, Paku S, Thorgeirsson SS. 2001. Reconstitution of liver mass via cellular hypertrophy in the rat. *Hepatology.* 33(2):339-45. <https://doi.org/10.1053/jhep.2001.21326>
- Ohtake Y, Maruko A, Kojima S, Ono T, Nagashima T, Fukumoto M, Suyama S, Abe S, Sato N, Ohkubo Y. 2004. Zonal differences in DNA synthesis and in transglutaminase activity between perivenous versus periportal regions of regenerating rat liver. *Biological and Pharmaceutical Bulletin.* 27(11):1758-62. <https://doi.org/10.1248/bpb.27.1758>
- Rabes HM, Wirsching R, Tuczek HV, Iseler G. 1976. Analysis of cell cycle compartments of hepatocytes after partial hepatectomy. *Cell and Tissue Kinetics.* 9(6):517-32. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.1976.tb01301.x>
- Pawlina W. 2020. *Histología. Texto y Atlas. Correlación con Biología Molecular y Celular.* 8º Ed. Barcelona, Wolters Kluwer.
- Russo J, Echave Llanos JM. 1964. Twenty-four-hour rhythm in the mitotic activity and in the water and dry matter content of regenerating liver. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie.* 61:824-8. <https://doi.org/10.1007/BF00340036>
- Sun T, Annunziato S, Bergling S, Sheng C, Orsini V, Forcella P, Pikolek M, Kancherla V, Holwerda S, Imanci D, Wu F, Meylan LC, Puehringer LF, Walldt A, Oertli M, Schuierer S, Terracciano LM,

Reinker S, Ruffner H, Bouwmeester T, Sailer AW, George E, Roma G, de Weck A, Piscuoglio S, Lohmann F, Naumann U, Liberali P, Cong F, Tchorz JS. 2021. ZNRF3 and RNF43 cooperate to safeguard metabolic liver zonation and hepatocyte proliferation. *Cell Stem Cell.* 28(10):1822-37.e10. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.05.013>

Wright NA, Appleton DR. 1980. The metaphase arrest technique. A critical review. *Cell and Tissue Kinetics.* 13(6):643-63. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.1980.tb00503.x>