



Foto: Archivo

# Linajes madurativos de las células que regeneran al hígado

E. Yazmín Villegas-Serrano<sup>a</sup>, Laura Aguilar-Vega<sup>b</sup>,  
E. Martha Pérez-Armendáriz<sup>c</sup>, Rimma Zurabian<sup>b</sup>

## Resumen

Diferentes linajes de las células hepáticas participan en la regeneración del hígado y los hepatocitos quiescentes pueden responder ante un daño hepático leve con división celular moderada, mientras que las células troncales y progenitoras responderán para una amplia restitución del parénquima hepático severamente dañado. Ocho linajes madurativos se sitúan dentro del hígado con diferente grado de madurez. Cuatro de ocho subpoblaciones que presentan marcadores para células troncales o progenitoras se ubican en nichos intrahepáticos como los canales de Hering y la vena porta, estructuras en las que pueden continuar su diferenciación si se recibe algún estímulo. Recientemente se describió un nuevo nicho entrahepático con una composición celular heterogénea ubicado entre los grandes ductos biliares y en

el páncreas. Las células que se encuentran en estos compartimentos expresan marcadores tempranos de células troncales y se consideran como precursores de las células troncales hepáticas.

**Palabras clave:** Hígado, vías biliares, células troncales, regeneración.

## Maturative lineages of cells that regenerate the liver

### Abstract

Different cellular lineages participate in liver regeneration. Quiescent hepatocytes may respond to a mild liver injury with moderate cell division. Meanwhile, stem and progenitor cells are responsible for the large restitution of a severely damaged organ. Eight maturational lineages are in the liver, each one with a different maturity grade. Four subpopulations out of eight express stem or progenitor cell markers are found within intrahepatic niches such as the canals of Hering and the portal vein. Each structure is able to continue its differentiation if a stimuli is received. Recently, a new extra-hepatic stem niche with a heterogeneous cellular composition was found between the large biliary ducts and the pancreas. Stem or progenitor cells contained in these compartments express early stem markers and are considered as a precursor of hepatic stem cells.

**Key words:** Liver, bile ducts, stem cells, regeneration..

<sup>a</sup>Alumna de Maestría. Posgrado de Ciencias Biológicas. UNAM. Ciudad de México.

<sup>b</sup>Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina. UNAM. Ciudad de México.

<sup>c</sup>Departamento de Biología Celular y Tisular. Facultad de Medicina. UNAM. Ciudad de México.

Correspondencia: Rimma Zurabian

Correo electrónico: rimma@unam.mx

Recibido: 16-ago-2016 / Aprobado: 26-ene-2017

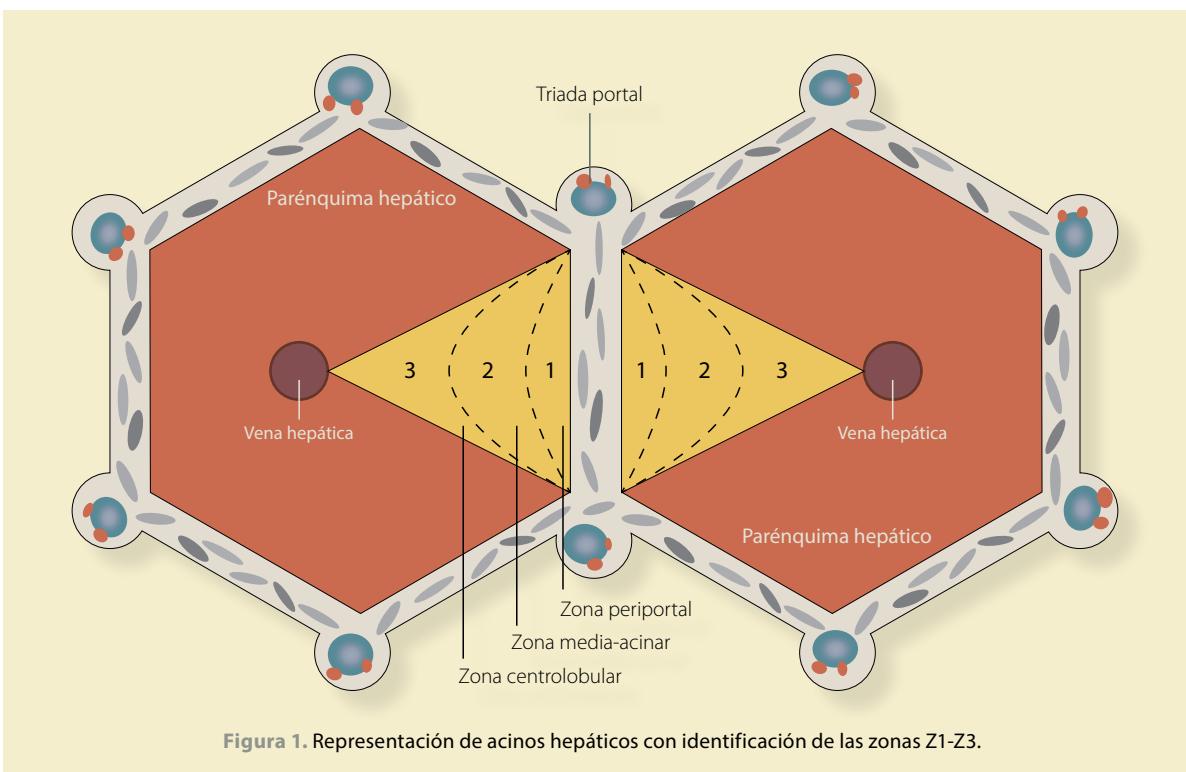


Figura 1. Representación de acinos hepáticos con identificación de las zonas Z1-Z3.

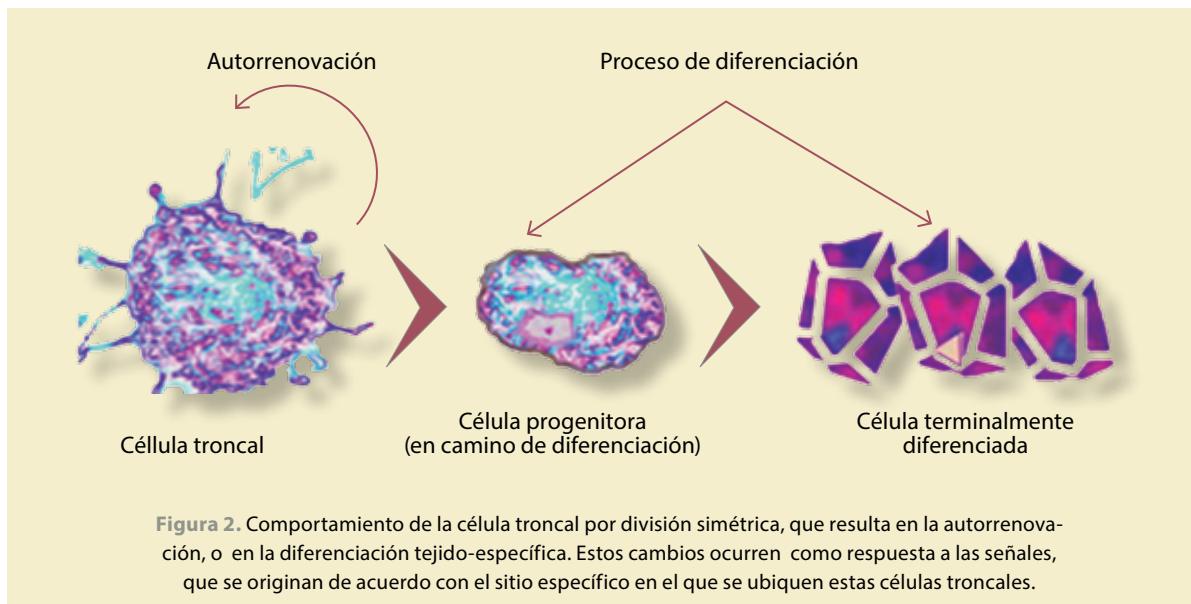
## INTRODUCCIÓN

La proliferación celular en el hígado de mamíferos se inicia por diferentes causas. Una de ellas resulta del recambio natural de células por envejecimiento, pero también a consecuencia del daño crónico por químicos o, simplemente, desencadenarse por un trauma mecánico. La respuesta de los hepatocitos maduros a la hepatectomía parcial de 2/3 de hígado en mamíferos ha sido el primer y mejor modelo para estudiar la regeneración de tejidos u órganos<sup>1-5</sup>. Existen otros modelos de daño hepático como el inducido por el tetracloruro de carbono ( $\text{CCl}_4$ ), el ligamiento de ductos biliares o el tratamiento con acetaminofén, que han permitido comprender mejor los mecanismos de organogénesis del hígado humano.

Las células del parénquima hepático son representadas en mayor parte por los hepatocitos terminalmente diferenciados y ocupan aproximadamente 60-70% de la masa total de hígado<sup>6</sup>. Se estima que tan sólo uno entre 20,000-40,000 hepatocitos se encuentra con actividad mitótica en el momento determinado, por lo que el hígado es considerado como un órgano quiescente<sup>3</sup>. Antes de envejecer y

de ser reemplazado por uno nuevo, cada hepatocito tiene de seis a siete ciclos proliferativos<sup>7,8</sup>. Sin embargo, un daño mecánico mínimo hace que se inicie una respuesta proliferativa importante y los hepatocitos maduros, a través de uno a dos ciclos celulares, pueden restablecer al parénquima dañado<sup>8</sup>. Este evento, desde el punto de vista regenerativo, es muy exitoso<sup>9,10</sup>.

Distintos linajes celulares se ubican en zonas intrahepáticas, pero también en localizaciones extrahepáticas, como las vías biliares que se extienden hasta el páncreas y el duodeno. Estas poblaciones troncales en estado no diferenciado o poco diferenciado, responden a diversos estímulos o señales y contribuyen a la regeneración, no sólo del hígado, sino también de las vías biliares y el páncreas<sup>6,11,12</sup>. Las células troncales se encuentran en una cantidad menor en comparación con los hepatocitos maduros que constituyen el parénquima, y que residen en nichos o compartimentos específicos, distribuidos en zonas hepáticas asignadas o en vías extrahepáticas<sup>11,13,14</sup>. Diversos factores hepatotróficos provenientes de células mesenquimales y en-



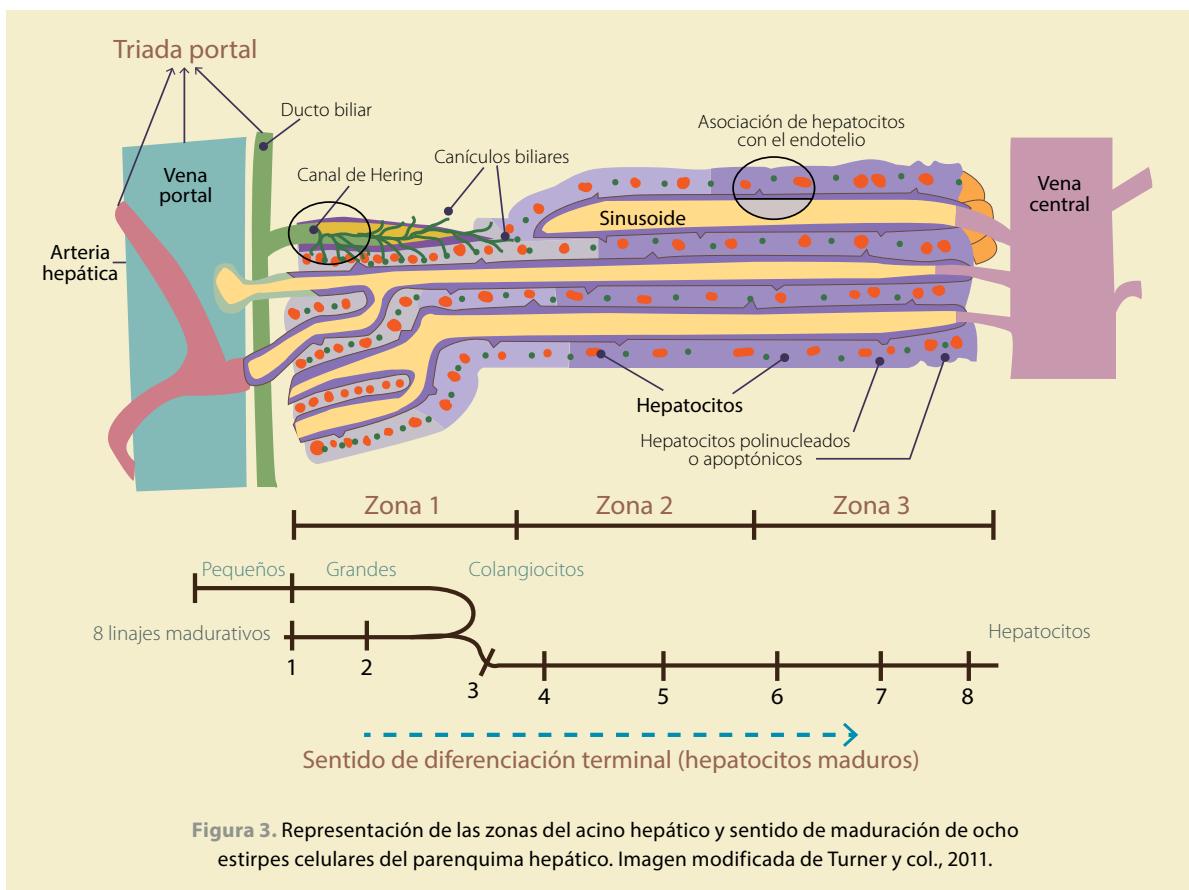
doteliales actúan sobre el proceso de maduración de los linajes<sup>15,16</sup>.

#### IDENTIFICACIÓN DE LAS ZONAS DEL HÍGADO Y NICHOS DE CÉLULAS TRONCALES/PROGENITORAS INTRAHEPÁTICOS

El hígado tiene una arquitectura compleja. Las unidades llamadas acinos o lobulillos hepáticos están divididos en tres zonas: Z1, Z2 y Z3; cada una tiene células con diferentes características (**figura 1**). La Z3 tiene hepatocitos llamados perivenosos debido a la cercanía con la vena central, ubicada en el centro de acino. La Z2 se conoce como medio-acinar y se conecta con la Z1, que tiene hepatocitos periportal de la región de la vena porta y del canal de Hering. La caracterización de la Z1 *in situ*, el cultivo primario y la selección de las células aisladas desde esta zona y alrededor de los canales de Hering por reconocimiento inmune han hecho patente su capacidad de autorenovación, tal y como lo hacen las células troncales (**figura 2**)<sup>17</sup>. Además de la división simétrica, los linajes de Z1 pueden diferenciarse en células hepáticas tanto *in vitro*, como *in vivo*<sup>18</sup>. Ocho linajes madurativos ubicados entre la Z1 y la Z3 se han descrito en el órgano interno más grande que posee el ser humano<sup>11</sup>. De tal forma que

alrededor de la triada portal hepática hay células con mayor tronalidad, la que va disminuyendo en dirección hacia la vena central<sup>16</sup> (**figura 3**). Los ocho linajes hallados en el hígado adulto comprenden subpoblaciones con marcadores específicos, que son característicos del desarrollo temprano o tardío (**tabla 1**), y se distinguen entre sí por: la ubicación anatómica, la relación con las células de origen mesenquimal, la morfología, el tamaño, la ploidía, su expresión génica, el potencial de crecimiento y la capacidad de respuesta a señales que perciben de su entorno<sup>11,19</sup>.

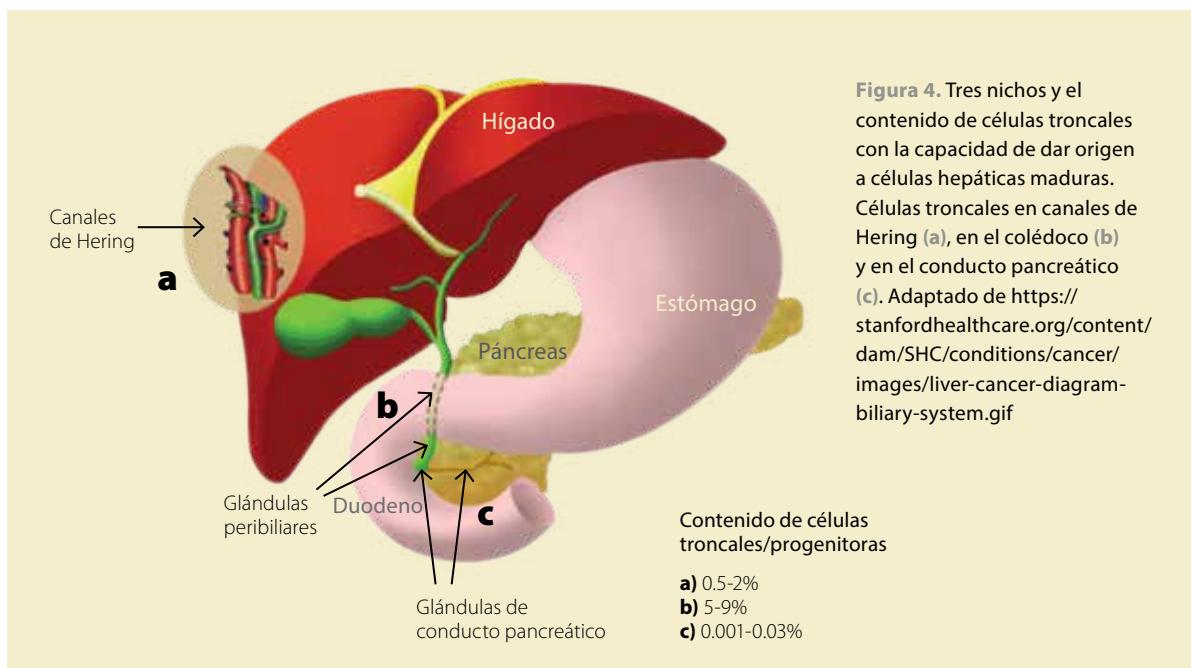
En el nicho intrahepático ubicado en la Z1 y alrededor de canal de Hering se conocen, al menos, cuatro subpoblaciones de células troncales: a) multipotenciales (HpSCs, de inglés *hepatic stem cells*), b) hepatoblastos (HBs, de inglés *hepatoblasts*), c) las células progenitoras o comprometidas (CPs, de inglés *committed progenitors*) y d) una mezcla de células adultas que actúan en condiciones especiales y se dividen en hepatocitos/colangiocitos pequeños<sup>11,14</sup>. Cada uno de estos linajes tiene la capacidad de diferenciación en hepatocitos o colangiocitos maduros y no comparten algún marcador de angioblastos y células mesenquimales, las cuales también pueden diferenciarse en células hepáticas en condiciones especiales<sup>11,13</sup>.



**Figura 3.** Representación de las zonas del acino hepático y sentido de maduración de ocho estirpes celulares del parenquima hepático. Imagen modificada de Turner y col., 2011.

**Tabla 1.** Marcadores específicos de células troncales/progenitoras localizadas en el hígado y en el árbol biliar del humano

Células troncales y progenitoras		Marcadores de pluripotencialidad, proliferación, autoreplicación y asociados a metabolismo	
		Expresan	No expresan
Hígado	HpSCs	EpcAM, NCAM, CD133, CXCR13, SOX9, SOX17, FOXA2, CK8/18/19, HNF1b, HNF4a, HNF6, Hedgehog (Sonic e Indian)	ICAM-1, AFP, P450, marcadores hematopoyéticos o mesenquimales
	HBs	EpcAM, ICAM, CD133, SOX17, CXCR4, MDR1, CK8/18/19, HNF1b, HNF4a, HNF6, P450-A7, AFP, Hedgehog (Sonic e Indian), ALB	NCAM, marcadores hematopoyéticos o mesenquimales
	CPs con orientación hacia hepatocitos	ALB, glucógeno-6 sintasa, HNF4a, Prox1	NCAM, Hedgehog
	CPs con orientación hacia colangiocitos	SOX9, HNF1b, HNF6, CK19	
Vías biliares extrahepáticas	BTSCs	Oct4A, SOX2, NANOG, EpCAM, NCAM, CD133, CD44, PDX1, CK8/18/19, SOX17	NGN3, ALB, insulina
Páncreas	PSCs	NANOG, Oct4A, Sox2, Ki67, SALL7, SOX9, SOX17, PDX1, LGR5, NGN3, MUC6, MAFA, insulina	



En general, los linajes hepáticos con menor grado de diferenciación se inician en la zona periportal y, conforme se acercan hacia la vena central, muestran una mayor especialización. Se estima que 0.5-2% de todas células parenquimatosas de hígado son HpSCs y HBs, se ubican dentro y en la cercanía de los canales de Hering, y después del nacimiento declinan a un 0.01% (**figura 4**)<sup>11,20,21</sup>. Actualmente, no se conoce dónde se originan los restantes linajes de células troncales/progenitoras del hígado.

### ÁRBOL BILIAR Y NICHOS DE CÉLULAS TRONCALES EXTRAHEPÁTICOS

El árbol biliar se forma de una red de conductos pequeños que se inician en el parénquima hepático, éstos desembocan en la vesícula biliar y páncreas y llegan al intestino delgado (**figura 4**). Existen tres compartimentos para células troncales y progenitoras exclusivos de las vías biliares. Los canales de Hering son el primer nicho, fueron descritos como tal desde hace varias décadas<sup>17</sup> y tienen células HpSCs y HBs<sup>6</sup>. El segundo compartimento, relevante desde el punto de vista de la regeneración hepática, lo son las glándulas peribiliares. Éstas se ubican adheridas tanto por fuera, como por dentro de los ductos biliares, que se extienden hasta la base de la

**Figura 4.** Tres nichos y el contenido de células troncales con la capacidad de dar origen a células hepáticas maduras. Células troncales en canales de Hering (a), en el colédoco (b) y en el conducto pancreático (c). Adaptado de <https://stanfordhealthcare.org/content/dam/SHC/conditions/cancer/images/liver-cancer-diagram-biliary-system.gif>

vesícula biliar<sup>22</sup>. No se ha reportado el contenido celular de las glándulas externas de los ductos, pero las células en las glándulas intramurales, cerca de la capa fibromuscular de los ductos biliares tanto intra y extrahepáticos son troncales (BTSCs, del inglés *billiary tree stem cells*) y heterogéneas, al expresar simultáneamente marcadores de hígado, páncreas y de endodermo temprano (**tabla 1**). Las células BTSCs pueden migrar hacia los canales de Hering para dar origen a células troncales que tienen la capacidad de originar hepatocitos maduros, colangiocitos, así como células pancreáticas, tanto *in vivo* como *in vitro*<sup>23</sup>. Se estima que en las glándulas de los conductos biliares extrahepáticos puede haber de 5 a 9% de células troncales aproximadamente (**figura 4**)<sup>25</sup>.

Por último, el tercer y más reciente nicho descrito es el de las células troncales/progenitoras en glándulas del ducto pancreático (PSCs, del inglés *pancreatic stem cells*)<sup>19,24</sup>. Esta población expresa marcadores de pluripotencialidad (**tabla 1**) y su presencia ha sido confirmada en el páncreas de feto y del adulto en la edad geriátrica. Los recientes hallazgos arrojan entre 0.001 y 0.03% de células troncales ubicadas en las glándulas de ductos pancreáticos (**figura 4**)<sup>24,26</sup>.

## CONCLUSIONES

Las células troncales y progenitoras contribuyen a la organogénesis de manera significativa durante todas las etapas del desarrollo humano. Los nichos especializados intra y extrahepáticos, tienen subpoblaciones de células capaces de dar origen a las contrapartes terminalmente diferenciadas y con funciones tejido específicas. La zona periportal del lóbulo hepático tiene sólo aquellas células troncales/progenitoras que participarían en la regeneración del hígado *in situ*. Mientras que a lo largo del árbol biliar existen nichos con poblaciones de células con el potencial múltiple de diferenciación, tanto hacia hepatocitos o hacia células que regenerarían el páncreas. ●

## AGRADECIMIENTOS

A la Lic. Maya Samvel Zurabian por la corrección de estilo de este manuscrito.

## REFERENCIAS

1. Higgins GM, Anderson RM. Experimental pathology of the liver. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *AMA Arch Pathol.* 1931;12:186-202.
2. Buchner NLR. Regeneration of mammalian liver. *Int Rev Cytol.* 1963;15:245-300.
3. Bucher NLR, Malt RA. Regeneration of the liver and kidney. In Little, Brown and Co., Boston, 1971.
4. Grisham JW. A morphologic study of deoxyribonucleic acid synthesis and cell proliferation in regenerating rat liver; autoradiography with thymidine-H3. *Cancer Res.* 1962;22:842-49.
5. Alison MR. Regulation of hepatic growth. *Physiol Rev.* 1986;66:499-41.
6. Zorn AM. Liver development, in Stembook.org. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute; 2008. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27068/>
7. Kubota H, Reid LM. Clonogenic hepatoblasts, common precursors from hepatocytic and biliary lineages, are lacking classical major histocompatibility complex class I antigen. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97:12132-7.
8. Sell S. Heterogeneity and plasticity of hepatocyte lineage cells. *Hepatol.* 2001;33(3):738-50.
9. Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver Regeneration. *Hepatol.* 2006;43:S45-S53.
10. Michalopoulos GK. Liver regeneration. *J Cell Physiol.* 2007;213:286-300.
11. Turner R, Lozoya O, Wang Y, Cardinale V, Gaudio E, Alpini G, et al. Human hepatic stem cell and maturational liver lineage biology. *Hepatol.* 2011;53(3):1035-45.
12. Diehl AM. Neighborhood watch orchestrates liver regeneration. *Nature Medicine.* 2012;18(4):497-99.
13. Wang M, Zhang X, Xiong XI, Yang Z, Li P, Wang J, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells reverse liver damage in a carbon tetrachloride-induced mouse model of chronic liver injury. *In Vivo.* 2016;30(3):187-93.
14. Font-Burgada J, Shalapour S, Ramaswamy S, Hsueh B, Rossell D, Umemura A, et al. Hybrid periportal hepatocytes regenerate the injured liver without giving rise to cancer. *Cell.* 2015;162(4):766-79.
15. Tanaka M, Itoh T, Tanimizu N, Miyajima A. Liver stem/progenitor cells: their characteristics and regulatory mechanisms. *J Biocem.* 2011;149(3):231-9.
16. Winkler S, Hempel M, Brückner S, Tautenhahn HM, Kaufmann R, Christ B. Identification of pathways in liver repair potentially targeted by secretory proteins from human mesenchymal stem cells. *Int J Mol Sci.* 2016;17(7). pii: E1099. doi: 10.3390/ijms17071099.
17. Alison MR, Golding MH, Sarraf CE. Pluripotential liver stem cells: facultative stem cells located in the biliary tree. *Cell Prolif.* 1996;29:373-402.
18. Reid LM. Stem/progenitor cells and reprogramming (plasticity) mechanisms in liver, biliary tree, and pancreas. *Hepatol.* 2016;64(1):4-7.
19. Sigal SH, Brill S, Fiorino AS, Reid LM. 1992. The liver as a stem cell and lineage system. *Am J Physiol* 1992;263: G139-G148.
20. Schmelzer E, Zhang L, Bruce A, Wauthier E, Ludlow J, Yao HL, et al. Human hepatic stem cells from fetal and postnatal donors. *J Exper Med.* 2007;204:1973-87.
21. Zhang L, Theise N, Chua M, Reid LM. 2008. Human hepatic stem cells and hepatoblasts: symmetry between liver development and liver regeneration. *Hepatol.* 2008; 48:1598-607.
22. Lanzoni G, Cardinale V, Carpino G. The hepatic, biliary, and pancreatic network of stem/progenitor cell niches in humans: A new reference frame for disease and regeneration. *Hepatol.* 2016;64(1):277-86.
23. Carpino G, Cardinale V, Onori P, Franchitto A, Berloco PB, Rossi M, WE, et al. Biliary tree stem/progenitor cells in glands of extrahepatic and intrahepatic bile ducts: an anatomical *in situ* study yielding evidence of maturational lineages. *J Anat.* 2012;220(2):186-99.
24. Wang Y, Lanzoni G, Carpino G, Cui C-B, Dominguez-Bendala J, Wauthier E, Cardinale V, Oikawa T, Pileggi A, Gerber D, Furth ME, Alvaro D, Gaudio E, Inverardi L, Reid LM. Biliary tree stem cells, precursors to pancreatic committed progenitors: evidence of possible life-long pancreatic organogenesis. *Stem Cells.* 2013;31(9):1966-79.
25. Cardinale V, Wang Y, Carpino G, Alvaro D, Reid LM, Gaudio E. Multipotent stem cells in the biliary tree. *It J Anat Embriol.* 2010;115:85-90.
26. Zhou Q, Law AC, Rajagopal J, Anderson WJ, Gray PA, Melton DA. A multipotent progenitor domain guides pancreatic organogenesis. *Dev Cell.* 2007;13:103-14.