

ARTÍCULO DE REVISIÓN

DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v67n1.64964>

Modelos celulares hepáticos para el estudio del metabolismo de los lípidos. Revisión de literatura

Liver cell models for studying lipid metabolism. Literature review

Recibido: 15/05/2017. Aceptado: 16/10/2017.

Johanny Aguillón-Osma^{1,2} • Nelsy Loango-Chamorro³ • Patricia Landazuri⁴¹ Universidad del Quindío - Facultad de Educación - Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales - Armenia - Colombia.² Escuela Normal Superior del Quindío - Armenia - Colombia.³ Universidad del Quindío - Facultad de Ciencias Básicas y tecnológicas – Programa de Biología - Armenia - Colombia.⁴ Universidad del Quindío - Facultad de Ciencias de la Salud - Programa de Medicina - Armenia - Colombia.Correspondencia: Johanny Aguillón-Osma. Facultad de Educación, Universidad del Quindío. Carrera 15 Calle 12 Norte, edificio O, piso 1. Teléfono: +57 6 7359300, ext.: 346; celular +57 3117359277. Armenia. Colombia. Correo electrónico: jaguillon@uniquindio.edu.co.

| Resumen |

Introducción. El hígado juega un papel importante en la homeostasis lipídica, especialmente en la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos. Una amplia variedad de modelos celulares ha sido utilizada para investigar el metabolismo lipídico hepático y para elucidar detalles específicos de los mecanismos bioquímicos del desarrollo y progresión de enfermedades relacionadas, brindando información para tratamientos que reduzcan su impacto. Los modelos celulares hepáticos poseen un alto potencial en la investigación del metabolismo de lípidos y de agentes farmacológicos o principios activos que permiten la reducción de la acumulación de lípidos.

Objetivo. Comparar algunos modelos celulares hepáticos utilizados para el estudio del metabolismo lipídico, sus características y los resultados más relevantes de investigación en ellos.

Materiales y métodos. Se realizó una búsqueda sistemática en bases de datos sobre los modelos celulares hepáticos de mayor uso para el estudio del metabolismo de lípidos.

Resultados. Se exponen los cinco modelos celulares más utilizados para este tipo de investigaciones, destacando su origen, aplicación, ventajas y desventajas al momento de estimular el metabolismo lipídico.

Conclusión. Para seleccionar el modelo celular, el investigador debe tener en cuenta cuáles son los requerimientos y el proceso que desea evidenciar, sin olvidar que los resultados obtenidos solo serán aproximaciones de lo que en realidad podría suceder a nivel del hígado como órgano.

Palabras clave: Hepatocitos; Triglicéridos; Ácido oleico (DeCS).

| Abstract |

Introduction: The liver plays an important role in lipid homeostasis, especially in the synthesis of fatty acids and triglycerides. A wide variety of cell models have been used to investigate liver lipid metabolism and to elucidate specific details of the biochemical mechanisms involved in the development and progression of related diseases, providing information for treatments that reduce their impact. Liver cell models have a high potential for the investigation of lipid metabolism, as well as pharmacological agents or active principles that allow the reduction of lipid accumulation.

Objective: To compare some liver cell models used for studying lipid metabolism, their characteristics and the most relevant research results.

Materials and methods: A systematic search of databases was performed on the most commonly used liver cell models for the study of lipid metabolism.

Results: The five most commonly used cell models for this type of research are presented in this paper, highlighting their origin, application, advantages and disadvantages when stimulating lipid metabolism.

Conclusion: In order to select a cell model, researchers should take into account the requirements and the process they wish to demonstrate, without forgetting that the results obtained will only be approximations of what could actually happen in the liver as an organ.

Keywords: Hepatocytes; Triglycerides; Oleic Acid (MeSH).

.....
Aguillón-Osma J, Loango-Chamorro N, Landazuri P. Modelos celulares hepáticos para el estudio del metabolismo de los lípidos. Revisión de literatura. Rev. Fac. Med. 2019;67(1):109-16. Spanish. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v67n1.64964>.

.....
Aguillón-Osma J, Loango-Chamorro N, Landazuri P. [Liver cell models for studying lipid metabolism. Literature review]. Rev. Fac. Med. 2019;67(1):109-16. Spanish. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v67n1.64964>.

Introducción

El hígado juega un papel importante en la homeostasis lipídica, en especial en la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos (TG) y en la producción de lipoproteínas plasmáticas que aseguran el transporte de lípidos endógenos y exógenos entre los órganos (1,2).

Una de las funciones del hígado es la síntesis de colesterol a través de una amplia serie de reacciones, entre las cuales se generan interacciones con los tejidos periféricos y el intestino; su equilibrio es regulado por mecanismos de retroalimentación entre las vías

endógena y exógena (3). La inhibición de absorción de colesterol intestinal aumenta la actividad de la hidroximetilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoAR) intensificando su síntesis en el hígado (4). En cambio, una captación intestinal elevada de colesterol inhibe la HMG-CoAR, reduce la síntesis hepática y produce una regulación negativa de los receptores de las lipoproteínas de baja densidad (LDLr), lo que reduce la captación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) (5). Por el contrario, cuando existe una disminución en las concentraciones de colesterol, los LDLr son regulados al alza y dan lugar a un aumento de la eliminación de partículas de LDL de la sangre (3,5) (Figura 1).

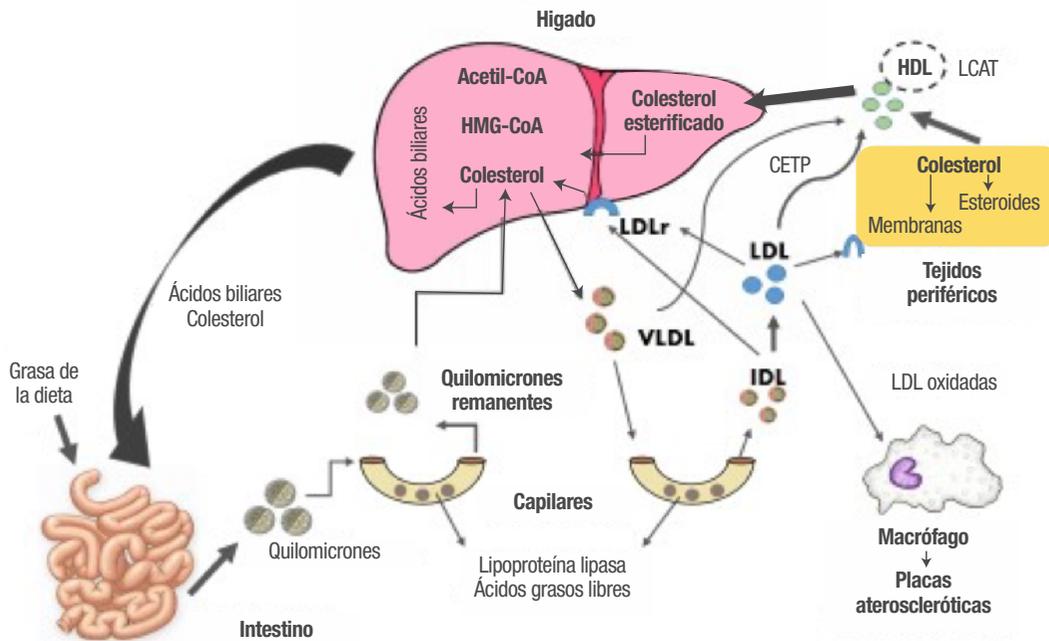


Figura 1. Metabolismo de lípidos.
Fuente: Elaboración propia.

Los lípidos plasmáticos (TG, ésteres del colesterol, fosfolípidos y colesterol libre) deben ser transportados por lipoproteínas. Los lípidos de la dieta (vía exógena) son absorbidos en el intestino por los quilomicrones; luego, los quilomicrones se someten a lipólisis rápida por parte de la lipoproteína lipasa (LPL), un proceso que elimina algunos de los TG y deja pequeños remanentes de quilomicrones que internalizan el resto de los lípidos de la dieta al hígado. En la vía endógena, el hígado utiliza los remanentes de quilomicrones, lípidos y colesterol endógeno para producir las partículas de VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad) (Figura 1). Las VLDL son lipoproteínas ricas en TG que contienen entre 10-15% del colesterol plasmático, fosfolípidos y un conjunto característico de apolipoproteínas: Apo B-100, Apo C-I, Apo C-II, Apo C-III y Apo E. Estas lipoproteínas son transportadas por la sangre desde el hígado hasta el músculo y el tejido adiposo, donde la LPL se activa gracias a la Apo C-II, hidrolizando los TG de las VLDL y liberando ácidos grasos libres que pueden ser almacenados por los adipocitos (6,7). Las LDL que han sido sintetizadas en el hígado tienen una concentración alta de colesterol y moderada de fosfolípidos y no contienen TG. Su apolipoproteína asociada de mayor importancia es Apo B-100, indispensable para unirse al LDLr (3,8). El desequilibrio entre estas vías de síntesis y degradación se encuentra asociado con el desarrollo de diferentes enfermedades cardiovasculares y metabólicas (7,8).

Una amplia variedad de modelos celulares ha sido utilizada para investigar el metabolismo hepático. Estos modelos ofrecen

la oportunidad de estudiar detalles específicos de los mecanismos bioquímicos como el metabolismo lipídico y de glucosa, la respuesta toxicológica frente a fármacos, la expresión de proteínas relacionadas con el metabolismo, el mecanismo de invasión viral, las vías de señalización o la inhibición de proteínas a través de ARN de interferencia (9). Sin embargo, las células primarias son inherentemente desafiantes, en particular en su obtención y su aislamiento (10); a pesar de ello, los hepatocitos primarios son considerados como el mejor modelo *in vitro* para estudiar el metabolismo de lípidos y glucosa (1).

Las metodologías de cultivo de células aisladas de hígado humano han sido mejoradas en los últimos años; en la actualidad, una variedad de estrategias de aislamiento, cultivo y criopreservación se han establecido y evaluado. Sin embargo, la viabilidad de estas células sigue siendo baja en contraste con las líneas celulares inmortalizadas de hepatomas; estas últimas tienen capacidad de biotransformación, una característica crucial en estudios toxicológicos y metabólicos (9,11).

El desarrollo de los modelos celulares hepáticos permite explorar el metabolismo de los lípidos en el hígado humano y, con ello, el desarrollo y progresión de las enfermedades relacionadas (12). Se ha trabajado en varias líneas celulares hepáticas para establecer modelos de acumulación de lípidos usando ácidos grasos saturados e insaturados de forma individual o combinados (11,13). En la mayoría de los estudios, el ácido graso que se ha adicionado al medio de cultivo ha sido el ácido oleico (ácido graso monoinsaturado, de 18 carbonos, que presenta la insaturación en el carbono 9, conocido como omega 9 y presente

en alimentos como el aceite de oliva o el aguacate), esencial para la producción de los TG, siendo menos lipotóxico que el ácido palmítico (ácido graso saturado de cadena larga, de 16 carbonos, el principal ácido graso de la dieta y presente en las carnes y en las grasas lácteas) (14).

Las ventajas de los modelos inmortalizados comparados con los cultivos primarios de hepatocitos humanos son: crecen continuamente, tienen vida útil ilimitada y su fenotipo es bastante estable. Además, es fácil disponer de ellos y sus condiciones de cultivo son más simples. Incluso, algunos hepatomas retienen (en parte) un diferenciado fenotipo adulto. De esta forma, los modelos celulares hepáticos poseen un alto potencial para proveer una plataforma de investigación del metabolismo de lípidos, así como de agentes farmacológicos o principios activos que permitan la reducción de la acumulación de TG a nivel intracelular (10).

El objetivo de esta revisión es comparar algunos modelos celulares hepáticos utilizados para el estudio del metabolismo lipídico, sus características y los resultados más relevantes de investigación en ellos, para establecer cuál de ellos ofrece mejores características para posteriores estudios.

Materiales y métodos

Se realizó una búsqueda de artículos científicos relacionados con modelos celulares y metabolismo de lípidos publicados en las bases de datos PubMed, ScienceDirect, Google Scholar y SciELO. La búsqueda fue realizada entre noviembre de 2016 y abril de 2017 y tuvo en cuenta artículos publicados desde enero de 2006 hasta abril de 2017, excepto para los artículos que trataban sobre el origen del modelo celular. Se incluyeron textos completos de investigaciones originales o revisiones, en idioma inglés y español y que contuvieran las siguientes palabras clave y sus posibles combinaciones: “lipid metabolism” and “modelo celular hepático (HepG2, HepaRG, Huh-7, primary hepatocytes, IHH)” and “tipo de sustrato (oleic acid, palmitic acid)”. Los criterios de exclusión para la selección de los artículos fueron: estudios publicados en otros idiomas, estudios que utilizaran otros sustratos de inducción de síntesis de lípidos y estudios donde solo se evaluara la esteatosis hepática. Al final, 51 artículos cumplieron con los requisitos para ser incluidos en la revisión (Figura 2.).

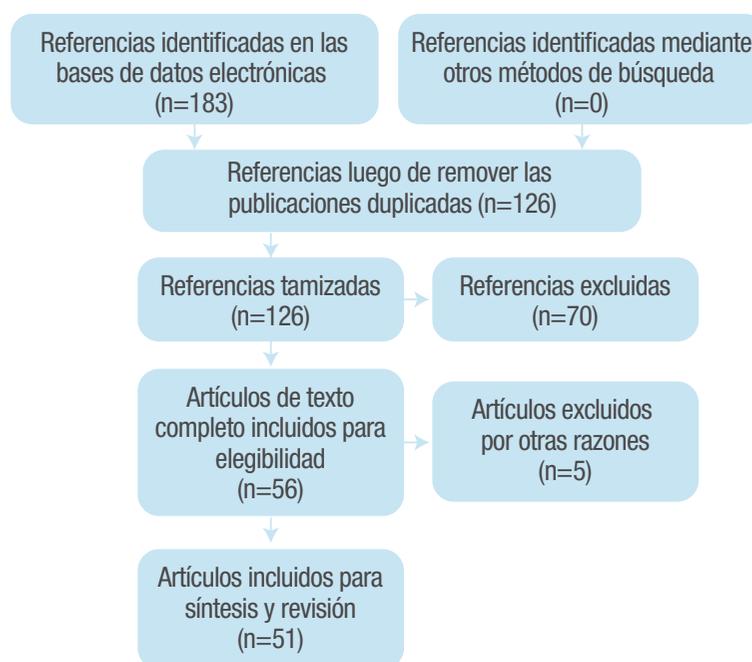


Figura 2. Flujograma de la búsqueda y selección de artículos en la presente revisión.
Fuente: Elaboración propia.

Resultados

Se identificaron 51 referencias, de las cuales 36 correspondieron a artículos originales de texto completo y 15 a revisiones bibliográficas. La mayor proporción de los documentos estaban relacionados con el modelo celular HepG2 (62%) y la menor proporción (6%) con el modelo de hepatocitos primarios. De las referencias seleccionadas, 48 estaban escritas en inglés y 3 en español.

En la Tabla 1 se resumen las ventajas y desventajas de los modelos celulares utilizados para el estudio del metabolismo lipídico, notándose que la selección del modelo celular depende de las necesidades de la investigación y de la condición que se desea evaluar. No obstante, podríamos decir que el modelo celular HepG2 presenta la mejor estabilidad y es el más caracterizado en el estudio del metabolismo de los lípidos.

Discusión

Se evidenció que una considerable variedad de modelos celulares ha sido usada para estudiar el metabolismo de los lípidos a nivel hepático, siendo el metabolismo del colesterol y de las lipoproteínas lo que más ha captado el interés. A pesar de que estos modelos celulares ofrecen la oportunidad de estudiar detalles específicos de un proceso metabólico en particular, no hay que pasar por alto que presentan limitaciones inherentes como la pérdida de capacidades reguladoras de división celular, algunas modificaciones genéticas o fenotípicas que alteraran su capacidad de comunicación celular o su propio metabolismo y el estar en un ambiente aislado y controlado, lo que cambia la capacidad de interacción y respuesta celular. A continuación se mencionan las características de los modelos celulares hepáticos más utilizados para elucidar el proceso de síntesis, asimilación y excreción de los lípidos encontrados en esta revisión.

Tabla 1. Resumen de los modelos celulares hepáticos utilizados en el estudio del metabolismo lipídico.

Estudios	Modelo celular	Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> Li (10) Guguen-Guillouzo <i>et al.</i> (15) Guguen-Guillouzo & Guillouzo (16) 	Hepatocitos primarios	<ul style="list-style-type: none"> Exhiben el fenotipo y metabolismo de mayor similitud con los hepatocitos maduros Se pueden estimular a la acumulación de lípidos con ácidos grasos exógenos Realizan síntesis <i>de novo</i> de TG Se han utilizado en el estudio de la regulación de síntesis de proteínas y su catabolismo 	<ul style="list-style-type: none"> Tienen una disponibilidad limitada Poseen amplia variedad entre las células debido a los donantes No se reproducen en cultivo Pierden su fenotipo hepático con el tiempo
<ul style="list-style-type: none"> Green <i>et al.</i> (1) Navarro <i>et al.</i> (4) Ros (6) Anthérieu <i>et al.</i> (17) 	HepaRG	<ul style="list-style-type: none"> Posee características de hepatocito bien diferenciado Presenta expresión conservada de la actividad enzimática del citocromo P450 Se puede reproducir fácilmente en cultivo Presenta expresión estable de las proteínas relacionadas con el metabolismo lipídico Exhibe la mayoría de las funciones propias del hígado Expresa las proteínas relacionadas con el metabolismo de las lipoproteínas Expresa receptores nucleares 	<ul style="list-style-type: none"> Poco se sabe de la acumulación de lípidos en este modelo celular Han sido poco estudiadas No hay síntesis de ácidos biliares No hay interacción celular
<ul style="list-style-type: none"> Green <i>et al.</i> (1) De Gottardi <i>et al.</i> (18) Perttilä <i>et al.</i> (19) Chávez-Tapia <i>et al.</i> (20) 	IHH	<ul style="list-style-type: none"> Secreción de albumina similar a hepatocitos maduros Secreción de lipoproteínas ricas en TG, principalmente LDL Expresan las proteínas relacionadas con el metabolismo de lípidos Responden a la estimulación con ácido oleico 	<ul style="list-style-type: none"> Han sido poco estudiadas Su metabolismo se ve afectado por las concentraciones de glucosa No hay interacción celular No preservan la anatomía propia de los hepatocitos
<ul style="list-style-type: none"> Meex <i>et al.</i> (21) Miyata <i>et al.</i> (22) Shao & Ford (23) Rohwedder <i>et al.</i> (24) 	HuH-7	<ul style="list-style-type: none"> Capacidad de diferenciación Alta producción de apoB 100 Tienen una alta capacidad de acumulación de TG en respuesta a ácidos grasos exógenos Expresan proteínas y enzimas relacionadas con las lipoproteínas 	<ul style="list-style-type: none"> No tienen síntesis de ácidos biliares No hay interacción celular No preservan la anatomía propia de los hepatocitos
<ul style="list-style-type: none"> Navarro <i>et al.</i> (4) Ros (6) Meex <i>et al.</i> (21) Arrol <i>et al.</i> (25) Gdula-Argasińska <i>et al.</i> (26) Gómez-Lechón <i>et al.</i> (27) 	HepG2	<ul style="list-style-type: none"> Amplia referencia de este modelo para el estudio del metabolismo lipídico Responde a la estimulación con ácidos grasos exógenos Sintetizan ácidos biliares Su composición lipídica es comparable a la observada en el hígado humano normal Expresan receptores de insulina Sintetizan y excretan varias lipoproteínas Realizan síntesis <i>de novo</i> de TG y colesterol Son utilizadas para la evaluación de fármacos y toxinas 	<ul style="list-style-type: none"> Presenta diferencias fenotípicas y genotípicas con los hepatocitos maduros Carecen de la expresión funcional de las proteínas del complejo P450 No hay interacción celular

TG: triglicéridos; LDL: lipoproteínas de baja densidad; ApoB 100: apolipoproteína B 100.

Fuente: Elaboración propia.

Hepatocitos primarios

Uno de los modelos *in vitro* para el estudio de los mecanismos que controlan el metabolismo de lípidos y glucosa en humanos es el de hepatocitos primarios (1,28). Desafortunadamente, existe una disponibilidad limitada del tejido de hígado humano para el aislamiento celular, además de una amplia variabilidad entre los donantes de este tejido (15,16,29). A pesar de los esfuerzos en optimizar las condiciones de cultivo, estas células aisladas pierden su fenotipo hepático de forma irreversible y su capacidad proliferativa es bastante limitada (16,30).

Los hepatocitos primarios pueden ser obtenidos de un hígado completo o una porción de este. En la actualidad, los hepatocitos humanos son aislados de hígados no aptos para trasplante y sobre todo de fragmentos de hígados con tumores primarios o con algunas otras enfermedades hepáticas (31). Los hepatocitos aislados frescos exhiben la mayoría de las funciones de los hepatocitos humanos maduros *in vivo*, pero han perdido los dominios especializados de membrana, tales como los de uniones intercelulares (canalículos biliares), y no sobreviven más de unas pocas horas en suspensión (16).

Los hepatocitos primarios son considerados el modelo celular ideal para el estudio del metabolismo lipídico hepático debido a que muestran un comportamiento similar a las células del hígado

in vivo (10). Estas células muestran una acumulación intracelular de TG similar a la observada en hígado humano *in vivo* cuando se exponen a ácidos grasos (10). La acumulación de estos TG a nivel extracelular está directamente relacionada con la entrada y secreción de los mismos, a la vez que tiene una relación directa con la tasa de secreción de las lipoproteínas encargadas de transportar TG. Se ha demostrado que los hepatocitos humanos responden a la suplementación con ácidos grasos, incrementando la síntesis de TG y la secreción de VLDL sin ningún cambio en la abundancia de la apoB (10), indicando que la síntesis *de novo* es funcionalmente activa en este modelo celular.

Células HepaRG

Estas células son uno de los principales modelos para el estudio del metabolismo lipídico y una línea celular obtenida de tumor de hígado (carcinoma de una paciente femenina quien sufrió de hepatocarcinoma y hepatitis C) (32); además muestran características de un hepatocito bien diferenciado (2). Esta línea se compone de una población celular homogénea con un cariotipo que exhibe pocas alteraciones (17) y tiene la capacidad de proliferación y diferenciación (16). Cuando estas células son sembradas a baja densidad, adquieren una morfología elongada no diferenciada, se dividen activamente

y, después de alcanzar la confluencia, forman colonias como las típicas de hepatocitos rodeadas por células epiteliales similares a las biliares (2); además, expresan una mayor cantidad de enzimas P450, varias enzimas de la fase II (que participan en la conjugación de xenobióticos como: acetiltransferasa, metiltransferasa, glutatión transferasa), transportadores y receptores nucleares importantes. Entre estos últimos se encuentra el receptor adrenostano constitutivo (CAR), el receptor pregnano X (PXR) y el receptor activado por el proliferador de peroxisoma (PPAR), que muestran un 85% de identidad con los genes expresados por hepatocitos primarios humanos (16), convirtiendo también a las HepaRG en un modelo útil para el estudio de los mecanismos del metabolismo de medicamentos (33).

En este modelo se ha observado una expresión estable de proteínas relacionadas con el metabolismo lipídico, como lo son proteína de unión de elementos reguladores de esteroides 1 (SREBP-1), sintetasa de ácidos grasos (FAS) y acetil-CoA carboxilasa (ACC), sin observar diferencias en la expresión en medios de cultivo con baja o alta concentración de glucosa (1). Por otro lado, no se han apreciado diferencias en la expresión de proteínas relacionadas con el metabolismo de las lipoproteínas como: apolipoproteína A (apoA), apolipoproteína I (apoI), receptor scavenger clase B miembro 1 (SR-BI), LDLr y proteínas relacionadas con el receptor LDL 1 (LRP1) (1).

Las células HepaRG han sido muy utilizadas en estudios de toxicología y metabolismo de medicamentos, pero poco se ha estudiado acerca de la capacidad para acumular TG cuando son expuestas a ácidos grasos exógenos (10). No obstante, se encuentran reportes de estudios donde se evidencia la secreción de TG y lipoproteínas conteniendo apoB en estas células, incluso de la expresión de genes asociados al metabolismo de lípidos (1,12).

Células IHH

Este modelo de hepatocitos humanos inmortalizados es una línea celular hepática reciente que fue obtenida de tejido de hígado sano; se extrajo quirúrgicamente de un hombre de 59 años de edad y fue inmortalizada por transfección con el plásmido SV40 que expresa el antígeno T (29). Estas células secretan albúmina a un nivel comparable con los hepatocitos primarios humanos, así como lipoproteínas ricas en TG, apoB, apoAI (29) y apoCIII (34).

En las células IHH se ha observado una expresión considerable de las proteínas relacionadas con el metabolismo de los lípidos, en particular las proteínas SREBP-1, FAS y ACC, pero no se han visto diferencias en las lipoproteínas como apoA, ApoI, SR-BI, LDLr y LRP1 (1). Estas células secretan, en su gran mayoría, lipoproteínas asociadas a LDL (10) y, en presencia de ácido oleico, acumulan TG a nivel intracelular; además, cuando son expuestas a altas concentraciones de glucosa incrementan la secreción de sus lipoproteínas (10,18). En su mayoría aumenta la producción de ApoCIII y de la proteína que contiene el dominio de la fosfolipasa 3 similar a patatina (PNPLA3) (19). Este incremento de los niveles de ApoCIII está correlacionado con una elevada secreción de VLDL y su correspondiente aumento de TG y ApoB.

Bajo condiciones normales de cultivo, la tinción con aceite rojo (del inglés Oil Red) revela que las células IHH contienen muy baja cantidad de lípidos neutros intracelulares; después del tratamiento con ácido oleico, estas células acumulan una gran cantidad de micelas lipídicas en citoplasma (35). En contraste con las células IHH, tanto las HepG2 como las HuH-7 presentan tinción de lípidos intracelulares aún sin inducir la formación de vesículas de lípidos; por esta razón, se considera que este modelo celular tiene un comportamiento muy similar a las células hepáticas maduras de hígado humano (18), además tolera altas concentraciones de ácidos grasos exógenos (20).

Al estudiar la acumulación de lípidos intracelulares a través del método Oil Red, se encontró que las células IHH aumentan 15.8 veces su acumulación de lípidos intracelulares comparado con condiciones basales al ser tratadas con ácido oleico. De Gotardi *et al.* (18) observaron que las células IHH esteatóticas exhiben una expresión diferencial de 30 genes, 12 de los cuales incrementan su expresión mientras que los 18 restantes la disminuyen. Entre los que aumentan la expresión se encuentran acil-CoA sintetasa, ácido graso denaturasa y acetil-CoA acetiltransferasa, mientras que los que la reducen son HMGCR y LDLr. En conclusión, se observa que la inducción de esteatosis en células IHH incrementa de manera considerable la biosíntesis de TG, mientras se inhibe la lipogénesis de ácidos grasos y colesterol (18).

Células HuH-7

En este modelo las células derivan de carcinoma hepatocelular, tienen la capacidad de diferenciarse y han sido bastante utilizadas en estudios relacionados con enfermedades virales del hígado. Meex *et al.* (21) demostraron que este modelo celular es muy similar a las células HepG2 con relación al efecto de los lípidos exógenos y los inhibidores del proteosoma de la secreción, la recuperación y la degradación de la ApoB100; sin embargo, no ofrece ventajas sobre las células HepG2 para estudiar el metabolismo lipídico. Existen reportes que señalan que la adición de suero humano en remplazo del suero fetal bovino podría estimular más funciones específicas de hepatocitos humanos, entre ellas la secreción de VLDL (21).

Estas células secretan en mayor proporción la apoB100 (95%) comparada con la secreción de las células HepG2 (70%). También se ha demostrado que en momentos de relativa deficiencia de lípidos degradan la apoB100. Las células HuH-7 tienen la capacidad de acumular más del doble de los TG que acumulan las células HepG2 cuando son expuestas a ácido palmítico, ácido oleico o una combinación de ambos (20). No obstante, la estimulación con el ácido oleico en ambos tipos celulares presenta una mayor acumulación de TG que cuando son estimuladas con ácido palmítico (36). Asimismo, se ha observado que el ácido palmítico es bastante citotóxico para las células HuH-7; en contraste a esto, el ácido oleico es tolerado hasta concentraciones de 1.32 mmol sin inducir la muerte celular (30).

Miyata *et al.* (37) establecieron una variante que expresa el gen de la luciferasa bajo el control del promotor de la enzima FAS (HuH-7/FAS-Luc) y en la que se puede evaluar el efecto de diferentes sustancias sobre el metabolismo de los lípidos, relacionadas con la SREBP y la inhibición de la síntesis de FAS, HMG-CoA sintetasa, HMG-CoA reductasa y esteroil CoA desaturasa. Miyata *et al.* (22), utilizando la misma variante, evaluaron el efecto de alil isotiocianato (AITC) sobre SREBP en otro estudio y encontraron que dicho compuesto tiene la capacidad de inhibir la proteólisis de SREBP en sus diferentes isoformas y afecta el estado maduro de la proteína. Asimismo, observaron una reducción en los niveles de ARNm de las proteínas reguladas por SREBP-1 (ACC, FAS y SCD) y en las reguladas por SREBP-2 (HMG-CoA sintetasa, HMG-CoA reductasa y la escualeno sintetasa); esto indicó que se produce un efecto regulador sobre la lipogénesis, tanto de ácidos grasos como de colesterol (22); Shao & Ford (23) reportaron en 2014 resultados similares.

En este modelo también se realizó seguimiento subcelular del ácido oleico y se observó que la mayoría de este sustrato era utilizado por las células para elaborar ácidos neutros, principalmente fosfolípidos y TG (24).

Células HepG2

Son células derivadas de hepatoblastoma humano que se comportan de forma similar a las células de hígado fetal, lo que las hace

inadecuadas para la investigación del metabolismo de medicamentos (10); no obstante, esta línea celular expresa muchas de las funciones atribuidas a los hepatocitos humanos normales (25,38,39). Para algunos investigadores, estas células presentan acumulación de TG cuando se adicionan al medio de cultivo ácidos grasos exógenos (26,40), mientras que otros autores reportan que la acumulación de TG solo ocurre cuando se utiliza ácido oleico (10). A diferencia de las células primarias, cultivar células HepG2 con solo ácido palmítico no promueve la acumulación de TG (41).

Desde su introducción en 1979, un sin número de investigaciones han utilizado este modelo y una alta proporción de las proteínas específicas del hígado han sido identificadas en los estudios iniciales con estas células, lo que generó expectativas con relación a que esta línea celular se convirtiera en un modelo celular de hígado humano bastante consistente para investigación. Entre los procesos metabólicos que han sido estudiados hasta ahora, se destacan estudios del metabolismo de lipoproteínas, síntesis de ácidos biliares, metabolismo del colesterol, metabolismo de medicamentos, enzimas hepáticas, transporte de glucosa, entre otros; estas vías han sido evaluadas procurando mantener el ambiente de los hepatocitos normales y, por lo tanto, favoreciendo incluso aplicaciones más amplias de esta línea celular sobre problemas biológicos, en los cuales está involucrado el funcionamiento hepático (12,38). También se ha demostrado que las células HepG2 tienen la capacidad de sintetizar ácidos biliares a partir de colesterol (5).

La composición de lípidos en cultivo de las células HepG2 es comparable con la encontrada en hígado humano normal (42), en donde a pesar de la reducción de la síntesis de ácidos grasos *de novo* no se encontraron diferencias significativas entre las células HepG2 con relación a hepatocitos primarios o hepatocitos frescos. Es decir, las células HepG2 tienen una alta capacidad para la síntesis de TG a partir de ácido oleico, resultando en una alta acumulación a nivel intracelular y muy baja secreción al medio (6).

Las células HepG2 tienen la capacidad de expresar los receptores de insulina, transferrina y los LDLr, además se ha documentado la capacidad de sintetizar y excretar lipoproteínas, como VLDL (25), HDL (25) y en mayor proporción LDL (43); por esta razón el modelo celular HepG2 se ha catalogado como un sistema estándar para estudiar el metabolismo y la síntesis de las lipoproteínas. Al estudiar el efecto que puede tener el ácido oleico y la insulina sobre la secreción de lípidos, se ha observado que los TG son los lípidos secretados en mayor proporción seguidos de colesterol esterificado y no esterificado, siendo estas observaciones concordantes con lo encontrado en cultivo primario de hepatocitos (44). La cantidad de colesterol no esterificado no se ve afectada por el ácido oleico o por la insulina; sin embargo, la baja concentración de ésteres de colesterol refleja baja actividad de la lecitina-colesterol aciltransferasa (LCAT) (44).

En varios estudios se ha demostrado que el ácido oleico es un elemento inductor de la lipogénesis en células HepG2, induciendo 1.85 veces la cantidad de lípidos en células expuestas; mientras que los TG aumentan 1.7 veces en células tratadas a nivel intracelular y 3.7 veces a nivel extracelular (25,44,45); también genera el aumento de la acumulación de apoB100 (700%) (21).

La viabilidad de las células HepG2 frente al ácido oleico se mantiene en 95% a concentraciones <1 mmol (concentraciones >1.4 mmol causan muerte celular) (43). Al comparar las células HepG2 con los hepatocitos primarios no se evidencian diferencias significativas en la acumulación de TG cuando son expuestas a ácidos grasos libres exógenos (27).

Kamper *et al.* (46) compararon la producción de apoB y de la proteína microsomal transportadora de triglicéridos (MTP) en células HepG2 y células BeWo (células humanas de placenta originadas de un

criocarcinoma), encontrando que las células HepG2 producen tanto apoB como MTP en muy buena proporción, mientras que las células BeWo solo producen pequeñas cantidades de apoB, por este motivo no se consideran modelos viables para el estudio del metabolismo de los lípidos (46).

Por otra parte, cuando se evalúan metabolitos secundarios como los polifenoles, específicamente el oligonol, se observa que reduce de una forma dosis dependiente la acumulación intracelular de TG en células HepG2 cultivadas con ácido palmítico; además este metabolito no afecta la viabilidad celular (41). Esta reducción está explicada por la supresión de la expresión de proteínas ACC, FAS y SREBP-1 y el receptor gamma activado por el proliferador de perioxomas (PPAR γ); de esta forma inhibe la síntesis *de novo* de ácidos grasos (41). Similares resultados se observaron cuando se evaluaron los extractos de *Moringa olifera* (47), *Zanthoxylum bungeanum* (48), *Sibiraea angustata* (49), *Olea europaea* Linn (50) y *Camellia sinensis* (51).

Una de las desventajas de las células HepG2 es que carecen de la expresión funcional de casi todas las proteínas relevantes P450 de hígado humano (2,30,37), además tienen una limitada capacidad para cargar de lípidos a la apoB100 y secretarla en forma de VLDL (39).

Conclusiones

Las investigaciones con relación a la acumulación de lípidos a nivel hepático en modelos celulares han permitido elucidar y avanzar en el conocimiento de este proceso desde el punto de vista bioquímico y molecular; es así como ya se han identificado cuáles son las rutas metabólicas involucradas en el desarrollo de la esteatosis hepática. Del mismo modo, se han identificado varios compuestos tanto sintéticos como naturales que pueden tener efectos sobre la función de enzimas esenciales en el metabolismo de lípidos o sobre los factores nucleares que permiten la expresión o inhibición de la síntesis de estas enzimas.

Como se notó a lo largo del texto, cada modelo celular ofrece algunas ventajas sobre los otros, pero también presentan limitantes o factores desfavorables al momento de su utilización que puede incluir amplias diferencias a nivel genético y fenotípico con relación a las células hepáticas maduras, que sería el tipo de célula que se pretende simular, como a nivel bioquímico donde las células sobreexpresan el metabolismo lipídico. Es decir, el investigador debe tener en cuenta cuáles son los requerimientos y el proceso que desea evidenciar para poder optar por uno u otro modelo de estudio, sin olvidar que los resultados obtenidos solo serán aproximaciones de lo que realmente podría suceder a nivel del hígado como órgano.

Conflicto de intereses

Ninguno declarado por los autores.

Financiación

Este trabajo fue financiado con los recursos de la Beca Doctorados Nacionales, convocatoria 727 de 2015, Colciencias.

Agradecimientos

A Colciencias.

Referencias

1. Green CJ, Pramfalk C, Morten KJ, Hodson L. From whole body to cellular models of hepatic triglyceride metabolism: man has got to know

- his limitations. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2015;308(1):E1-20. <http://doi.org/f6sr24>.
2. **Samanez CH, Caron S, Briand O, Dehondt H, Duplan I, Kuipers F, et al.** The human hepatocyte cell lines IHH and HepaRG: models to study glucose, lipid and lipoprotein metabolism. *Arch Physiol Biochem.* 2012;118(3):102-11. <http://doi.org/cvvg>.
 3. **Donato MT, Lahoz A, Castell J V, Gómez-Lechón MJ.** Cell lines: a tool for in vitro drug metabolism studies. *Curr Drug Metab.* 2008;9(1):1-11. <http://doi.org/bbz53z>.
 4. **Navarro V, Zabala A, Gómez S, Portillo M.** Metabolismo del colesterol: Bases actualizadas. *Rev Esp Obes.* 2009;7(6):360-84.
 5. **Ikonen E.** Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008;9(2):125-38. <http://doi.org/dntz3d>.
 6. **Ros E.** Doble inhibición del colesterol: papel de la regulación intestinal y hepática. *Rev Esp Cardiol.* 2006;6(Suppl G):52-62. <http://doi.org/ckd5rc>.
 7. **Lafontan M.** Historical perspectives in fat cell biology: the fat cell as a model for the investigation of hormonal and metabolic pathways. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2012;302(2):C327-59. <http://doi.org/cw2m49>.
 8. **Ikonen E.** Mechanisms for Cellular Cholesterol Transport : Defects and Human Disease. *Physiol Rev.* 2006;86(4):1237-61. <http://doi.org/b7cdmq>.
 9. **Maldonado-Saavedra O, Ramirez-Sánchez I, García-Sánchez JR, Ceballos-Reyes GM, Mendez-Blaina E.** Colesterol : Función biológica e implicaciones médicas. *Rev Mex Cienc Farm.* 2012;43(2):7-22.
 10. **Li AP.** Human hepatocytes: isolation, cryopreservation and applications in drug development. *Chem Biol Interact.* 2007;168(1):16-29. <http://doi.org/cpvq9q>.
 11. **Groneberg DA, Grosse-Siestrup C, Fischer A.** In Vitro Models to Study Hepatotoxicity. *Toxicol Pathol.* 2002;30(3):394-9. <http://doi.org/ds8bz4>.
 12. **Green CJ, Johnson D, Amin HD, Sivathondan P, Silva MA, Wang LM, et al.** Characterization of lipid metabolism in a novel immortalized human hepatocyte cell line. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2015;309(6):E511-22. <http://doi.org/f7r8sb>.
 13. **Cui W, Chen SL, Hu KQ.** Quantification and mechanisms of oleic acid-induced steatosis in HepG2 cells. *Am J Transl Res.* 2010;2(1):95-104.
 14. **Ferramosca A, Zara V.** Modulation of hepatic steatosis by dietary fatty acids. *World J Gastroenterol.* 2014;20(7):1746-55. <http://doi.org/f5thtj>.
 15. **Guguen-Guillouzo C, Campion JP, Brissot P, Launois B, Bourel M, Guillouzo A.** high yield preparation of isolated human adult hepatocytes by enzymatic perfusion of the liver. *Cell Biol Int Rep.* 1982;6(6):625-8. <http://doi.org/bcsghr>.
 16. **Guguen-Guillouzo C, Guillouzo A.** General Review on In Vitro Hepatocyte Models and Their Applications. In: Maurel P, editor. *Hepatocytes: Methods in Molecular Biology.* New York: Springer; 2010. p. 1-40. <http://doi.org/fj2xh5>.
 17. **Anthérieu S, Chesné C, Li R, Guguen-Guillouzo C, Guillouzo A.** Optimization of the HepaRG cell model for drug metabolism and toxicity studies. *Toxicol In Vitro.* 2012;26(8):1278-85. <http://doi.org/f4gwf>.
 18. **De Gottardi A, Vinciguerra M, Sgroi A, Moukil M, Ravier-Dall'Antonia F, Paziienza V, et al.** Microarray analyses and molecular profiling of steatosis induction in immortalized human hepatocytes. *Lab Invest.* 2007;87(8):792-806. <http://doi.org/bgecb2m>.
 19. **Perttilä J, Huaman-Samanez C, Caron S, Tanhuanpää K, Staels B, Yki-Järvinen H, et al.** PNPLA3 is regulated by glucose in human hepatocytes, and its I148M mutant slows down triglyceride hydrolysis. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2012;302(9): E1063-9. <http://doi.org/f3xfhw>.
 20. **Chávez-Tapia NC, Rosso N, Uribe M, Bojalil R, Tiribelli C.** Kinetics of the inflammatory response induced by free fatty acid accumulation in hepatocytes. *Ann Hepatol.* 2014;13(1):113-20.
 21. **Meex SJ, Andreo U, Sparks JD, Fisher EA.** Huh-7 or HepG2 cells: which is the better model for studying human apolipoprotein-B100 assembly and secretion? *J Lipid Res.* 2011;52(1):152-8. <http://doi.org/czqdx4>.
 22. **Miyata S, Inoue J, Shimizu M, Sato R.** Allyl isothiocyanate suppresses the proteolytic activation of sterol regulatory element-binding proteins and *de novo* fatty acid and cholesterol synthesis. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2016;80(5):1006-11. <http://doi.org/cvvg>.
 23. **Shao F, Ford DA.** Elaidic acid increases hepatic lipogenesis by mediating sterol regulatory element binding protein-1c activity in HuH-7 cells. *Lipids.* 2014;49(5):403-13. <http://doi.org/f5447s>.
 24. **Rohwedder A, Zhang Q, Rudge SA, Wakelam MJ.** Lipid droplet formation in response to oleic acid in Huh-7 cells is mediated by the fatty acid receptor PPAR. *J Cell Sci.* 2014;127(Pt 14):3104-15. <http://doi.org/f59zw3>.
 25. **Arrol S, Mackness MI, Laing I, Durrington PN.** Lipoprotein secretion by the human hepatoma cell line HepG2: differential rates of accumulation of apolipoprotein B and lipoprotein lipids in tissue culture media in response to albumin, glucose and oleate. *Biochim Biophys Acta.* 1991;1086(1):72-80. <http://doi.org/b67jv8>.
 26. **Gdula-Argasińska J, Garbacik A, Tyszkza-Czochara M, Woźniakiewicz M, Paško P, Czepiel J.** Identification of lipid derivatives in HepG2 cells. *Acta Biochim Pol.* 2013;60(4):811-5.
 27. **Gómez-Lechón MJ, Donato MT, Martínez-Romero A, Jiménez N, Castell JV, O'Connor JE.** A human hepatocellular in vitro model to investigate steatosis. *Chem Biol Interact.* 2007;165(2):106-16. <http://doi.org/cb676j>.
 28. **Forte TM.** Primary hepatocytes in monolayer culture: a model for studies on lipoprotein metabolism. *Ann Rev Physiol.* 1984;46(31):403-15. <http://doi.org/dc94rt>.
 29. **Schippers IJ, Moshage H, Roelofsen H, Muller M, Heymans HSA, Ruiters M, et al.** Immortalized human hepatocytes as a tool for the study of hepatocytic (de-)differentiation. *Cell Biol Toxicol.* 1997;13(4-5):375-86. <http://doi.org/b8q6vb>.
 30. **Castell JV, Jover R, Martínez-Jiménez CP, Gómez-Lechón MJ.** Hepatocyte cell lines: their use, scope and limitations in drug metabolism studies. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2006;2(2):183-212. <http://doi.org/db5mq2>.
 31. **Gómez-Lechón MJ, Donato T, Ponsoda X, Fabra R, Trullenque R, Castell JV.** Isolation, Culture and Use of Human Hepatocytes in Drug Research. In: Castell JV, Gómez-Lechón MJ. *In Vitro Methods in Pharmaceutical Research.* London: Academic Press; 1996. 129-153. <http://doi.org/frqwvv>.
 32. **Gripon P, Rumin S, Urban S, Le-Seyec J, Glaise D, Cannie I, et al.** Infection of a human hepatoma cell line by hepatitis B virus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(24):15655-60. <http://doi.org/fwfw8n>.
 33. **Aninat C, Piton A, Glaise D, Le Charpentier T, Langouët S, Morel F, et al.** Expression of Cytochrome P450, conjugating Enzymes and Nuclear Receptors in Human Hepatoma HepaRG Cells. *Drug Metab Dispos.* 2006;34(1):75-83. <http://doi.org/cjz3p>.
 34. **Caron S, Verrijken A, Mertens I, Samanez CH, Mautino G, Haas JT, et al.** Transcriptional activation of apolipoprotein CIII expression by glucose may contribute to diabetic dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(3):513-9. <http://doi.org/dmk25b>.
 35. **Nolan CJ, Larter CZ.** Lipotoxicity: Why do saturated fatty acids cause and monounsaturates protect against it? *J Gastroenterol Hepatol.* 2009;24(5):703-6. <http://doi.org/dmb3w7>.
 36. **Ricchi M, Odoardi MR, Carulli L, Anzivino C, Ballestri S, Pinetti A, et al.** Differential effect of oleic and palmitic acid on lipid accumulation and apoptosis in cultured hepatocytes. *J Gastroenterol Hepatol.* 2009;24(5):830-40. <http://doi.org/dh85dj>.
 37. **Miyata S, Inoue J, Shimizu M, Sato R.** 4'-Hydroxyflavanone suppresses activation of sterol regulatory element-binding proteins and *de novo* lipid synthesis. *FEBS Lett.* 2012;586(13):1778-82. <http://doi.org/f33fr9>.
 38. **Javitt NB.** HepG2 cells as a resource for metabolic studies: lipoprotein, cholesterol, and bile acids. *FASEB J.* 1990;4(2):161-8. <http://doi.org/cvvg>.
 39. **Rowe C, Gerrard DT, Jenkins R, Berry A, Durkin K, Sundstrom L, et al.** Proteome-wide analyses of human hepatocytes during differentiation and dedifferentiation. *Hepatology.* 2013;58(2):799-809. <http://doi.org/f6dcnc>.

40. Fang DL, Wan Y, Shen W, Cao J, Sun ZX, Yu HH, *et al*. Endoplasmic reticulum stress leads to lipid accumulation through upregulation of SREBP-1c in normal hepatic and hepatoma cells. *Mol Cell Biochem*. 2013;381(1):127-37. <http://doi.org/f5brn2>.
41. Park JY, Kim Y, Im JA, Lee H. Oligonol suppresses lipid accumulation and improves insulin resistance in a palmitate-induced in HepG2 hepatocytes as a cellular steatosis model. *BMC Complement Altern Med*. 2015;15:185. <http://doi.org/f7g7rh>.
42. Gibbons GF, Khurana R, Odwell A, Seelaenderz MC. Lipid balance in HepG2 cells: active synthesis and impaired mobilization. *J Lipid Res*. 1994;35(10):1801-8.
43. Ellsworth JL, Erickson SK, Cooper AD. Very low and low density lipoprotein synthesis and secretion by the human hepatoma cell line HepG2: effects of free fatty acid. *J Lipid Res*. 1986;27(8):858-74.
44. Dashti N, Wolfbauer G. Secretion of lipids, apolipoproteins, and lipoproteins by human hepatoma cell line, HepG2: effects of oleic acid and insulin. *J Lipid Res*. 1987;28(4):423-36. PMID: 3035039.
45. Gorgani-Firuzjaee S, Khatami S, Adeli K, Meshkani R. SH2 domain-containing inositol 5-phosphatase (SHIP2) regulates de-novo lipogenesis and secretion of apoB100 containing lipoproteins in HepG2 cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;464(4):1028-33. <http://doi.org/cvvgg>.
46. Kamper M, Manns CC, Plieschnig JA, Schneider WJ, Ivessa NE, Hermann M. Estrogen enhances secretion of apolipoprotein B-100 containing lipoproteins by BeWo cells. *Biochimie*. 2015;112:121-8. <http://doi.org/f7bjfn>.
47. Tabboon P, Sripanidkulchai B, Sripanidkulchai K. Hypocholesterolemic mechanism of phenolics-enriched extract from *Moringa oleifera* leaves in HepG2 cell lines. *Songklanakarinn J Sci Technol*. 2016;38(2):155-61. <http://doi.org/cvgh>.
48. Wu T, Zhong L, Hong Z, Li Y, Liu X, Pan L, *et al*. The effects of *Zanthoxylum bungeanum* extract on lipid metabolism induced by sterols. *J Pharmacol Sci*. 2015;127(3):251-9. <http://doi.org/f69b7z>.
49. Li B, Chen X, Wang Z, Liu H, Liu B, Yu S, *et al*. Two new monoterpenes and one dicaffeic acid ester from *Sibiraea angustata* with hypolipidemic activities in HepG2 cells *in Vitro*. *Phytochemistry Letters*. 2015;13:319-23. <http://doi.org/cvgj>.
50. Kang H. *Olea europaea* Linn (Oleaceae) Fruit Pulp Extract Suppresses Sterol Regulatory Element-Binding Proteins-1c via AMP-Activated Protein Kinase Activation in Human Hepatic Cells. *Trop J Pharm Res*. 2014;13(8):1265. <http://doi.org/cvbk>.
51. Tenore GC, Stiuso P, Campiglia P, Novellino E. *In vitro* hypoglycaemic and hypolipidemic potential of white tea polyphenols. *Food Chem*. 2013;141(3):2379-84. <http://doi.org/f5b3f5>.