

FIBROGÉNESIS HEPÁTICA: CÉLULAS ESTELARES HEPÁTICAS

HEPATIC FIBROGENESIS: LIVER STELLAR CELLS

Osiris G. Idelfonso-García¹ Alma A. Ramírez-Hernández¹
Jovito C. Santos-Álvarez² Juan M. Velázquez-Enríquez²
Gabriela Carrasco-Torres³ Verónica R. Vásquez-Garzón⁴
y Rafael Baltiérrez-Hoyos⁵

Fecha de recepción: 30 de noviembre de 2016
Fecha de aceptación: 17 de octubre de 2017

Resumen - La fibrosis hepática afecta tanto la cantidad como la composición de la matriz extracelular. Este proceso puede acompañar a cualquier enfermedad crónica del hígado, que se caracteriza por una patología hepatobiliar o inflamación. Ahora existe considerable evidencia para reconocer a las células estelares hepáticas como las principales productoras de matriz en la fibrogénesis; por tal motivo, el objetivo en la investigación es proporcionar una visión general sobre las células estelares en el proceso fibrogénico.

Abstract - Liver fibrosis affects both the amount and the composition of the extracellular matrix. This process may occur during chronic liver disease characterized by hepatobiliary disease or inflammation. There is now considerable evidence to support the role of the hepatic stellate cells (HSC) as the main matrix producing cells in fibrogenesis. The focus on this review is to provide insight into hepatic stellate cells in the fibrogenic process.



Palabras clave:

Fibrosis, células estelares, matriz extracelular.



Keywords:

Fibrosis, stellate cells, extracellular matrix.

¹ Biomedicina Experimental, Facultad de Medicina y Cirugía, Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca.

² Escuela de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca.

³ Departamento de Nanociencias y Nanotecnología, CINVESTAV.

⁴ Conacyt, Facultad de Medicina y Cirugía, Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca.

⁵ Conacyt, Facultad de Medicina y Cirugía, Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca. Responsable técnico.

Introducción

El hígado es considerado el segundo órgano más importante para el ser humano, después del cerebro. Su relevancia radica en que lleva a cabo funciones vitales de biotransformación, tales como la síntesis de proteínas, aminoácidos, carbohidratos, ácidos biliares, colesterol, lípidos, algunas vitaminas de reserva y la desintoxicación contra xenobióticos (Malarkey, Johnson, Ryan, Boorman y Maronpot, 2005).

Este órgano presenta una estructura morfológica y fisiológica muy heterogénea, en la que el lóbulo hepático está formado por células parenquimatosas (hepatocitos), las cuales constituyen 80% del volumen total del hígado y realizan la mayoría de las funciones. Por otro lado, las células no parenquimatosas hepáticas contribuyen sólo con 6.5% del volumen total; el 13.5% restante está conformado por otros tipos celulares, entre los que encontramos células dendríticas y células de Kupffer. Estructuralmente, puede decirse que 40% de todos los tipos celulares se localizan en el compartimiento sinusoidal, en el cual ubicamos a las células estelares hepáticas que se reconocen como las principales mediadoras de la enfermedad crónica progresiva (Hernández, 2004; Weiskirchen y Tacke, 2014).

Células estelares hepáticas

Las células estelares hepáticas (CEH) se han descrito anteriormente como células de Ito, lipocitos o células perisinusoidales; son de origen mesenquimal y se localizan en el espacio de Disse, en el órgano sano se encuentra en estado quiescente (Friedman, 2004). Su principal función es remodelar la matriz extracelular (MEC), además de mantener la homeostasis de los retinoides en el citoplasma, reteniendo 80% del total de retinoides en el cuerpo (Senoo, 2004). Todas estas peculiaridades se han relacionado de manera importante con el desarrollo de la fibrosis hepática (Friedman, 2008).

Las CEH se encuentran en estado quiescente, no obstante, son capaces de activarse en respuesta a diferentes estímulos agresores o xenobióticos,

proceso durante el cual las células se desdiferencian, presentando cambios en su fenotipo (De Oliveira, Ramos y Morales, 2017). La diferenciación se asemeja a los miofibroblastos, cuando éstos presentan una mayor contractilidad e incrementan la síntesis de proteínas de MEC hasta ocho veces con respecto a un hígado sano. Es por ello que se han considerado como las principales productoras de colágena tipo I y III, así como de fibronectina y de proteoglicanos, modificando las propiedades de la MEC, lo cual favorece la inducción de la fibrosis (Wells, 2008).

Por otro lado, además de modificar las propiedades de la MEC, las células estelares activadas son capaces de proliferar. Se sabe que las CEH responden a factores de crecimiento, como el de crecimiento transformante beta (FCT- β) y el de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP) (Borkham, Roeyen y Ostendorf, 2007).

En el proceso de activación de las CEH se han reportado dos fases: la primera es la iniciación, en la cual ocurren los cambios en la expresión génica y de fenotipo; y la segunda es la perpetuación, en la que las células presentan la mayor parte de las transformaciones, como proliferación, quimiotaxis, fibrogénesis, contractibilidad, así como la pérdida de retinoides (Hernández y Friedman, 2011).

Según el agente agresor y el tiempo al cual el hígado se encuentre expuesto, será la magnitud de la respuesta de las células estelares. En el caso de un daño agudo, dichas células se activan, proliferan y tienden a migrar; se induce la producción de proteínas de MEC y se lleva a cabo la fibrólisis. Esta activación es dependiente de algunas proteinasas, lo que da como resultado la reparación de la afectación en el tejido. En este caso, se piensa que cuando las células estelares activadas terminan su función, mueren por apoptosis (De Minicis Candelaresi, Agostinelli, Taffetani, Saccomanno, Rychlicki, Trozzi, Marzioni, Benedetti y Svegliati-Baroni, 2012). Sin embargo, esto no ocurre cuando el daño es crónico, es decir, cuando el agente agresor se mantiene o las agresiones son constantes. En esta circunstancia, las células estelares también se

activan, proliferan y migran, pero nunca se presenta la señal para que mueran por apoptosis; aparentemente continúan con una autoestimulación en la activación y en la producción de matriz extracelular. Además, se sabe que ésta puede modular la activación y proliferación de las células estelares, la angiogénesis y la actividad de los factores de crecimiento, e inducir señales para que se polaricen, adhieran, migren, se desarrollen y diferencien (Adachi, Osawa, Uchinami, Kitamura y Accili, 2007), por lo que en presencia de un estímulo crónico, el daño se perpetúa, dando como resultado una fibrosis hepática. Esta lesión es una respuesta de tipo herida-cicatrización exacerbada, caracterizada por la acumulación de matriz extracelular (Hernández y Friedman, 2011).

Regeneración y reparación hepática

Es importante considerar que después de un daño hepático, el tejido lesionado debe ser reemplazado por tejido nuevo que cumpla con la misma función, proceso al que se conoce como regeneración. En el hígado humano esta capacidad es limitada, ya que los hepatocitos se encuentran en estado quiescente y en condiciones normales no se duplican, sólo lo hacen después de sufrir un deterioro (Fausto, Campbell y Riehle, 2006).

La capacidad de las células para empezar a multiplicarse y regenerar el tejido responde principalmente a dos factores relacionados con la muerte celular circundante:

a) La señal dada por el aumento del RNA mensajero del factor de necrosis tumoral α (TNF α , tumor necrosis factor α) y de la interleucina 6 (IL-6).

b) La señal que se genera en respuesta a la liberación de citocinas como IL-6, factores de transcripción como NF- κ B, STAT3 de las células vecinas, que tratarán de fomentar la proliferación para poder reemplazar a las células muertas.

En el hígado, tal respuesta está determinada y coordinada por las células de Kupffer y las CEH, ya

que se propone que secretan citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento como reacción al daño en el tejido (Fujiyoshi y Ozaki, 2011). Algunos de los factores más importantes que se han estudiado en relación con los eventos antes mencionados son el crecimiento de hepatocitos (HGF), el de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el de crecimiento epidermal (EGF), los cuales activan varias vías de señalización relacionadas con los procesos de proliferación de los hepatocitos en respuesta a un daño. Una de las principales vías que se accionan son las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK), en donde se involucran varias cinasas como MAPK, la proteína cinasa reguladora de señales extracelulares (ERK), MERK1/2, ERK1/2, que activan la remodelación del citoesqueleto, la proliferación y la diferenciación celular (Brow y Sacks, 2008).

Otra vía de señalización relacionada con la regeneración de los hepatocitos es la de JAK (Janus Kinase), el transductor de señal y activador de la transcripción (STAT), que están vinculadas a la respuesta inflamatoria, de proliferación y supervivencia después de una afectación hepática (Schindler y Plumleec, 2008).

Por otro lado, la regeneración hepática también implica a la vía de señalización de AKT/PI3K, esta última es una cinasa lipídica intracelular que fosforila a la proteína AKT, que es una cinasa de serina-treonina. Dicha cascada de señalización regula el metabolismo celular, la supervivencia, la mitogénesis, la motilidad, polaridad y el tráfico de vesículas (Krasilnicov, 2000). En resumen, se puede decir que el daño hepático estimula la activación de las células de Kupffer y de las células estelares hepáticas que secretan citocinas y factores de crecimiento como HGF y PDGF, entre otros.

Fibrosis hepática

La fibrosis hepática es un proceso de cicatrización resultado del mal crónico en el hígado, de la acumulación progresiva del colágeno y la falta de reestructuración de colágeno en la matriz extracelular (Gulsum, 2014).

La matriz extracelular es una compleja red de proteínas y polisacáridos que junto con las células forma el tejido. Las macromoléculas que componen la MEC son secretadas por las mismas células residentes, por lo que se genera una interacción muy cercana entre la superficie de las células productoras y la matriz. Ésta no sólo provee de soporte físico, sino que regula el comportamiento de las células, influenciando la supervivencia, el desarrollo, la migración, la proliferación, la forma y las funciones (Novo, Cannito, Paternostro, Bocca, Miglietta y Parola, 2004).

La fibrosis puede acompañar cualquier enfermedad crónica del hígado que se caracterice por una patología hepatobiliar o inflamación; comúnmente surge como consecuencia de hepatitis crónica por virus C o virus B, por consumo excesivo de alcohol y esteatohepatitis no alcohólica, pero también puede aparecer debido a enfermedades parasitarias, metabólicas o autoinmunes y ante condiciones de inflamación crónica, entre otras patologías (Gressner, Weiskirchen, Breitkop y Dooley, 2002).

Composición de la matriz extracelular hepática

En el hígado sano hay un balance cuidadosamente regulado entre la producción de matriz extracelular y su degradación; este balance se altera con la fibrosis, afectando tanto la cantidad como la composición de dicha matriz (Novo *et al.*, 2004).

La matriz del espacio de Disse en un hígado normal se compone principalmente de colágeno tipos IV y VI. Con daño hepático, esta matriz se reemplaza por colágena fibrilar, es decir, colágeno tipo I y III; además, se acumulan proteínas como fibronectina, elastina y proteoglicanos, entre otras. Las metaloproteinasas de matriz (MMPs), así como los inhibidores tisulares de metaloproteinasa (TIMPs), son agentes esenciales en la regulación de la producción de la MEC. Los diferentes tipos de MMPs pueden degradar diversos componentes de la matriz extracelular, además de otras proteínas (Gressner *et al.*, 2002).

Los cambios estructurales que sufre la MEC durante la fibrosis están dirigidos principalmente por las CEH, lo que crea un impedimento físico y funcional para el flujo bidireccional de señales entre las sinusoides y los hepatocitos, y contribuye a la pérdida de la función. Además, la acumulación de matriz extracelular produce una retroalimentación positiva, activando receptores en la membrana de las células del hígado que amplifican la señal fibrogénica para generar más MEC (Ozlem, 2014).

En la comunicación entre la MEC y las células contiguas son importantes las integrinas -proteínas en la membrana que interactúan directamente con la matriz extracelular- y las citocinas -proteínas responsables de la comunicación intercelular-. Entre las citocinas que juegan un papel primordial en el proceso de fibrosis se encuentran el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α). TGF- β es la citocina con mayores efectos fibrógenicos para las células estelares hepáticas, mientras que PDFG es el mitógeno (promotor de mitosis) más potente (Gressner *et al.*, 2002).

Mecanismos de fibrosis hepática

La fibrosis hepática es inicialmente un proceso dinámico y complejo como consecuencia de un desequilibrio entre la fibrogénesis y la fibrinólisis, decantándose en favor del primer proceso y dando como resultado una evolución fibrótica y acumulación de MEC, y, por tanto, una destrucción en la arquitectura del hígado. Durante este proceso la identificación de las células estelares hepáticas activadas ocupa un papel relevante, al mantener un fenotipo miofibroblasto, posteriormente se desencadenan una serie de eventos discretos en el comportamiento celular, como la contractilidad, quimiotaxis, fibrogénesis, disminución en la concentración de vitamina A, proliferación, degradación de la matriz y liberación de quimiocinas,

que darán como resultado la acumulación de matriz extracelular (Garzon, Marcucci y Croce, 2010).

Durante la fibrogénesis existe un intercambio de colágena tipos IV y VI (componente principal del hígado normal), sustituido progresivamente por colágeno tipos I y III en el espacio de Disse. A continuación, presentamos algunos factores implicados en el proceso de fibrosis (Sahin, Trautwein y Wasmuth, 2010).

La leptina es una adipoquina implicada en la fibrogénesis, su efecto se ve modificado río abajo en su vía de señalización durante la lesión hepática, lo que conduce a un aumento en la secreción de TGF- β 1 por parte de las células de Kupper (Rao, Klein, Bonar, Zielonka y Mizuno, 2010).

El TGF- β 1 es una proteína inactiva unida a un péptido de latencia; sin embargo, al ser activada por factores externos, sus receptores afines a proteínas Smad inducen a la producción de colágeno. Al permanecer en constante secreción, estimula a las HSCs a trans-diferenciarse en miofibroblastos, los cuales secretan de manera continua matriz extracelular. Ante un daño agudo, TGF- β 1 regula el proceso de regeneración de hepatocitos; debido a sus funciones antiinflamatorias y de crecimiento, será un reto antagonizar terapéuticamente su secreción (Teixeira-Clerc, Belot, Manin y Deveaux, 2010).

El factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF / CCN2) es una proteína secretada por las HSCs ante un daño ocasionado por etanol; esta proteína es una señal fibrogénica independiente de TGF- β que puede ser útil como biomarcador e identificar la gravedad de la fibrosis (Bomble, Tacke, Rink, Kovalenko y Weiskirchen, 2010).

Interacción inmunológica

Durante la fibrogénesis, la respuesta inflamatoria persiste debido a la secreción constante de citocinas inflamatorias por medio de las CEHs; estas citocinas posteriormente interactúan con las células del sistema inmune, mediante la expresión de moléculas de adhesión. Tal interacción da como resultado una modulación inmunitaria a través de la presentación de

antígenos; por lo tanto, existe una retroalimentación positiva entre las células fibrogénicas y aquellas que expresan factores inflamatorios en la amplificación de la fibrosis (Adachi *et al.*, 2007).

La fibrosis hepática es una patología característica de diversas enfermedades crónicas del hígado; un evento fisiopatológico clave es la activación de las CEH, el cual implica que las células quiescentes se vuelvan altamente proliferativas, expresando diversos factores profibrogénicos que conducen a la deposición de proteínas de matriz extracelular, comprometiendo finalmente a la función hepática. Por lo anterior, la investigación sobre estas células puede identificar nuevos enfoques prometedores en el tratamiento contra la fibrosis hepática (Friedman, 2008; De Minicis *et al.*, 2012).

Referencias

- Adachi, M., Osawa, Y., Uchinami, H., Kitamura, T. y Accili D. (2007). The forkhead transcription factor FoxO1 regulates proliferation and transdifferentiation of hepatic stellate cells. *Gastroenterology*, 132(4), 1434-1446.
- Bomble, M., Tacke, F., Rink, L., Kovalenko, E. y Weiskirchen, R. (2010). Analysis of antigen-presenting functionality of cultured rat hepatic stellate cells and transdifferentiated myofibroblasts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 396(2), 342-347.
- Borkham, E., Roeyen, C. R. y Ostendorf, T. (2007). Pro-fibrogenic potential of PDGF-D in liver fibrosis. *J. Hepatol.*, 46, 1064-1074.
- Brow, M. y Sacks, D. (2008). Compartmentalised MAPK Pathways. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 186, 205-235.
- De Minicis, S., Candelaresi, C., Agostinelli, L., Taffetani, S., Saccomanno, S., Rychlicki, C., Trozzi,

- L., Marzioni, M., Benedetti, A. y Svegliati-Baroni, G. (2012). Endoplasmic reticulum stress induces hepatic stellate cell apoptosis and contributes to fibrosis resolution. *Liver International*, 32(10), 1574-84.
- De Oliveira, S., Ramos, L. y Morales, K. (2017). Molecular interplays in hepatic stellate cells: apoptosis, senescence, and phenotype reversion as cellular connections that modulate liver fibrosis. *Cell Biology International*, 41, 946-959.
- Fausto, N., Campbell, J. S. y Riehle, K. J. (2006). Liver regeneration. *Journal of hepatology*, 43(2S), 45-53.
- Friedman, S. L. (2004). Stellate cells. A moving target in hepatic fibrogenesis. *Hepatology*, 40, 1041-1043.
- Friedman, S. L. (2008). Liver Fibrosis from bench to bedside. *Journal of hepatology*, 38(15), 38-53.
- Fujiyoshi, M. y Osaki M. Molecular mechanisms of liver regeneration and protection for treatment of liver dysfunction and diseases. (2011). *J Hepatobiliary Pancreat. Sci.*, 18(1), 13-22.
- Garzon, R., Marcucci, G. y Croce, C. M. (2010). Targeting microRNAs in cancer: rationale, strategies and challenges. *Nature reviews*, 9(10), 775-789.
- Gressner, A., Weiskirchen, R., Breitkop, K. y Dooley S. (2002). Roles of TGF-beta in hepatic fibrosis. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 7(6), 62-76
- Gulsum, O. (2014). Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of liver fibrosis: An update. *World Journal of Gastroenterology*, 20(23), 7260-7276
- Hernández, V. y Friedman, S. L. (2011). Pathogenesis of liver fibrosis. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.*, 6, 425-456.
- Krasilnicov, M. A. (2000). Phosphatidylinositol-3 Kinase Dependent Pathways: the role in Control of Cell Growth, Survival, and Malignant. *Biochemistry*, 65, 59-67.
- Malarkey, D. E., Johnson, K., Ryan, L., Boorman, G. y Maronpot, R. (2005). New insights into functional aspects of liver morphology. *Toxicol Pathology*, 33, 27-34.
- Novo, E., Cannito, S., Paternostro, C., Bocca, C., Miglietta, A. y Parola, M. (2004). Cellular and molecular mechanisms in liver fibrogénesis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 548, 20-37.
- Sahin, H., Trautwein, C. y Wasmuth, H. E. (2010). Functional role of chemokines in liver disease models. *Nature reviews Gastroenterology & Hepatology*, 7(12), 682-690.
- Schindler, C. y Plumleec, C. (2008). Interferons pen the JAK-STAT pathway. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 19, 311-318.
- Senoo, H. (2004). Structure and function of hepatic stellate cells. *Med Electron Microsc.*, 37, 3-15.
- Rao V., Klein, S. R., Bonar, S. J., Zielonka, J. y Mizuno, N. (2010). The Antioxidant Transcription Factor Nrf2 Negatively Regulates Autophagy and Growth Arrest Induced by the Anticancer Redox Agent Mitoquinone. *Journal of Biological Chemistry*, 285(45), 34447-34459.
- Teixeira-Clerc, F., Belot, M. P., Manin, S. y Deveau, V. (2010). Beneficial paracrine effects of cannabinoid receptor 2 on liver injury and regeneration. *Hepatology*, 52(3), 1046-1059.
- Weiskirchen, R. y Tacke, F. (2014). Cellular and molecular functions of hepatic stellate cells in inflammatory responses and liver immunology. *Hepatobiliary Surgery and Nutrition*, 3(6), 344-363.
- Wells, G. B. (2008). Structural answers and persistent questions about how nicotinic receptors work. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 13, 5479-5510.