

Breve descripción de los mecanismos moleculares involucrados en la regeneración hepática

José Gutiérrez Salinas*

RESUMEN

El hígado es un órgano que tiene la capacidad de regular su crecimiento y masa. La capacidad proliferativa del hepatocito se relaciona con una especie celular precursora o célula tallo. La activación de genes tempranos depende del factor de necrosis tumoral, factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento tumoral α y la interleucina-6. Los factores de transcripción más importantes, activados después de iniciar la regeneración hepática, son el NF κ B (factor nuclear de la cadena κ en linfocitos B) y el STAT3. La fase G1 del ciclo celular determina tres posibles vías para el hepatocito: 1) avanzar a la fase S para duplicar su ADN; 2) abortar el proceso proliferativo y regresar al estado G0; o 3) iniciar el proceso de apoptosis. Se piensa que los factores de crecimiento activan a los factores de transcripción y a los genes tempranos para que la célula pase del estado quiescente a la fase G1. Una vez que la célula pasa los "puntos críticos", realiza el ciclo celular en "efecto dominó", donde un sistema activa a otro hasta completar todas las fases del ciclo celular. El estudio de los factores y mecanismos de regeneración hepática, particularmente de los hepatocitos, permite conocer los fenómenos complejos del ciclo celular. La sorprendente función de los hepatocitos no solo proporciona un modelo de estudio para conocer los fenómenos de proliferación celular, sino de terapéutica para los padecimientos cancerosos.

Palabras clave: factor de crecimiento, factores de transcripción, proliferación celular, regeneración hepática.

ABSTRACT

Liver is the vertebrates the only mature organ that conserves its capacity to proliferate. Cellular proliferation is given in several steps and its initial phase this given by the activation of transcription factors (mainly NF κ B and STAT3) and the synthesis of growth factors (TNF, HGF, IL-6, TGF α) that they are the elements that direct and maintain the progression of the hepatocyte from G0 phase to G1 phase of the cell cycle. This transition to G1 can determine that the hepatocyte takes some of the following routes: 1) to continue toward the S-phase of the cell cycle and to duplicate their DNA; 2) to miscarry the cellular cycle and to return to the phase G0, and 3) to carry out the apoptosis of the cell. Activation of early responsive genes and transcription factors are the first events that happen so that a hepatocyte begins the G1 phase of the cell cycle. Early activation of genes is regulated by diverse growth factors which take place in a synchronous way to allow the cell progression toward its duplication. The knowledge of the factors that determine the proliferation of the hepatocyte in experimental conditions can be a great assistant in the therapeutic processes of cancer disease or in cellular transplant.

Key words: Cell cycle; Cell proliferation; Growth factors; Liver regeneration; Transcription factors.

El hígado es uno de los pocos órganos que tiene la capacidad de regular su crecimiento y masa, pues los hepatocitos son células que en estado normal raramente se dividen. Su capacidad proliferativa y aptitud para adaptarse a

los procesos metabólicos son muy amplias. Dichas propiedades se observan cuando disminuye o crece su masa u ocurren alteraciones en la función celular sin cambios apreciables de masa ("falla celular"). En el primer caso, por ejemplo, la resección quirúrgica produce una pérdida aguda de la masa hepática; en el segundo, la necrosis celular ocasiona insuficiencia hepática por agentes químicos o virus y alteraciones fisiológicas sin modificación aparente de su masa.¹⁻⁵

En cualquiera de estas alteraciones, los hepatocitos quiescentes (en reposo) inician un proceso proliferativo y se replican hasta restaurar la capacidad funcional y masa del hígado (en caso que la haya perdido). La capacidad funcional de hepatocito es el parámetro más importante que debe mantener el hígado. La regulación del crecimiento hepático se realiza mediante la

* Laboratorio de Bioquímica y Medicina Experimental, División de Investigación Biomédica, Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, ISSSTE.

Correspondencia: Dr. José Gutiérrez Salinas. Laboratorio de Bioquímica y Medicina Experimental, División de Investigación Biomédica, Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, ISSSTE. San Lorenzo núm. 502, 2º piso, colonia Del Valle, CP 03100, México DF. Tel.: 5200-5003, ext. 14603, Fax 5575-4879. E-mail: quauhtlicutli@yahoo.com

Recibido: mayo, 2007. Aceptado: agosto, 2007.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

relación hígado-cuerpo y no por el crecimiento hepático *per se*. De esta forma, cuando existe un crecimiento anormal del hígado (por una intoxicación que resulta en hipertrofia o hiperplasia), éste restituye la relación hígado-cuerpo. Lo anterior se observa en los trasplantes hepáticos, donde la masa total altera la relación hígado-cuerpo y el receptor ajusta la disminución de la masa hepática para restituir completamente dicha relación.⁴⁻⁶

En la actualidad se considera que la regeneración hepática es un proceso que se realiza en varias fases, de las cuales dos son críticas: *a)* la transición de un hepatocito quiescente (en reposo) para entrar al ciclo celular y *b)* su progresión a través de la fase G1 del ciclo celular. Estos pasos son fundamentales para el hepatocito, ya que son los puentes entre un proceso proliferativo o uno de apoptosis.⁴⁻⁶

CAPACIDAD DE REGENERACIÓN DEL HEPATOCITO

Después de realizar una hepatectomía parcial (70%), el hígado se regenera una o dos veces mediante la división de los hepatocitos y al terminar este proceso regresan a su estado quiescente.⁷ La replicación de los hepatocitos no excede más de dos ciclos; sin embargo, su capacidad proliferativa se conserva. Se ha observado que después de recuperar su masa perdida, si se retira un nuevo segmento de hígado, los hepatocitos reinician el ciclo celular y se duplican.⁵⁻⁷ La capacidad de multiplicación se ha demostrado claramente en las ratas transgénicas deficientes en factores de crecimiento. Estos animales nacen con un defecto genético que les impide tener un hígado adulto sano, por lo que mueren tempranamente. En estos animales se han trasplantado hepatocitos de animales sanos que proliferan adecuadamente hasta restituir la masa y función hepática. Cuando recuperan su función hepática, se utilizan como donadores para otros animales transgénicos y éstos últimos recuperan, al igual que los primeros, la función por los hepatocitos trasplantados. Tales trasplantes se han probado hasta en ocho rondas; en cada caso, los animales trasplantados recuperan su masa y función sin aparente decremento en la capacidad proliferativa de los hepatocitos.⁸⁻¹¹ También se ha comprobado que en los trasplantes seriales, donde utilizan la misma línea celular original, se duplica la población celular 7×10^{20} más veces que la población

original (índice mayor al de la capacidad proliferativa del tejido hematopoyético).⁸⁻¹¹

La capacidad proliferativa del hepatocito no se relaciona con el tamaño, ubicación dentro del lobulillo hepático o cantidad de núcleos que posee. Tampoco se asocia con la capacidad proliferativa y edad del donador, ya que tanto los jóvenes, adultos y ancianos tienen la misma capacidad proliferativa de sus hepatocitos. Este tipo de estudios han indicado que los hepatocitos, en estado normal, tienen reprimida su capacidad proliferativa y que el organismo mantiene la regulación de su proliferación celular para expresarse en el momento adecuado.⁸⁻¹¹

CÉLULAS PRECURSORAS EN EL HÍGADO

La capacidad proliferativa del hepatocito adulto se explica por la coexistencia, dentro del hígado, de células precursoras o células tallo (*stem cell*). Se han encontrado células epiteliales hepáticas y células ductales, con capacidad para diferenciarse en hepatocitos, en los conductos biliares (canales de Herring). Éstas son un “reservorio celular” en el hígado adulto, ya que son capaces de diferenciarse en hepatocitos maduros o en células ductales después de una intoxicación aguda, una necrosis masiva o cualquier otro daño al tejido hepático.¹²⁻¹⁸ Cuando ocurre el daño al hígado, por cualquiera de estas causas, las células ductales se transforman en un tipo específico de células indiferenciadas, llamadas “células ovales”, que se agrupan en “racimos” para formar un “compartimiento oval” donde se realizará la proliferación celular.¹²⁻¹⁸ Faltan investigaciones que demuestren si las células ovales son las progenitoras originales que se mantienen en estado estacionario en el hígado o constituyen el primer precursor totipotencial de una célula primitiva (anterior a ella).¹²⁻¹⁸

MECANISMOS MOLECULARES DE LA REGENERACIÓN HEPÁTICA

El mecanismo molecular de regeneración hepática es uno de los procesos con mayor control y regulación en el organismo. Los eventos moleculares se han estudiado en diversos animales de experimentación y la resección quirúrgica (70% de la masa hepática) es uno de los principales modelos de investigación.¹⁻⁵

El proceso de iniciación de regeneración hepática se realiza con diversas técnicas experimentales, principalmente con biología molecular. El análisis de genes individuales, implicados en el proceso regenerativo y en el funcionamiento del hepatocito, se relaciona con las vías metabólicas para dirigir los procesos de diferenciación, crecimiento y proliferación celular. Una vez que la célula se ha señalado para proliferar, existen varios genes tempranos que se expresan o incrementan su expresión en forma sincronizada para duplicar su ADN. Se ha demostrado que en las primeras cuatro horas de realizada la hepatectomía parcial, ocurren los procesos moleculares más importantes para estimular a un hepatocito a su entrada al ciclo celular.¹⁹⁻²⁴

La primera fase se conoce como expresión de genes tempranos, ya que ocurre inmediatamente después de la hepatectomía y se extiende cerca de cuatro horas.¹⁹⁻²⁴ Los primeros protooncogenes que se identificaron en el inicio de la expresión fueron c-muy, c-fos y c-jun. En la actualidad se conocen alrededor de 70 genes que participan en la respuesta temprana de la hepatectomía parcial.¹⁹⁻²⁴ Estos genes no comparten una función en común, pero representan la expresión de los factores de transcripción, factores de crecimiento, citocinas, fosfatasas de tirosina, reguladores del metabolismo intermedio, entre otros.¹⁹⁻²⁴ Se ha comprobado que la activación de varios genes tempranos depende de la expresión de los factores de crecimiento, como el factor de necrosis tumoral (TNF), factor de crecimiento epidermoide (EGF), factor de crecimiento tumoral α (TGF- α) e interleucina-6 (IL-6).²⁵

Después de la hepatectomía parcial se activan varios factores de transcripción. Éstos son proteínas que se unen específicamente a una región del ADN (gen) e inician o aumentan su transcripción. Los factores de transcripción se unen y activan varios "genes diana" al mismo tiempo; además, un gen puede unir a más de un factor de transcripción. Dichos factores propagan diversos tipos de señales intracelulares y dirigen el proceso regenerativo en varios puntos de regulación, pues cada factor y su respectivo gen (o genes) funcionan en forma sincronizada con otros para evitar las alteraciones celulares.²³⁻²⁶

El factor de transcripción NF κ B (factor nuclear de la cadena κ en linfocitos B) y el STAT3 son dos de las principales proteínas que se activan al inicio de la

regeneración hepática. Éstos no requieren de la síntesis previa de proteínas, ya que solo dependen de un mecanismo posttranscripcional para activarse.^{23,25-30}

El factor NF κ B es una proteína heterodimérica compuesta por dos subunidades proteicas llamadas p65 y p50 ensambladas en el citosol. Este heterodímero es inactivo, ya que se encuentra unido a un inhibidor de p65 denominado I κ B. Cuando se requiere la activación de p65 y p50, el inhibidor I κ B se fosforila en dos residuos de serina para iniciar la degradación de I κ B, por el complejo del proteosoma (maquinaria inicial de transcripción de un gen), y el NF κ B migra del citosol al núcleo.^{26,28,31} Por su parte, las fosforilasas responden a varios estímulos intra y extracelulares y a procesos metabólicos que dirigen la activación o inhibición del NF κ B. De esta forma, las alteraciones en la fosforilación de I κ B, para liberar el NF κ B ante un estímulo proliferativo, ocasionan que la célula realice un proceso de apoptosis (muerte celular) en lugar de uno proliferativo.^{26,28,31}

El factor de transcripción STAT3 se activa en forma más lenta que el NF κ B y su mecanismo de activación es completamente diferente. Después de la hepatectomía parcial, el STAT3 se activa en las primera dos horas y se mantiene activo de cuatro a seis.^{25,26,29,30} El STAT3 es un miembro de los factores de transcripción conocidos como "transductores de señales y activadores de la transcripción" (*Signal Transduction and Activators of Transcription*). Hasta el momento se conocen siete miembros de esta familia, de los cuales STAT3 es el más conocido. Su activación se realiza por citocinas, como la interleucina-6 (IL-6), que utilizan un receptor específico para la traducción de señales intracelulares.^{25,26,30,32,33}

Este receptor enlaza dos factores de crecimiento muy importantes para el hígado, como el TGF α y el factor de crecimiento hepático (HGF), con lo que se estimula la regeneración y cicatrización hepática.^{25,26,29,30,32}

La activación e inhibición en la expresión génica es un proceso muy complejo durante las primeras fases de la regeneración hepática. Es importante conocer cómo inicia el proceso regenerativo y cómo la activación e inhibición de los factores de transcripción regulan y mantienen el proceso inicial de activación de genes tempranos, además de comprender su participación en cada fase del ciclo de regeneración. Se acepta que

los factores de crecimiento y las citocinas son los primeros elementos moleculares en iniciar y marcar al hepatocito para su proliferación.^{32,34-37} Los principales factores de crecimiento, identificados como iniciadores del proceso regenerativo, comprenden al TGF α , HGF, EGF e IL-6. Estos han demostrado, por separado o en combinación, llevar a un hepatocito del estado G0 (estado quiescente) al G1 (estado activo inicial) del ciclo celular. Los factores de crecimiento, liberados en el proceso inicial de regeneración hepática, activan a los factores de transcripción y genes tempranos para que la célula pase del estado quiescente a la fase G1 del ciclo celular. Además, dichos factores favorecen la progresión celular durante la fase G1 y si las condiciones son favorables, el pasar los "puntos críticos de control" para duplicar su material genético en la fase S de dicho ciclo. Una vez que la célula pasa por los "puntos críticos" de la fase G1, realiza el total del ciclo celular en un "efecto dominó", donde un sistema activa a otro hasta completar todas las fases del ciclo celular.^{32,34-37}

Los "puntos de control" son importantes, ya que si el estímulo que se requiere no se presenta, la división celular se "aborta" y ocasiona que el hepatocito retorne a la fase G0 o progrese a otra fase determinada en G1 denominada apoptosis o muerte celular programada.^{5,7,23,25}

La fase G1 del ciclo celular determina tres vías posibles para el hepatocito: 1) avanzar a la fase S para duplicar su ADN, 2) abortar el proceso proliferativo y regresar al estado G0, o 3) iniciar el proceso de apoptosis.

La muerte celular programada (apoptosis) es un fenómeno común que ocurre en todos los organismos superiores. Durante la regeneración hepática se origina como un mecanismo para sustituir a los hepatocitos dañados o para regular su proliferación; esto ocurre cuando las señales disminuyen al final del proceso regenerativo. Se ha observado que las alteraciones producidas por agentes tóxicos, virales o factores de crecimiento (TNF) aumentan el número de células apoptóticas, principalmente en la fase G1, como consecuencia del daño irreversible del funcionamiento celular.^{5,25,38}

En la actualidad la apoptosis inducida en las células proliferativas se mantienen en estudio. Ésta tiene

importantes implicaciones terapéuticas en los procesos cancerosos, donde los modelos de regeneración hepática (animales de experimentación) son los que se investigan con mayor frecuencia.

CONCLUSIONES

El estudio de los factores y mecanismos de regeneración hepática, particularmente de los hepatocitos, permite conocer los fenómenos tan complejo del ciclo celular. La sorprendente capacidad proliferativa de los hepatocitos no solo es un modelo de estudio para los procesos celulares sino también como tratamiento médico. Los factores implicados en el proceso de apoptosis, durante la fase G1 del ciclo celular, pueden ser una estrategia de tratamiento para los padecimientos cancerosos, cuya característica principal es el desequilibrio celular. Las intervención en los pacientes con cáncer determinará que dichas células se eliminen por un proceso natural de apoptosis y se sustituyan por células nuevas funcionales. Los mecanismos moleculares de proliferación y los factores de crecimiento se utilizan en los pacientes con alguna enfermedad hepática o con pérdida importante de su masa y función. El trasplante de hepatocitos es una solución terapéutica a futuro para que los pacientes con insuficiencia hepática aumenten su tiempo de supervivencia.

REFERENCIAS

1. Fausto N, Webber EM. Liver regeneration. In: Arias IM. Boyer JL. Fausto N. Jakoby WB, Schachter D. Shafritz D, editors. The liver. Biology and pathobiology. 3rd ed. New York: Raven Press, 1994;pp:1059-64.
2. Bucher NL, Farmer SR. Liver regeneration following partial hepatectomy: genes and metabolism. In: Strain A. Diehl AM, editors. Liver growth and repair. London: Chapman and Hall, 1998;pp:3-27.
3. Michalopoulos GK. DeFrances MC. Liver regeneration. Science 1997;276:60-66.
4. Francavilla A, Zeng Q, Polimeno L. Small-for-size liver-transplanted into larger recipient: a model of hepatic regeneration. Hepatology 1994;19:210-6.
5. Czaja MJ. Liver regeneration following hepatic injury. In: Strain AJ, Diehl AM, editors. Liver Growth and Repair. London: Chapman and Hall, 1998;pp:28-49.
6. Kam I, Lynch S, Svanas G. Todo S, et al. Evidence that host size determines liver size: studies in dogs receiving orthotopic liver transplants. Hepatology 1987;7:362-6.
7. Fausto N. Hepatic regeneration. In: Zakim D. Boyer TD, editors.

- Hepatology: A textbook of liver disease. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996;pp:32-58.
8. Rhim JA, Sandgren E, Degen JL, Palmiter RD, Brinster RL. Replacement of diseased mouse liver by hepatic cell transplantation. *Science* 1994;263:1149-52.
 9. Rhim JA, Sandgren EP, Palmiter RD, Brinster RL. Complete reconstitution of mouse liver with xenogeneic hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:4942-6.
 10. Overturf K, Al-Dhalimy M, Ou CN, Finegold M, Grompe M. Serial transplantation reveals the stem-cell-like regenerative potential of adult mouse hepatocytes. *Am J Pathol* 1997;151:1273-80.
 11. Fausto N. Hepatocytes break the rules of senescence in serial transplantation studies. Is there a limit to their replicative capacity? *Am J Pathol* 1997;151:1187-9.
 12. Fausto N. Liver stem cells. In: Arias L, Boyer J, Fausto N, Jakoby W, et al, editors. *The Liver: Biology and pathobiology*. 3rd ed. New York: Raven Press, 1994;pp:1501-18.
 13. Fausto N, Lemire JM, Shiojiri N. Oval cells in liver carcinogenesis: cell lineages in hepatic development and the identification of facultative stem cells in normal liver. In: Sirica AE, editor. *The Role of Cell Types in Hepatocarcinogenesis*. 1st ed. Boca Raton: CRC Press, 1992;pp:89-108.
 14. Thorgeirsson SS, Evarts RP. Growth and differentiation of stem cells in adult rat liver. In: Sirica AE, editor. *The Role of Cell Types in Hepatocarcinogenesis*. 1st ed. Boca Raton: CRC Press, 1992;pp:109-20.
 15. Gerber MA, Thung SN. Cell lineages in human liver development, regeneration, and transformation. In: Sirica AE, editor. *The Role of Cell Types in Hepatocarcinogenesis*. 1st ed. Boca Raton: CRC Press, 1992;pp:209-26.
 16. Roskams T, DeVos R, VanEyk P, Myazaki H, et al. Hepatic overexpression in human liver disease and rat experiments: evidence for hepatic progenitor cells in man. *J Hepatol* 1998;29:455-63.
 17. Crosby HA, Hubscher S, Fabris L, Joplin R. Immunolocalization of putative human liver progenitor cells in livers from patients with end-stage primary biliary cirrhosis and sclerosing cholangitis using the monoclonal antibody OV-6. *Am J Pathol* 1998;152:771-9.
 18. Lazaro CA, Rhim JA, Yamada Y, Fausto N. Generation of hepatocytes from oval cell precursors in culture. *Cancer Res* 1998;58:5514-22.
 19. Alcorn J, Feitelson S, Brenner D. Transient induction of c-jun during hepatic regeneration. *Hepatology* 1990;11:909-15.
 20. Morello D, Fitzgerald MJ, Babinet C, Fausto N. c-myc, c-fos, and c-jun regulation in the regenerating livers of normal and H2K/c-myc transgenic mice. *Mol Cell Biol* 1990;10:3185-93.
 21. Taub R. Expression and function of growth-induced genes during liver regeneration. In: Jirtle RL, editor. *Liver regeneration and carcinogenesis: molecular and cellular mechanisms*. San Diego: Academic Press, 1995;pp:71-97.
 22. Haber AH, Mohn KL, Diamond RH, Taub R. Induction patterns of 70 genes during nine days after hepatectomy define the temporal course of liver regeneration. *J Clin Invest* 1993;91:1319-26.
 23. Taub R. Liver regeneration 4: transcriptional control of liver regeneration. *FASEB J* 1996;10:413-27.
 24. Hsu JC, Bravo R, Taub R. Interactions among LRF-a, JunB, cJun, and c-Fos define a regulatory program in the G1 phase of liver regeneration. *Mol Cell Biol* 1992;12:4654-65.
 25. Diehl AM, Rai RM. Regulation of signal transduction during liver regeneration. *FASEB J* 1996;10:215-27.
 26. Westwick JK, Weitzel C, Minden A, Karin M, Brenner DA. Tumor necrosis factor alpha stimulates AP-1 activity through prolonged activation of the c-Jun kinase. *J Biol Chem* 1994;269:396-401.
 27. Hilberg F, Aguzzi A, Howells N, Wilgner E. c-jun is essential for normal mouse development and hepatogenesis. *Nature* 1993;365:179-181.
 28. Terli M, Dobrzanski P, Mohn KL, Cressman DE, Hsu JC, Bravo R. Rapid induction in regenerating liver of RUJF-I (a factor that inhibits NFkB) and PHF. *Mol Cell Bio* 1992;12:2898-908.
 29. Fitzgerald M, Webber E, Donovan J, Fausto N. Rapid DNA binding by nuclear factor in hepatocytes at the start of liver regeneration. *Cell Growth Differ* 1995;6:417-27.
 30. Cressman DE, Diamond RH, Taub R. Rapid activation of the Stat3 transcription complex in liver regeneration. *Hepatology* 1995;21:1443-9.
 31. Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NFkB and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol* 1998;16:225-60.
 32. Oarnell JE. Reflections on STAT3, STAT5, and STAT6 as far STATs. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:62-74.
 33. Tzung S, Fausto N, Hockenberry OR. Expression of Bcl-2 family during liver regeneration and identification of Bcl-x as a delayed early response gene. *Am J Pathol* 1997;150:1985-95.
 34. Schmidt C, Bladt F, Goedecke S, Brinkmann, Zschiesche W. Scatter factor hepatocyte growth factor is essential for liver development. *Nature* 1995;373:699-102.
 35. Miyazawa K, Shimomura T, Kitamura N. Activation or hepatocyte growth factor in the injured tissues is mediated by hepatocyte growth factor activator. *J Biol Chem* 1996;271:3615-18.
 36. Webber EM, Fitzgerald MJ, Brown PI, Bartlett MH. TGF α expression during liver regeneration after partial hepatectomy and toxic injury: A potential interactions between TGF α and HE. *Hepatology* 1993;18:1422-31.
 37. Russell WE, Kaufman WK, Sitaric S, Luetke NC, Lee DC. Liver regeneration and hepatocarcinogenesis in transforming growth factor-alpha-targeted mice. *Mol Carcinog* 1996;15:18-29.
 38. Sakamoto T, Liu Z, Murase N, Ezure T, Yokomuro S. Mitosis and apoptosis in the liver of interleukin-6-deficient mice after partial hepatectomy. *Hepatology* 1999;29:403-11.