

Trabajo Fin de Grado

CÉLULAS ESTRELLADAS HEPÁTICAS

Hepatic Stellate Cells

Autora

Soraya Ruiz Valenzuela

Directora

Eva Monleón Moscardó

Facultad de Medicina / Universidad de Zaragoza

2018-2019

ÍNDICE

1.	<u>RESUMEN/ABSTRACT</u>	2
2.	<u>INTRODUCCIÓN</u>	2
	A. GENERALIDADES	3
	B. ESTRUCTURA DEL HÍGADO	4
	C. EL LOBULILLO HEPÁTICO: TIPOS CELULARES	6
3.	<u>CÉLULAS ESTRELLADAS HEPÁTICAS</u>	9
	A. CARACTERÍSTICAS EN CONDICIONES FISIOLÓGICAS	10
	I. FUNCIONES	11
	II. ORIGEN Y MARCADORES	11
	III. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	13
	B. ACTIVACIÓN DE LAS CÉLULAS ESTRELLADAS HEPÁTICAS	15
	I. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LAS CÉLULAS ESTRELLADAS HEPÁTICAS ACTIVADAS	17
4.	<u>FIBROSIS HEPÁTICA</u>	17
	A. GENERALIDADES	17
	B. ORIGEN DE LOS MIOFIBROBLASTOS HEPÁTICOS EN LA FIBROSIS HEPÁTICA	19
	C. EVOLUCIÓN EN LA FIBROSIS HEPÁTICA	20
5.	<u>REGENERACIÓN</u>	21
	A. GENERALIDADES	21
	B. FASES DE LA REGENERACIÓN	23
	I. APOPTOSIS	23
	II. SENESCENCIA	23
	III. REVERSIÓN	23
	IV. DEGRADACIÓN DE LA MATRIZ EXTRACELULAR	24
6.	<u>CONCLUSIONES</u>	24
7.	<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	24

1. RESUMEN/ABSTRACT

RESUMEN

Las células estrelladas hepáticas representan aproximadamente el 5-8% del total de células hepáticas y el 20% de las células no parenquimales del hígado. Se localizan en el espacio de Disse, entre los hepatocitos y las células endoteliales de los sinusoides hepáticos. En condiciones fisiológicas presentan un fenotipo quiescente y tienen tres funciones principales: almacenamiento de vitamina A en forma de gotas de grasa, producción de matriz extracelular y regulación de la microcirculación sinusoidal

Tras producirse una lesión en el hígado, las células estrelladas hepáticas se activan, pierden las gotas de lípidos y se diferencian en miofibroblastos con capacidad proliferativa, fibrogénica y contráctil. La activación de estas células juega un papel importante en la progresión de la fibrosis hepática produciendo alteración en la cantidad, calidad y distribución topográfica de la matriz extracelular. Si se eliminan las causas que producen la fibrosis, esta puede revertirse; en cambio, si se mantienen, puede progresar a una cirrosis que podría evolucionar a carcinoma hepatocelular.

Palabras clave: Células estrelladas hepáticas, miofibroblastos, fibrosis hepática, regeneración hepática.

ABSTRACT

Hepatic Stellate Cells represent approximately 5-8% of the overall number of hepatic cells and 20% of the non-parenchymal cells that conform the liver. They are located in the Space of Disse, between the hepatocytes and endothelial cells from the hepatic sinusoids. In physiological conditions they have a quiescent phenotype and have three main functions: Storage of vitamin A in the form of fat droplets, production of extracellular matrix and regulation of sinusoidal microcirculation

After an injury to the liver, the HSCs are activated and differentiated into myofibroblasts with proliferative, fibrogenic and contractile capacity, so they lose the lipid droplets. The activation of the HSCs plays a main role in the hepatic fibrosis progress producing an alteration of the quantity, quality and topographic distribution of the extracellular matrix. If the causes of fibrosis are eliminated, it can be reversed; however, if they are maintained, it can progress to cirrhosis that might evolve to an hepatocellular carcinoma.

Key words: Hepatic stellate cells, myofibroblasts, hepatic fibrosis, liver regeneration.

2. INTRODUCCIÓN

A. GENERALIDADES

El hígado es una glándula accesoria del sistema digestivo y una de las vísceras más voluminosas del organismo, ya que corresponde al 2,5% del peso corporal. Está localizado en el hipocondrio derecho y está protegido por la parrilla costal.

El hígado queda dividido anatómicamente por surcos profundos en dos grandes lóbulos, derecho e izquierdo, separados por el ligamento falciforme y en otros dos más pequeños, caudado y cuadrado (Figura 1). Muchos anatomistas creen que el lóbulo caudado y cuadrado, son parte del lóbulo izquierdo¹.

En cuanto a la vascularización del hígado, la sangre llega a través de la vena porta que se forma por la unión de la vena mesentérica superior y la vena esplénica, y la arteria hepática que es una rama del tronco celiaco y contiene sangre oxigenada. La sangre sale del hígado por la vena hepática para drenar en la vena cava inferior.

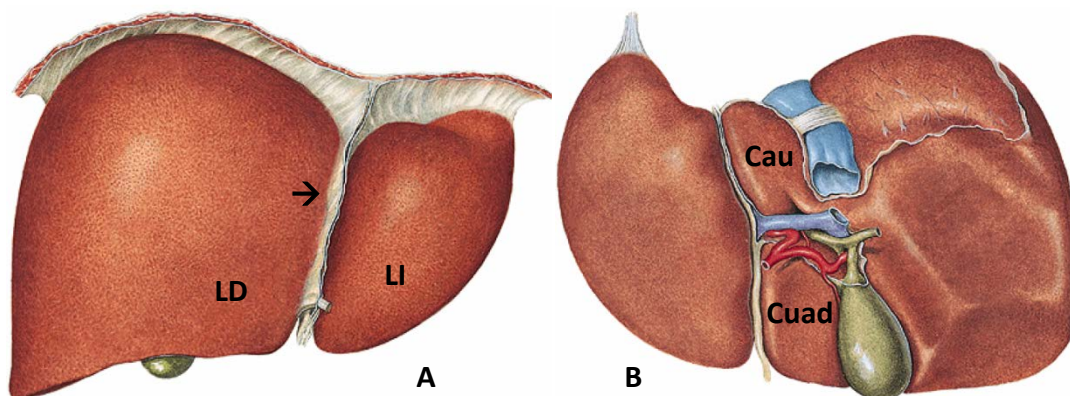


Figura 1. A. El hígado está formado por el lóbulo derecho (LD) y el lóbulo izquierdo (LI), separados por el ligamento falciforme (flecha). B. A su vez, el hígado también queda dividido por dos lóbulos más pequeños, el lóbulo caudado (Cau) y cuadrado (Cuad)².

El hígado lleva a cabo una gran cantidad de funciones: sintetiza la mayor parte de proteínas circulantes en el plasma, almacena vitaminas o las modifica, se encarga de la homeostasis del hierro, degrada fármacos y diferentes toxinas de la sangre, participa en vías metabólicas importantes, produce y libera la bilis y modifica la estructura y función de algunas hormonas¹.

B. ESTRUCTURA DEL HÍGADO

El hígado está envuelto por una cápsula de tejido conjuntivo denso llamada cápsula de Glisson y por una cubierta serosa que es el peritoneo visceral. Desde la cápsula penetran finos tabiques de tejido conectivo que delimitan los lobulillos hepáticos¹.

El lobulillo hepático es la unidad funcional del hígado, y clásicamente tiene forma hexagonal (Figura 2A). El lobulillo está formado por láminas de hepatocitos (células del parénquima) de 1 o 2 células de espesor que se disponen radialmente entorno a la vena centrolobulillar o vena hepática terminal, localizada en el centro del lobulillo (Figura 2A, 2B).

En los vértices del lobulillo se encuentra el espacio porta o triada portal, compuesto por una rama de la arteria hepática (sangre oxigenada), una rama de la vena porta (sangre rica en nutrientes), un conducto biliar y tejido conectivo laxo que rodea dichas estructuras (Figura 2)¹.

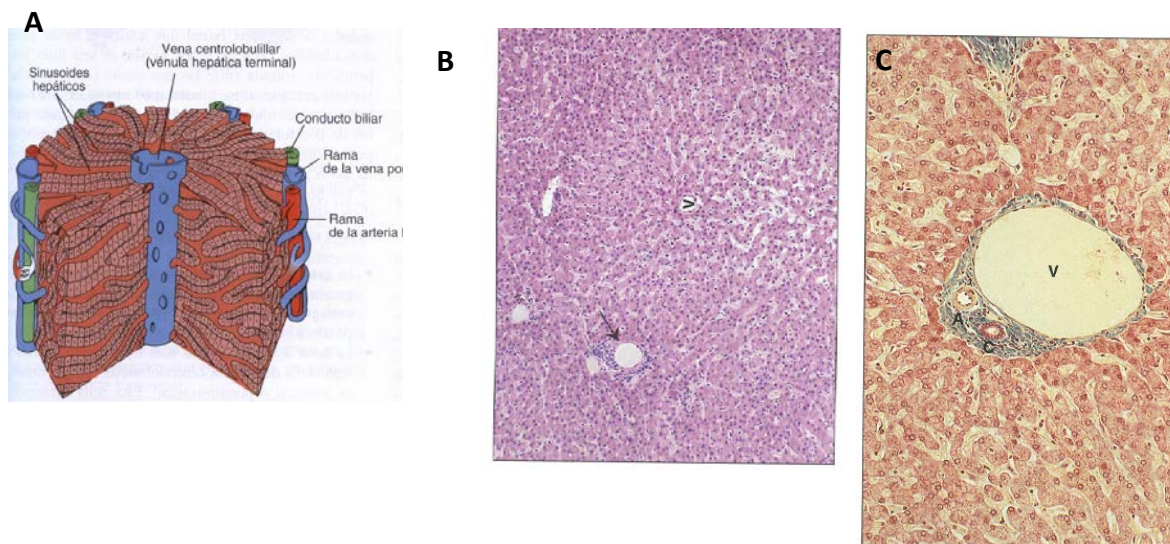


Figura 2. A. Diagrama de un lobulillo hepático clásico con la disposición radial de los sinusoides hepáticos desde la triada portal a la vena centrolobulillar. **B.** Corte histológico del hígado, teñido con hematoxilina-eosina, donde observamos la vena centrolobulillar (V) y los espacios porta (flechas). **C.** Espacio porta formado por vena porta (V), arteria hepática (A) y conducto biliar (C)³.

Los sinusoides hepáticos son unos espacios vasculares que se localizan entre las láminas de los hepatocitos y que, por lo tanto, también presentan una disposición radial desde la periferia del lobulillo hacia la vena centrolobulillar.

En los sinusoides hepáticos, hay un suministro de sangre doble, ya que reciben un 70% de sangre de las ramas de la vena porta y un 30% de sangre de las ramas de la arteria hepática⁴. Este contenido fluye hacia la vena centrolobulillar y finalmente se drena a la vena hepática¹.

Entre la pared de los sinusoides hepáticos y los hepatocitos, se encuentra el espacio perisinusoidal o espacio de Disse que se encarga del intercambio de sustancias entre los hepatocitos y el plasma. Como se ha dicho anteriormente, el sistema arterial (que se encarga de la nutrición) junto con el sistema portal, drenan sangre a través de la vasculatura sinusoidal. Ésta tiene fenestraciones que permiten el flujo libre de los elementos no celulares de la sangre hacia el espacio de Disse, accediendo a la superficie de los hepatocitos directamente (Figura 3)⁵.

En el espacio de Disse se encuentran las células estrelladas hepáticas o células de Ito, además de fibras nerviosas y algunos componentes de la matriz extracelular, principalmente, fibras de reticulina^{1,5}.

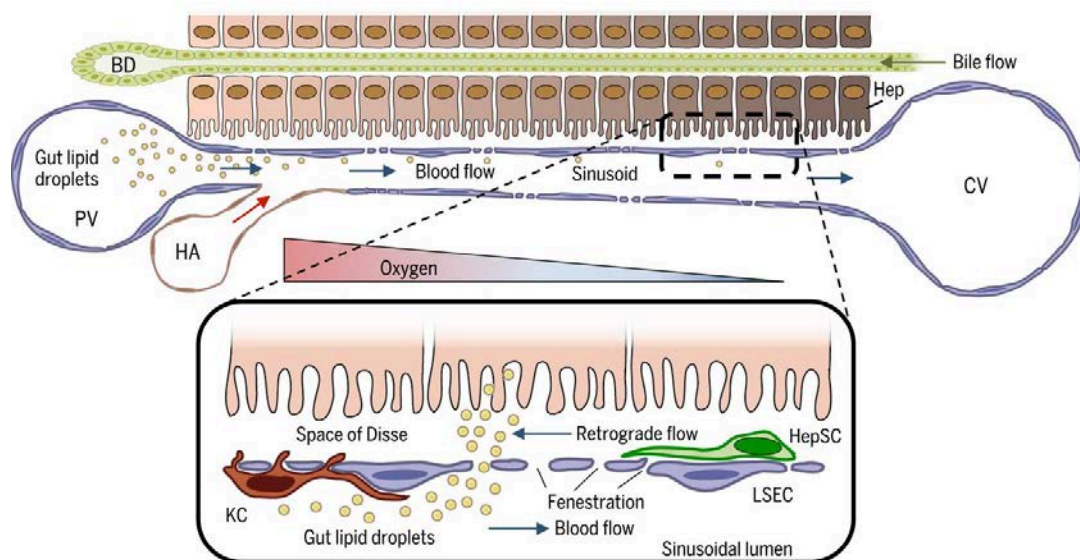


Figura 3. Relación posicional entre los vasos sanguíneos y los hepatocitos en el hígado. La sangre de la vena porta (PV) se mezcla con la sangre de la arteria hepática (HA) y fluye por la vasculatura sinusoidal hacia la vena central (CV). El espacio de Disse separa las células endoteliales (LSEC) de los hepatocitos (Hep) con la colaboración de las células estrelladas hepáticas (HepSC) y de las células de Kupffer (KC). BD, conducto biliar⁵.

C. EL LOBULILLO HEPÁTICO: TIPOS CELULARES

Las células que forman el lobulillo hepático se pueden dividir en dos grandes grupos: las células parenquimales, los hepatocitos, y las células no parenquimales, entre las que se encuentran, las células endoteliales sinusoidales, las células de Kupffer, las células citotóxicas o "*pit cells*" y las células estrelladas o células de Ito.

1. Los **hepatocitos** son las células del parénquima hepático (Figura 4), las cuales representan el 60% del total de células y el 80% del volumen hepático total. Los hepatocitos son células poliédricas, la mayoría mononucleadas (núcleo grande y esférico), aunque con frecuencia hay hepatocitos binucleados.

La superficie de los hepatocitos orientada hacia los sinusoides presenta numerosas microvellosidades que quedan en el espacio de Disse. El resto de superficies de la célula son lisas y presentan un pequeño surco, que al unirse con el de los hepatocitos contiguos, forman el canalículo biliar.

Los hepatocitos contienen un amplio retículo endoplasmático liso y rugoso, junto con gran cantidad de mitocondrias y un aparato de Golgi muy desarrollado. Todo ello supone una red importante para su elevada actividad metabólica. Estas células son capaces de regenerarse con facilidad tras situaciones de toxicidad, enfermedad o cirugía⁶.

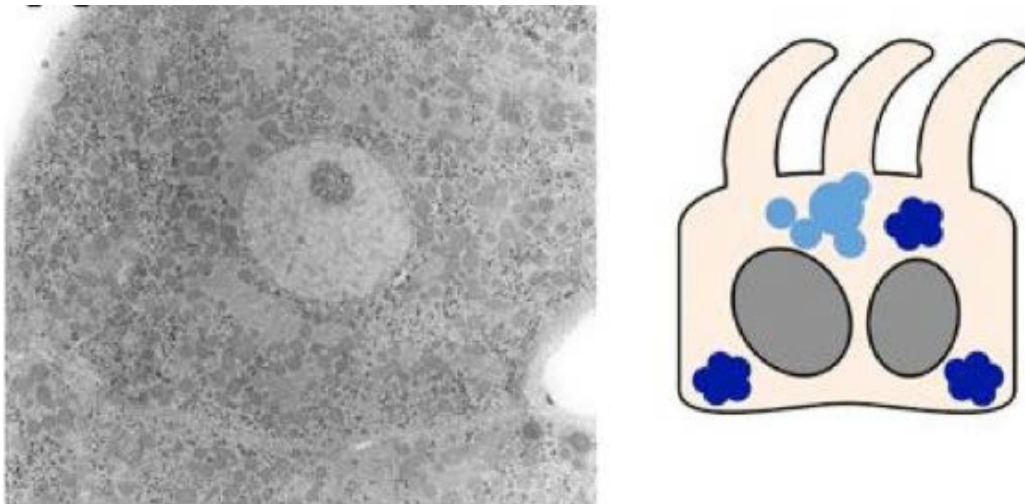


Figura 4. Microscopia electrónica y diagrama de un hepatocito⁶.

2. Los sinusoides hepáticos son vasos sanguíneos revestidos por un fino endotelio, y a diferencia de otros vasos del organismo, tienen poros abiertos o fenestras sin diafragma y una lámina basal incompleta (Figura 5). Como se ha indicado anteriormente, las fenestraciones del endotelio sinusoidal permiten el flujo libre de plasma hacia el espacio de Disse, accediendo a la superficie de los hepatocitos directamente (Figura 3).

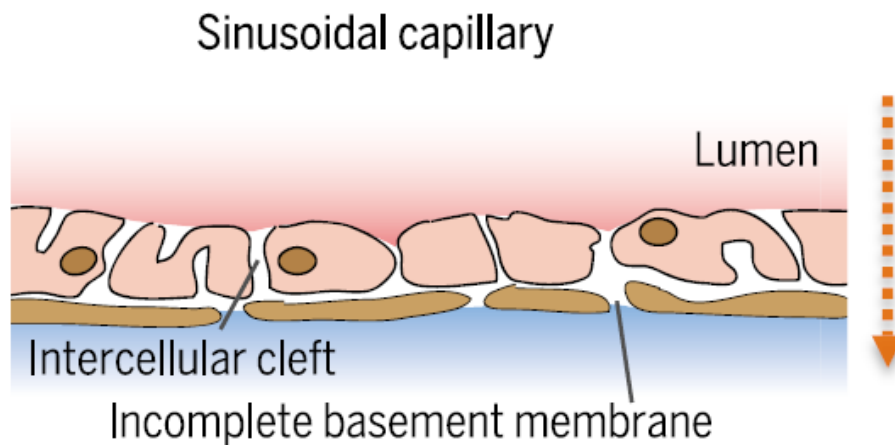


Figura 5. Endotelio de los sinusoides hepáticos. Se observan espacios entre las células y una membrana basal discontinua para intercambiar materiales libremente⁵.

Las **células endoteliales** sinusoidales del hígado (Figura 6) representan el 48% de las células hepáticas no parenquimales y el 3% del volumen hepático total. Forman una barrera estructural que participa en la eliminación de los productos de desecho de la circulación sanguínea y en la regulación del flujo sanguíneo; también actúan como células presentadoras de antígeno regulando el daño hepático. Las células endoteliales sinusoidales tienen una gran actividad endocítica por lo que presentan numerosas vesículas endocíticas y lisosomas^{4,5}.

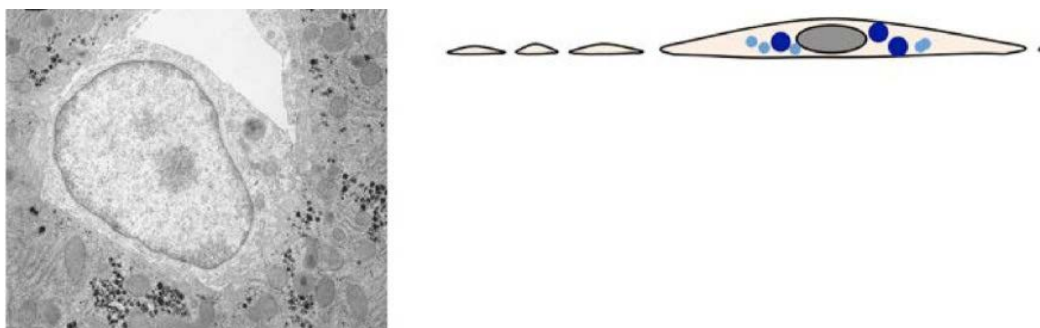


Figura 6. Microscopia electrónica y diagrama de las células endoteliales sinusoidales del hígado⁶.

3. Las células de Kupffer (Figura 7) son macrófagos residentes en el hígado que se localizan en la luz de los sinusoides hepáticos. Son los macrófagos tisulares más abundantes en el cuerpo y representan el 30% del total de las células hepáticas no parenquimales.

Estas células tienen una gran capacidad fagocítica y son una de las primeras líneas de defensa del organismo, puesto que son las primeras células del sistema fagocítico mononuclear que entran en contacto con el material que llega de la absorción realizada en el tracto gastrointestinal.

Así, una de las principales funciones de estas células, es limpiar la sangre portal de materiales extraños, como eritrocitos viejos, productos de la coagulación, bacterias o virus, células cancerosas, etc.⁶

El citoplasma de las células de Kupffer tiene abundantes lisosomas e inclusiones celulares. Estas células tienen diferentes formas y una capacidad migratoria al sitio de destino y/o lesión. Además, producen diversas citoquinas, gracias a los glóbulos blancos y a las células Natural Killer⁷.

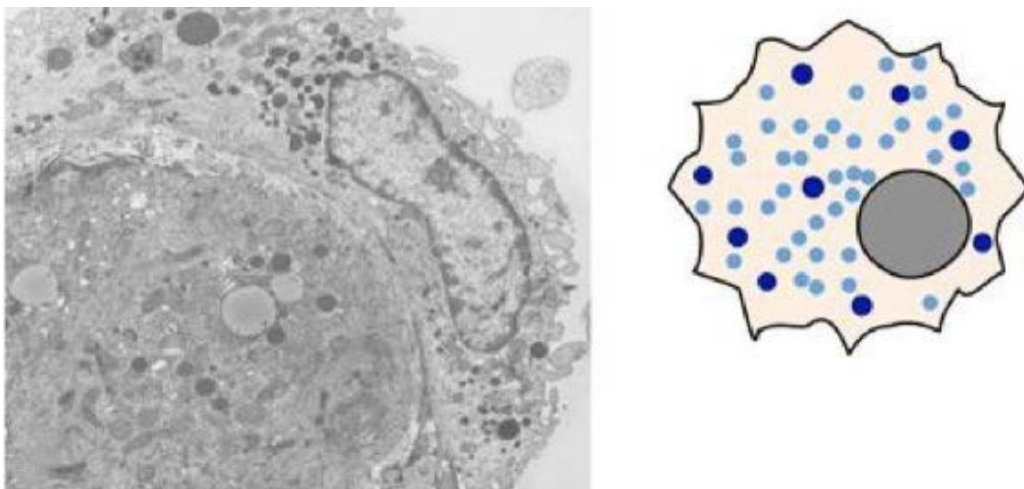


Figura 7. Microscopia electrónica y diagrama de las células de Kupffer⁶.

4. Las células pit (Figura 8) son las células “Natural Killer” propias del hígado, linfocitos granulares de gran tamaño con actividad citotóxica. Tienen un papel importante del sistema inmune innato y destruyen las células infectadas y cancerosas mediante la citolisis. Estas células representan el 3% de las células hepáticas no parenquimales y se localizan en el lumen sinusoidal, al igual que las células de Kupffer^{6,7}.

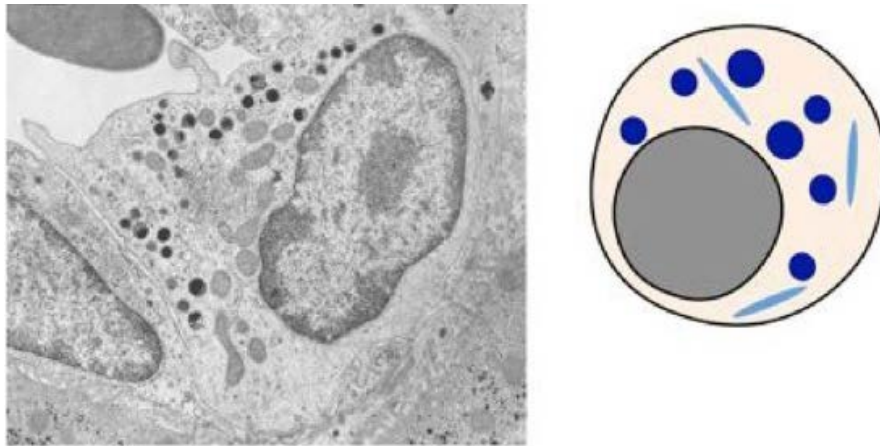


Figura 8. Microscopia electrónica y diagrama de las células pit⁶.

5. Las **células estrelladas hepáticas** (CEH) (Figura 9), representan el 20% del total de las células no parenquimales del hígado. Están localizadas en el espacio de Disse, por lo que están separadas de la luz sinusoidal por las células endoteliales del hígado.

En condiciones fisiológicas, las células estrelladas hepáticas contienen gotas de lípidos formadas por vitamina A, desempeñando un papel fundamental en la regulación de la homeostasis de los retinoides y en la remodelación de la matriz extracelular. Cuando estas células se activan, se diferencian en células similares a los miofibroblastos con capacidad proliferativa, fibrogénica y contráctil^{6,8}.

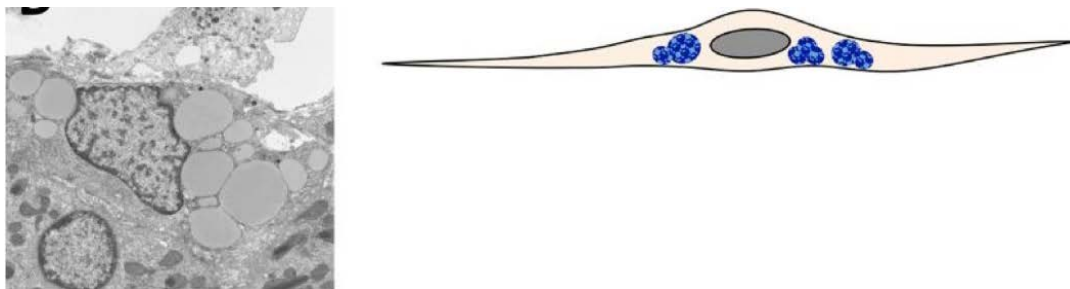


Figura 9. Microscopia electrónica y diagrama de las células estrelladas hepáticas⁶.

3. CÉLULAS ESTRELLADAS HEPÁTICAS

Las células estrelladas hepáticas las describió por primera vez Karl Kupffer, en 1876, cuando buscaba fibras nerviosas en el hígado y las denominó "*sternzellen*"⁹. Años después, Wake fue capaz de identificar que, las llamadas "*sternzellen*", eran las mismas células que las que almacenaban vitamina A en el hígado.

Tras 120 años con diferentes denominaciones y caracterizaciones histológicas, como células perisinusoidales, células almacenadoras de grasa, lipocitos, células de Ito, etc., en 1995 el profesor Toshio Ito las describió como "*células estrelladas hepáticas*"^{9,10,11}.

Bien es cierto que la relación entre las células estrelladas hepáticas y la matriz extracelular provocó gran cantidad de intereses en 1980, ya que consiguieron aislar algunas células estrelladas hepáticas en ratas e hígado humano, viendo así la relación que había entre ellas¹².

A. CARACTERÍSTICAS EN CONDICIONES FISIOLÓGICAS

Como se ha indicado anteriormente, las células estrelladas hepáticas se encuentran ubicadas en el espacio perisinusoidal de Disse, entre las superficie de los hepatocitos y las células endoteliales. Tienen forma de huso con un núcleo ovalado, y gran cantidad de prolongaciones citoplasmáticas que se distribuyen por el espacio de Disse y les permiten establecer contacto con los hepatocitos, las células endoteliales y terminaciones nerviosas. En condiciones fisiológicas representan el 5-8% del total de las células hepáticas y presentan un fenotipo quiescente (Figura 10)^{13,14}.

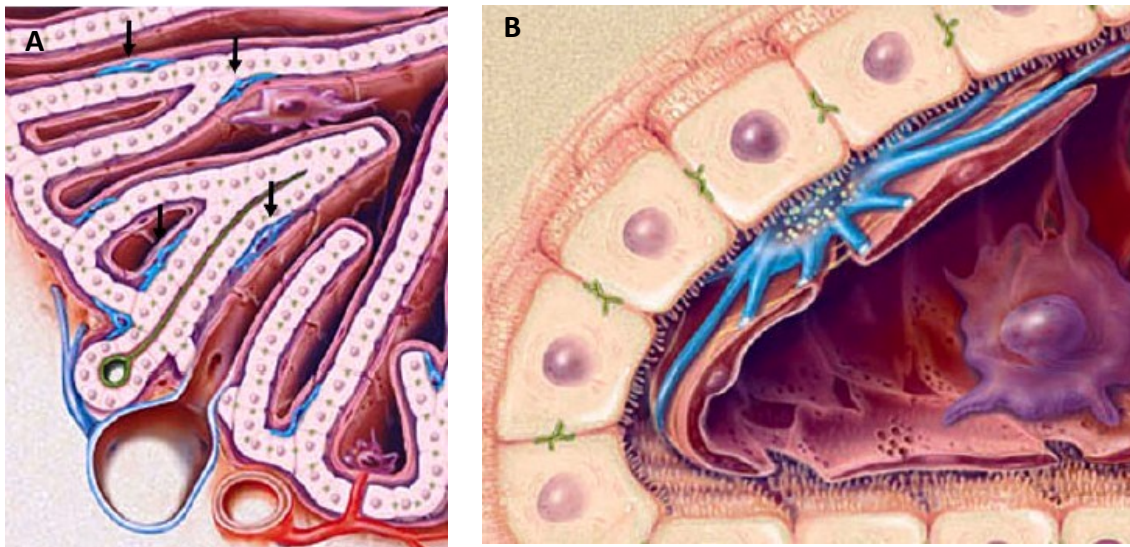


Figura 10. Morfología de las células estrelladas hepáticas en el hígado normal. **A.** Diagrama de un sinusoide hepático que representa la orientación de las células estrelladas hepáticas (flecha azul). **B.** Imagen con mayor detalle donde se observa una célula estrellada hepática en el espacio de Disse¹⁴.

I. FUNCIONES

Las células estrelladas hepáticas tienen tres funciones fisiológicas principales:

- El almacenamiento y transporte de la vitamina A o retinol en forma de gotas de grasa (1-2 μm de diámetro) en el citoplasma. En situaciones fisiológicas, el 50-60% de la vitamina A total del cuerpo se almacena en el hígado, de los cuales, el 80-90% está en las células estrelladas hepáticas¹².
- La producción de la matriz extracelular en el espacio de Disse (principalmente colágeno tipo IV) y la degradación de los componentes de la matriz extracelular por inmunorregulación (llevada a cabo por las metaloproteinasas, diversas citoquinas y algunos factores de crecimiento).
- La regulación de la microcirculación sinusoidal⁸.

II. ORIGEN Y MARCADORES

El hígado se forma a partir de los 24-26 días de la concepción, a partir de células endodérmicas que darán lugar a los hepatocitos y a los canalículos biliares. Las células de Kupffer y las células estrelladas hepáticas se empiezan a observar a partir de la mitad del tercer mes de gestación. A partir de ese momento, las células estrelladas hepáticas ya contienen gotas de lípidos en el citoplasma, aunque no alcanzan su tamaño y forma final (con sus prolongaciones correspondientes), hasta cinco semanas después del nacimiento.

Tras 40 años de investigación sobre el origen de las células estrelladas hepáticas, todavía no se ha logrado conocer con exactitud su origen ya que estas células expresan marcadores de las tres capas germinales. Actualmente los estudios más recientes indican un origen mesenquimal, en concreto en el "*septum transversum*", ya que se forma a partir del mesénquima cardíaco en el momento que se produce la invaginación de la yema hepática^{10,15,16}.

Entre los marcadores de células estrelladas hepáticas más utilizados se encuentra la desmina, la α -actina de músculo liso (α -AML) y la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) (Tabla 1). Muchos de los estudios realizados para identificar los marcadores propios de las células estrelladas hepáticas han sido realizados en roedores, pero se ha observado que la expresión de los mismos puede variar respecto a los humanos¹⁰.

La desmina es una proteína del citoesqueleto, considerada como mejor opción para identificar las células estrelladas en el hígado de los roedores. Sin embargo, la desmina

no se expresa en el tejido hepático humano, aunque en algunos estudios se ha observado una tinción positiva en las células estrelladas hepáticas aisladas.

La α -AML es también una proteína del citoesqueleto, y es positiva para las células estrelladas hepáticas tanto en el tejido hepático humano normal (en células que contienen grasa) como en el alterado. En el caso de los roedores la α -AML solo es positiva cuando se activan las células estrelladas hepáticas, no en estado quiescente.

Respecto a la GFAP, los hígados de los roedores y los hígados humanos cirróticos son capaces de expresar esta proteína, mientras que la inmunorreactividad parece estar ausente en el tejido hepático humano normal.

Otros marcadores menos importantes son P75, vimentina y N-CAM. En todos la tinción es positiva en tejido hepático humano y solo los dos primeros tienen una tinción positiva en roedores¹⁰.

Tabla adaptada 1. Marcadores de CEH en roedores y en humanos¹⁰

MARCADORES	ROEDORES		TEJIDO HEPÁTICO HUMANO		AISLAMIENTO DE CEH HUMANAS
	<i>Quiescente</i>	<i>Activada</i>	<i>Normal</i>	<i>Alterada</i>	<i>Explantos</i>
DESMINA	+	+	+ 0 -	+ 0 -	+
α-AML	-	+	+ 0 -	+	+
GFAP	+	+	- 0 +	+	-
P75	+	+	+	+	
VIMENTINA	+	+	+	+	+
N-CAM	-	+	+	+	

La diversidad de marcadores que expresan las células estrelladas hepáticas sugiere un cierto grado de heterogeneidad en estas células. No sólo se han observado diferencias en los marcadores expresados según la especie animal considerada y el tipo de tejido (normal o patológico), sino también según la localización en el lobulillo hepático⁹. Así, los marcadores de la cresta neural (*origen neuroectodérmico*), tienen una inmunotinción mayor en las zonas periportales que en las zonas centrolobulares.

Además, según la zona del lobulillo, las células estrelladas hepáticas también muestran una heterogeneidad en su morfología. Las células de la zona centrolobular son dendríticas y tienen procesos más largos que la zona periportal. Por otro lado, en la

zona del hígado donde se apoyan el riñón y la glándula suprarrenal, hay un mayor almacenamiento de vitamina A que en la región central del hígado¹⁷.

La heterogeneidad observada en las células estrelladas hepáticas sugiere que sean una población celular compuesta por diferentes subpoblaciones de origen diferente y con funciones diferentes¹⁸.

III. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

En cuanto a la ultraestructura de las células estrelladas hepáticas, tienen un retículo endoplásmico rugoso moderadamente desarrollado, un pequeño aparato de Golgi yuxtannuclear y una serie de prolongaciones citoplasmáticas bien definidas que envuelven los sinusoides. (Figura 11)¹².

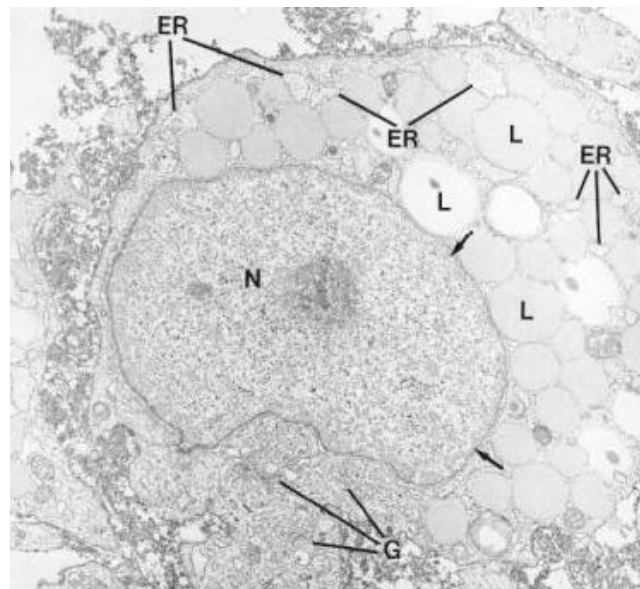


Figura 11. Ultraestructura de células estrelladas hepáticas de rata. El retículo endoplásmico (ER) está bien desarrollado y podemos observar algunas gotas de grasa (L) y el aparato de Golgi (G) alrededor del núcleo (N)¹².

A nivel morfológico, las células estrelladas hepáticas en su estado quiescente se caracterizan por^{10,19}:

- La presencia de gotas de grasa de 1-2 μm de diámetro en su citoplasma, donde se almacena vitamina A.
- Gran cantidad de prolongaciones citoplasmáticas largas y finas llamadas "prolongaciones primarias" de las que manan las llamadas "prolongaciones secundarias" que se distribuyen a lo largo de la pared de los sinusoides

formando un red discontinua en el espacio subendotelial. Una célula estrellada hepática es capaz de rodear más de dos sinusoides próximos a ella y, a través de sus prolongaciones, establece contacto con los hepatocitos y las células endoteliales. Además, estas células se localizan próximas a terminaciones nerviosas¹². Las prolongaciones citoplasmáticas de las células estrelladas hepáticas, de entre 0,2 y 2 μm de ancho, contienen numerosos microfilamentos que mediante inmuno-microscopía electrónica se ha observado que son positivos a $\alpha\text{-AML}$ (Figura 12A y 12B). En cada prolongación hay numerosas micro-proyecciones o espinas que parece que actúan como sensores de señales quimio-táctiles que transmiten a las células para generar una fuerza contráctil¹².

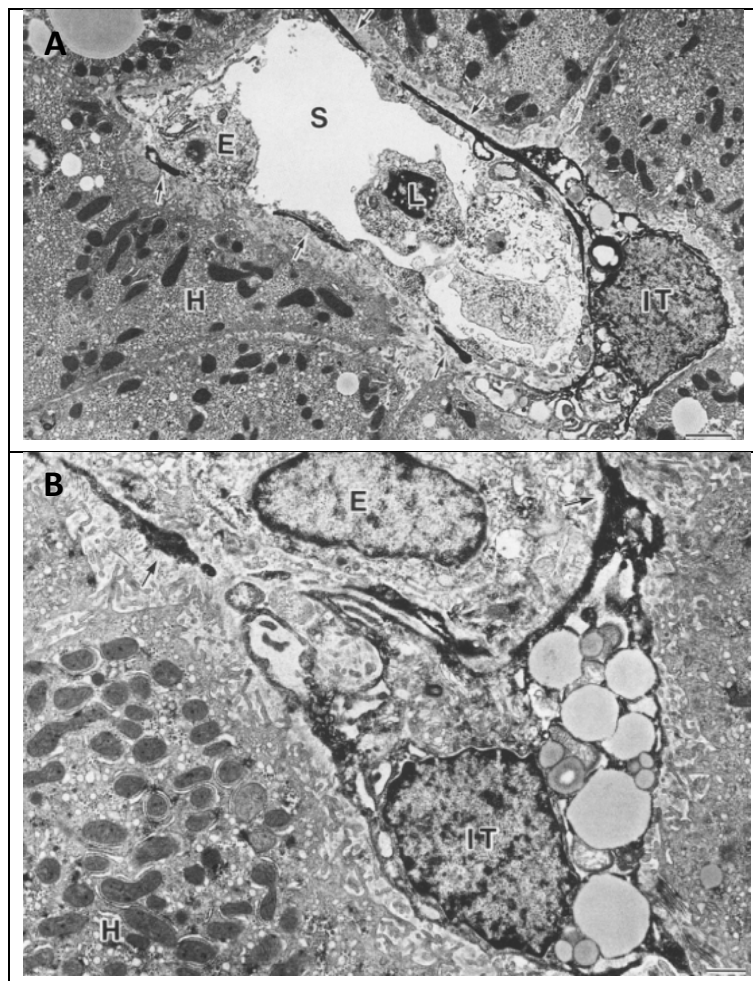


Figura 12. Células estrelladas hepáticas vistas con técnica de inmuno-microscopía electrónica. **A.** Hígado normal de adulto. CEH o de Ito (IT) con algunas gota de grasa y prolongaciones citoplasmáticas positivas a $\alpha\text{-AML}$ (flechas). La célula endotelial (E) y el linfocito (L) que se encuentra en el sinusoides (S), son negativas a $\alpha\text{-AML}$. **B.** Célula de Ito (IT) de un hígado adulto normal a mayor aumento. Se pueden observar numerosas gotas de grasa y reacción positiva frente a $\alpha\text{-AML}$ en la periferia del cuerpo celular y en los procesos celulares (flecha)¹².

B. ACTIVACIÓN DE LAS CÉLULAS ESTRELLADAS HEPÁTICAS

En respuesta a una lesión en el hígado, las células estrelladas hepáticas quiescentes se activan, es decir, sufren un proceso de transdiferenciación en unas células tipo miofibroblastos con capacidad proliferativa, fibrogénica y contráctil. En este proceso se produce la pérdida de las características gotas de lípidos que presentan en el citoplasma, las células proliferan, aumentan su tamaño y aumentan la producción de la matriz extracelular. Estos miofibroblastos producen proteínas colágenas y no colágenas de la matriz extracelular, como colágeno tipo I, III y IV, laminina, elastina, fibronectina y algunos proteoglicanos^{6,9,20}.

El proceso de activación es importante para poder entender las respuestas posteriores de las células estrelladas hepáticas a la lesión hepática, que puede concluir en fibrosis, y a la reparación¹².

En el proceso de activación de las células estrelladas hepáticas se pueden diferenciar tres fases^{8,9,20} (Figura 13A):

1. La **fase de iniciación** (o etapa pro-inflamatoria) es una fase rápida que engloba los primeros cambios en la expresión genética y del fenotipo de las células estrelladas hepáticas, y que permiten a estas células responder a los diferentes estímulos procedentes de células vecinas o a cambios en la matriz extracelular.

Las células del hígado, incluyendo los hepatocitos, los macrófagos y células de Kupffer, células epiteliales biliares, células progenitoras hepáticas, células Natural Killer, células endoteliales sinusoidales, las plaquetas y las células B (Figura 13B) pueden promover o inhibir la activación de las células estrelladas hepáticas a través de la producción de hormonas, citoquinas y otras moléculas de señalización.

2. La **fase de perpetuación** es un proceso en el que se amplifica el fenotipo activado de las células estrelladas hepáticas en respuesta a citoquinas y factores de crecimiento, producidos principalmente por macrófagos, las propias células estrelladas hepáticas activadas y el medio que las rodea. Este proceso se caracteriza por una intensificación de la proliferación, la contractilidad, la fibrogénesis, la degradación de la matriz y la señalización proinflamatoria.

3. En la **fase de resolución**, si el estímulo activado por las células estrelladas hepáticas disminuye o desaparece, las células estrelladas hepáticas activadas pueden revertir a un estado quiescente o puede producirse la muerte celular por apoptosis.

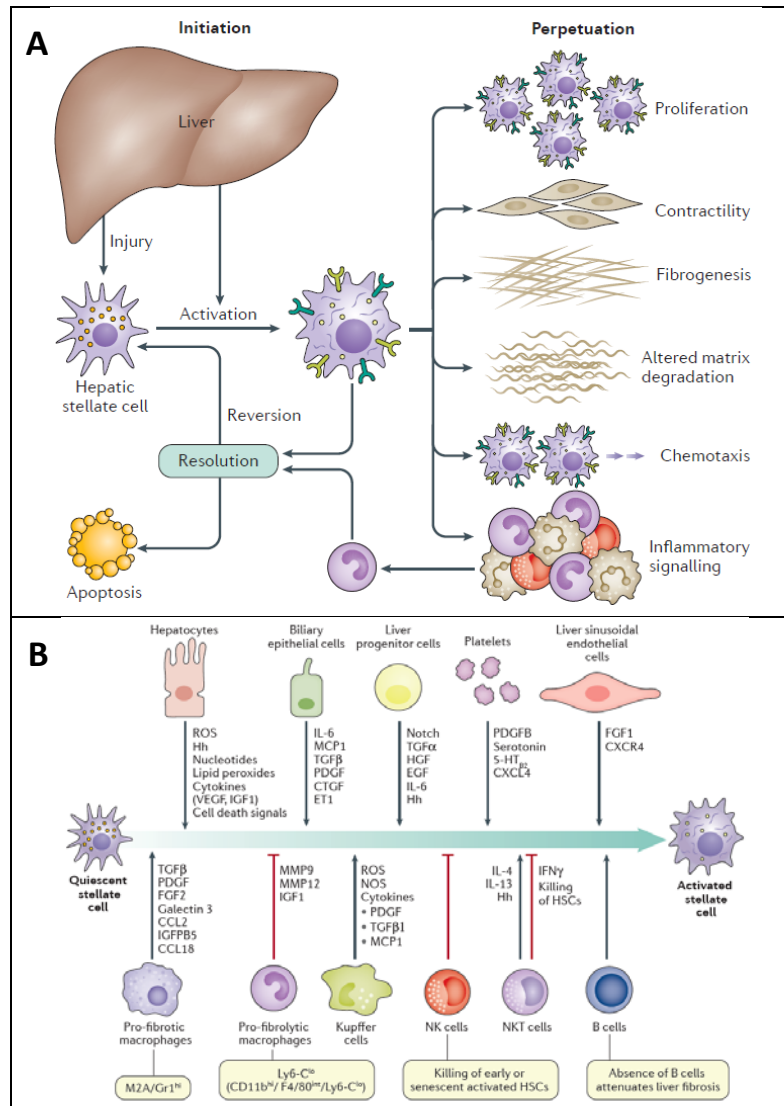


Figura 13. A. Activación de las CEH. Tras una lesión en el hígado, las CEH pasan de un estado quiescente, a un estado activado. Se produce la perpetuación con una serie de cambios fenotípicos específicos. Durante la resolución de la fibrosis, las CEH se eliminan por apoptosis o vuelven a un fenotipo inactivado. **B.** Estímulos extracelulares que activan las CEH. Diferentes tipos de células van a conseguir su activación mediante la producción de hormonas, citoquinas y otras moléculas de señalización²⁰.

I. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LAS CÉLULAS ESTRELLADAS HEPÁTICAS ACTIVADAS

A nivel morfológico, las células estrelladas hepáticas en estado activado (Figura 14) se caracterizan por^{12,19}:

- La pérdida de las gotas de grasa del citoplasma.
- El desarrollo del retículo endoplásmico rugoso, y aparato de Golgi.
- El incremento de los microfilamentos, que forman haces localizados principalmente bajo la membrana celular. Los filamentos están formados principalmente por α -AML.
- Hipertrofia, es decir, las células están tumefactas, y se alargan, formando una red continua con sus prolongaciones a lo largo de las paredes sinusoidales.

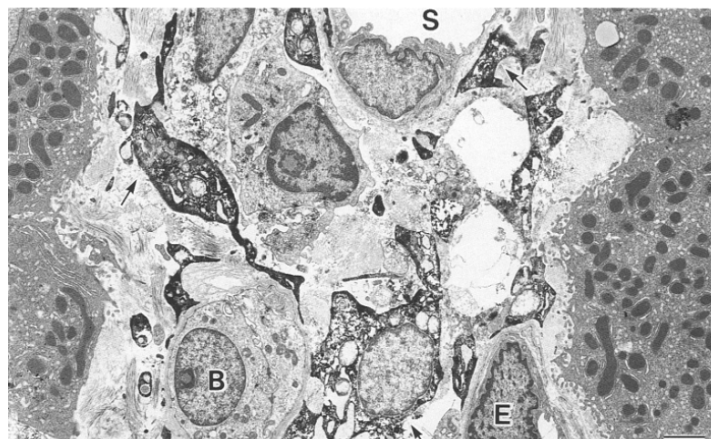


Figura 14. Inmuno-microscopía electrónica. Prolongaciones de las células miofibroblásticas α -AML positivas (flechas) entremezcladas con células inflamatorias y fibrillas de colágeno en un hígado con necrosis¹⁹.

4. FIBROSIS HEPÁTICA

A. GENERALIDADES

La fibrosis hepática es una afectación del hígado inicialmente reversible que tiene lugar por una agresión continua debido a numerosos agentes como son los virus de la hepatitis, alcohol, drogas, toxinas, enfermedades autoinmunes, alteraciones metabólicas, etc. Esta afectación se caracteriza por una cicatrización excesiva provocada por un círculo vicioso de necrosis de los hepatocitos, activación persistente de la respuesta inflamatoria, producción y acumulación progresiva de proteínas de la

matriz extracelular en el espacio de Disse y disminución de la degradación o remodelación de la matriz extracelular, lo que altera la arquitectura normal del hígado (Figura 15)^{21,22,23}.

La activación y proliferación de las células estrelladas hepáticas juegan un papel esencial en la progresión de la fibrosis hepática, ya que son las principales células implicadas en la producción y degradación de la matriz extracelular. Durante la progresión de la fibrosis hepática, se producen cambios significativos no sólo en la cantidad de matriz extracelular, sino también en la calidad y la distribución topográfica. Así estas células producen principalmente colágeno tipo I y III, fibronectina y laminina, que se acumulan en el espacio de Disse, y liberan endotelina 1, un gran vasoconstrictor que favorece la proliferación, fibrogénesis y contracción de las células. Paralelamente se altera la remodelación de la matriz extracelular y se incrementa la expresión de los inhibidores tisulares de las Metaloproteasas^{13,23}.

Durante la fibrosis, el sistema microvascular se modifica ya que pasa de un sistema sinusoidal de capilares discontinuos a un sistema sinusoidal de capilares continuos. Esto es lo que llamamos "*capilarización*" de los sinusoides⁸ (Figura 16). La sustitución de colágeno IV por colágeno I y II en el espacio de Disse por las células estrelladas hepáticas activadas es la causa principal de esta capilarización de los sinusoides¹³.

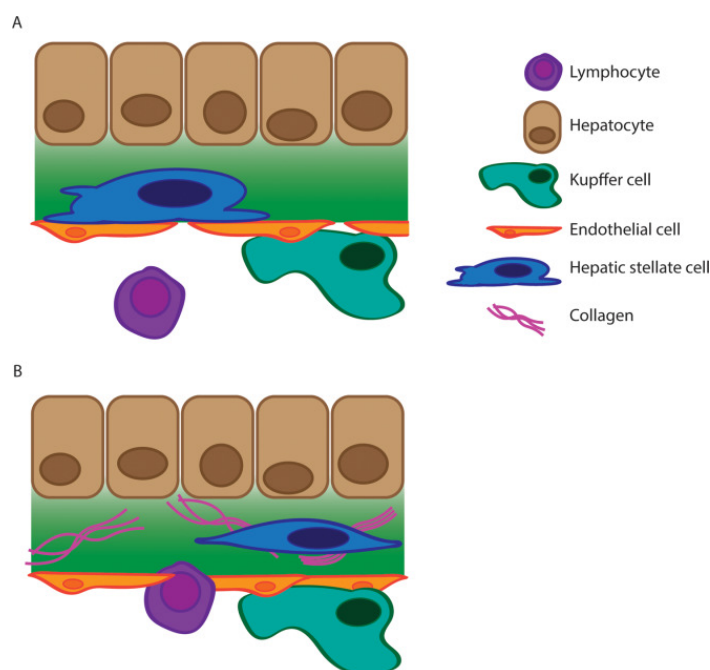


Figura 15. A. En el tejido hepático normal, las CEH están inactivas y se localizan en el espacio de Disse. **B.** Cuando hay una lesión hepática, se activan las CEH dando lugar a la deposición excesiva de colágeno en el espacio de Disse, a una acumulación de células inflamatorias y a una capilarización de los sinusoides⁸.

Ante una agresión, los hepatocitos dañados o lesionados producen una serie de citoquinas específicas (factores de crecimiento) y liberan especies reactivas de oxígeno. En la fibrosis hepática hay tres factores de crecimiento principales implicados: el factor de crecimiento transformante β , el factor de crecimiento endotelial vascular y el factor de crecimiento del tejido conectivo. Estos factores dan lugar a que las células estrelladas hepáticas se diferencien en miofibroblastos, ya que van a activar las vías de señalización celular, la migración de las células, la secreción de las proteínas de la matriz extracelular y la contractilidad²³.

La citoquina fibrogénica más potente es el factor de crecimiento transformante β ya que se encarga de regular la matriz extracelular en respuesta a una lesión. El factor de crecimiento endotelial vascular promueve la reparación del tejido hepático y la resolución de la fibrosis, puesto que induce la proliferación de las células estrelladas hepáticas. El factor de crecimiento del tejido conectivo es también una potente citoquina fibrogénica que es secretada en situaciones de hiperglucemia, hiperinsulinemia y en lesiones hepáticas por etanol^{14,20}.

B. ORIGEN DE LOS MIOFIBROBLASTOS HEPÁTICOS EN LA FIBROSIS HEPÁTICA

Los miofibroblastos hepáticos son una población heterogénea que se pueden originar a partir de diferentes células precursoras mesenquimales a través de un proceso de activación o transdiferenciación^{13,20}.

Como se ha indicado anteriormente, la principal fuente de miofibroblastos en condiciones patológicas en el hígado son las células estrelladas hepáticas activadas. En la mayoría modelos murinos se ha observado que suponen el 82-96% del total de miofibroblastos que producen la fibrosis hepática^{12,20}.

Sin embargo, los miofibroblastos hepáticos también pueden proceder de los fibroblastos portales (Figura 16), una población de fibroblastos localizados en el tejido conectivo que rodea los conductos biliares en el espacio porta. Se ha observado que en los modelos murinos de ligadura de conducto biliar los miofibroblastos de origen portal contribuyen significativamente la fibrosis hepática¹³.

También, se ha descrito que un número limitado de miofibroblastos pueden proceder de otros orígenes como células precursoras de la médula ósea o de hepatocitos y colangiocitos a través de un proceso de transición epitelio mesenquimal. Sin embargo,

este proceso de transición actualmente está en debate y se cree que no es relevante en la fibrosis hepática^{12,13,14}.

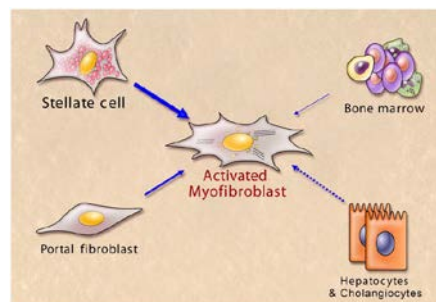


Figura 16. Fuentes de miofibroblastos en la lesión hepática¹².

C. EVOLUCIÓN EN LA FIBROSIS HEPÁTICA

La fibrosis hepática se puede detener e incluso revertir si se eliminan las causas que la producen¹⁴. Sin embargo, si se mantienen estas causas, la fibrosis puede progresar a una cirrosis que puede ir evolucionando hasta desencadenar una patología más grave, el carcinoma hepatocelular. Por lo tanto, cuando el hígado sufre un daño crónico éste intenta repararse mediante la formación de una cicatriz, produciéndose la fibrosis hepática. Conforme esas cicatrices se van acumulando, hacen que el hígado tenga mayor dificultad para realizar sus funciones, por lo que se descompensa y aparece una situación irreversible que es la cirrosis que puede evolucionar hasta desencadenar un carcinoma hepatocelular (Figura 17)^{13,21,24}.

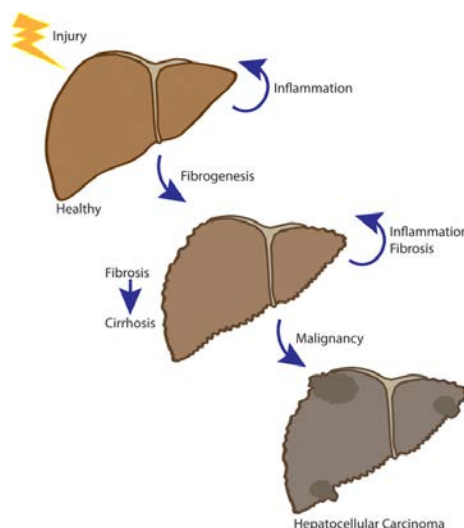


Figura 17. Tras un daño repetido que tenga lugar en el hígado (infección viral, alcohol, obesidad, esteatosis, enfermedades autoinmunes, etc.), se produce una señalización profibrogénica y proinflamatoria que impulsa la fibrosis. Si esta situación no se controla, producirá una enfermedad hepática y/o cirrosis en fase terminal, lo cual puede concluir con un carcinoma hepatocelular²⁴.

La progresión del tejido hepático sano a la situación de cirrosis se produce tras 15-20 años de daño hepatocelular crónico. La cirrosis hepática es la cuarta causa de muerte más frecuente en Europa, y es más probable que ocurra en hombres que en mujeres. Es más frecuente en los países occidentales ya que el consumo de alcohol es excesivo, y la infección viral de la hepatitis C y la enfermedad por hígado graso son más comunes^{13,21}.

La cirrosis se caracteriza por una estructura hepática alterada que implica la formación de nódulos regenerativos del parénquima que están rodeados de tabiques fibróticos, de forma que el hígado cirrótico contiene hasta seis veces más matriz extracelular que un hígado normal. Además, se producen cambios notables en la arquitectura vascular del órgano, que pueden producir hipertensión portal y complicaciones como: insuficiencia hepática funcional, hemorragia por varices, ascitis y encefalopatía hepática o infección bacteriana sistémica.

A pesar de todas las complicaciones que pueden producirse en una situación de cirrosis, la más importante es la evolución a carcinoma hepatocelular. Éste es el tumor maligno más frecuente del hígado y una de las principales causas de muerte en todo el mundo. Además de ser la cirrosis un factor de riesgo importante en el desarrollo del carcinoma hepatocelular, otros factores de riesgo importantes son la hepatitis B y C¹³.

Como se ha indicado anteriormente, la fibrosis hepática se puede detener e incluso revertir si se eliminan las causas que la producen, como veremos en el siguiente punto¹⁴.

5. REGENERACIÓN

A. GENERALIDADES

La regeneración del hígado es un proceso complejo que depende de una serie de señales que coordinan la reorganización del tejido hepático que está dañado¹⁸. En gran cantidad de situaciones, los hepatocitos tienen la capacidad de replicar y restaurar el tejido hepático, es decir, ante una lesión hepática crónica, son capaces de producir una hiperplasia compensatoria, donde el tejido hepático restante es capaz de multiplicarse para suplir las necesidades metabólicas del organismo²⁵.

Para que la regeneración hepática se lleve a cabo, no es solo importante la actuación de los hepatocitos y de las células madre, sino que también son necesarias las células de Kupffer, las células endoteliales y las células estrelladas del hígado, ya que van a proporcionar las citoquinas (cabe destacar la IL-6) y los factores de crecimiento (cabe destacar el Factor de Necrosis Tumoral) que son necesarios para que se lleve a cabo este proceso regenerativo.

Por ello, en la regeneración hepática, cada una de las células del hígado lleva a cabo una función determinada: los hepatocitos tienen una vida media larga y gran capacidad de división por mitosis, las células de Kupffer se encargan de la fagocitosis de las partículas extrañas y las células estrelladas hepáticas son capaces de eliminar y detoxificar aquellos agentes que inducen la inflamación²⁵.

Como se ha mencionado anteriormente en el apartado 3.B, la activación de las células estrelladas hepáticas ayudan en la regeneración hepática gracias a la producción de factores angiogénicos, a la proliferación de células endoteliales y hepatocitos, y a la remodelación de la matriz extracelular (Figura 18). Todavía no se conocen concretamente los mecanismos por los que las células estrelladas hepáticas activadas son capaces de intervenir en la regeneración hepática²⁷, pero sí se sabe que la desactivación de los miofibroblastos es un paso importante en la regeneración hepática.

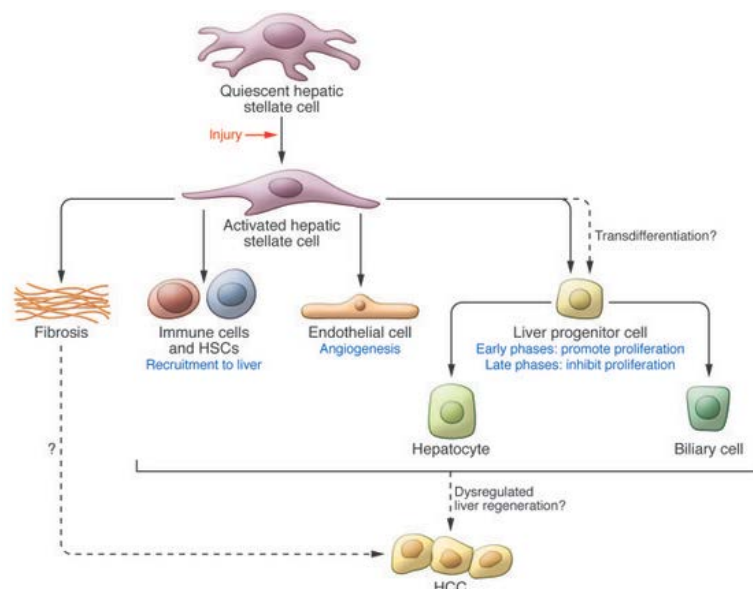


Figura 18. Las CEH promueven la proliferación de células progenitoras del hígado y hepatocitos. Además, estimulan la angiogénesis, reclutan células madre y células inmunes del hígado. Todas estas actuaciones darán lugar a la regeneración hepática o en su defecto, producirán un carcinoma hepatocelular²⁷.

B. FASES DE LA REGENERACIÓN

Tras diferentes estudios, se han conseguido integrar los mecanismos celulares y moleculares de la regeneración hepática²⁶. Por ello, distinguimos una serie de mecanismos importantes que se relacionan con la eliminación de las células estrelladas hepáticas y van a llevar a cabo la resolución de la fibrosis hepática. Estos mecanismos son: apoptosis, senescencia, reversión y degradación de la matriz extracelular.

I. APOPTOSIS

La apoptosis de las células estrelladas hepáticas es una de las estrategias terapéuticas claras para la regresión de la fibrosis hepática²². El proceso de apoptosis consiste en separar las células que se desean eliminar del resto de células que son normales y que sean fagocitadas por las células vecinas, que en muchas ocasiones son las células de Kupffer del hígado.

Para llevar esto a cabo el proceso de apoptosis, son necesarios una serie de receptores de muerte en la superficie celular, que pertenecen a la familia de una citoquina Factor de Necrosis Tumoral. Las células estrelladas hepáticas activadas expresan estos receptores de muerte en la superficie celular, que son: receptor de FAS o DS95, un receptor de TNF-1, receptores p75NTR y TRAIL (receptor ligando del factor de necrosis tumoral).

El inhibidor tisular de la metaloproteinasa 1 (TIMP1) y el TGF- β , son señales antiapoptóticas y van a impulsar la supervivencia de las células estrelladas hepáticas²⁰.

II. SENESCENCIA

La senescencia es un mecanismo fisiológico que cursa con la detención irreversible del ciclo celular que tiene lugar cuando las células superan la capacidad proliferativa. Las células estrelladas hepáticas pueden expresar p53 o no: cuando expresan p53, secretarán IL-6 e IFN- γ y expresan ICAM-1 (molécula de adhesión intracelular 1), por lo que favorecen la regeneración hepática; mientras que cuando no expresan p53, secretan IL-3, IL-4 e IL-5 produciendo la estimulación de los macrófagos que aumentan la proliferación de células pre-malignas^{20,22}.

III. REVERSIÓN

Esta etapa también se denomina desactivación de las células estrelladas hepáticas que estaban en estado activado, y su función principal implica la restauración completa de

la arquitectura hepática hasta llegar a una situación de normalidad, con la desaparición de la lesión que ha causado todo este proceso²⁰.

IV. DEGRADACIÓN DE LA MATRIZ EXTRACELULAR

El último paso para lograr la reversibilidad de la fibrosis es la degradación de la matriz extracelular que está en exceso. Las metaloproteinasas son las enzimas más efectivas en este proceso²⁸.

6. CONCLUSIONES

Las células estrelladas hepáticas son un tipo celular complejo, con una gran heterogeneidad y versatilidad que las diferencia del resto de células hepáticas, puesto que juegan un papel importante tanto en la fisiología del hígado como en la fibrogénesis y regeneración del mismo.

En situaciones fisiológicas, las células estrelladas hepáticas son las principales células encargadas del almacenamiento de lípidos y de la producción y degradación de la matriz extracelular. Tras un proceso de activación, estas células se diferencian en miofibroblastos con capacidad proliferativa, fibrogénica y contráctil, los cuales tienen un papel principal en la fibrogénesis hepática. El conocimiento de los mecanismos que dan lugar a la activación de las células estrelladas hepáticas, pueden llegar a suponer un importante avance en el control de la fibrosis y cirrosis hepática así como en el desarrollo de terapias para diferentes enfermedades hepáticas humanas.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Ross, M., Kaye, G. and Pawlina, W. (2014). *Histología*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
2. Sobotta, J., Paulsen, F. and Waschke, J. (2012). *Atlas de anatomía humana*. Barcelona: Elsevier.
3. Boya Vegue, J. (2010). *Atlas de Histología y Organografía microscópica*. Madrid: Médica Panamericana.
4. Poisson J, Lemoine S, Boulanger C, Durand F, Moreau R, Valla D et al. Liver sinusoidal endothelial cells: Physiology and role in liver diseases. *J Hepatol*. 2017 Jan;66(1):212-227.

5. Augustin HG, Koh GY. Organotypic vasculature: From descriptive heterogeneity to functional pathophysiology. *Science*. 2017 Aug 25;357(6353).
6. Braet F, Taatjes DJ, Wisse E. Probing the unseen structure and function of liver cells through atomic force microscopy. *Semin Cell Dev Biol*. 2018 Jan;73:13-30.
7. Clària J, Titos E. La célula de Kupffer. *Gastroenterol Hepatol*. 2004 Apr;27(4):239-294
8. Sarem M, Znaidak R, Macías M, Rey R. Hepatic stellate cells: it's role in normal and pathological conditions. *Gastroenterol Hepatol*. 2006 Feb;29(2):93-101.
9. Atzori L, Poli G, Perra A. Hepatic stellate cell: a star cell in the liver. *Int J Biochem Cell Biol*. 2009 Aug-Sep;41(8-9):1639-42.
10. Shang L, Hosseini M, Liu X, Kisseleva T, Brenner DA. Human hepatic stellate cell isolation and characterization. *J Gastroenterol*. 2018 Jan;53(1):6-17.
11. Suematsu M, Aiso S. Professor Toshio Ito: a clairvoyant in pericyte biology. *Keio J Med*. 2001 Jun;50(2):66-71.
12. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*. 2008 May;134(6):1655-69.
13. Parola M, Pinzani M. Liver fibrosis: Pathophysiology, pathogenetic targets and clinical issues. *Mol Aspects Med*. 2019 Feb;65:37-55.
14. Lee UE, Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2011 Apr;25(2):195-206.
15. Geerts A. On the origin of stellate cells: mesodermal, endodermal or neuro-ectodermal?. *J Hepatol*. 2004 Feb;40(2):331-4.
16. Asahina K. Hepatic stellate cell progenitor cells. *J Gastroenterol Hepatol* 2012 Feb;27(2): 80-84.
17. Magness ST, Bataller R, Yang L, Brenner DA. A dual reporter gene transgenic mouse demonstrates heterogeneity in hepatic fibrogenic cell populations. *Hepatology*. 2004 Nov;40(5):1151-9.
18. Bansal MB. Hepatic stellate cells: fibrogenic, regenerative or both? Heterogeneity and context are key. *Hepatol Int*. 2016 Nov;10(6):902-908.

19. Enzan H, Himeno H, Iwamura S, Saibara T, Onishi S, Yamamoto Y, Hara H. Immunohistochemical identification of Ito cells and their myofibroblastic transformation in adult human liver. *Virchows Arch.* 1994;424(3):249-56.
20. Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017 Jul;14(7):397-411.
21. Böttcher K, Pinzani M. Pathophysiology of liver fibrosis and the methodological barriers to the development of anti-fibrogenic agents. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017 Nov 1;121:3-8.
22. Ezhilarasan D, Sokal E, Najimi M. Hepatic fibrosis: It is time to go with hepatic stellate cell-specific therapeutic targets. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2018 Jun;17(3):192-197.
23. Higashi T, Friedman SL, Hoshida Y. Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017 Nov 1;121:27-42.
24. Shay JES, Hamilton JP. Hepatic fibrosis: Avenues of investigation and clinical implications. *Clin Liver Dis (Hoboken).* 2018 May;11(5):111-114.
25. Osorio MC, Rodriguez T. Factores que intervienen en la regeneración hepática. *SciELO.* 2014 Dec;18(4)
26. Cienfuegos JA, Rotellar F, Baixauli J, Martínez-Regueira F, Pardo F, Hernández-Lizoáin JL. Regeneración hepática; el secreto mejor guardado. Una forma de respuesta al daño tisular. *SciELO.* 2014 Mar;106(3)
27. Yin C, Evason KJ, Asahina K, Stainier DY. Hepatic stellate cells in liver development, regeneration, and cancer. *J Clin Invest.* 2013 May;123(5):1902-10.
28. Tacke F, Trautwein C. Mechanisms of liver fibrosis resolution. *J Hepatol.* 2015 Oct;63(4):1038-9.