

La hepatología  
molecular:  
un enfoque  
multidisciplinar

# Mecanismos moleculares de la regulación transcripcional de colágena $\alpha 1(I)$ por las células estelares hepáticas

ZAMIRA HELENA HERNÁNDEZ NAZARÁ  
ERIKA MARTÍNEZ LÓPEZ  
JOSÉ ALFREDO DOMÍNGUEZ ROSALES

## CÉLULAS ESTELARES HEPÁTICAS (CEH)

Las células estelares hepáticas (CEH) fueron originalmente descritas en 1876 por Carl Kupffer, al teñir cortes de hígados con la tinción de cloruro de oro. Inicialmente las describió como células con funciones vasculares ya que las encontró rodeando los capilares de los sinusoides hepáticos, posteriormente, en forma incorrecta les asignó funciones de fagocitos (1). Las CEH permanecieron en el olvido por varios años hasta que fueron re-descubiertas por Zimmerman (1928), Ito (1951) y Suzuki (1958). Zimmerman las reportó como células peri-sinusoidales dendríticas e infirió que estas células eran pericitos hepáticos. Por su parte, Ito las describió en hígados de humano como células peri-sinusoidales que contienen lípidos y Suzuki las encontró en

el espacio de Disse adheridas a fibras nerviosas autónomas y dedujo que participaban en la transmisión de impulsos de las fibras nerviosas a los hepatocitos. Finalmente Kent y Popper (1975), demostraron que estas células estaban íntimamente ligadas a la patogénesis de la fibrosis hepática (1). A través del tiempo, a las CEH se les ha asignado una innumerable cantidad de nombres entre los que se encuentran: células de Ito, células almacenadoras de grasa, pericitos específicos de hígado, células almacenadoras de vitamina A, lipocitos y células peri-sinusoidales; pero desde 1995 se acordó llamarlas células estelares hepáticas (2). Las CEH juegan un papel muy importante como reguladoras de la homeostasis hepática y en la respuesta al daño hepático.

## RESUMEN

Las células estelares hepáticas (CEH), se localizan en el interior del espacio de Disse del sinusoido hepático. En estado de reposo, producen las proteínas de tejido conectivo que forman el estroma hepático y es el principal depósito de vitamina A. Sin embargo, ante un estímulo nocivo, sufre un proceso de cambio fenotípico conocido como activación. Las células activadas se caracterizan por el incremento de la expresión de la colágena tipo I, lo que en estado crónico lleva a la fibrosis o cirrosis del hígado. Actualmente, se sabe que la activación de estas células depende de un grupo de citocinas (PDGF-BB, TGF- $\beta$ 1, TNF- $\alpha$ ) producidas por las células de Kupffer o incluso por las mismas CEH, que a su vez, activan a un grupo de factores transcripcionales que se unen al promotor de las colágenas alfa 1(I) y 2(I) y regulan la expresión del gen.

**Palabras clave:** Células estelares hepáticas, colágena tipo I, cirrosis hepática, TGF- $\beta$ 1, TNF- $\alpha$ , C-EBP $\beta$ .

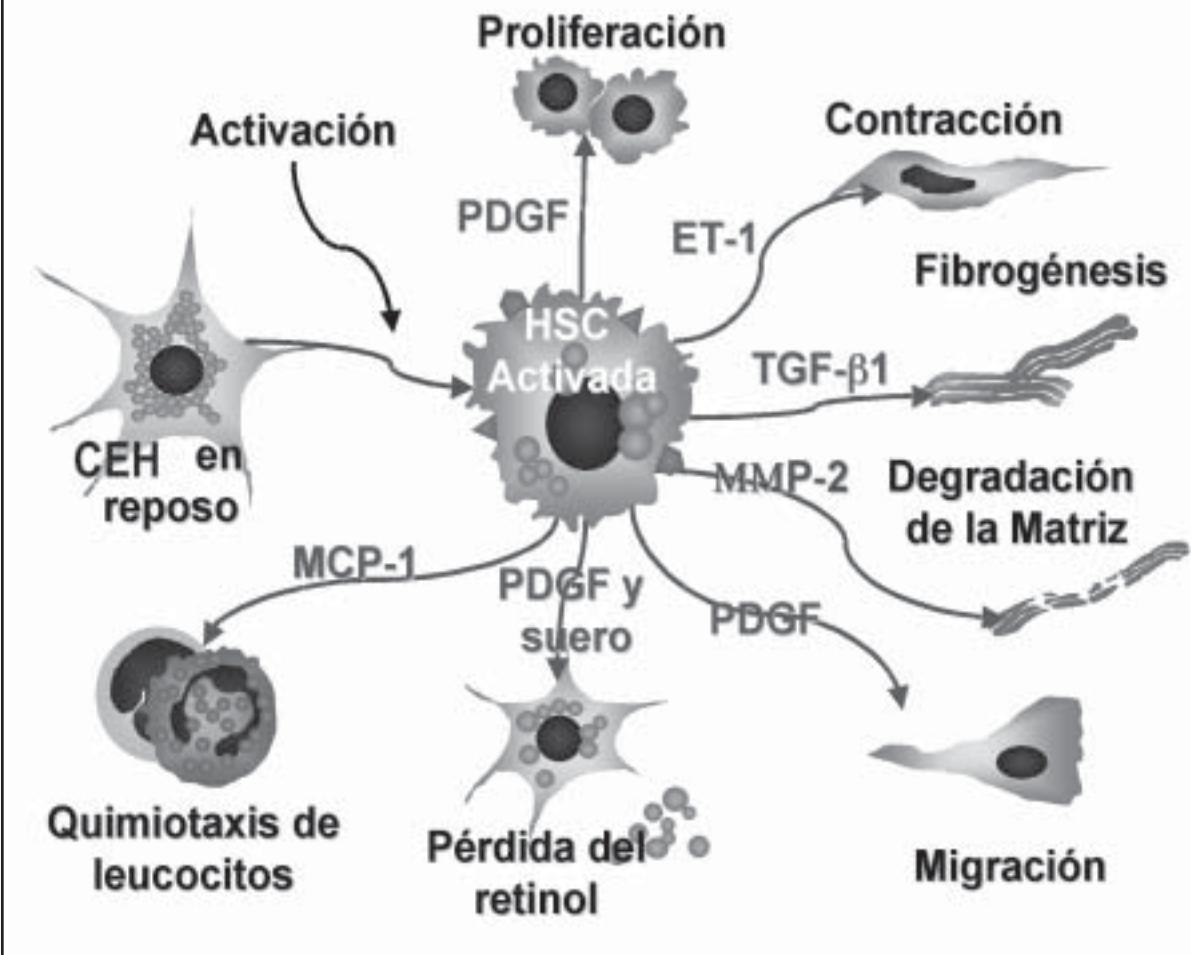
## ABSTRACT

Hepatic stellate cells (HSC) are localized in Disse space of the hepatic sinusoid. Normally, The quiescent HSC produce the connective tissue proteins of the hepatic stroma and it is the principal storage of vitamin A. However, after a noxious stimulus the HSC is able to modify its phenotype and it is known as HSC activation. This activation is characterized by the increased expression of collagen type I that eventually lead to fibrosis or cirrhosis. The cell activation, directly depend of the next cytokines: PDGF-BB, TGF- $\beta$ 1 and TNF- $\alpha$ . The cytokines are produced by Kupffer cells and HSC. They act through the activation of several transcription factor proteins localized inside of HSC, that bind at the promoter level and regulate the gene expression of  $\alpha$ -collagen 1(I) and  $\alpha$ -collagen 2(I).

**Key words:** hepatic stellate cells, collagen  $\alpha 1(I)$ , hepatic cirrhosis, TGF- $\beta$ 1, TNF- $\alpha$ , C-EBP $\beta$ .

FIGURA 1

PRINCIPALES CITOCINAS SECRETADAS POR LAS CÉLULAS ESTELARES HEPÁTICAS ACTIVADAS Y SUS FUNCIONES RESPECTIVAS.



#### MORFOLOGÍA

Las CEH representan entre el 5-8% de las células del hígado normal, se estima que hay aproximadamente 13 CEH por cada 100 hepatocitos en el humano. Estas células se ubican en el espacio peri-sinusoidal (Espacio de Disse), en cercanía directa con las células endoteliales. En la mayoría de las ocasiones, su cuerpo celular se encuentra comprimido dentro del espacio que se forma entre los hepatocitos y las células endoteliales. Normalmente existe una distancia promedio de separación entre dos células estelares de aproximadamente 40  $\mu$ m, considerando la distancia que hay entre dos núcleos de dos células adyacentes (1). El núcleo es oval o extendido; el cuerpo celular tiene forma de huso, con un retículo endoplásmico desarrollado y un aparato de Golgi pequeño. Las CEH tienen extensiones citoplasmáticas en forma de dendritas, las cuales existen de dos tipos: las inter-sinusoidales o también denominadas inter-parenquimatosas que penetran las placas de hepatocitos e incluso pueden alcanzar los sinusoides vecinos y otras prolongaciones cortas denominadas sub-endoteliales o peri-sinusoidales que rodean los sinusoides, estas extensiones citoplasmáticas cuentan con una red de filamentos y abundantes microtúbulos (3). Por lo general, estas prolongaciones pueden hacer con-

tacto con hepatocitos, otras CEH, células endoteliales y terminaciones nerviosas. Sin embargo, la estructura más llamativa en las CEH en reposo son las vesículas que contienen retinoides (principalmente retinil palmitato), triglicéridos, colesterol y ácidos grasos. El tamaño, forma y número de vesículas varía de acuerdo a circunstancias fisiológicas, de especie y de ingesta de vitamina A en la dieta (4). Las vesículas que almacenan vitamina A, permiten una fácil localización de las CEH en el hígado, ya que tienen la propiedad de autofluorescencia cuando se incide un haz de luz UV a 328nm de longitud de onda (1).

El origen embrionario de las CEH proviene de las células mesenquimatosas, las cuales se localizan en el septum transversum, que consta de una capa de células que separa el pericardio y la cavidad peritoneal en el embrión. No obstante, las CEH también expresan proteínas que son exclusivas de tejido neuronal, que sugiere una dualidad en el origen embrionario, aunque no se conoce el origen ectodérmico exacto de las CEH, pero se requiere de más estudios para resolver este problema (1). Hasta la fecha, se han caracterizado varias proteínas de ambos orígenes embrionarios que han sido útiles como marcadores específicos de las CEH tanto *in vivo* como *in vitro*; entre las proteínas

TABLA I

Productos sintetizados y secretados por las CEH activadas. Abreviaturas: PAI-1 (inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1), PG y GAG (Proteoglucanos y Glucosa aminoglucanos),

PROTEÍNAS DE LA ECM	TIMP-1 y TIMP-2	CITOQUÍTICAS	IL-10	OTRAS SUSTANCIAS
Colágenas I, III, VI y XVIII	uPA	Activina	MCP-1	PAF
Entactina	PAI-1	CTGF	MCSF	PGF2 $\alpha$ , 2d
Fibronectina	C4 del complejo	CTSCF	MIP-2	NO $\epsilon$
Laminina	Inhibidor C1-esterasa	CINC	NGF	Endotelina-1
Tenascina	PG Y GAG	EGF	PDGF	Leptina
Undulina	Biglucano	FGF	TGF- $\alpha$	Apo-E
ENZIMAS DE LA ECM	Decorina	HGF	TGF- $\beta$ 1, $\beta$ 2, $\beta$ 3	$\alpha$ 2- Macroglobulina
MMP-1 en humano	Condroitin, heparan y dermatan sulfato	IGF-I y IGFII	LTGF- $\beta$ -binding protein	Proteasa activadora del Complemento P100
MMP-13 en rata	Ácido hialurónico	IGFBP-2, -3, -4, -5, -6b		Epimorfina
MMP-2	Sindecan	IL-1		BMP-6
Estromiolisina-1 y 2	Distroglicano	IL-6		Osteopontina

CTGF (factor de crecimiento de tejido conectivo), CTSCF (factor de células troncales de tejido conectivo), CINC (quimioatrayente de neutrófilos inducido por citocinas), EGF (factor de crecimiento epidérmico), FGF (factor de crecimiento de fibroblastos), HGF (factor de crecimiento de hepatocitos), IGFBP-2, -3, -4, -5, -6b (Proteína que une IGF-2, -3, -4, -5, -6b), IL-1, IL-6, IL-10 (interleucina-1, -6, -10), MCP-1 (proteína quimiotáctica de monocitos-1), MCSF (factor estimulante de colonias de macrófagos), MIP-2 (proteína inflamatoria de macrófagos-2), NGF (factor de crecimiento

nervioso), LTGF- $\beta$  (proteína que une al TGF- $\beta$  latente), PAF (factor activador de plaquetas), PGF 2 $\alpha$ , 2d (prostaglandina F 2 $\alpha$  y 2d), NO $\epsilon$  (óxido nítrico sintasa), Apo-E (apolipoproteína E), BMP-6 (proteína morfogénica de hueso-6).

más importantes se encuentran desmina (5), actina alfa de músculo liso (6), nestina (7), vicentina (8), proteína ácida fibrilar de la glia (GFAP) (9), factor de crecimiento neuronal (NGF) (10), neurabina (hallazgo aún no publicado), sinaptofisina (11) y la proteína RhoN (12). Estos marcadores revelan la heterogeneidad de las CEH, mostrando diferencias en el contenido de desmina, GFAP y de vesículas de vitamina A entre las células estelares dependiendo de su ubicación dentro del lóbulo hepático (13).

#### FUNCIONES

Las CEH en el hígado normal muestran abundantes vesículas de vitamina A, tienen una baja tasa de replicación y en general tienen una baja capacidad de actividad sintética. Aún así, logran realizar sus tareas dentro del micro-ambiente hepático. A la fecha se le atribuyen las siguientes funciones:

A) Metabolismo del retinol.

B) Regulación del flujo sanguíneo sinusoidal.

C) Síntesis de componentes de la matriz extracelular.

D) Comunicación intercelular a través de la síntesis de citocinas y factores de crecimiento.

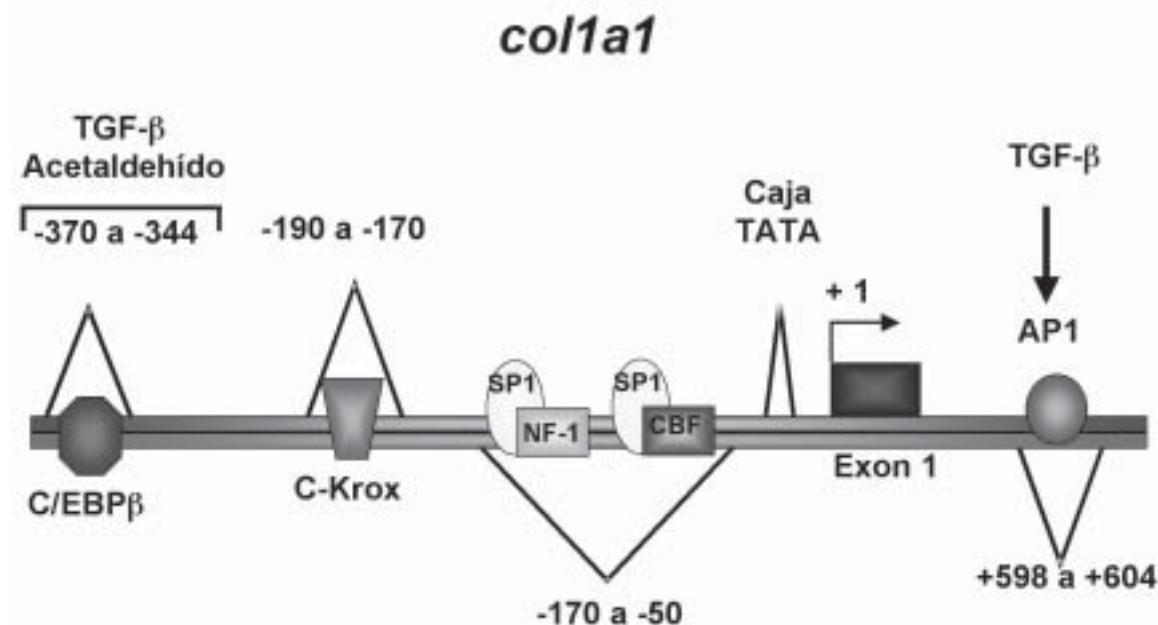
E) Síntesis de eritropoyetina.

F) Síntesis de componentes del sistema activador del plasminógeno.

#### ACTIVACIÓN DE LAS CEH

Al proceso mediante el cual las CEH en reposo sufren un cambio fenotípico se le conoce como activación o transformación. Las células activadas se caracterizan por la pérdida de las vesículas de lípidos y vitamina A, aumento de la expresión de proteínas de origen miogénico y neurogénico, cambio morfológico hacia células parecidas a miofibroblastos, acompañado de un incremento de las propiedades proliferativas, quimiotácticas, contráctiles y de síntesis celular (14). Las causas de la activación de las CEH se deben al daño hepático provocado por enfermedades metabólicas, infecciones virales, ingesta crónica de etanol y de otros químicos. La consecuencia final de la activación es común en todas las etiologías y se caracteriza por cambios cualitativos y cuantitativos en la composición y distribución de la matriz extracelular hepática, la cual conduce a la fibrosis y en casos crónicos a la cirrosis hepática (14).

FIGURA 2



Representación esquemática de la región promotora y del primer exón del gen de *col1a1* y de algunos elementos en posición cis, con sus respectivos factores transcripcionales (no se muestran las regiones del primer y quinto intrón). Abreviaturas: C/EBPβ:CCAAT/Enhancer binding protein beta. SP-1: Specificity protein 1, NF-1: Nuclear factor-1, CBF: CCAAT binding factor, TGF-β1: Transforming growth factor beta 1. AP-1: Activator protein-1.

Los cambios funcionales de las CEH activadas, se pueden ligar directamente a las acciones de diferentes citocinas que son expresadas y secretadas por otras células e incluso en varios casos por las mismas CEH activadas (figura 1). A continuación se describen algunas de las principales citocinas y su efecto sobre las CEH.

#### PDGF-BB (FACTOR DE CRECIMIENTO DERIVADO DE PLAQUETAS-BB)

PDGF-BB es el mitógeno más potente conocido para las CEH, aunque también tiene otros efectos sobre las células como la migración, quimiotaxis y la pérdida del retinol. Esta proteína es liberada por las células de Kupffer, las plaquetas y por las propias CEH mediante un mecanismo de retroalimentación positivo (15), lo que establece un mecanismo autónomo de estimulación. Las células activadas incrementan la expresión y la síntesis del receptor de PDGF-BB, por lo que se asegura la eficiencia de los efectos del ligando sobre las células. Una vez formado el complejo ligando-receptor se recluta Ras, seguido de la activación de la vía ERK/MAP cinasa, aunque también está involucrada la PI3 cinasa (Fosfo inositol 3 cinasa) y STAT-1 (16).

#### TGF-β1 (FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE-β1)

Es la principal citocina fibrogénica producida y secretada por las células de Kupffer, CEH activadas, células endoteliales, plaquetas y linfocitos (15). En las CEH activadas, el TGF-β1 incrementa la síntesis de la colágena tipo I, III y otras pro-

teínas de la matriz extracelular. También incrementa la síntesis de los inhibidores de las metaloproteínasas (TIMP) e inhibe la producción de metaloproteínasas (MMP), originando la acumulación de colágena en los sitios de lesión hepática (17). El TGF-β1 no sólo participa en la activación de las CEH, sino que también incrementa la expresión del receptor de PDGF-BB, por lo que indirectamente está involucrado en la proliferación de las CEH. Por último, esta citocina prolonga la supervivencia de las CEH al reducir la apoptosis (18).

#### TNF-α (FACTOR DE NECROSIS TUMORAL-α)

Esta citocina es secretada principalmente por las células de Kupffer y en menor proporción por las células del epitelio biliar (15). Es la citocina antagonista por excelencia de alguno de los efectos provocados por TGF-β1. Promueve la activación de las CEH y ejerce diferentes acciones en la actividad secretora de las mismas; por ejemplo, incrementa la síntesis de algunas proteínas de la matriz extracelular, particularmente fibronectina y tenascina, pero a su vez disminuye la expresión de la colágena α1(I) tanto *in vitro* como *in vivo* (18). Por otra parte, en las CEH se incrementa la síntesis de MMP y TIMP (19), además se considera que es el causante del rompimiento inicial de la matriz extracelular ante un daño hepático, ya que incrementa la expresión y secreción de MMP-2 en estas células (figura 1). La tabla I resume las principales proteínas, factores de crecimiento y citocinas expresadas por las CEH activadas.

## REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL DEL GEN DE LA COLÁGENA $\alpha 1(I)$ (*COL1A1*)

Como se mencionó previamente, las CEH activadas incrementan la producción de diferentes proteínas de la matriz extracelular, entre ellas la de colágena I, la cual es la principal proteína fibrilar dentro del tejido cicatrizal en la fibrosis hepática (20). Por lo tanto, el descubrimiento de los mecanismos que regulan los genes de la colágena tipo I en las CEH podrían ser la base para entender la fisiopatología de la cirrosis hepática, así como para el tratamiento de la misma.

La colágena tipo I pertenece a una familia de proteínas estructurales de la matriz extracelular. En la actualidad se conocen 19 tipos diferentes de colágenas, pero sólo las colágenas tipo I, II y III conforman entre el 80-90% de la colágena en el organismo (21). La colágena tipo I fue la primera caracterizada, la cual consiste de una unidad estructural protéica fundamental de 300 nm de largo y 1.5 nm de diámetro. Dicha unidad está conformada por 3 sub-unidades enrolladas: dos cadenas  $\alpha 1(I)$  y una  $\alpha 2(I)$ ; en donde ambas cadenas son codificadas por dos genes diferentes. Cada cadena tiene 1050 aminoácidos por vuelta y se enrollan en una conformación de triple hélice con giros hacia la derecha. Esta triple hélice se da, gracias a una abundancia inusual de tres aminoácidos: glicina, prolina e hidroxiprolina. Las cadenas alfa son sintetizadas como pro-cadenas  $\alpha$  precursoras con extensiones amino y carboxilo terminal conocidos como pro-péptido N y pro-péptido C, respectivamente. Posteriormente, sufren una serie de modificaciones post-traduccionales y las tres cadenas alfa se asocian a partir de su pro-péptido C y se pliegan hasta formar la triple hélice. La colágena madura se genera extracelularmente por hidrólisis proteolítica de los propéptidos N y C (22).

El gen de la colágena  $\alpha 1(I)$  (*col1a1*) del humano tiene un tamaño de 18 kb, se localiza en el cromosoma 17 locus q21.3 al q22 y se encuentra organizado en 51 exones, de ellos los primeros 6 codifican para el dominio del pro-péptido N, los exones 7 al 47 para el dominio central que conforma la triple hélice y los exones 48 al 51 codifican para el dominio del pro-péptido C (23,24). Aunque la colágena tipo I está presente en la matriz extracelular de muchos órganos, normalmente, pocas células tienen la capacidad de sintetizarla; entre ellas se incluye fibroblastos, osteoblastos y odontoblastos, que la sintetizan en grandes cantidades. En situaciones patológicas las células de músculo liso de los vasos sanguíneos, las CEH del hígado y del páncreas producen colágena de tipo I. En todas estas células, los genes de *col1a1* y *col2a1* son regulados en forma coordinada, ya que sus productos deben ser sintetizados en una relación de 2:1, para posteriormente formar la colágena tipo I. La expresión del gen de *col1a1* es controlada dependiendo del tejido, de la etapa de desarrollo embrionario y de la inducción por ciertas citocinas (25), además se ha demostrado que su regulación es un proceso complejo. Los mecanismos de regulación se dan en dos niveles: transcripcional y post-transcripcional, este último a su vez se divide en traduccional y post-traduccional (21). Para propósitos de esta revisión sólo se describirá el primer mecanismo.

En la regulación transcripcional del gen *col1a1*, participan dos tipos de elementos: una secuencia específica de

DNA conocida como elemento regulatorio que actúa en *cis* y factores transcripcionales que actúan en *trans*. Ambos provocan un efecto positivo o negativo en la expresión del gen. Los principales elementos en posición-*cis* que participan en la regulación basal e inducida del *col1a1*, se localizan en la región promotora del extremo 5', primer exón, primer y quinto intrón de los genes descritos tanto en humano como en ratón (26,27) (figura 2). Entre los principales factores transcripcionales se encuentran NF-1, Sp1, NFkB, CBF, AP-1, c-Krox y c/EBP (24,27).

### CBF

Este factor transcripcional reconoce la secuencia CCAAT y participa en la regulación de *col1a1*. Se ha visto que CBF y los factores transcripcionales SP1 o SP3 forman heterodímeros que reconocen la región que abarca las bases -174 a -50 del promotor de *col1a1*. En experimentos realizados en fibroblastos normales y de fibroblastos aislados de pacientes con esclerosis sistémica (28), se demostró que SP1, SP3 y CBF se encuentran activados y en mayores concentraciones en los fibroblastos de estos últimos, indicando su posible papel en el exceso de producción de la colágena, típicos de esta enfermedad.

### Sp1

Este es un factor transcripcional ubicuo del tipo dedos de zinc que reconoce a la secuencia GGGCGG (caja GC) que es un patrón de DNA ampliamente distribuido en los promotores de varios genes virales y celulares. En la posición -138 a -77 del promotor de *col1a1* se localiza una caja GC



Simão César Dórdio Gomes

junto con la secuencia patrón que une al factor transcripcional NF-1, ambas regiones están sobreuestas y actúan como un elemento interruptor. En las CEH en reposo, la actividad de unión de SP1 es baja, pero se incrementa una vez que las células son activadas, lo cual se correlaciona con el incremento de la expresión de *col1a1* observada en las células activadas. Por otro lado, el nivel de actividad de NF-1 es bajo en las células activadas (29), lo cual puede favorecer la transactivación del gen mediada por SP1. La secuencia +68 a +86 localizada en el primer exon de *col1a1*, contiene otra caja GC que se ha visto que participa en la inhibición de la expresión del gen mediada por TNF- $\alpha$ . El mecanismo es mediado a través de la disminución del peggado de SP1 a la caja GC en CEH tratadas con la citosina (30).

### AP-1

Las proteínas AP-1 son una familia de factores transcripcionales que incluyen los miembros JunD, c-Jun y c-fos, los cuales modulan la expresión de genes cuando forman homo o heterodímeros. El primer intrón del gen *col1a1* contiene un sitio AP-1 (TGATTCA) dentro de la secuencia +292 a +670 que participa en la regulación del gen (31). La secuencia (+598 a +604), es otro sitio que reconoce AP-1 y está involucrada en la inducción del gen *col1a1* cuando las CEH activadas son estimuladas con TGF- $\beta$ 1 (32).

### NF- $\kappa$ B

Este factor de transcripción cuyo gen es activado por TNF- $\alpha$ , inhibe la actividad del promotor de *col1a1* en CEH y fibroblastos NIH3T3, a través de la sobre-expresión de las subunidades p50 o p65 y c-Rel de NFkB, al parecer p65 es un inhibidor más potente que p50. La represión de *col1a1* dependiente de p65, está mediado a través de sitios de unión a SP1 localizados dentro de la región de -220 del promotor de *col1a1* (33).

### C/EBP

Los C/EBP (CCAAT/enhancer binding protein; por sus siglas en inglés), pertenecen a una familia de factores transcripcionales que regulan la expresión de varios genes que participan en inmunidad, crecimiento y regeneración hepática, diferenciación de adipocitos y respuesta de fase aguda, sólo por mencionar algunas funciones. Estas proteínas reconocen la secuencia canónica de CCAAT' o también la secuencia GATTGCGCAATC, con ligeras variaciones de este patrón dependiendo de la secuencia de cada gen (34). Actualmente, se conocen 6 miembros: C/EBP $\alpha$ , C/EBP $\beta$ , C/EBP $\delta$ , C/EBP $\epsilon$ , C/EBP $\gamma$  y CHOP. Todos ellos contienen tres regiones: el extremo carboxilo común entre cada miembro, contiene la región cremallera-leucina de dimerización; la región básica que se une al DNA, el extremo amino que contiene la región de transactivación, el cual es diferente en cada uno de los C/EBP's. C/EBP $\alpha$  y C/EBP $\beta$  tienen isómeros que son traducidos a partir de un sólo RNAm, en el caso de C/EBP $\beta$  se han descrito 4 isómeros: C/EBP $\beta$  de tamaño entero (38 kDa), LAP (liver-enriched transcriptional activating protein, por sus siglas en inglés; 35 kDa), LIP (liver-enriched transcriptional inhibitory protein, por sus siglas en inglés; 20 kDa) y un C/EBP $\beta$  de

16kDa (35). En el caso del LIP y del C/EBP $\beta$  de 16 kDa carecen de la región de transactivación de C/EBP $\beta$ , por lo que conservan sus características de dimerización y de unión al DNA pero no activan al gen, por lo que su actividad real es la de inhibir el efecto del C/EBP $\beta$ .

LAP se une al promotor de *col1a1* murino y cuando este factor se sobre-expresa, estimula la expresión del gen en la línea celular de hepatocitos HepG2 (36). También se ha encontrado que C/EBP $\beta$  participa en la inducción de *col1a1* por acetaldehído (37) y TGF $\beta$ 1 (38) en las CEH.

### REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Geerts A. History, heterogeneity, developmental biology, and functions of quiescent hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis*, 2001;21:311-335.
2. No authors. Hepatic Stellate cells [letter]. *Hepatology*, 1996;23:12.
3. Geerts A, Bouwens L, Wisse E. Ultrastructure and function of hepatic fat-storing and pit cells. *J Electron Microsc Tech*, 1990;3:247-256.
4. Dan L, Friedman SL. Hepatic Stellate cells: morphology, function and regulation. In: IM Arias, JL Boyer, FV Chisari, N Fausto, D Shachter and DA Shafritz, eds. *The liver: Biology and Pathobiology*, Lipincott Williams & Wilkins Publishers. 2001. 455-468.
5. Yokoi Y, Namihisa T, Kuroda H, Komatsu I, Miyazaki A, Watanabe S, Usui K. Immunocytochemical detection of desmin in fat-storing cells (Ito cells). *Hepatology*, 1984;4:709-714.
6. Ramadori G, Veit T, Schwogler S, Dienes HP, Knittel T, Rieder H, Meyer zum Buschenfelde KH. Expression of the gene of the alpha-smooth muscle-actin isoform in rat liver and in rat fat-storing (ITO) cells. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*, 1990;59:349-357.
7. Niki T, Pekny M, Hellemans K, Bleser PD, Berg KV, Vaeyens F, Quartier E, Schuij F, Geerts A. Class VI intermediate filament protein nestin is induced during activation of rat hepatic stellate cells. *Hepatology*, 1999;29:520-527.
8. De Leeuw AM, McCarthy SP, Geerts A, Knook DL. Purified rat liver fat-storing cells in culture divide and contain collagen. *Hepatology*, 1984;4:392-403.
9. Buniatian G, Gebhardt R, Schrenk D, Hamprecht B. Colocalization of three types of intermediate filament proteins in perisinusoidal stellate cells: glial fibrillary acidic protein as a new cellular marker. *Eur J Cell Biol*, 1996;70:23-32.
10. Cassiman D, Denef C, Desmet VJ, Roskams T. Human and rat hepatic stellate cells express neurotrophins and neurotrophin receptors. *Hepatology*, 2001;33:148-158.
11. Cassiman D, van Pelt J, De Vos R, Van Lommel F, Desmet V, Yap SH, Roskams T. Synaptophysin: A novel marker for human and rat hepatic stellate cells. *Am J Pathol*, 1999;155:1831-1839.
12. Nishi M, Takeshima H, Houtani T, Nakagawara K, Noda T, Sugimoto T. RhoN, a novel small GTP-binding protein expressed predominantly in neurons and hepatic stellate cells. *Mol Brain Res*, 1999;67:74-81.
13. Zou Z, Ekataksin W, Wake K. Zonal and regional differences identified from precision mapping of vitamin A-storing lipid droplets of the hepatic stellate cells in pig liver: a novel concept of addressing the intralobular area of heterogeneity. *Hepatology*, 1998;27:1098-11018.
14. Rojkind M, Greenwel P. Pathophysiology of liver fibrosis In: IM Arias, JL Boyer, FV Chisari, N Fausto, D Shachter and DA Shafritz, eds. *The liver: Biology and Pathobiology*, Lipincott Williams & Wilkins Publishers. 2001. 721-738.
15. Tsukamoto H. Cytokine regulation of hepatic stellate cells in liver fibrosis. *Alcohol Clin Exp Res*, 1999;23:911-916.
16. Pinzani M, Marra F, Carloni V. Signal transduction in hepatic stellate cells. *Liver*, 1998;18:2-13.
17. Arthur MJ. Fibrogenesis II. Metalloproteinases and their inhibitors in liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2000;279:G245-249.
18. Saile B, Matthes N, Knittel T, Ramadori G. Transforming growth factor  $\beta$  and tumor necrosis factor  $\alpha$  inhibit both apoptosis and proliferation of activated rat hepatic stellate cells. *Hepatology*, 1999;30:196-202.
19. Rojkind M. Role of metalloproteinases in liver fibrosis. *Alcohol Clin Exp Res*, 1999;23:934-939.
20. Rojkind M, Giambrone MA, Biempica L. Collagen types in normal and cirrhotic liver. *Gastroenterology*, 1979;76:710-719.
21. Rekhter MD. Collagen synthesis in atherosclerosis: too much and not enough. *Cardiovasc Res*, 1999;41:376-384.

22. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. Integrating cells into tissues. In: Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. eds. *Molecular Cell Biology*. W.H. Freeman and company publishers, New York, USA. 2000. 968-1002.
23. Vuorio E, de Crombrugge B. The family of collagen genes. *Annu Rev Biochem*, 1990;59:837-872.
24. Ghosh AK. Factors involved in the regulation of type I collagen gene expression: implication in fibrosis. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2002;227:301-314.
25. Gabele E, Brenner DA, Rippe RA. Liver fibrosis: signals leading to the amplification of the fibrogenic hepatic stellate cell. *Front Biosci*, 2003;8:D69-77.
26. Brenner DA, Rippe RA, Rhodes K, Trotter JF, Breindl M. Fibrogenesis and type I collagen gene regulation. *J Lab Clin Med*, 1994;124:755-760.
27. Jimenez SA, Saitta B. Alterations in the regulation of expression of the alpha 1 (I) collagen gene (COL1A1) in systemic sclerosis (scleroderma). *Springer Semin Immunopathol*, 1999;21:397-414.
28. Saitta B, Gaidarov S, Cicchillitti L, Jimenez SA. CCAAT binding transcription factor binds and regulates human COL1A1 promoter activity in human dermal fibroblasts: demonstration of increased binding in systemic sclerosis fibroblasts. *Arthritis Rheum*, 2000;43:2219-2229.
29. Rippe RA, Almounajed G, Brenner DA. Sp1 binding activity increases in activated Ito cells. *Hepatology*, 1995;22:241-251.
30. Hernandez I, de la Torre P, Rey-Campos J, Garcia I, Sanchez JA, Munoz R, Rippe RA, Munoz-Yague T, Solis-Herruzo JA. Collagen alpha 1 (I) gene contains an element responsive to tumor necrosis factor-alpha located in the 5' untranslated region of its first exon. *DNA Cell Biol*, 2000;19:341-352.
31. Bornstein P. Regulation of expression of the alpha 1 (I) collagen gene: a critical appraisal of the role of the first intron. *Matrix Biol*, 1996;15:3-10.
32. Armendariz-Borunda J, Simkevich CP, Roy N, Raghaw R, Kang AH, Seyer JM. Activation of Ito cells involves regulation of AP-1 binding proteins and induction of type I collagen gene expression. *Biochem J*, 1994;304(Pt 3):817-824.
33. Rippe RA, Schrum LW, Stefanovic B, Solis-Herruzo JA, Brenner DA. NF-kappaB inhibits expression of the alpha 1 (I) collagen gene. *DNA Cell Biol*, 1999;18:751-761.
34. Wedel A, Ziegler-Heitbrock HW. The C/EBP family of transcription factors. *Immunobiology*, 1995;193:171-185.
35. Timchenko NA, Welm AL, Lu X, Timchenko LT. CUG repeat binding protein (CUGBP1) interacts with the 5' region of C/EBPbeta mRNA and regulates translation of C/EBPbeta isoforms. *Nucleic Acids Res*, 1999;27:4517-4525.
36. Hougham K, Buck M, Adir V, Chojkier M. LAP (NF-IL6) transactivates the collagen alpha 1(I) gene from a 5' regulatory region. *J Clin Invest*, 1994;94:808-814.
37. Attard FA, Wang L, Potter JJ, Rennie-Tankersley L, Mezey E. CCAAT/ enhancer binding protein b mediates the activation of the murine a1(I) collagen promoter by acetaldehyde. *Arch Biochem Biophys*, 2000;378:57-64.
38. Garcia-Trevijano ER, Iraburu MJ, Fontana L, Dominguez-Rosales JA, Auster A, Covarrubias-Pinedo A, Rojkind M. Transforming growth factor beta1 induces the expression of alpha 1 (I) procollagen mRNA by a hydrogen peroxide-C/EBPbeta-dependent mechanism in rat hepatic stellate cells. *Hepatology*, 1999;29:960-970.

ZAMIRA HELENA HERNÁNDEZ NAZARÁ<sup>1</sup>ERIKA MARTÍNEZ LÓPEZ<sup>2</sup>JOSÉ ALFREDO DOMÍNGUEZ ROSALES<sup>3</sup><sup>1</sup> Profesor Investigador Asociado B. Pasante del Doctorado de Biología Molecular en Medicina. Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde".<sup>2</sup> Técnico Académico Asistente A. Pasante del Doctorado de Biología Molecular en Medicina. Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde".<sup>3</sup> Profesor Investigador Titular A. Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde".**CORRESPONDENCIA**

José Alfredo Domínguez Rosales

Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde". Hospital # 278, Guadalajara, Jalisco. 44280.

Tel/fax (33)36-14-7743.

Correo electrónico: dominque14@yahoo.com.mx

**Conflictivo de interés no declarado****Simão César Dórdio Gomes**