



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

CENTRO DE FÍSICA APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA

MATEMÁTICAS HABLANDO BIOLOGÍA: MODELADO Y  
CONTROLABILIDAD DE LA ACTIVACIÓN DE LAS  
CÉLULAS ESTELARES HEPÁTICAS

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**Licenciada en Tecnología**

PRESENTA:

**María Guadalupe Trejo Arellano**

ASESOR:

Marco Tulio Angulo Ballesteros

CO ASESOR:

Guillermo Ramírez Santiago

Juriquilla, Querétaro, 2018





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*A los momentos y seres queridos  
que emprendieron su vuelo  
mientras yo volaba*

MI MADRE. Tremenda mujer. Con una gran fortaleza y enorme corazón. Fortaleza y corazón que me transmitió para enfrentar los retos día a día.

MI PADRE. Persona *tan astuto como el zorro y tan valiente como el león*.

ISABEL, dedicación, paciencia y fe. Brisa fresca que llegó a nuestras vidas.

JUAN MARTÍN, persona que me enseñó la importancia de estar dónde el *corazón* está.

MINERVA, “estrella de otro cielo”, no existe suficiente espacio en esta tesis para agradecerte. Serás estrella, pero me ayudas a mantener los pies firmes en *mi* camino.

AURORA, me mostraste que los sueños de los demás no tienen que ser tus sueños.

CECILIA, mi *pequeña* motivación para trabajar en un mundo mejor.

Esta etapa de mi vida que en mi *curriculum vitae* se va a escribir como “2014 - 2018 Licenciatura en Tecnología” ha sido más que asistir a la escuela, aprobar exámenes, cumplir con entregables. Además de mi desarrollo académico - profesional, he tenido la oportunidad de desarrollarme como persona. Además de definir el área de especialización que quiero continuar, he tenido la oportunidad de conocer y reafirmar el tipo de persona que soy.

He conocido personas admirables, convivido con ellas e incluso he tenido la fortuna de considerarlas “amigos” a lo largo de este viaje. Sin ellas, probablemente me hubiera perdido.

Le agradezco a la DRA. LUCÍA MORALES, mujer e investigadora admirable, por darme la oportunidad de jugar con los genomas de sus muestras y enseñarme cómo picar colonias de *Saccharomyces cerevisiae*. Sin embargo, mi más grande agradecimiento es por escucharme cuando las palabras formaban un nudo en mi alma. Por ser mi supervisora y, me atrevo a decir, mi amiga. Sin duda alguna, les agradezco a mis asesores de tesis. El DR. GUILLERMO RAMÍREZ, quién confió en mí y me dio la oportunidad de trabajar en este proyecto. Tuvo paciencia y certeza al contestar mis dudas. Le agradezco al DR. MARCO TULLIO, aunque en primer instancia, le agradezco a sus diversos temas de interés. Gracias a ellos, aceptó asesorar el proyecto, otorgándome la oportunidad de trabajar con él, compartir interesantes charlas, ganar unos cuantos cafés y encontrar MI pasión científica. Gracias por haberme tenido paciencia infinita cuando su idea iba 15 km adelante de mí o cuando la vida me abrumaba. **Gracias.**

Enorme agradecimiento a Jesús “CHUCHO” Godínez, quién me sostuvo antes de darme cuenta que estaba cayendo, es todo un placer señorear contigo, #rrrrrrrrromiedecalidad. Un *fuerte* agradecimiento a Luis DE SAN LUIS Escobar. Gracias por ayudarme y guiarme en saber que *yo* puedo ser fuerte.

Además de ganar amigos, también los he perdido. Personas con quienes actualmente conjugo “amistad” en pretérito perfecto. Durante e incluso después de nuestra amistad me compartieron sabiduría. Con una mano en el corazón les agradezco todo lo que compartimos.

No tenemos alas, pero tenemos familias. Le agradezco enormemente a mi familia. Son la base de mis alas. Mi impulso de despegue. Y mi aeródromo en tiempos de tormenta. **Gracias.**

María Trejo

# Datos del Jurado

1. Datos del Alumno  
Trejo  
Arellano  
María Guadalupe  
33 2456 1031  
mtrejo.arellano@gmail.com  
Universidad Nacional Autónoma  
de México  
Centro de Física Aplicada y Tec-  
nología Avanzada  
Tecnología  
415025634
2. Datos del tutor  
Dr.  
Angulo  
Ballesteros  
Marco Tulio
3. Datos del co tutor  
Dr.  
Ramírez  
Santiago  
Guillermo
4. Datos del sinodal 1  
Dr.  
Vargas  
Casillas  
Alejandro
5. Datos del sinodal 2  
Dr.  
Cuevas  
Vázquez  
Francisco Gabriel
6. Datos del sinodal 3  
Dr.  
Velasco  
Hernández  
Jorge Xicoténcatl
7. Datos del sinodal 4  
Dra.  
Hernández  
Fuentes  
Ayari
8. Datos del sinodal 5  
Dr.  
Miller  
Peña  
Rafael
9. Datos del trabajo escrito  
Matemáticas hablando biología:  
Modelado y controlabilidad de la  
activación de las células estelares  
hepáticas  
número de páginas: 75  
2019

# Índice general

<b>Resumen Ejecutivo</b>	<b>1</b>
<b>1. Construcción de la Red de Señalización Subyacente a la Activación de las Células Estelares Hepáticas</b>	<b>4</b>
1.1. El desarrollo, funcionamiento, sobrevivencia, de una célula son dependientes de las rutas de transducción subyacentes. . . . .	6
1.2. Activación de células estelares hepáticas en términos de rutas de transducción . . . . .	7
1.3. Construcción de la red de transducción . . . . .	9
1.4. Tabla de interacciones de la red de transducción? . . . . .	10
<b>2. Análisis de la activación de células estelares usando principios de teoría de control sobre redes</b>	<b>16</b>
2.1. Técnicas de análisis de sistemas dinámicos sobre redes complejas .	17
2.2. Análisis de Controlabilidad por Salida . . . . .	19
2.2.1. Controlabilidad estructural por salida . . . . .	20
2.2.2. Análisis de la contribución de cada nodo en la controlabilidad por salida del sistema . . . . .	21
2.3. Análisis de la controlabilidad a la activación de células estelares . .	22
2.3.1. Red biológica a Grafo $\mathcal{G}(\mathbb{X}, E)$ . . . . .	22
2.3.2. Análisis de Controlabilidad Estructural por Salida . . . . .	23
2.3.3. Análisis de la contribución de cada nodo en la controlabilidad por salida del sistema . . . . .	24
<b>3. Discusión: Lo que las matemáticas dicen sobre la activación de las células estelares hepáticas</b>	<b>26</b>
3.1. Análisis de Controlabilidad Estructural por Salida . . . . .	27
3.2. Espacio nulo izquierdo . . . . .	27
3.3. Pérdida de controlabilidad . . . . .	27
3.4. Conclusiones y trabajo futuro . . . . .	29
<b>A. Red de Transducción, grafo <math>\mathcal{G}(\mathbb{X}, E)</math>, sistema <math>\Sigma</math></b>	<b>30</b>

<b>B. El hígado, su homeostasis dependiente de su microarquitectura</b>	<b>37</b>
B.1. La organización celular y arquitectura del hígado . . . . .	38
B.2. Regeneración del hígado . . . . .	40
B.3. Fibrosis hepática . . . . .	41
<b>C. Contribución de cada nodo en la controlabilidad por salida del sistema</b>	<b>43</b>
<b>D. Mathematica en <i>Análisis controlabilidad por salida estructural</i></b>	<b>46</b>
<b>E. Mathematica en <i>Espacio Nulo Izquierdo</i></b>	<b>48</b>
<b>F. Mathematica en <i>Análisis de la contribución de cada nodo en la controlabilidad por salida del sistema</i></b>	<b>50</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>63</b>

# Índice de tablas

1.1. Moléculas y complejos moleculares pertenecientes a la red de transducción subyacente a la activación de HSCs, clasificados como entradas, mensajeros secundarios y salidas . . . . .	11
1.2. Moléculas y complejos moleculares pertenecientes a la red de transducción subyacente a la activación de HSCs, clasificados como entradas, mensajeros secundarios y salidas . . . . .	15
2.1. Moléculas y complejos moleculares pertenecientes a la red de transducción subyacente a la activación de HSCs, clasificados como entradas, mensajeros secundarios y salidas . . . . .	23
2.2. Nodos que presentan pérdida de controlabilidad para el sistema. . . . .	25
3.1. Dependencias entre nodos a factores de transcripción . . . . .	28
3.2. Elementos moleculares que presentan pérdida de controlabilidad para el sistema. . . . .	28

# Índice de figuras

A.1. Red de transducción bioquímica básica subyacente a la activación de las células estelares hepáticas compuesta de 29 moléculas, 6 receptores, 13 mensajeros secundarios, 10 factores de transcripción, construida a partir de las rutas de transducción que han sido reportadas en la literatura como presentes en el estado enfermo de las HSC. Nodo rojo == receptor, nodo azul == mensajero secundario y nodo verde == factor de transcripción .	31
A.2. Grafo $\mathcal{G}(\mathbb{X}, \mathbf{E})$ obtenido a partir de la red de transducción bioquímica básica subyacente a la activación de las células estelares hepáticas ???. Los nodos $\mathbb{X} = \{1, \dots, N\}$ corresponden a moléculas y complejos moleculares, y aristas de la forma $(j \rightarrow i) \in \mathbf{E}$ denotan que el $j$ -ésimo nodo participa directamente en la actividad del $i$ -ésimo nodo. Nodo rojo == receptor, nodo azul == mensajero secundario y nodo verde == factor de transcripción .	32
A.3. Matriz $\mathbf{A}$ . . . . .	33
A.4. Matriz $\mathbf{B}$ . . . . .	34
A.5. Matriz $\mathbf{C}$ . . . . .	35
A.6. Vector $\mathbf{x}$ . . . . .	36
B.1. Principales afecciones hepáticas . . . . .	40
C.1. Al eliminar el nodo correspondiente al <b>receptor</b> factor de crecimiento transformante ( <b>TGF<math>\beta</math></b> , por sus siglas en inglés) hay una ruptura en la red y se pierde control sobre el factor de transcripción (FT) p53. . . . .	44
C.2. Al eliminar el nodo correspondiente al <b>receptor</b> factor de necrosis tumoral ( <b>TNF<math>\alpha</math></b> , por sus siglas en inglés), además de la ruptura que se presenta en la red, se da una pérdida de controlabilidad sobre los FT IKK, NF $\kappa$ B, cJunk. . . . .	44
C.3. Al eliminar el nodo quinasa c-Jun N-terminal ( <b>JNK</b> ) no existe una ruptura en la red y existen caminos posibles para llegar a todos los factores de transcripción. . . . .	45
C.4. Al eliminar el nodo quinasa regulada extracelular ( <b>ERK</b> ) hay una leve ruptura en la red y se pierde control sobre el FT c-Fos. . . . .	45

F.1.	[30] División de un lóbulo hepático por sinusoides. . . . .	54
F.2.	[36] Pared sinusoidal del hígado. <b>a</b> vista superior. Las células estelares hepáticas están en contacto con las células endoteliales y hepatocitos. <b>b</b> vista lateral de la pared sinusoidal . . . . .	54
F.3.	<b>ER</b> : Retículo Endoplasmático, <b>N</b> : Núcleo, <b>G</b> : Aparato Golgi, <b>L</b> : vesículas de vitamina A, <b>M</b> : Matriz Extracelular. . . . .	55
F.4.	[Composición propia] Caricatura del proceso del cambio que sufren las HSCs ante la transdiferenciación a células tipo miofibroblastos . . . . .	55
F.5.	[37] Contraste hígado sano (hepatocitos sin daño, HSCs quiescentes, ECM casi nula) vs hígado en estado fibroso (hepatocitos dañados, HSCs activadas, sobre depósito de ECM. . . . .	56
F.6.	[36] Fases que sufre el hígado de estado sano a estado con cirrosis.	56
F.7.	[Composición propia] La comunicación eléctrica es el tipo de comunicación más rápida al pasar corriente eléctrica de una célula a otra por medio de las uniones comunicantes, quienes presentan baja resistencia. En cambio, la comunicación química no es la más rápida, pero es la más empleada para la difusión de información. Una célula libera moléculas que tienen como objetivo llegar a específicos receptores, quienes van a integrar la información al interior de la célula activando “rutas de señalización/transducción” que tienen como objetivo obtener un cambio en la célula como respuesta. . . . .	57
F.8.	[Composición propia] Los mensajeros pueden ser liberados por las células de diferentes maneras, en vesículas, anclados a la membrana celular, liberados a través de la membrana celular. Pueden estimular a las células vecinas, los que se encuentran anclados a la membrana celular se ligan al receptor vecino de manera física, yuxtacrinamente. Si el mensajero fue liberado al ambiente extracelular y se une a un receptor de la misma célula que lo liberó es comunicación <b>autocrina</b> , si es a una célula vecina es <b>paracrina</b> . Si el mensajero entró al vaso sanguíneo es una comunicación <b>endocrina</b> . . . . .	58
F.9.	[Composición propia] Representación de un grafo como sistema lineal invariante en el tiempo (LTI). En la tripleta de matrices <b>A</b> , <b>B</b> , <b>C</b> se denota el valor de interacción, en <b>A</b> del nodo $j$ con el nodo $i$ , <b>B</b> de la entrada al sistema $u_j$ con el nodo $i$ . <b>C</b> del nodo $j$ con la salida $y_j$ . <b>x</b> es el vector de los nodos del grafo. <b>u</b> es el vector de entradas al sistema. . . . .	59
F.10.	Grafos topológicamente congruentes. La variación es entre los valores de sus interacciones, sin embargo, si se obtiene su correspondiente representación LTI la tripleta de matrices estructurales va a tener el mismo patrón de ceros. . . . .	59

F.11. Representación LTI. Se observa que el patrón de ceros se mantiene constante, lo único que cambia es el valor absoluto de las interacciones, es decir, la topología del grafo es constante . . . . . 60

F.12. [26] Hígado normal. Dividido en dos lóbulos por el ligamento falciforme. . . . . 61

F.13. [26] Anatomía arterial del hígado en ocho segmentos funcionales independientes. . . . . 61

F.14. [38] Microscopía electrónica del lóbulo hepático. El hígado está conformado por lóbulos hepáticos de forma poliédrica. En las esquinas se encuentra el tracto portal (**TPV** terminal portal veins): vena hepática, de arteria hepática y conducto biliar, **H**: Hepatocitos, organizados en láminas anastómicas. **S**: sinusoides por las cuales las venas y arterias portales se comunican con la vena central (**CLV**). Las flechas indican el acceso intralobular por el que fluye la sangre al hígado. . . . . 62

# Resumen Ejecutivo

## Planteamiento del problema

Al presentarse un daño al hígado, la liberación de mediadores inflamatorios activan una cascada de reacciones bioquímicas que inducen la transdiferenciación de las HSCs en miofibroblastos que expresan colágeno fibroso con la finalidad de reparar el daño hepático. En estado “sano”, las HSCs almacenan y se encargan de la correcta homeóstasis de vitamina A. Al proceso de cambio de fenotipo de las HSCs se le denomina “activación” [1]. Durante la activación, las HSCs pierden las vesículas de vitamina A, se vuelven altamente proliferativas, contráctiles e incrementan su producción de colágeno fibroso y de proteínas inhibitoras de enzimas metaloproteinasas (i.e., TIMPs, *Tissue inhibitors of metalloproteinases*). Estas enzimas en estado sano se encargan de mantener el equilibrio de las proteínas presentes en la matriz celular, en particular de las fibrosas. El desequilibrio de proteínas fibrosas en la matriz celular es una fuente continua de señales que se encargan de mantener activo el mecanismo de reparación, ahora en estado patogénico, conllevando al desarrollo de fibrosis hepática.

Entender y controlar el proceso de activación de las células estelares hepáticas (HSCs, por sus siglas en inglés) permitiría crear nuevas formas de prevenir, tratar y finalmente revertir la fibrosis. En esta tesis proponemos utilizar avances recientes en control de redes complejas [2] para caracterizar los factores que juegan un papel central en la controlabilidad del proceso de activación.

## Motivación

En México la cirrosis hepática, con una tasa de 30,000 muertes por año, es la cuarta causa de mortalidad en el país, siendo una de las tasas más altas de mortalidad en Latinoamérica [3]. La cirrosis es una enfermedad que afecta a cientos de millones de personas a nivel mundial. Solamente en los EUA ocurren 30,000 muertes cada año como consecuencia de cirrosis. En Europa occidental y EUA el número de casos de pacientes que padecen de hepatocarcinoma va en aumento. Estas cifras se incrementan cada año, generando costos económicos y sociales im-

portantes [4, 5]. Esto hace que la búsqueda de tratamientos para prevenir, tratar y curar la fibrosis sea un tema prioritario de salud pública.

Las investigaciones actuales sobre la fibrosis hepática se enfocan en el estudio de las HSCs debido a que investigaciones recientes las señalan como la principal fuente de miofibroblastos ante un daño hepático [6].

## Resultados en tres puntos

Resolviendo el problema que se plantea, nuestras contribuciones incluyen:

1. La construcción de la red de transducción de señales bioquímicas simplificada, subyacente al proceso de activación de las HSC. En esta red, moléculas y complejos bioquímicos son representados como nodos y las aristas dirigidas corresponden a interacciones entre moléculas. Es importante resaltar que esta red no contiene signos de las interacciones (i.e., reacciones inhibitorias o promotoras) o sus magnitudes (i.e., intensidades), las cuales son difíciles de inferir experimentalmente.
2. Identificación de los nodos que juegan un papel central en la controlabilidad de activación de las HSC. Para esto, modelamos las HSC como una red compleja con nodos de entrada correspondientes a receptores (e.g.,  $TGF\beta$ , VEGF, NICD,  $PDGF\beta$ ,  $TNF\alpha$ , PTC), moléculas intermedias de distintas naturalezas químicas que actúan como mensajeros secundarios (e.g., Ras-1, FAK, JNK, MEK, etc), y nodos de salida correspondientes a factores de transcripción (e.g., SMAD7, p53, c-Fos, Hes-1,  $NF\kappa B$ , ATF-2, cJunk, Elk-1, IKK, AP-1). La activación y eventual recuperación de las HSC corresponden a la habilidad de controlar las salidas mediante la manipulación de las entradas. Esto nos permite estudiar el proceso de activación a través de analizar la controlabilidad por salida de la red construida en el punto 1 utilizando herramientas recientes de control de redes complejas [2, 7].
3. Análisis de las predicciones obtenidas desde una perspectiva biológica. Evaluamos la plausibilidad de las predicciones obtenidas a través del análisis de control de redes complejas. A partir del análisis de la controlabilidad de la red construida podemos concluir que JNK es un nodo importante pues su ausencia causa pérdida de controlabilidad. Una revisión bibliográfica exhaustiva apoya esta predicción obtenida a partir del análisis matemático, pues la ausencia de JNK impide la regulación de la expresión de colágeno.

El resto de esta tesis está organizada como sigue:

- Capítulo 1: Se describe la organización celular del hígado formando lo que se conoce como su “arquitectura”. También se explica el mecanismo de reparación de un daño al hígado.
- Capítulo 2: El funcionamiento de cualquier órgano depende de la comunicación que exista entre sus células. Las maneras de comunicación entre células se detalla en este capítulo. Con base en la comunicación celular se construyó la red de transducción subyacente a la activación de las células estelares hepáticas.
- Capítulo 3: En este capítulo se detallan las herramientas de teoría de control aplicadas al estudio de redes complejas que se utilizaron en esta tesis y su aplicación al análisis de la red construida de transducción subyacente a la activación de las células estelares hepáticas.
- Capítulo 4: En este capítulo se interpretan biológicamente los resultados obtenidos en el capítulo 3 y se describen las oportunidades de trabajo a futuro.

## Capítulo 1

# Construcción de la Red de Señalización Subyacente a la Activación de las Células Estelares Hepáticas

## Resumen

*Como organismos multicelulares, los seres humanos se organizan por células, la unidad fundamental de la vida. El funcionamiento y sobrevivencia de las células depende de la comunicación que se establezca entre ellas y con el ambiente extracelular. Para comunicarse, las células integran lo que se denomina “rutas de transducción”. La célula experimenta cambios dependiendo de las rutas de transducción que sean activadas. Estudiando la relación que existe entre rutas de transducción y la biología de las células, es posible conocer los procesos genotípicos (del material genético) y los fenotípicos (aparición externa) que pueden correlacionarse a las diferentes enfermedades humanas, en este caso, la activación de células estelares hepáticas.*

## Antecedentes

### Células estelares hepáticas

Las células estelares hepáticas tienen un núcleo ovalado y se encuentran en el espacio de Disse. La matriz del citoplasma de estas células tiene manojos de microfilamentos y microtúbulos. Existe una distancia de aproximadamente  $40 \mu\text{m}$  núcleo-núcleo entre 2 células. En su citoplasma se encuentra el aparato Golgi largo, retículo endoplásmico rugoso completamente desarrollado, retículo endoplásmico suave poco desarrollado, pocas mitocondrias y una gran cantidad de vesículas que contienen lípidos, principalmente vitamina A (vA). Con un diámetro de hasta  $8 \mu\text{m}$ , las vesículas de vA contribuyen al 20.5% del volumen de las HSCs en estado sano [4]. Las células estelares almacenan aproximadamente el 80% de la vA del cuerpo humano, regulando la fisiología y fisiopatología del metabolismo de vA [F.1] [8].

Las HSCs tienen 2 fenotipos bien definidos: uno en estado sano del hígado, y otro ante un daño del hígado. El estado sano se denomina quiescente; sus principales características son abundantes vesículas conteniendo lípidos, baja tasa de proliferación y de capacidad sintética. Ante un daño la célula pasa a un estado “activado”, presentando ausencia de vesículas de lípidos, incrementando la proliferación celular y la síntesis de elementos de la matriz extracelular, en particular colágeno tipo I. Para pasar de estado sano al activado, la célula sufre una “transdiferenciación”, es decir adquiere el fenotipo de miofibroblasto [F.2]. Los miofibroblastos son células que se definen por una alta presencia de microfilamentos de  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA), con abundante cantidad de retículos endoplásmicos, aparatos de Golgi, mitocondrias, vacuolas y ribosomas [9]. Durante el periodo de daño al hígado

do, las HSC son activadas gracias a las moléculas liberadas principalmente por células KC y hepatocitos. El proceso de activación está compuesto por 2 etapas:

- La etapa de iniciación o pre inflamatoria se debe principalmente a una comunicación paracrina de mensajeros expresados por hepatocitos heridos, KC y los cambios en la matriz extracelular. En esta etapa suceden cambios en la expresión de genes y se incrementa la expresión de colágeno tipo I y III. En el fenotipo de las HSCs,  $\alpha$ SMA (smooth muscle  $\alpha$ -actin), y pierde las vesículas de vA.
- Perpetuación se refiere a la etapa en la que se amplifican los cambios de expresión génica y fenotípica. La continúa remodelación causa que la matriz extracelular sea reemplazada por fibras ricas en colágeno, lo cual acelera la activación de las células estelares hepáticas.

Una vez que las HSCs se han transdiferenciado a miofibroblastos, empiezan a remodelar la matriz extracelular en la zona hepática dañada al expresar proteínas fibrosas, principalmente colágeno tipo I y III y fibronectina, e inhibiendo la producción de metaloproteinasas. Las proteínas fibrosas al ser depositadas van contrayendo la herida y cuando se ha reparado el daño se desactiva la producción de proteínas con la desaparición de los miofibroblastos, mayormente a través de apoptosis. La producción continua de proteínas fibrosas por parte de los miofibroblastos es considerada una de las principales causas de la fibrosis hepática crónica [10].

Información complementaria sobre el hígado y las HSCs: Apéndice B

## **1.1. El desarrollo, funcionamiento, sobrevivencia, de una célula son dependientes de las rutas de transducción subyacentes.**

La actividad de una célula se ve alterada por las señales externas que recibe. En la membrana celular se encuentran receptores que detectan las señales externas y las integran intracelularmente activando señales internas que en conjunto conforman una ruta de señalización [11]. La señal externa puede provenir del ambiente extracelular (pH, nutrientes disponibles, temperatura, etc.) o puede ser una señal emitida por otra célula. Las señales entre células pueden ser de diversos tipos, principalmente eléctricas o químicas [F.7]. La señalización eléctrica es el tipo de comunicación más rápida; es utilizada principalmente en el corazón y el cerebro. La señalización química es la manera de comunicación más utilizada por las células.

En la señalización química, la célula que quiere emitir el mensaje secreta al medio extracelular una molécula denominada “primer mensajero” o “ligando”. Cada primer mensajero se une de manera saturable a una proteína específica denominada “receptor” [12]. Los receptores son proteínas flexibles y generalmente se encuentran

en la parte externa de la membrana celular. Sin embargo, puede suceder que un primer mensajero sea una molécula hidrofóbica y se una a un receptor que esté en la membrana celular de manera interna, en el citoplasma o directamente en el núcleo celular. Una vez que el ligando se unió al receptor activándolo, el receptor se encarga de transducir la información de la señal causando cambios en la función celular. La mayoría de los receptores al ser activados producen pequeñas moléculas, “segundos mensajeros”, que pueden tener actividad inhibitoria o activadora. Al proceso de “acarreo” y “traducción” de las señales extracelulares de manera intercelular, colectivamente, se llaman ruta de transducción o ruta de señalización [12].

Existen diversas rutas de transducción en una sola célula. Cada ruta induce una respuesta a determinada situación. Es importante señalar que los primeros mensajeros no transportan información intrínseca, la información que recibe la célula depende del tipo de célula receptora, las características del receptor que sea activado y del ambiente celular (i.e., matriz extracelular) [13].

Una célula en todo momento recibe señales extracelulares, procesando esta información a través de rutas de transducción o señalización. Sin embargo, entre estas rutas pueden existir puntos de intersección, es decir, que un segundo mensajero esté involucrado en dos o más rutas de transducción diferentes, formando una “red de rutas” que engloba varias rutas de señalización. Gracias a esta red de señalización, las células pueden responder y modificar su actividad como respuesta a los diversos estímulos del medio extracelular [11].

Existe enorme cantidad de primeros mensajeros, con diferentes propiedades químicas y físicas, expresados por diferentes tipos celulares y que son transportados por diferentes medios. Los primeros mensajeros son clasificados en cinco principales categorías: neurotransmisores, hormonas, factores de crecimiento, estímulos superficiales y estímulos sensoriales [11]. Por otro lado, cuando los primeros mensajeros son expresados por glándulas y secretados al torrente sanguíneo, se dice que existe una comunicación “endocrina”. Y si los primeros mensajeros se ligan a los receptores de la célula que los expresó se denomina comunicación “autocrina”. Cuando los ligandos se quedan en la hendidura sináptica, la comunicación es sináptica. Si los primeros mensajeros se quedan unidos a la membrana de la célula que los expresó la comunicación es yuxtacrina [F.8].

## **1.2. Activación de células estelares hepáticas en términos de rutas de transducción**

Cuando los hepatocitos son dañados, inician el proceso de regeneración al expresar y liberar al medio extracelular, principalmente, factores de crecimiento. Los principales factores de crecimiento que son liberados son factor de crecimiento de

hepatocitos (HGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento transformante  $\alpha$  ( $TGF\alpha$ ), y factor de crecimiento tipo insulina. Estos factores de crecimiento inducen la replicación de hepatocitos y colangiocitos. Con más precisión HGF se une a la matriz extracelular activando su degradación por medio de metaloproteinasas a otros factores de crecimiento (i.e. factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), y factor de crecimiento de fibroblastos (FGF)) y la citosina  $TGF\beta$  (factor de crecimiento transformante  $\beta$ ). Por su parte, las células Kupffer (KC) expresan el factor de necrosis tumoral ( $TNF\alpha$ ), que estimula la producción de la citocina interleucina 6 (IL-6). La ruta de señalización Hedgehog (Hh) es necesaria en la regeneración del hígado, promoviendo la acumulación de células inflamatorias (KC), el depósito de matriz extracelular, y la remodelación vascular [14].

La detención del proceso de regeneración del hígado es una etapa muy delicada, puesto que el factor  $TGF\beta$  – que detiene la regeneración de las células parenquimatosas – activa la producción de proteínas fibrosas de la matriz extracelular. La señal de paro a la regeneración sucede en paralelo con la reconstrucción de las sinusoides a cargo de las células endoteliales y el restablecimiento de la comunicación vascular por los factores de crecimiento angiogénicos VEGF, EGF, PDGF, angiopoyetina. Al mismo tiempo, las HSCs son atraídas por los factores de crecimiento PDGF, EGF, FGF, con señalización amplificada por  $TGF\beta$  a los espacios de Disse reconstruidos y son activadas gracias a  $TGF\beta$  para la expresión y deposición de colágeno fibroso tipo I y II, principalmente, para la recuperación de la matriz extracelular y completar la regeneración del parénquima [14]. Cuando finalmente se termina la regeneración del hígado, las células estelares transdiferenciadas a miofibroblastos son eliminadas por medio de apoptosis o una regresión no completa a su fenotipo quiescente.

Sin embargo, si se trata de un daño recurrente, las rutas de señalización van a estar en constante activación, incrementando la cantidad de HSCs transdiferenciadas, su tasa de proliferación y de producción de proteínas fibrosas. Estas proteínas establecerán señales de retroalimentación hacia los ahora miofibroblastos para la continua expresión de proteínas fibrosas, lo que en conjunto tiene como consecuencia la fibrosis hepática. La ventana de tiempo para que la fibrosis hepática se pueda revertir a partir de la eliminación del agente etiológico es pequeña. En una sola ocurrencia de daño se reestablece la comunicación entre hepatocitos y la matriz aproximadamente en 4 días gracias a las HSCs activadas. Después de este tiempo, si el daño se continúa se produce la fibrosis hepática [14].

### 1.3. Construcción de la red de transducción

La red de transducción subyacente a la activación de las HSCs fue construida a través de una revisión exhaustiva de la literatura [Apéndice B]. Los artículos experimentales considerados consistían en la comprobación de la activación de moléculas mensajeras pertenecientes a las rutas de señalización en experimentos en HSCs de ratón, rata, *in vivo e in vitro*. Las HSCs eran activadas mediante el virus de la hepatitis, intoxicación con  $\text{CCl}_4$ , o bien al ser cultivadas en un medio simulando una matriz extracelular rígida.

En las rutas de transducción seleccionadas el receptor tiene un comportamiento cinético clásico (los primeros mensajeros se unen de manera saturable al receptor). Como conclusión de nuestra revisión bibliográfica, encontramos los siguientes 6 receptores que juegan un papel esencial en la activación de las HSCs:

- Hedgehog (Ptc: receptor Patched)
- Notch Signaling Pathway (NICD: Notch Intracellular Domains)
- $\text{TGF}\beta$  (Transforming Growth Factor  $\beta$ )
- $\text{PDGF}\beta$  (Platelet Derived Growth Factor  $\beta$ )
- VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)
- $\text{TNF}\alpha$  (Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ )

A partir de los receptores anteriores se seleccionaron los mensajeros secundarios y sus factores de transcripción que experimentalmente se ha demostrado son efectores en cada ruta de transducción. Utilizando este conjunto de receptores, mensajeros secundarios y sus factores de transcripción, se construyó una red de sus interacciones [Apéndice A]. Los factores de transcripción fueron elegidos como el punto final de cada ruta de transducción puesto que son los elementos moleculares que controlan la expresión génica, ocasionando cambios en la célula. Además, un factor de transcripción puede controlar la expresión de más de un gen, lo que ofrece un mayor rango de elementos controlados. Y son la ruta transcripcional directa que provoca la activación de las HSCs [1].

## 1.4. Tabla de interacciones de la red de transducción?

		[15]	[16]	[17]
TGF $\beta$	Ras-1, Raf-1, MEK		TGF $\beta$ induce la activación de las moléculas mensajeras Ras-1, Raf-1, MEK, independientemente a PDGF $\beta$ .	TGF $\beta$ activa a Ras quien en consecuencia activa a Raf-1 y MEK.
	SMAD 2/3/4			Después ser activado el receptor de TGF $\beta$ , activa las proteínas SMAD2 y SMAD3, una vez activadas forman un complejo con SMAD4.
TNF $\alpha$	cJunk, AP-1		TNF $\alpha$ activa los ft cJunk y AP-1, lo que conlleva la expresión de genes referentes a la matriz extracelular.	TNF $\alpha$ activa los ft cJunk y AP-1, lo que conlleva la expresión de genes referentes a la matriz extracelular.
ERK	Elk-1			Cuando ERK es activado por MEK, transloca al núcleo y fosforila ft como Elk-1
SMAD7	TGF $\beta$			SMAD7 actúa como inhibidor hacia el receptor activo TGF $\beta$ .
PDGF $\beta$				

	SH-2 /Grb2 /mSos (S/-G/S), Ras-1, Raf-1, MEK, ERK	Cuando el receptor PDGFB es activado, recluta a la molécula mensajera Ras-1. Después de ser activado, Ras-1 activa la ruta de señalización ERK. La activación de esta ruta es a través de Raf-1.	El receptor activado de PDGFB llama a la molécula señalizadora Ras. Después de ser activado por PDGFB, Ras activa la ruta de señalización de ERK. La activación de esta ruta es a través de Raf-1.	La activación de Ras-1 por parte de PDGFB es esencial para la activación de la ruta de ERK. Una vez activo Ras-1, activa a Raf-1. Una vez activado por Ras-1, activa a MEK. MEK activado por Raf-1 activa ERK.
	Ras-1, FAK, PI3K, AKT, p70		La activación de PI3K es necesaria para la quimioatracción y mitogénesis de las HSCs. PI3K es activado a través de FAK.	El receptor PDGF activa a FAK. Complejo proteico que interactúa con las proteínas de la ECM. PDGFB activa a FAK, quinasa que interactúa con las proteínas de la ECM por interacciones integrinas. La activación de FAK tiene como consecuente la activación de PI3K, alentando a la HSC a proliferar. PI3K activa a AKT, promoviendo una respuesta anti apoptótica por parte de la célula activada. AKT promueve la activación de p70 como blanco primario.

Tabla 1.1: Moléculas y complejos moleculares pertenecientes a la red de transducción subyacente a la activación de HSCs, clasificados como entradas, mensajeros secundarios y salidas

		[18]	[19]	[20]
TGF $\beta$	Ras-1, Raf-1, MEK		TGFbeta activa la ruta de señalización del mitogen-activado cinasa. Esto es a través de Ras-1 - Raf-1.	
	SMAD 2/3/4	Una vez activado el receptor TGF $\beta$ , activa a SMAD2 y SMAD3 quienes forman un complejo con SMAD4.	Una vez activado el receptor TGF $\beta$ , activa a SMAD2 y SMAD3 quienes forman un complejo con SMAD4.	Una vez que el receptor TGF $\beta$ es activado, se une a SMAD2 y SMAD3. Complejo que se une a SMAD4, translocándose al núcleo y regulando la transcripción..
	JNK	De manera independiente a la ruta de señalización de SMAD. TGF $\beta$ activa a JNK.		
PDGF $\beta$				

	<p>SH-2 /Grb2 /mSos (S/-G/S), Ras-1, Raf-1, MEK, ERK</p>	<p>PDGF<math>\beta</math> activa primeramente a Ras-1. Consecuentemente de su activación, Ras-1 activa a Raf-1. Raf-1 activa a MEK. ERK es activado después de la activación de MEK.</p>	<p>Al receptor PDGF<math>\beta</math> se le une un complejo conformdo por src-homology, proteína Grb2 y el factor de intercambio mSos. Después de la activación del complejo S/G/S. Este complejo procede a la activación de Ras-1. Una vez activado por el complejo S/G/S, Ras-1 activa a Raf-1.</p>	<p>El receptor PDGF<math>\beta</math> activa la ruta de señalización ERK después de su activación.</p>
	<p>Ras-1, FAK, PI3K, AKT, p70</p>	<p>Se ha demostrado que el receptor PDGF<math>\beta</math> activa a FAK. La activación de PI3K por parte de FAK, quién es activado por PDGF es necesaria para la proliferación de las HSCs activadas. Al ser activado PI3K, induce la activación de AKT. p70 es otra molécula perteneciente a la ruta de señalización PI3K-AKT.</p>	<p>La fosforilización de FAK puede estar mediada por PDGF<math>\beta</math></p>	<p>PDGF<math>\beta</math>, al igual que otros factores de crecimiento pueden activar receptores de tirosina, lo que conlleva a la activación de PI3K y la fosforilación de AKT; AKT activado regula la síntesis de proteínas fibróticas.</p>

	JNK		Se ha reportado la activación de JNK, parte de la familia de SPAKs, por PDGF $\beta$	
TNF $\alpha$	cJunk, AP-1		TNF $\alpha$ activa los ft cJunk y AP-1, lo que conlleva la expresión de genes referentes a la matriz extracelular.	TNF $\alpha$ activa los ft cJunk y AP-1, lo que conlleva la expresión de genes referentes a la matriz extracelular.
ERK	Elk-1		La translocación nuclear de ERK se asocia con la consecuente activación de ft como Elk-1	
	cFos		En humanos, se ha demostrado que la activación de ERK tiene como consecuencia el incremento de los niveles de expresión de cFos	
SMAD7	TGF $\beta$	SMAD7 se une al receptor activado TGF $\beta$ impidiendo que se una a SMAD2 y SMAD3.	En contraste a las proteínas SMAD 2 y 3, SMAD7 funciona de manera negativa hacia el receptor TGF $\beta$	

NF $\kappa$ B				Es una familia de factores de transcripción que regula la inflamación, inmunidad, respuesta de sanación heridas.
AP-1				La expresión de AP-1 es evidente en estados tempranos de la activación de HSCs, cuando incrementa la transcripción de TIMPs y regula la expresión de colágeno tipo I.

Tabla 1.2: Moléculas y complejos moleculares pertenecientes a la red de transducción subyacente a la activación de HSCs, clasificados como entradas, mensajeros secundarios y salidas

## Capítulo 2

# Análisis de la activación de células estelares usando principios de teoría de control sobre redes

## Resumen

*En el capítulo 2 se describió la construcción de la red de señalización subyacente a la activación de las HSCs a partir de la revisión literaria. En este capítulo, se describe la traducción de una red de interacciones moleculares a un grafo dirigido  $\mathcal{G}(\mathbb{X}, \mathbb{E})$  donde sus nodos  $\mathbb{X} = \{1, \dots, N\}$  corresponden a moléculas y complejos moleculares, y aristas de la forma  $(j \rightarrow i) \in \mathbb{E}$  denotan que el  $j$ -ésimo nodo participa directamente en la actividad del  $i$ -ésimo nodo. Una vez que se cuenta con esta estructura matemática se realiza el análisis de controlabilidad por salida usando herramientas de teoría de control de redes complejas. Este análisis revela mecanismos que permiten controlar factores de transcripción a partir de la manipulación de señales recibidas por los receptores. En el Apéndice A se muestra la red de transducción subyacente a la activación de las células estelares hepáticas además del grafo  $\mathcal{G}(\mathbb{X}, \mathbb{E})$  al que se traduce la red.*

## Antecedentes

### 2.1. Técnicas de análisis de sistemas dinámicos sobre redes complejas

Denominamos “dinámico” a un fenómeno que cambia con el tiempo. En el entorno en el que nos desenvolvemos encontramos muchos ejemplos de este tipo de fenómenos como lo es la vida en sí, el envejecimiento, la expresión de proteínas, la infección de una bacteria a un organismo, entre otros. Existen fenómenos dinámicos complejos cuyo comportamiento solamente se puede entender a través de la implementación de herramientas matemáticas. Por ejemplo, predecir la evolución temporal del fenómeno considerando la interacción entre los componentes internos y externos. Es en función de estas tres características que puede ser útil un análisis de un “sistema dinámico complejo” [21].

El estudio de un sistema lo hacemos con la finalidad de comprender su comportamiento. Una manera de medir nuestra comprensión del sistema es por medio de cuánto control se puede ejercer sobre el sistema. La noción de “control” la definió formalmente en 1963 Rudolf Kalman como la capacidad de llevar un sistema de un estado inicial a un estado final en una cantidad finita de pasos, independientemente de cuales sean esos dos estados [22].

Nuestra curiosidad actual de estudiar redes subyacentes asociadas a sistemas dinámicos complejos, interacciones sociales, reacciones bioquímicas que se llevan a cabo en los organismos, entre otros, han tenido como consecuencia la fusión de teoría

de control y ciencia de redes [2].

La teoría de control se puede presentar de manera más simple en los sistemas lineales invariantes (LTI) en el tiempo. Este formalismo es denominado “espacio de estados”. El concepto de “estado” de un sistema dinámico lo introdujo a la teoría de control Rudolf Kalman en los años 1960s. Lo definió como la entidad matemática que media entre las entradas y salidas de un sistema dinámico [22]. Un sistema con  $n$  componentes a lo largo del tiempo  $t$  está descrito por un vector  $\mathbf{x}(t) \in \mathbb{R}^n$ . Si el sistema contiene  $m$  entradas de control, el valor de cada una de estas entradas al tiempo  $t$  puede describirse por un vector  $\mathbf{u}(t) \in \mathbb{R}^m$ . Por tanto, la dinámica de un sistema controlado LTI puede describirse como:

$$\begin{aligned} \dot{x}_1(t) &= a_{11}x_1(t) + a_{12}x_2(t) + \dots + a_{1n}x_n(t) \\ \dot{x}_2(t) &= a_{21}x_1(t) + a_{22}x_2(t) + \dots + a_{2n}x_n(t) \\ &\vdots \end{aligned} \tag{2.1}$$

$$\dot{x}_n(t) = a_{n1}x_1(t) + a_{n2}x_2(t) + \dots + a_{nn}x_n(t)$$

$$\begin{aligned} y_1(t) &= c_{11}x_1(t) + c_{12}x_2(t) + \dots + c_{1n}x_n(t) \\ y_2(t) &= c_{21}x_1(t) + c_{22}x_2(t) + \dots + c_{2n}x_n(t) \\ &\vdots \\ y_p(t) &= c_{p1}x_1(t) + c_{p2}x_2(t) + \dots + c_{pn}x_n(t) \end{aligned} \tag{2.2}$$

o de forma matricial:

$$\begin{aligned} \dot{\mathbf{x}} &= \mathbf{A}\mathbf{x}(t) + \mathbf{B}\mathbf{u}(t), \\ \mathbf{y} &= \mathbf{C}\mathbf{x}(t), \end{aligned} \tag{2.3}$$

donde:

- $\mathbf{A} \in \mathbb{R}^{n \times n}$  matriz de los coeficientes  $a_{ij}$  caracterizan el signo y fuerza de las interacciones entre las variables de estado.
- $\mathbf{x} \in \mathbb{R}^n$  vector de las variables de estado.
- $\mathbf{B} \in \mathbb{R}^{n \times m}$  matriz de coeficientes  $b_{lk}$  que caracterizan cómo las variables de estado son afectadas por las entradas de control.
- $\mathbf{u} \in \mathbb{R}^m$  vector de las variables de entradas al sistema o de variables de control.
- $\mathbf{C} \in \mathbb{R}^{p \times n}$  matriz de los coeficientes  $c_{ij}$  que caracterizan la combinación de las variables de estado para crear las salidas del sistema.

La mayoría de los sistemas dinámicos reales son sistemas no lineales. El modelo estado-espacio de un sistema dinámico no lineal de manera general puede representarse como:

$$\begin{aligned}\dot{\mathbf{x}}(t) &= f(\mathbf{x}(t), \mathbf{u}(t)) \\ \mathbf{y}(t) &= h(\mathbf{x}(t))\end{aligned}\tag{2.4}$$

En estas ecuaciones, las funciones  $f : \mathbb{R}^n \times \mathbb{R}^m \rightarrow \mathbb{R}^n$  y  $h : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^p$  pueden ser no lineales. La Ec. (2.3) es un caso particular de estos modelos no lineales. Desafortunadamente, el análisis de sistemas no lineales es significativamente más complicado que el de sistemas lineales. En muchas ocasiones, como es el caso del análisis de controlabilidad, la complejidad es tal que el problema se vuelve intratable en la práctica.

Una forma de sobrellevar la complejidad de analizar la controlabilidad de sistemas no lineales es utilizar su linealización. La linealización se basa en construir un sistema lineal que aproxime el comportamiento del sistema no lineal alrededor de un punto de equilibrio o punto de operación. Para nuestro análisis, la linealización resulta muy útil, pues matemáticamente la linealización implica la “controlabilidad local” (formalmente definida como accesibilidad) del sistema no lineal. Dado el sistema no lineal  $\dot{x} = f(x, u)$  y un punto de operación  $(x_0, u_0) \in \mathbb{R}^n \times \mathbb{R}^m$ , su linealización puede escribirse en la forma de la Ec. (2.3) con  $\mathbf{A} = \left. \frac{\partial f}{\partial x} \right|_{x=x_0, u=u_0}$  y  $\mathbf{B} = \left. \frac{\partial f}{\partial u} \right|_{x=x_0, u=u_0}$ . Para nuestro análisis, supondremos que el sistema de transducción celular subyacente a la activación de las HSCs comienza en algún punto de equilibrio  $(x_0, u_0)$ . Bajo esta hipótesis y utilizando su linealización, podremos realizar el análisis de la controlabilidad de este sistema utilizando un modelo lineal. Utilizar sistemas lineales será también útil pues, dada una red dirigida o grafo  $\mathcal{G}(\mathbb{X}, \mathbb{E})$ , podemos asociar el conjunto de todos los sistemas LTI como en la Ec. (2.3) que tiene dicha red, como se describe a continuación.

## 2.2. Análisis de Controlabilidad por Salida

A partir de las matrices  $(\mathbf{A}, \mathbf{B}, \mathbf{C})$  del sistema  $\Sigma$  se realiza el análisis de controlabilidad por salida. El sistema de la Ec. (2.3) se dice “controlable por salida” si para cualquier valor inicial de la salida  $y(0) \in \mathbb{R}^P$  y cualquier otro valor deseado  $y_d \in \mathbb{R}^P$ , existe una entrada de control  $u(t)$  tal que  $y(T) = y_d$  para un tiempo  $T$  finito. El criterio de controlabilidad propuesto por Rudolf Kalman en 1963 [22] puede utilizarse para probar que el sistema es controlable por salida si y solo si se cumple la condición  $rank[\mathbf{H}] = P$ , donde

$$H = [CB \quad CAB \quad CA^2B \quad \dots \quad CA^{N-1}B], \text{ es la matriz de controlabilidad} \quad (2.5)$$

Intuitivamente, la controlabilidad por salida requiere que podamos manipular arbitrariamente la salida a través de las entradas de control. La imagen de la matriz  $\mathbf{H}$  caracteriza el subespacio de  $\mathbb{R}^P$  en donde la salida puede manipularse. La condición  $\text{rank}[\mathbf{H}] = P$  implica que dicho subespacio coincida con el espacio completo  $\mathbb{R}^P$ .

Debido a que una matriz ésta conformada de columnas es posible que algunas de estas columnas sean combinación lineal o un múltiplo de algunas columnas. El número de columnas linealmente independientes se define como el rango de la matriz (*rank*). Para que un sistema sea totalmente controlable por salida sus variables asociadas deben moverse en el espacio completo  $\mathbb{R}^P$  descrito por  $\mathbf{H}$ . Si  $\text{rank}[\mathbf{H}] < P$ , existe un subespacio en el que el sistema está “atrapado” y no puede salir. Para explicar este último punto, suponga que  $\text{rank}[\mathbf{H}] = p$ , con  $p < P$ . El sistema  $\Sigma$  se puede mover en un espacio de dimensión  $\mathbb{R}^p$ . Para caracterizar el subespacio en donde el sistema queda atrapado se puede utilizar la noción de espacio nulo izquierdo de la matriz  $\mathbf{H}$ . El espacio nulo  $N(\mathbf{H})$  de una matriz  $\mathbf{H}$  es el conjunto de todos los vectores  $\mathbf{x}$  tales que  $\mathbf{H}\mathbf{x} = 0$ . Para que las columnas de  $\mathbf{H}$  sean linealmente independientes, se requiere  $N(\mathbf{H}^T) = \{0\}$ . Desde el punto de vista del rango, el rango de  $\mathbf{H}$  sería completo. Si  $N(\mathbf{H})$  contiene otros vectores adicionales al vector cero, entonces existen columnas dependientes en  $N(\mathbf{H})$ . El espacio nulo izquierdo de la matriz  $\mathbf{H}$  se define como  $N(\mathbf{H}^T)$  caracterizando las filas linealmente dependientes. En lo que sigue se explica que la salida del sistema está atrapada en el subespacio caracterizado por todos los vectores  $\xi \in N(\mathbf{H}^T)$ . Para ver esto, note que si consideramos la combinación de salidas  $z = \xi^T y = \xi^T Cx$  entonces su derivada no está afectada por la entrada de control pues  $\dot{z} = \xi^T CAx + \xi^T CBu = \xi^T CAx$ . Aquí, se usó el hecho de que si  $\xi \in N(\mathbf{H}^T)$  implica que  $\xi^T CB = 0$  a partir de la Ec. (2.5). Tomando cualquier número  $k$  de derivadas de  $z$ , ( $z^{(k)}$ ), la condición  $\xi \in N(\mathbf{H}^T)$  implica que  $z^{(k)}$  nunca depende de  $u$ . Es decir, el control  $u$  nunca podrá modificar el valor de  $z$  como él desee.

### 2.2.1. Controlabilidad estructural por salida

Debido al conocimiento limitado de los procesos bioquímicos subyacentes a la activación de las HSCs, no se conocen de manera concreta el signo de las interacciones  $a_{ij}$  (i.e., reacciones inhibitorias o promotoras) ni sus magnitudes (i.e., intensidades). Por lo tanto, no se puede realizar el análisis de controlabilidad por salida. Para resolver esta limitación, utilizamos la noción de controlabilidad estructural por salida [23] [Fig. 3-02]. Es importante notar que la estructura del sistema  $\Sigma$  de la Ec. (2.3) está determinada por el patrón de ceros de las matrices ( $\mathbf{A}$ ,  $\mathbf{B}$ ,  $\mathbf{C}$ ) que depende únicamente de la topología del grafo  $\mathcal{G}(\mathbb{X}, \mathbb{E})$ . En 1974, Ching Tai Lin

mostró que si existe un sistema con estructura  $\bar{\Sigma}$  que es controlable, entonces casi todos los sistemas con la misma estructura son controlables [23]. En este caso, se dice que el sistema es estructuralmente controlable. Es inmediato extender este resultado al caso de controlabilidad por salida. Para esto, definimos un sistema  $\bar{\Sigma}$  como estructuralmente controlable por salida si existe una tripleta  $(\bar{\mathbf{A}}, \bar{\mathbf{B}}, \bar{\mathbf{C}})$  tal que el siguiente sistema es controlable por salida:

$$\bar{\Sigma} : \begin{cases} \dot{\mathbf{x}}(t) = \bar{\mathbf{A}}\mathbf{x}(t) + \bar{\mathbf{B}}\mathbf{u} \\ \mathbf{y}(t) = \bar{\mathbf{C}}\mathbf{x} \end{cases} \quad (2.6)$$

Una conclusión inmediata es que la controlabilidad estructural por salida del sistema  $\Sigma$  depende únicamente de la topología de su grafo  $\mathcal{G}(\mathbb{X}, \mathbf{E})$ . Además, una vez que  $\Sigma$  es estructuralmente controlable por salida, casi todos los sistemas  $\bar{\Sigma}$  serán controlables por salida. Esta última observación nos permitió derivar un criterio para verificar la controlabilidad estructural de un sistema de la siguiente forma. Primero, generamos aleatoriamente tripletas  $(\bar{\mathbf{A}}, \bar{\mathbf{B}}, \bar{\mathbf{C}})$  en  $\bar{\Sigma}$  de tal forma que la red del sistema coincide con el grafo  $\mathcal{G}(\mathbb{X}, \mathbf{E})$ . Segundo, debido a la observación hecha,  $\text{rank}[\bar{\mathbf{H}}]$  será el mismo para casi todos los sistemas  $\bar{\Sigma}$ , existiendo sólo un conjunto de medida cero correspondiente a singularidades.

El rango genérico de la matriz  $\mathbf{H}$  se define como el máximo del rango de las matrices  $\bar{\mathbf{H}}$ . El sistema  $\Sigma$  es estructuralmente controlable por salida, si y solo si, el rango genérico de  $\mathbf{H}$  es  $P$  (i.e., coincide con el número de salidas). Si el rango genérico de  $\mathbf{H}$  es  $p < P$ , entonces el sistema se encuentra restringido a un subespacio  $p$ -dimensional. Este argumento nos permitirá estudiar la controlabilidad estructural por salida de la red de activación de las HSCs, determinando qué tanto impacta cada nodo en la habilidad de los receptores para controlar los factores de transcripción. A continuación, se describe el procedimiento de este estudio para un caso general.

### 2.2.2. Análisis de la contribución de cada nodo en la controlabilidad por salida del sistema

Para determinar la importancia de un nodo en la controlabilidad por salida del sistema se propone calcular la controlabilidad perdida al momento de eliminar dicho nodo. Con más precisión, se eliminará uno a uno los nodos y se realizará el análisis de controlabilidad estructural por salida del sistema resultante de cada eliminación. Si el rango genérico de la matriz de controlabilidad por salida resultante disminuye, implicaría que el nodo eliminado tiene un rol de controlabilidad por salida en el sistema original. De otra forma, el nodo no tiene un rol esencial en la controlabilidad por salida del sistema. Note que, al eliminar un nodo, la pérdida de controlabilidad puede deberse a dos razones distintas:

- Topológicos: Cuando al eliminar el nodo ocasiona una ruptura en el flujo de información entre una entrada y una salida. Es decir, la conexión topológica de las entradas con las salidas se vea alterada (i.e., no hay un camino en la red de alguna entrada a alguna salida).
- Dinámicos: Cuando a pesar de eliminar un nodo se mantiene la conectividad de las salidas de la red con las entradas, es decir, existe al menos un camino de las entradas a las salidas. Sin embargo, la controlabilidad por salida disminuye.

Los casos de pérdida de controlabilidad dinámicos son los más interesantes pues caracterizan los factores dinámicos que participan en la controlabilidad de un sistema. A continuación, aplicamos este procedimiento a la red construida para la activación de células estelares.

## 2.3. Análisis de la controlabilidad a la activación de células estelares

### 2.3.1. Red biológica a Grafo $\mathcal{G}(\mathbb{X}, \mathbf{E})$

En la red de transducción construida se tienen 29 moléculas o complejos moleculares [Apéndice B]. Como describimos antes, estos pueden clasificarse como receptores (entradas), mensajeros secundarios, y factores de transcripción (salidas), ver tabla ??.

Esta red la traducimos a un grafo dirigido  $\mathcal{G}(\mathbb{X}, \mathbf{E})$  donde cada una de las 29 moléculas o complejos moleculares corresponde a los nodos  $\mathbb{X}=\{1, \dots, 29\}$  y las interacciones corresponden a las aristas de la forma  $(j \rightarrow i) \in \mathbf{E}$ , denotando la participación directa del  $j$ -ésimo nodo en la actividad del  $i$ -ésimo nodo [Apéndice A]. Dado el grafo dirigido  $\mathcal{G}(X, E)$  podemos asociar un conjunto de sistemas LTI como se explicó en la Sección 2.1.

Debido a las dimensiones de las matrices con las que se están trabajando se empleó el *software* Mathematica para realizar los cálculos. El código utilizado para el análisis de Controlabilidad Estructural por Salida se encuentra en el Apéndice D, el código para el espacio nulo izquierdo se encuentra en el Apéndice E, mientras que para el análisis de Pérdida de Controlabilidad, el código se encuentra en el Apéndice F.

Receptores	Mensajeros secundarios	Factores de Transcripción
(1) PTC	(7) SMAD 2/3/4	(20) SMAD 7
(2) NICD	(8) JNK	(21) Hes-1
(3) TGF $\beta$	(9) S/G/S	(22) p53
(4) PDGF $\beta$	(10) Ras-1	(23) IKK
(5) VEGF	(11) Src	(24) NF $\kappa$ B
(6) TNF $\alpha$	(12) PP2A	(25) Elk-1
	(13) FAK	(26) cFos
	(14) Raf-1	(27) ATF-2
	(15) MEK	(28) cJunk
	(16) PI3K	(29) AP-1
	(17) ERK	
	(18) AKT	
	(19) p70	

Tabla 2.1: Moléculas y complejos moleculares pertenecientes a la red de transducción subyacente a la activación de HSCs, clasificados como entradas, mensajeros secundarios y salidas

### 2.3.2. Análisis de Controlabilidad Estructural por Salida

Para calcular la controlabilidad estructural para la red de señalización aplicamos el procedimiento descrito en la Sección 2.2.1. Específicamente, se asignó un valor aleatorio en un intervalo de  $[-1,1]$  a cada entrada  $a_{ij}, b_{im}, c_{jo} \neq 0$  obteniendo sistemas estructuralmente iguales a  $\Sigma$ , a los cuales se puede calcular de manera exacta su controlabilidad por salida. Usando la noción de controlabilidad estructural por salida [23], tenemos la seguridad de que genéricamente  $\Sigma$  va a tener la misma controlabilidad por salida.

Considerando las dimensiones de las matrices estructurales en la red de activación de las células estelares, la matriz de controlabilidad por salida  $H \in 10 \times 174$  resulta satisfacer:

$$\text{generic rank}[\mathbf{H}] = 6$$

El hecho de que  $\text{generic} - \text{rank}[\mathbf{H}] = p_0 = 6 < P = 10$  implica que las salidas del sistema están restringidas a moverse en un subespacio de dimensión 6.

Al no tener completa controlabilidad del sistema calculamos el espacio nulo izquierdo  $N(\mathbf{H}^T)$  para identificar los elementos no controlados [Apéndice E]. Como conclusiones de este análisis encontramos que:

- El nodo de salida 20 es completamente no controlado.
- Existe una dependencia lineal entre los nodos de salida:

- 23 y 28.
- 25 y 26.
- 22 y 29.

### 2.3.3. Análisis de la contribución de cada nodo en la controlabilidad por salida del sistema

Cómo se explicó en la Sección 2.2.2, el procedimiento consiste en eliminar un nodo de la red a la vez. Después se va a calcular el rango genérico. Si  $g\text{-rank}(H) < p_0$  entonces se trata de un nodo relevante para la controlabilidad por salida del sistema. Recuerde que la pérdida de controlabilidad puede ser “topológica” o “dinámica”. Las pérdidas por dinámica son las más interesantes, pues son no triviales desde un sentido de flujo de información.

Es evidente que existirá pérdida de controlabilidad al eliminar un nodo de entrada o salida. Por lo tanto, el primer filtro para descartar nodos que caractericen pérdida de controlabilidad no trivial es que no corresponda a una entrada o salida. Segundo, también se descartan casos donde la pérdida de controlabilidad es debido a razones topológicas, pues nos interesan los casos dinámicos.

En el Apéndice C se encuentra el análisis completo. El resultado de este análisis es:

$$\mathbf{PC} = (0, 0, 2, 0, 0, 2, 0, 1, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 1, 0, 0, 0, 1, 0, 1, 1, 0, 0, 1, 0, 1) \quad (2.7)$$

En el vector (2.7), la  $i$ -ésima entrada caracteriza el efecto de eliminar el  $i$  nodo en la controlabilidad por salida de la red de activación de las células estelares. Si  $\mathbf{PC}_i \neq 0$ , al eliminar el  $i$ -ésimo nodo entonces existe pérdida de controlabilidad. Los nodos que presentan pérdida de controlabilidad son: 3, 6, 8, 17, 21, 23, 24, 27, 29.

En la Tabla ?? se anotan los nodos que al ser eliminados se cumplió  $p < p_0$ . Es importante notar que, si existe pérdida de controlabilidad topológica en el sistema, por consecuencia, va a existir pérdida de controlabilidad dinámica; sin embargo, si existe pérdida de controlabilidad dinámica no necesariamente hay pérdida de controlabilidad topológica, siendo el caso del nodo 8 [Fig. ??-3]. Como conclusión, sólo el nodo 8 es un caso no trivial, pues la pérdida de controlabilidad ocurre únicamente por razones dinámicas (e.g., la topología de la red aún permite que haya un flujo de información de alguna entrada a este nodo).

Nodo eliminado	Topológico	Dinámico
(3)	*	*
(6)	*	*
(8)		*
(17)	*	*
(21)	*	*
(23)	*	*
(24)	*	*
(27)	*	*
(29)	*	*

Tabla 2.2: Nodos que presentan pérdida de controlabilidad para el sistema.

## Capítulo 3

**Discusión: Lo que las matemáticas dicen sobre la activación de las células estelares hepáticas**

## Resumen

*Mediante análisis matemático se han estudiado los mecanismos de control sistema biológico. En este último capítulo, discutimos las implicaciones biológicas para la activación de células estelares hepáticas sugeridas por los análisis matemáticos.*

### 3.1. Análisis de Controlabilidad Estructural por Salida

Al obtener en el análisis de Controlabilidad por Salida que el rango genérico de  $H$  es de 6 el resultado indica que el sistema no puede moverse completamente en el espacio  $\mathbb{R}^{10}$ , es decir, hay un subespacio  $\mathbb{R}^4$  en el que se encuentra atrapado. Desde un punto de vista biológico puede interpretarse como el “estado enfermo” del sistema y no puede cambiar de estado de manera independiente. Considerando que el estado de interés de la célula estelar es el estado enfermo, este es un resultado alentador, pues indica que con la red construida el análisis captura el estado activado de las HSCs con la red construida.

### 3.2. Espacio nulo izquierdo

Al no ser de rango completo la matriz de controlabilidad por salida  $H$  se calculó el espacio nulo izquierdo, lo que conduce a relaciones de nodos que junto con las entradas actuales al sistema  $\Sigma$  son linealmente dependientes. Al tratarse de controlabilidad por salida las dependencias lineales son entre factores de transcripción, ver tabla ??.

### 3.3. Pérdida de controlabilidad

Los nodos de entrada corresponden a los receptores y los nodos de salida a los factores de transcripción. Al eliminar estos nodos es evidente que existirá pérdida de controlabilidad, por lo tanto, no son considerados de relevancia en el análisis de pérdida de controlabilidad.

El primer filtro para descartar nodos esenciales en la controlabilidad es que no correspondan a un receptor o factor de transcripción. El segundo filtro es que la pérdida de controlabilidad corresponda a nodos topológicos, pues los nodos interesantes son los dinámicos.

En el Apéndice C se encuentra el análisis de Pérdida de Controlabilidad completo.

$$\mathbf{PC} = (0, 0, 2, 0, 0, 2, 0, 1, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 1, 0, 0, 0, 1, 0, 1, 1, 0, 0, 1, 0, 1) \quad (3.7)$$

Recordemos que en el vector (2.7), la  $i$ -ésima entrada caracteriza el efecto de eliminar el nodo  $i$ . Si  $\mathbf{PC}_i \neq 0$  al eliminar el nodo  $i$  entonces existe pérdida

Factores de Transcripción	Matemáticamente	Biológicamente
(20) SMAD 7	Nodo 20 completamente no controlable	SMAD7 no es controlable
(21) Hes 1	Dependencia en nodos:	Dependencia en FT:
(22) p53	23 y 28	IKK y cJunk
(23) IKK	25 y 26	Elk-1 y cFos
(24) NF $\kappa$ B	22 y 29	p53 y AP-1
(25) Elk-1		
(26) cFos		
(27) ATF-2		
(28) cJunk		
(29) AP-1		

Tabla 3.1: Dependencias entre nodos a factores de transcripción

de controlabilidad. Vemos que los nodos que presentan pérdida de controlabilidad son: 3, 6, 8, 17, 21, 23, 24, 27, 29. Los nodos 3 y 6 son receptores, los nodos 21, 23, 24, 27, 29 son factores de transcripción. Solamente los nodos 8 y 17 son mensajeros secundarios, y sólo el nodo (8) JNK tiene pérdida de controlabilidad dinámica sin involucrar la topología.

Nodo eliminado	Topológico	Dinámico
(3) TGF $\beta$	*	*
(6) TNF $\alpha$	*	*
(8) JNK	*	
(17) ERK	*	*
(21) Hes-1	*	*
(23) IKK	*	*
(24) NF $\kappa$ B	*	*
(27) ATF-2	*	*
(29) AP-1	*	*

Tabla 3.2: Elementos moleculares que presentan pérdida de controlabilidad para el sistema.

Resulta ser que JNK (c-Jun N-terminal Kinase) es necesario para la activación de las HSCs [24, 25]. Experimentalmente se ha inhibido a JNK, observando que la activación de las HSCs también se inhibe. Además se observa que TGF $\beta$  necesita

la activación de JNK. De esta manera contribuye a la expresión de  $\alpha$ SMA, promoviendo la expresión de colágeno fibroso en el hígado [24].

La síntesis y degradación de la matriz extracelular es un proceso dinámico que sucede constantemente, independientemente de si el hígado se enfrenta a un daño o no. Sin embargo, se mantiene un delicado balance entre la degradación y la síntesis de los componentes. Es decir, el balance entre MMPs y TIMPs se ve alterado dado que el ft AP-1 regula la expresión de TIMPs y JNK activa directamente a AP-1 [24, 25].

Entonces JNK es un elemento importante en la proliferación de las HSCs-tipo-miofibroblastos, la expresión y acumulación de colágeno fibroso [17], ambos elementos importantes para la perpetuación de la fibrosis hepática.

### 3.4. Conclusiones y trabajo futuro

En conclusión, el análisis de la controlabilidad por salida de la red que subyace a la activación de las HSCs identificó correctamente al mensajero secundario JNK como un nodo que juega un papel clave en la activación de las células estelares. Este resultado es muy alentador por dos razones. Primero, porque sugiere que la red de activación construida captura exitosamente información del proceso bioquímico de la activación de las HSCs. Segundo, sugiere que la aplicación del análisis de la controlabilidad de redes complejas proporciona información biológicamente relevante. En este trabajo el sistema  $\Sigma$ , engloba las interacciones bioquímicas que ocurren dentro de una HSC. Como perspectiva de trabajo futuro se planea hacer zoom en este sistema a la interacción molecular enzima-proteína (MMP -TIMP), con la finalidad de estudiar y modelar la ruptura de balance de MMPs con TIMPs en función a la producción de colágeno fibroso y el progreso de la fibrosis hepática.

## Apéndice A

Red de Transducción, grafo  
 $\mathcal{G}(\mathbb{X}, E)$ , sistema  $\Sigma$

Figura A.1: Red de transducción bioquímica básica subyacente a la activación de las células estelares hepáticas compuesta de 29 moléculas, 6 receptores, 13 mensajeros secundarios, 10 factores de transcripción, construida a partir de las rutas de transducción que han sido reportadas en la literatura como presentes en el estado enfermo de las HSC. Nodo rojo == receptor, nodo azul == mensajero secundario y nodo verde == factor de transcripción

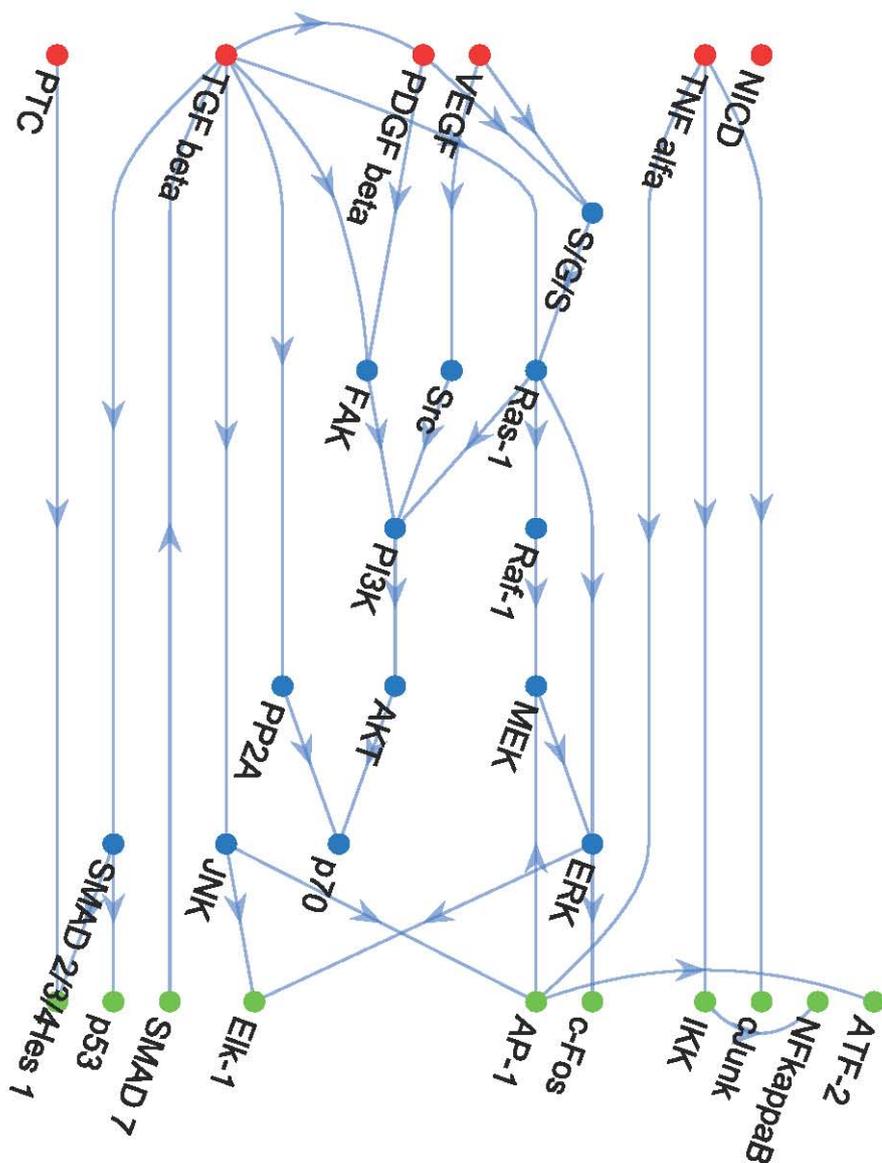


Figura A.2: Grafo  $\mathcal{G}(\mathbb{X}, \mathbb{E})$  obtenido a partir de la red de transducción bioquímica básica subyacente a la activación de las células estelares hepáticas ???. Los nodos  $\mathbb{X} = \{1, \dots, N\}$  corresponden a moléculas y complejos moleculares, y aristas de la forma  $(j \rightarrow i) \in \mathbb{E}$  denotan que el  $j$ -ésimo nodo participa directamente en la actividad del  $i$ -ésimo nodo. Nodo rojo == receptor, nodo azul == mensajero secundario y nodo verde == factor de transcripción

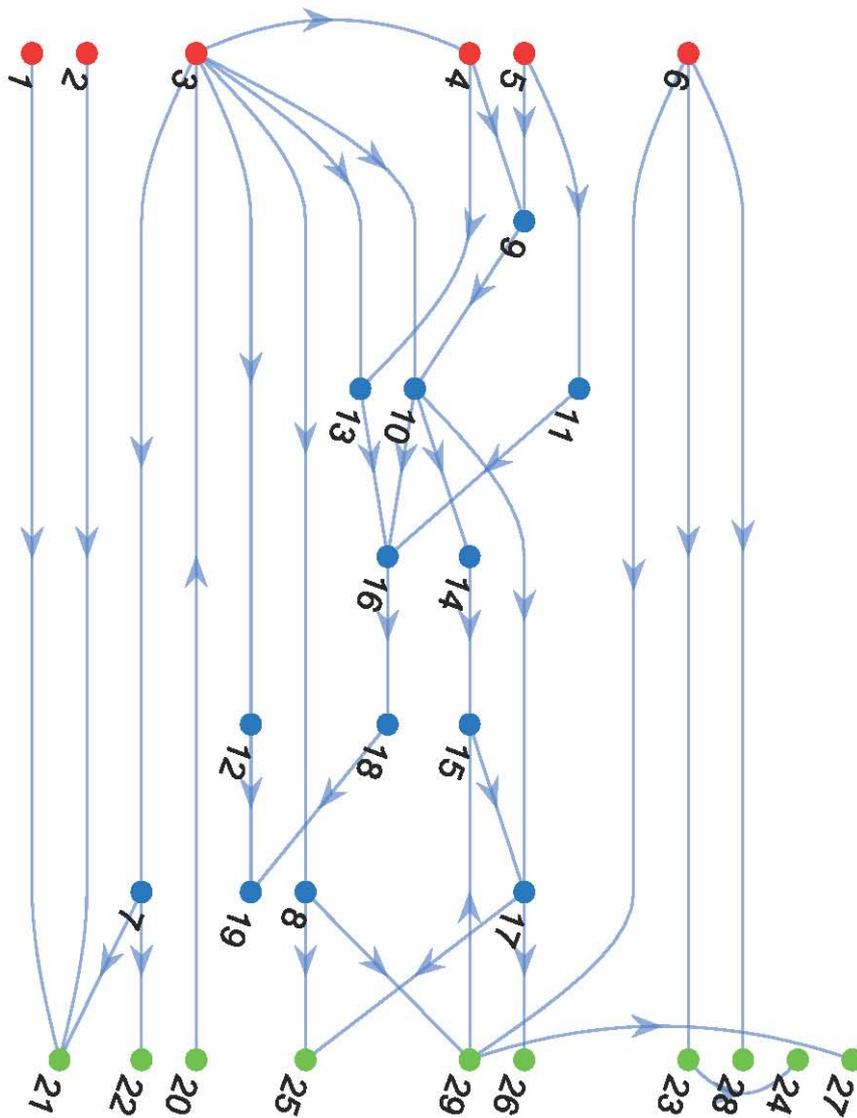








Figura A.6: Vector  $x$

PTC  
NICD  
TGF $\beta$   
PDGF $\beta$   
VEGF  
TNF $\alpha$   
SMAD 2/3/4  
JNK  
S/G/S  
Ras-1  
Src  
PP2A  
FAK  
Raf-1  
MEK  
PI3K  
ERK  
AKT  
p70  
SMAD 7  
Hes 1  
p53  
IKK  
NF $\kappa$ B  
Elk-1  
cFos  
ATF-2  
cJunk  
AP-1

## Apéndice B

# El hígado, su homeostasis dependiente de su microarquitectura

## Resumen

*El hígado realiza más de 500 funciones indispensables para el organismo. La función principal del hígado es filtrar la sangre que proviene del tracto digestivo antes de seguir su recorrido por el resto del cuerpo. Otras funciones fundamentales son la metabolización de drogas, la detoxificación de químicos, la secreción de bilis para la digestión de alimentos y la síntesis de proteínas [26]. El hígado tiene la capacidad de realizar estas funciones gracias a su “microarquitectura”, permitiendo la cooperación entre las células que lo constituyen y el ambiente celular. Cuando la microarquitectura del hígado es modificada como consecuencia de un agente etiológico, se desencadenan enfermedades severas como la fibrosis hepática.*

## B.1. La organización celular y arquitectura del hígado

El hígado normal es el órgano más grande del ser humano, es de color marrón, con una superficie externa lisa. Su peso corresponde a aproximadamente al 2-3% del peso promedio de una persona adulta (1.4 kg mujeres y 1.8 kg hombres). Se encuentra en el cuadrante superior derecho de la cavidad abdominal, es protegido por las costillas, mantiene su posición por las reflexiones peritoneales, que se suelen denominar ataduras ligamentosas [27].

El hígado es dividido por líneas naturales tales como ligamentos, arterias, venas o conductos. El ligamento falciforme divide al hígado en 2 lóbulos: lóbulo derecho mayor y lóbulo izquierdo menor [F.12], además este ligamiento une al hígado con la pared abdominal anterior. La anatomía arterial del hígado lo divide en 8 segmentos funcionales independientes [F.13]: La vena hepática media divide al hígado en los lóbulos derecho e izquierdo. La vena hepática derecha divide al lóbulo derecho en los segmentos anterior y posterior, la vena hepática izquierda divide el lóbulo izquierdo en los segmentos medial y lateral. La vena porta divide al hígado en los segmentos superior e inferior. De esta manera cada segmento tiene su propio pedículo portal, conformado por una rama arterial hepática, una rama de la vena porta y un conducto biliar, además de una rama venosa que lleva el flujo de salida de cada lóbulo [F.13] [28].

Las funciones del hígado son dependientes de su microarquitectura. Entendemos por microarquitectura el hecho de que el tejido hepático se organiza en unidades fundamentales (lóbulos) [F.14] alrededor de zonas de entrada (tracto portal compuesto por una rama de vena hepática, de arteria hepática y conducto biliar) y de salida de la sangre (vena central) [29]. Las ramas de vena y arteria hepática se comunican con la vena central por medio de capilares sinusoides hepáticos fe-

nestrados y permeables, dividiendo al lóbulo [F.1]. Cada sinusoides está rodeada de hepatocitos organizados en láminas anastómicas. Entre los hepatocitos y los sinusoides se localiza el *espacio de Disse* o espacio perisinusoidal que está delimitado por las microvellosidades de los hepatocitos, siendo en este espacio donde residen las células estelares hepáticas (HSCs, por sus siglas en inglés). Los sinusoides están formados por células no-parenquimatosas: células fenestradas endoteliales (SEC), células Kupffer (KCs) [F.2]. La principal función de las sinusoides es transportar sangre donde viajan tanto nutrientes como desechos de los hepatocitos. El conjunto de células no-parenquimatosas tienen como principal función ser una barrera física y selectiva entre la sangre y los hepatocitos.

Las células hepáticas parénquimas, comúnmente conocidas como hepatocitos, son células epiteliales poliédricas, organizadas en láminas anastómicas. Como células epiteliales, presentan diferentes regiones o membranas, como lo son las membranas: basal, lateral y apical. Cada región es esencial para las funciones que realizan estas células. La membrana basal se encuentra frente a las sinusoides y está unida a la matriz extracelular de baja densidad presente en el hígado. Además, presentan microvellosidades que invaden el espacio de Disse. Los hepatocitos están encargados de la mayoría de las funciones principales del hígado, representando el 60 % de la población celular del hígado y aproximadamente el 80 % del volumen de este órgano [4]. Cuando ocurre un daño hepático, las células parenquimatosas son las principalmente afectadas [30].

Aproximadamente 40 % de la población celular del hígado corresponde a células no-parenquimatosas, ocupando solamente el 6.5 % del volumen del hígado. Las células no-parenquimatosas componen las sinusoides hepáticas. Los principales tipos de células no-parenquimatosas presentes en el hígado son: (1) las células fenestradas endoteliales, (2) células *Kupffer*, y (3) células estelares hepáticas (HSCs). Las células sinusoidales endoteliales, al ser fenestradas ayudan en la selectividad de sustancias con las que los hepatocitos interactúan e intercambian con la sangre. Las células Kupffer tienen la función de eliminar toxinas y fagocitar bacterias que viajen por la sangre, secretar mediadores para comunicarse con otras células y afectar su funcionamiento, y la producción de sustancias respuesta ante una amenaza de daño al cuerpo o al hígado específicamente. Cuando el hígado se encuentra en estado sano, las HSCs almacenan vitamina A (vA) y mantienen el balance de componentes de la matriz extracelular. Cuando el hígado sufre un daño, las células estelares pierden los depósitos de vA y son las principales células encargadas de la producción de colágeno fibroso [F.3].

## B.2. Regeneración del hígado

El hígado realiza aproximadamente 500 funciones; algunas de las principales son el metabolismo de carbohidratos, proteínas, aminoácidos y lípidos, la descomposición de hormonas (i.e. insulina), el almacenamiento de nutrientes, minerales y vitaminas, y la producción de sustancias digestivas (i. e. ácidos biliares). Además, el hígado captura y elimina xenobióticos que representan amenazas para el cuerpo [31]. Debido a sus funciones, el hígado está propenso a sufrir daños que pueden ser de tipo infeccioso, inmune, tóxico/drogas, metabólico, mecánico, ambiental [Figura B.1] [14].

<p><b>Infección</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hepatitis viral</li> <li>- Bacterias</li> <li>- Hongos</li> <li>- Parásito</li> <li>- Helmito</li> </ul> <p><b>Inmunológico</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hepatitis inmunológica</li> <li>- Cirrosis biliar</li> <li>- Colangitis</li> <li>- Rechazo de trasplante</li> <li>- Derivado de injerto</li> </ul> <p><b>Hepatotoxicidad (Droga - toxina)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hígado alcohólico</li> <li>- Agentes terapéuticos</li> </ul> <p><b>Metabólico</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Enfermedad metabólica hereditaria</li> <li>- Trastorno metabólico adquirido</li> <li>- Hígado graso no-alcohólico</li> </ul> <p><b>Mecánico</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Colestasis obstructiva</li> <li>- Desordenes vasculares</li> </ul> <p><b>Ambiente</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Toxinas ambientales</li> <li>- Golpe de calor</li> </ul>
--

La afección al hígado tiene como consecuencia principal el cambio morfológico y funcional de los hepatocitos. Si el daño es leve o moderado basta con eliminar el agente dañino o con la corrección de la enfermedad y los hepatocitos se regenerarán. Incluso si el daño es extenso con una cantidad masiva de hepatocitos muertos, el hígado tiene la capacidad para regenerarse. De hecho, uno de los factores esenciales para la recuperación es la desactivación de los mecanismos inflamatorios y fibrogénicos. Existen dos mecanismos principales por los cuales el hígado se regenera.

- Si el daño es leve o moderado los hepatocitos y las células epiteliales del conducto biliar (colangiocito), ambas células maduras se dividirán y replicarán para reparar el daño.
- En caso de una necrosis masiva de hepatocitos, las células progenitoras (ovales) que se encuentran en la zona portal se diferencian a nuevos hepatocitos y a nuevos colangiocitos.

Figura B.1: Principales afecciones hepáticas

Durante la regeneración del hígado, los nuevos hepatocitos no conservan las líneas sinusoidales, sino que se agrupan en clústeres de 10 a 14 células, los cuales carecen de matriz extracelular y vasos sanguíneos. Para mantener la funcionalidad del hígado, se debe reconstruir su arquitectura (las sinusoides y matriz extracelular), reestablecer la comunicación vascular y repoblar el espacio de Disse de las nuevas sinusoides con células estelares hepáticas. Estos dos últimos eventos ocurren de manera paralela a la señal de detener la regeneración de los hepatocitos [14].

Dentro de los clústeres de hepatocitos, crecen células endoteliales que van reestableciendo las sinusoides al mismo tiempo que expresan factores de crecimiento específicos de angiogénesis (e.g., VEGF, EGF, PDGF, angiopoyetina). Estos mismos factores de crecimientos atraen a las células estelares hepáticas a las sinusoides, específicamente al espacio de Disse. La citosina  $TGF\beta$  es el encargado de detener la replicación o diferenciación, según sea el caso, de los hepatocitos, al mismo tiempo que actúa como amplificador de la señal de atracción para las HSCs hacia la zona en reparación. Cuando las HSCs llegan a la zona en reparación se “activan” (transdiferencian) para expresar componentes fibrosos de la matriz extracelular [F.4]. Para eliminar las células muertas se activan respuestas inflamatorias que fagocitan los cuerpos [14].

### B.3. Fibrosis hepática

La autoregeneración del hígado es un proceso beneficioso ante daños leves o moderados y ocasionales. Sin embargo, cuando la zona afectada está en constante reparación debido a la persistencia del daño, el hígado pierde la capacidad de reestablecer el tejido hepático y los componentes fibrosos de la matriz extracelular se van depositando en exceso. Esto llega a formar tejido que se asemeja “cicatrices”, conllevando a la fibrosis hepática [F.5] [14]. La Organización Mundial de la Salud define la fibrosis como la presencia excesiva de colágeno dentro de la matriz extracelular [32]. Las células estelares hepáticas en estado activado son las principales contribuyentes a la fibrosis hepática [33].

La matriz extracelular (ECM, *extracellular matrix*), en el hígado sano, está constituida por 3 grupos primarios de componentes colágenos, glicoproteínas y proteoglicanos. La familia de colágenos se divide entre fibrosos (tipo I, III, V y X), no fibrosos, grupo que se puede subdividir entre colágeno que forma redes (tipo IV, VIII y X), filamento de anclaje (tipo VII), entre otros. La principal función conocida del colágeno, principalmente del tipo IV, es dar soporte estructural a la membrana basal, cartílagos, tejido vascular y al tejido conectivo. Los proteoglicanos se encargan de regular y estabilizar el ensamblaje de los componentes de la ECM. Además, en la ECM se encuentran reservas de factores de crecimiento y citosinas (e.g., VEGF,  $TGF\beta$ ,  $TNF\alpha$ , PDGF, entre otros) a los cuales elementos

como proteoglicanos, fibronectinas y algunos tipos de colágeno se unen previniendo su degradación y transportándolos a su respectivo receptor conllevando a la activación de rutas de señalización [17].

La síntesis y degradación de la ECM está regulada por las metaloproteinasas, enzimas expresadas por las HSCs, encargadas de procesar las proteínas colagenasas y sus proteínas inhibitorias TIMPs (*tissue inhibitors of metalloproteinases*). Sin embargo, hay casos, como la regeneración del hígado, en los que se requiere un desequilibrio entre la síntesis y degradación de componentes, con la finalidad de lograr un reacomodo en la ECM. El hígado necesita mantener este desequilibrio bajo control, pues su exceso conlleva a la fibrosis.

En estado fibrótico, los componentes fibrosos del hígado (i. e., colágeno) incrementan su nivel de expresión hasta 8 veces, mientras que componentes no fibrosos del hígado incrementan de 3 o más veces la cantidad en la que normalmente se encuentran expresados [14]. Esto resulta en una alteración de la microarquitectura del hígado y con ello sus funciones. La ECM, además de funcionar como una barrera estructural, también regula procesos como la forma, comportamiento, movimiento, crecimiento, diferenciación y sobrevivencia de las células, además de fungir como contexto ambiental para la transducción de señales celulares [34].

La fibrosis hepática consiste en el exceso de colágeno fibroso (tipo I y III) depositado en el hígado; de no detectarse y detener el daño puede dar a lugar a la cirrosis hepática. La cirrosis hepática es consecuencia del cambio de la microarquitectura completa del hígado a una arquitectura nodular alterando la función hepática y el flujo sanguíneo [F.6].

Las terapias actuales para las enfermedades crónicas del hígado están enfocadas en el agente etiológico, ya sea a través de su eliminación o contrarrestando al daño ocasionado. Existen pocos tratamientos que son específicos para interferir en la fibrosis, aunque pueden pasar años antes de ver un avance significativo en la regresión de la fibrosis [29]. Esto se hace incrementando la tasa de degradación del colágeno al activar las enzimas metaloproteinasas, puesto que, durante la fibrosis, las HSCs activadas aumentan la expresión de sus inhibidores impidiendo que degraden al colágeno, ocasionando su acumulación. También se inhibe la expresión de los TIMPs y se promueve la apoptosis de HSCs activadas [14].

Aún con terapia de regresión de fibrosis no es posible volver a la arquitectura normal del hígado los daños vasculares que ocurrieron durante la fibrosis son irreversibles. Para pacientes con fibrosis en estado avanzado, la única opción es el trasplante de hígado.

Las investigaciones actuales enfocadas en fibrosis hepática señalan a las HSCs como las principales contribuyentes en la expresión y depósito de proteínas fibrosas en el hígado [1, 14, 35]. Por esta razón entender y controlar el proceso de activación de las HSCs permitiría desarrollar nuevas formas de tratamiento y, finalmente, revertir la fibrosis hepática.

## Apéndice C

# Contribución de cada nodo en la controlabilidad por salida del sistema

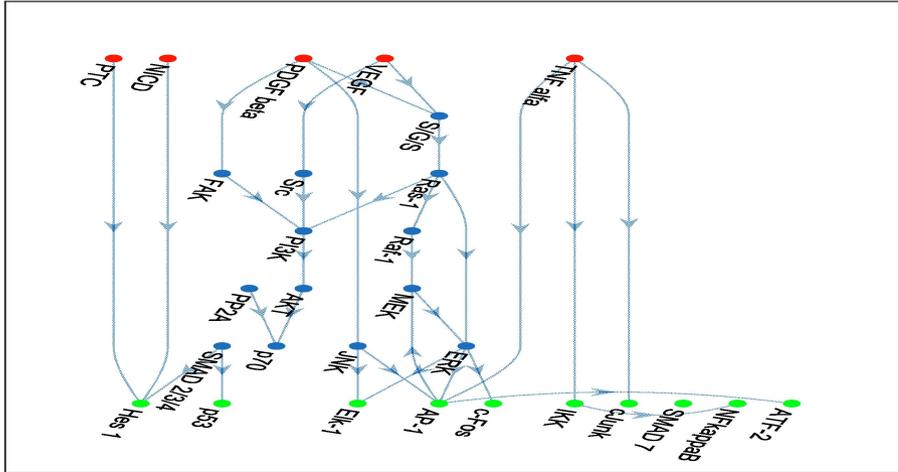


Figura C.1: Al eliminar el nodo correspondiente al **receptor** factor de crecimiento transformante (**TGF $\beta$** , por sus siglas en inglés) hay una ruptura en la red y se pierde control sobre el factor de transcripción (FT) p53.

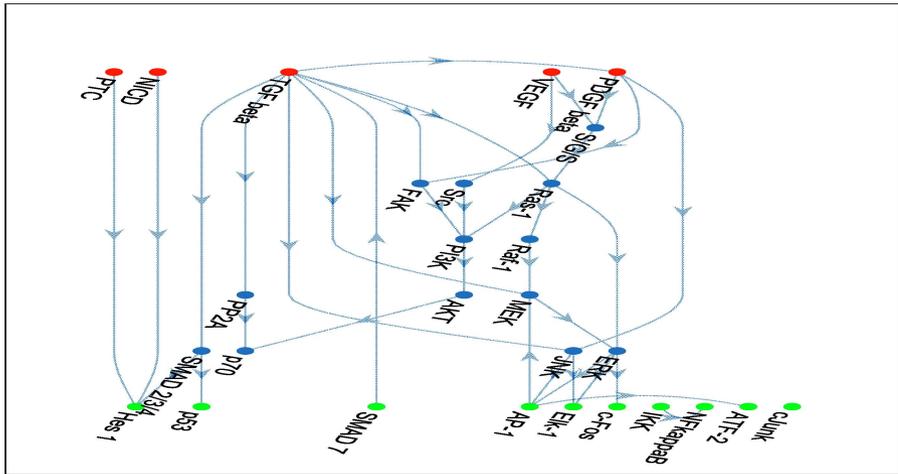


Figura C.2: Al eliminar el nodo correspondiente al **receptor** factor de necrosis tumoral (**TNF $\alpha$** , por sus siglas en inglés), además de la ruptura que se presenta en la red, se da una pérdida de controlabilidad sobre los FT IKK, NF $\kappa$ B, cJunk.



## Apéndice D

# Mathematica en *Análisis controlabilidad por salida estructural*

```
(* A partir de la topologia del grafo G se obtienen las matrices
estructurales A, B, C*);

(* Se asignan valores aleatorios entre (-1,1) a los valores diferentes
de 0 de las matrices estructurales*)

An = A*RandomReal[{-1, 1}, {29, 29}];
Bn = B*RandomReal[{-1, 1}, {29, 6}];
Cn = c*RandomReal[{-1, 1}, {10, 29}];

(*Calcular rango de controlabilidad de las "nuevas" matrices*)
(*A partir de las matrices estructurales se obtiene la matriz H de
controlabilidad*)

Hn = Cn.ControllabilityMatrix[StateSpaceModel[{An, Bn, Cn}]];

(* Se calcula en rango de la matriz de controlabilidad por salida*)

Rn = MatrixRank[Hn];
```

Apéndice E

Mathematica en *Espacio Nulo*  
*Izquierdo*

```
(* Definimos las matrices estructurales A, B, C obtenidas a partir de
la topologia del grafo G*)
(* Se asignan valores aleatorios entre (-1,1) a los valores diferentes
de 0 de las matrices estructurales*)
An = A*RandomReal[{-1, 1}, {29, 29}];
Bn = B*RandomReal[{-1, 1}, {29, 6}];
Cn = c*RandomReal[{-1, 1}, {10, 29}];

(*A partir de las matrices estrucutrales se obtiene la matriz H de \
controlabilidad*)

H = Cn.ControllabilityMatrix[StateSpaceModel[{An, Bn, Cn}]];

(* Se calcula en rango de la matriz de controlabilidad por salida*)

R = MatrixRank[H];

(*Se obtiene el espacio nulo de la matriz H transpuesta, equivalente
al espacio nulo izquierdo*)
m = NullSpace[Transpose[H]];

Print[{{ R}}];
Chop[m, 10^-14] // MatrixForm
```

## Apéndice F

Mathematica en *Análisis de la contribución de cada nodo en la controlabilidad por salida del sistema*

```

eval[R_] := Module[{A, Aa, B, c, An, Bn, Cn, Hn, Rn, k, r, m, allRn,
  RnM = 0, allpH},
  (*
  R = Controlabilidad del sistema original;

  A = Matriz del sistema;
  B = Matriz de entradas;
  c = Matriz de salidas;
  Aa = Matriz del sistema, antes de eliminar un nodo;

  An = Matriz del sistema con valores aleatorios;
  Bn = Matriz de entradas con valores aleatorios;
  Cn = Matriz de salidas con valores aleatorios;
  Hn = Matriz de controlabilidad de An, Bn, Cn;
  Rn = Rango de Hn;
  RnM = Maximo valor de Rn en las 10 repeticiones;

  k = Nodo que se elimina;
  r = Contador de las repeticiones;
  allRn = Los 29 rangos maximos de eliminar cada nodo;
  allpH = R-RnM de los 29 rangos;
  *)

  (*Matriz de resguardo de la matriz A*)
  Aa = ConstantArray[0, {29, 29}];
  Aa[[[]] = A[[[]];

  (*Arreglo donde se va a guardar el rango maximo de las 10
  repeticiones al eliminar el k-nesimo nodo*)

  allRn = ConstantArray[0, 29];

  (*Arreglo donde se guarda la "perdida_de_controlabilidad" [R - RnM]
  al eliminar el k-nesimo nodo*)

  allpH = ConstantArray[0, 29];

  (*Eliminar el k-nesimo nodo*)

  For[k = 1, k <= 29, k++,
    A[[k, All]] = 0;
    A[[All, k]] = 0;

    (*Despues de eliminar el k-nesimo nodo, darle valores aleatorios a
    las matrices originales*)

  For[r = 1, r <= 10, r++,
    An = A*RandomReal[{-1, 1}, {29, 29}];
    Bn = B*RandomReal[{-1, 1}, {29, 6}];
    Cn = c*RandomReal[{-1, 1}, {10, 29}];

```

```
(*Calcular rango de controlabilidad de las "nuevas" matrices*)  
  
Hn = Cn.ControllabilityMatrix[StateSpaceModel[{An, Bn, Cn}]];  
Rn = MatrixRank[Hn];  
  
(*Queremos el valor maximo del rango de las 10 repeticiones*)  
  
If[Rn > RnM, RnM = Rn, Continue;];  
  
(*Guarda el valor de rango maximo despues de las 10 repeticiones al  
eliminar el k-nesimo nodo*)  
  
allRn[[k]] = RnM;  
  
(*Guarda la perdida de controlabilidad [R-RnM] al eliminar el k-  
nesimo nodo*)  
  
allpH[[k]] = (R - RnM);  
RnM = 0;  
  
(*Restablece el nodo eliminado en la matriz original*)  
A[[k]] = Aa[[k]];  
  
];  
Print[allpH];  
]
```

# Imágenes

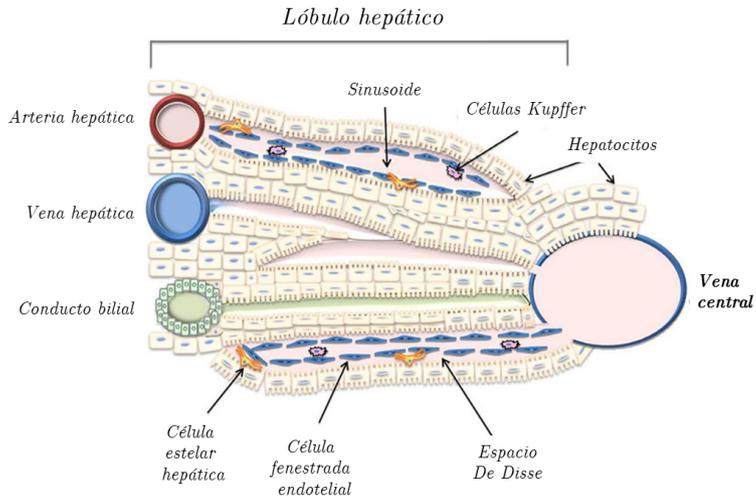


Figura F.1: [30] División de un lóbulo hepático por sinusoides.

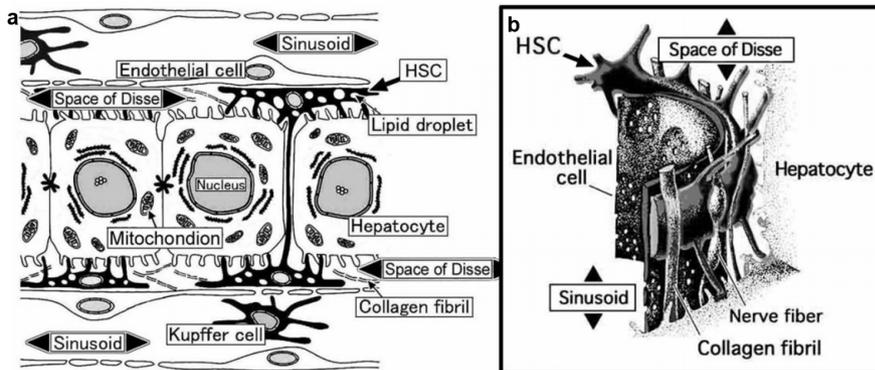
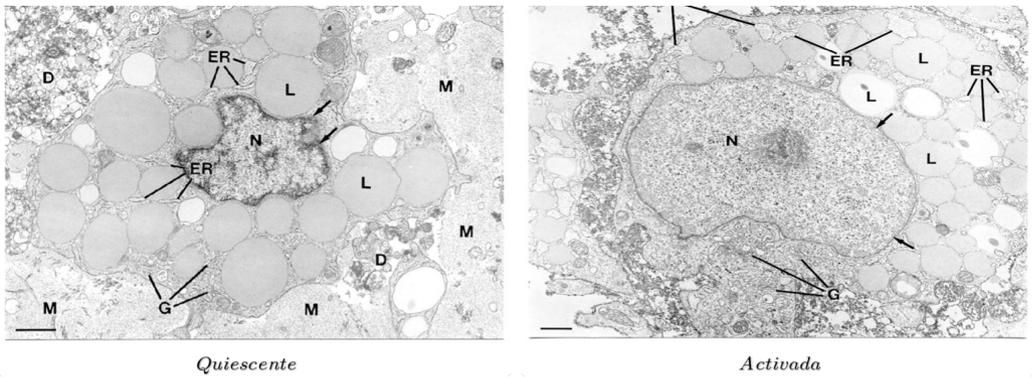


Figura F.2: [36] Pared sinusoidal del hígado. **a** vista superior. Las células estelares hepáticas están en contacto con las células endoteliales y hepatocitos. **b** vista lateral de la pared sinusoidal



(a) [1] Micrografía de una célula estelar hepática quiescente (sana). (b) [1] Micrografía de una célula estelar hepática activada (enferma)

Figura F.3: **ER**: Retículo Endoplasmático, **N**: Núcleo, **G**: Aparato Golgi, **L**: vesículas de vitamina A, **M**: Matriz Extracelular.

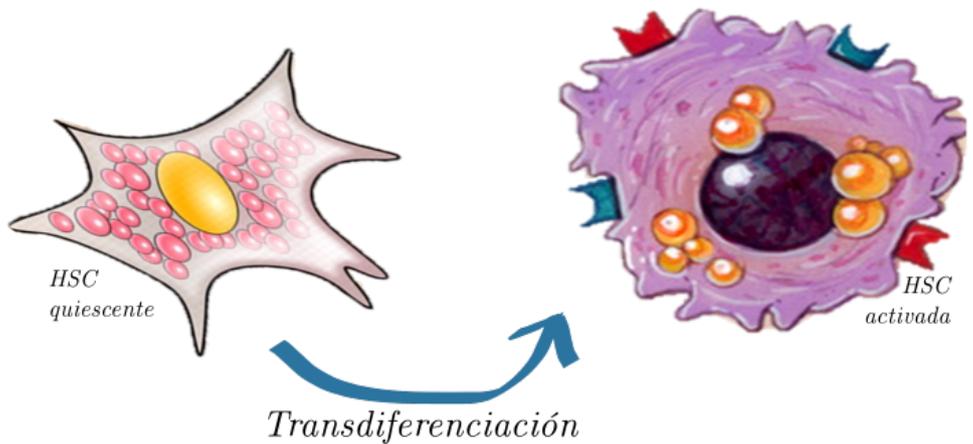


Figura F.4: [Composición propia] Caricatura del proceso del cambio que sufren las HSCs ante la transdiferenciación a células tipo miofibroblastos

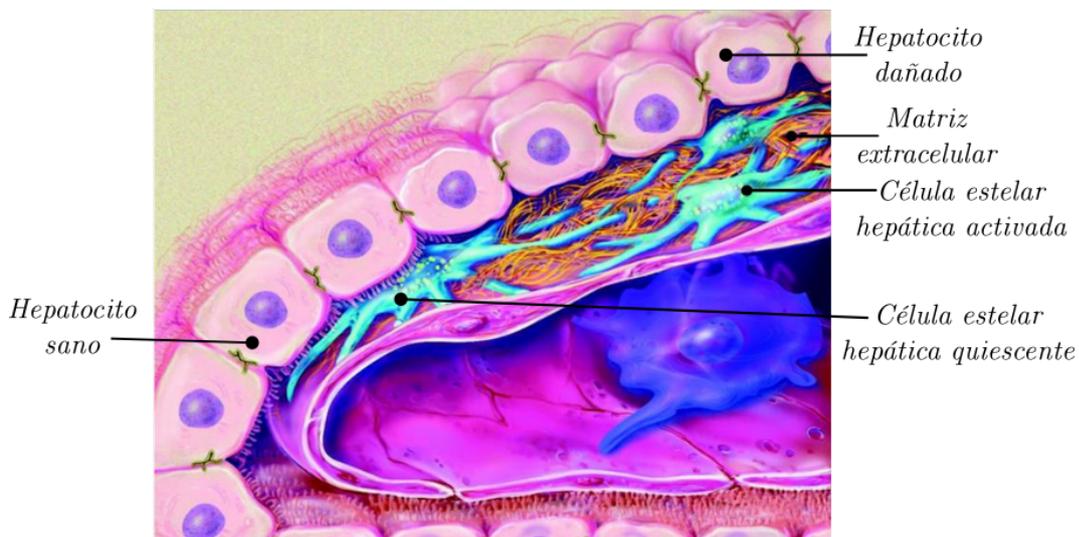


Figura F.5: [37] Contraste hígado sano (hepatocitos sin daño, HSCs quiescentes, ECM casi nula) vs hígado en estado fibroso (hepatocitos dañados, HSCs activadas, sobre depósito de ECM).

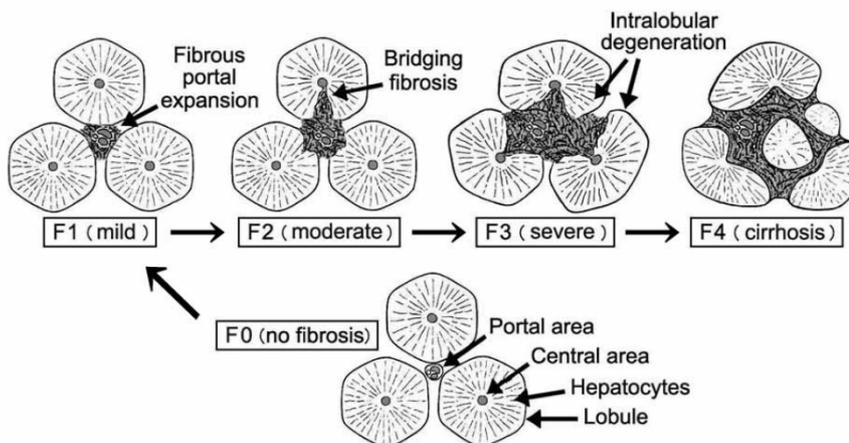
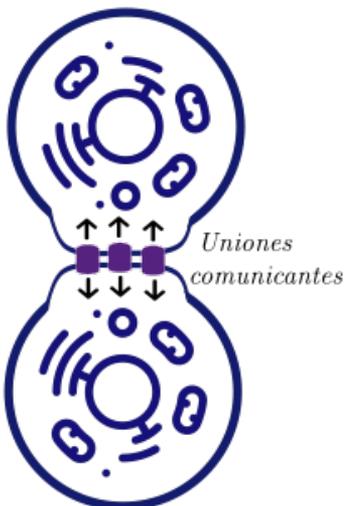


Figura F.6: [36] Fases que sufre el hígado de estado sano a estado con cirrosis.

## Maneras de señalización

### Eléctrica



### Química

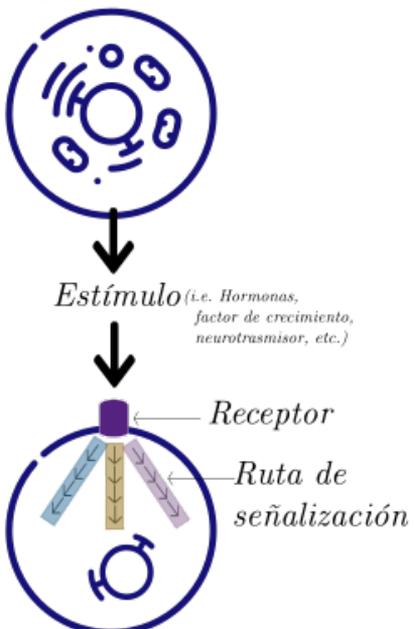


Figura F.7: [Composición propia] La comunicación eléctrica es el tipo de comunicación más rápida al pasar corriente eléctrica de una célula a otra por medio de las uniones comunicantes, quienes presentan baja resistencia. En cambio, la comunicación química no es la más rápida, pero es la más empleada para la difusión de información. Una célula libera moléculas que tienen como objetivo llegar a específicos receptores, quienes van a integrar la información al interior de la célula activando “rutas de señalización/transducción” que tienen como objetivo obtener un cambio en la célula como respuesta.

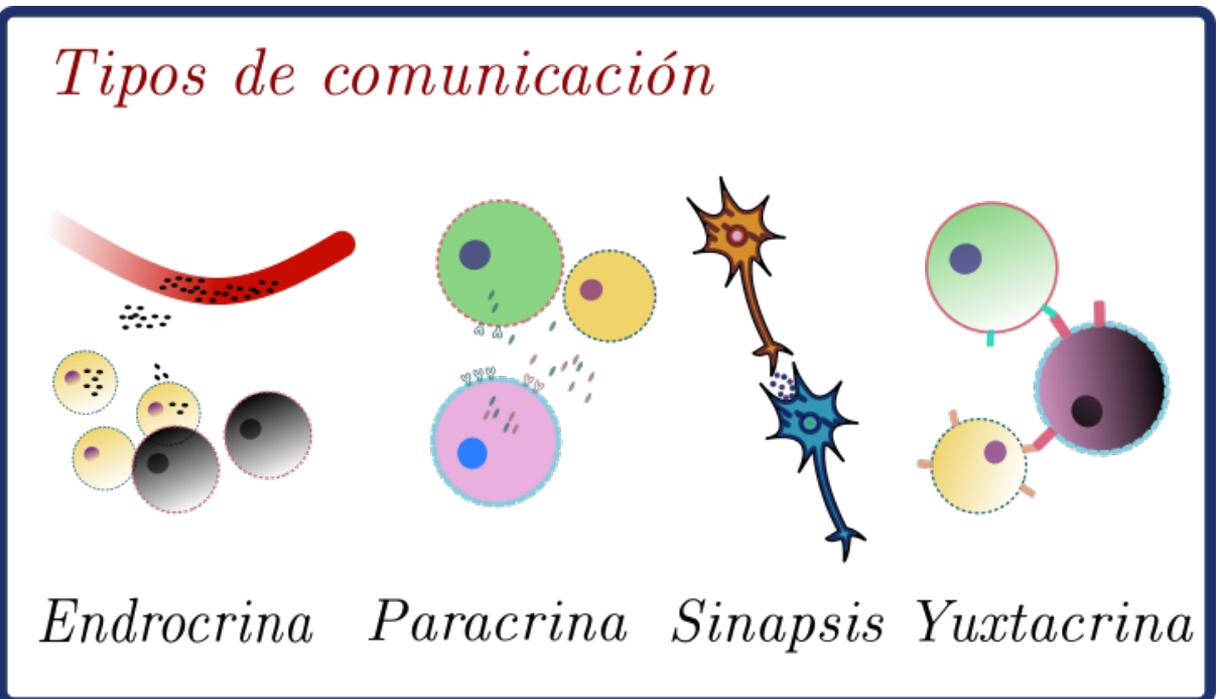


Figura F.8: [Composición propia] Los mensajeros pueden ser liberados por las células de diferentes maneras, en vesículas, anclados a la membrana celular, liberados a través de la membrana celular. Pueden estimular a las células vecinas, los que se encuentran anclados a la membrana celular se ligan al receptor vecino de manera física, yuxtacrinamente. Si el mensajero fue liberado al ambiente extracelular y se une a un receptor de la misma célula que lo liberó es comunicación **autocrina**, si es a una célula vecina es **paracrina**. Si el mensajero entró al vaso sanguíneo es una comunicación **endocrina**.

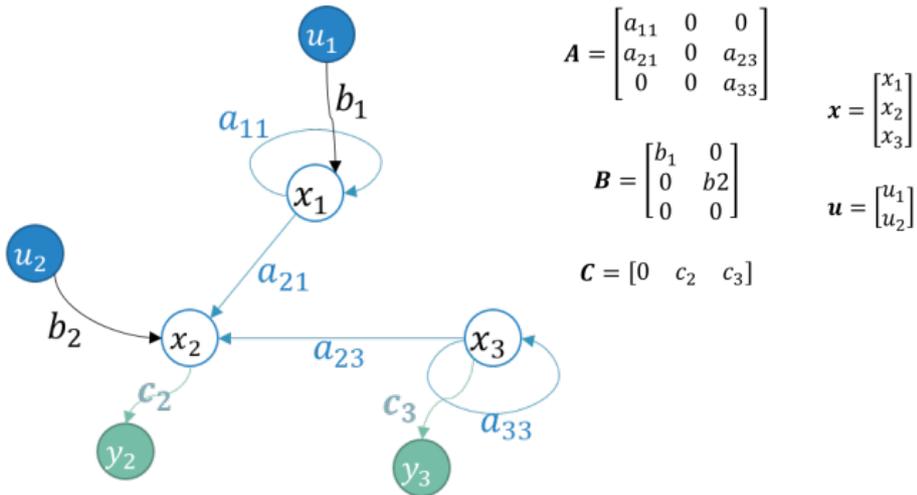
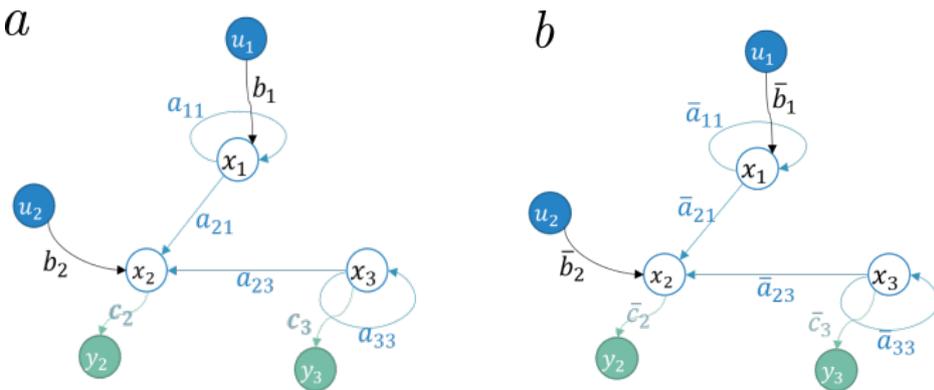


Figura F.9: [Composición propia] Representación de un grafo como sistema lineal invariante en el tiempo (LTI). En la tripleta de matrices  $A$ ,  $B$ ,  $C$  se denota el valor de interacción, en  $A$  del nodo  $j$  con el nodo  $i$ ,  $B$  de la entrada al sistema  $u_j$  con el nodo  $i$ .  $C$  del nodo  $j$  con la salida  $y_i$ .  $\mathbf{x}$  es el vector de los nodos del grafo.  $\mathbf{u}$  es el vector de entradas al sistema.



(a) [Composición propia] Estructura topológica del sistema  $\Sigma$  (b) [Composición propia] Estructura topológica del sistema  $\bar{\Sigma}$

Figura F.10: Grafos topológicamente congruentes. La variación es entre los valores de sus interacciones, sin embargo, si se obtiene su correspondiente representación LTI la tripleta de matrices estructurales va a tener el mismo patrón de ceros.

$$a \quad \Sigma: \begin{cases} \dot{\mathbf{x}} = \mathbf{A}\mathbf{x}(t) + \mathbf{B}\mathbf{u}(t) \\ \mathbf{y} = \mathbf{C}\mathbf{x}(t) \end{cases}$$

$$b \quad \bar{\Sigma}: \begin{cases} \dot{\mathbf{x}} = \bar{\mathbf{A}}\mathbf{x}(t) + \bar{\mathbf{B}}\mathbf{u}(t) \\ \mathbf{y} = \bar{\mathbf{C}}\mathbf{x}(t) \end{cases}$$

$$\Sigma: \begin{cases} \dot{\mathbf{x}} = \begin{bmatrix} a_{11} & 0 & 0 \\ a_{21} & 0 & a_{23} \\ 0 & 0 & a_{33} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} b_1 & 0 \\ 0 & b_2 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} u_1 \\ u_2 \end{bmatrix} \\ \mathbf{y} = [0 \quad c_2 \quad c_3] \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{bmatrix} \end{cases}$$

$$\bar{\Sigma}: \begin{cases} \dot{\mathbf{x}} = \begin{bmatrix} \bar{a}_{11} & 0 & 0 \\ \bar{a}_{21} & 0 & \bar{a}_{23} \\ 0 & 0 & \bar{a}_{33} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \bar{b}_1 & 0 \\ 0 & \bar{b}_2 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} u_1 \\ u_2 \end{bmatrix} \\ \mathbf{y} = [0 \quad \bar{c}_2 \quad \bar{c}_3] \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{bmatrix} \end{cases}$$

(a) [Composición propia] Representación LTI del sistema  $\Sigma$  representado en F.10a      (b) [Composición propia] Representación LTI del sistema  $\bar{\Sigma}$  representado en F.10b

Figura F.11: Representación LTI. Se observa que el patrón de ceros se mantiene constante, lo único que cambia es el valor absoluto de las interacciones, es decir, la topología del grafo es constante

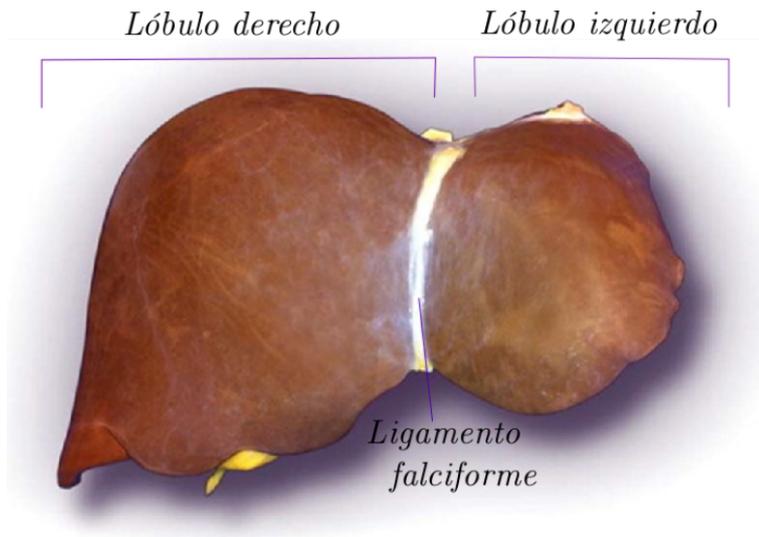


Figura F.12: [26] Hígado normal. Dividido en dos lóbulos por el ligamento falciforme.

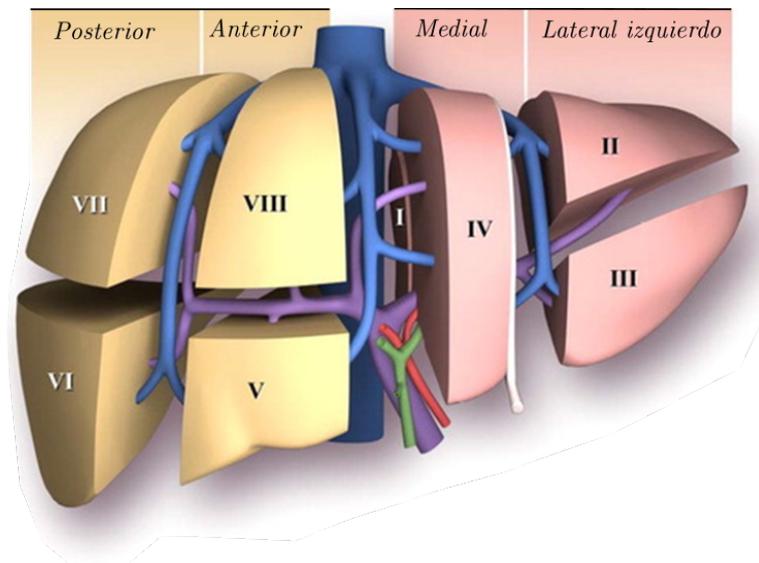


Figura F.13: [26] Anatomía arterial del hígado en ocho segmentos funcionales independientes.

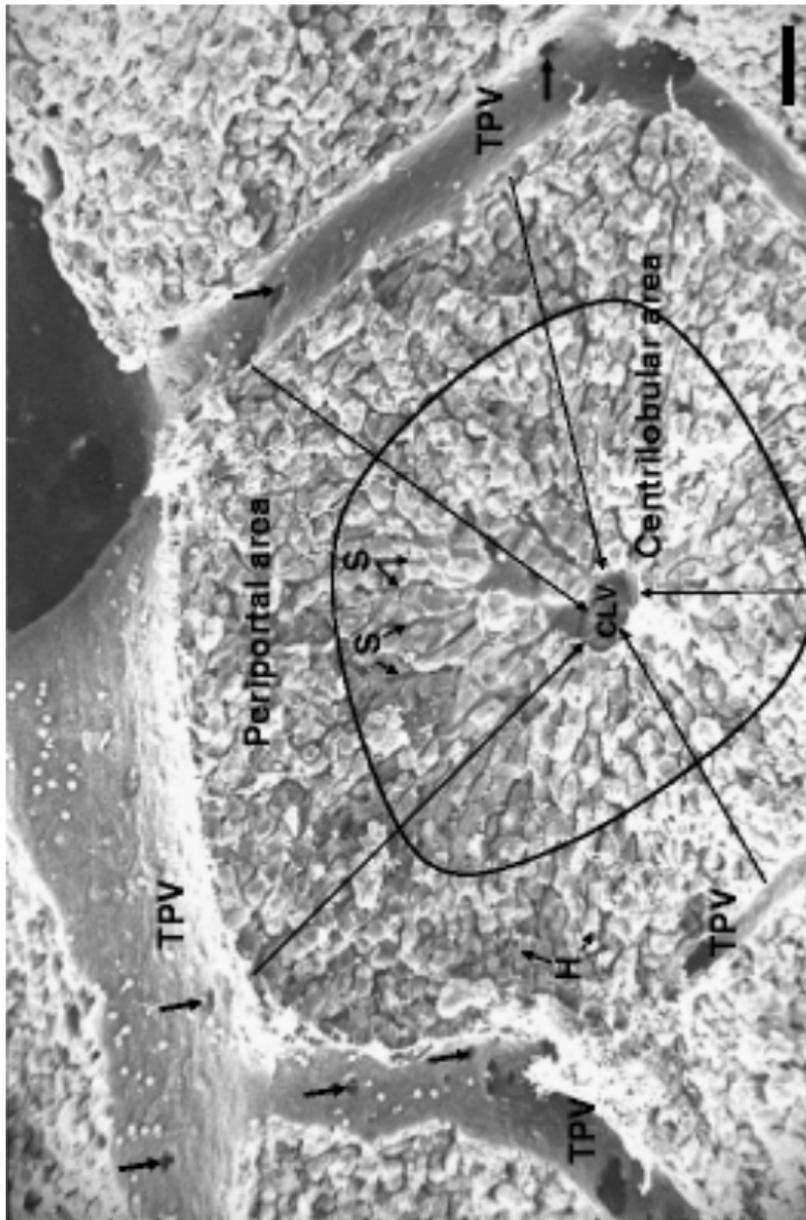


Figura F.14: [38] Microscopía electrónica del lóbulo hepático. El hígado está conformado por lóbulos hepáticos de forma poliédrica. En las esquinas se encuentra el tracto portal (TPV terminal portal veins): vena hepática, de arteria hepática y conducto biliar, H: Hepatocitos, organizados en láminas anastómicas. S: sinusoides por las cuales las venas y arterias portales se comunican con la vena central (CLV). Las flechas indican el acceso intralobular por el que fluye la sangre al hígado.

# Bibliografía

- <sup>1</sup>S. L. Friedman, «Hepatic Stellate Cells: Protean, Multifunctional, and Enigmatic Cells of the Liver», [Physiological Reviews](#) **88**, 125-172 (2008).
- <sup>2</sup>Y. Y. Liu y A. L. Barabási, «Control principles of complex systems», [Rev. Mod. Phys.](#) **88**, 03500601-03500658 (2016).
- <sup>3</sup>R. Torres-Valadez, S. Roman, A. Jose-Abrego, M. Sepulveda-Villegas, C. Ojeda-Granados, I. Rivera-Iñiguez y A. Panduro, «Early Detection of Liver Damage in Mexican Patients with Chronic Liver Disease», [Journal of Translational Internal Medicine](#) **5**, 49-57 (2017).
- <sup>4</sup>T. D. Boyer, M. P. Manns, A. J. Sanval y D. Zakim, *Zakim and Boyers hepatology: A textbook of liver disease* (Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier, 2012).
- <sup>5</sup>V. Hernandez-Gea y S. L. Friedman, «Pathogenesis of Liver Fibrosis», [Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.](#) **6**, 15,42,41,96-98,100,101, 65,66, 425-456 (2011).
- <sup>6</sup>I. Mederacke, C. C. Hsu, J. S. Troeger, P. Huebener, X. Mu, D. H. Dapito, J.-P. Pradere y R. F. Schwabe, «Fate-tracing reveals hepatic stellate cells as dominant contributors to liver fibrosis independent of its etiology», [Nature Communications](#) **4** (2013) 10.1038/ncomms3823(2013).
- <sup>7</sup>G. Yan, P. E. Vértés, E. K. Towlson, Y. L. Chew, D. S. Walker y A. L. Barabási, «Network control principles predict neuron function in the Caenorhabditis elegans connectome», [Nature](#) **550**, 519-523 (2017).
- <sup>8</sup>C. R. Gandhi y M. Pinzani, «History and Early Work», en *Stellate Cells in HEALTH AND DISEASE*, ed. por C. R. Gandhi y M. Pinzani, Chapter 1 - History and Early Work (Academic Press, 2015) cap. One.
- <sup>9</sup>C. Ramos Abraham, C. Becerril Berrocal, J. G. Cisneros Lira y M. Montano Ramirez, «EL MIOFIBROBLASTO, UNA CÉLULA MULTIFUNCIONAL EN LA PATOLOGÍA PULMONAR», [Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias](#) **17**, 215-231 (2004).

- <sup>10</sup>M. A. Watsky, K. T. Weber, Y. Sun y A. Postlethwaite, «New Insights into the Mechanism of Fibroblast to Myofibroblast Transformation and Associated Pathologies», en *International review of cell and molecular biology*, vol. 282, ed. por K. W. Jeon (Academic Press, 2010) cap. Four, págs. 165-192.
- <sup>11</sup>M. J. Berridge, «Cell Signalling Biology», en (Portland Press Limited, 2014) cap. Module 1: Introduction.
- <sup>12</sup>B. D. Gomperts, I. M. Kramer y P. E. R. Tatham, «Signal transduction», en, Third (San Diego: Elsevier Academic Press Google Scholar, nov. de 2015) cap. An Introduction to Signal Transduction, págs. 53-183.
- <sup>13</sup>J. Neitzel y M. Rasband, *Cell Communication*, English, Scitable by natureeducation, (2014) <https://www.nature.com/scitable/topic/cell-communication-14122659>.
- <sup>14</sup>J. M. Crawford y A. D. Burt, «Anatomy, pathophysiology and basic mechanisms of disease», en *Macswain's pathology of the liver*, ed. por A. Burt, B. Portmann y L. Ferrell, Sixth (Churchill Livingstone Elsevier, 2012) cap. 1.
- <sup>15</sup>S. L. Friedman, «Molecular Regulation of Hepatic Fibrosis, an Integrated Cellular Response to Tissue Injury», *The Journal of Biological Chemistry* **275**, 2247-2250 (2000).
- <sup>16</sup>E. Olaso y S. L. Friedman, «Molecular regulation of hepatic fibrogenesis», *Journal of Hepatology* **29**, 836-847 (1998).
- <sup>17</sup>S. Tsukada, C. J. Parsons y R. A. Rippe, «Mechanisms of liver fibrosis», *Clinica Chimica Acta* **364**, 33-60 (2006).
- <sup>18</sup>C. J. Parsons, M. Takashima y R. A. Rippe, «Molecular mechanisms of hepatic fibrogenesis», *Journal of Gastroenterology and Hepatology* **22**, 79-84 (2007).
- <sup>19</sup>T. Tsuchida y S. L. Friedman, «Mechanisms of hepatic stellate cell activation», *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* **14**, 397-411 (2017).
- <sup>20</sup>V. Hernandez-Gea y S. L. Friedman, «Pathogenesis of Liver Fibrosis», *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* **6**, 15,42,41,96-98,100,101, 65,66, 425-456 (2011).
- <sup>21</sup>D. G. Luenberger, *Introduction to Dynamic Systems: Theory, Models, and Applications* (J. Wiley & Sons, 2012).
- <sup>22</sup>R. Kalman, «Mathematical Description of Linear Dynamical Systems.», *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics Series A Control* **1**, 152-159 (1962).
- <sup>23</sup>C. T. Lin, «Structural controllability», *IEEE Transactions on Automatic Control* **19**, 201-208 (1974).
- <sup>24</sup>J. Kluwe, J.-P. Pradere, G.-Y. Gwak, A. Mencin, S. D. Minicis, C. H. Osterreicher, J. Colmenero, R. Bataller y R. F. Schwabe, «Modulation of hepatic fibrosis by c-Jun-N-terminal kinase inhibition», *Gastroenterology*. **138**, 347-359 (2011).

- <sup>25</sup>E. Seki, D. A. Brenner y M. Karin, «A Liver Full of JNK: Signaling in Regulation of Cell Function and Disease Pathogenesis, and Clinical Approaches», *Gastroenterology* **143**, 307-320 (2013).
- <sup>26</sup>M. Hoffman, *The Liver (Human Anatomy): Liver Picture, Definition, Function, Conditions, Tests, and Treatments*, English, WebMD Imagen Collection, (mar. de 2017) <https://www.webmd.com/digestive-disorders/picture-of-the-liver#1>.
- <sup>27</sup>S. R. Z. Abdel-Misih y M. Bloomston, «Liver Anatomy», *The Surgical Clinics of North America* **90**, 643-653 (2010).
- <sup>28</sup>M. D. L. Sibulesky, «Normal liver anatomy», *Clinical Liver Disease* **2**, Fig. 1-01 Fig. 1-02 (2013) [10.1002/clid.124](https://doi.org/10.1002/clid.124).
- <sup>29</sup>K. Wallace, A. D. Burt y M. C. Wright, «Liver fibrosis», *Biochemical Journal* **411**, 1-18 (2008).
- <sup>30</sup>Z. Kmiec, «Cooperation of Liver Cells in the Process of Liver Fibrosis», *Cooperation of Liver Cells in Health and Disease Advances in Anatomy Embryology and Cell Biology*, 97-105 (2001).
- <sup>31</sup>T. Taylor, *Liver – Anatomy and Function of the Human Liver*, English, InnerBody.com, [http://www.innerbody.com/image\\_digeov/card10-new2.html](http://www.innerbody.com/image_digeov/card10-new2.html).
- <sup>32</sup>T. Wynn, «Cellular and molecular mechanisms of fibrosis», *The Journal of Pathology* **214**, 199-210 (2008).
- <sup>33</sup>H. W. Verspaget, J. P. Kuyvenhoven, C. F. M. Sier y B. van Hoek, «Proteases in Gastrointestinal Tissue», en, ed. por U. Lendeckel y N. M. Hooper (Springer, 2006) cap. Matrix Metalloproteinases in Chronic Liver Disease and Liver Transplantation, págs. 209-234.
- <sup>34</sup>M. D. Sternlicht y Z. Werb, «How matrix metalloproteinases regulate cell behavior.», *Annual Review of Cell and Developmental Biology* **17**, 463-516 (2001).
- <sup>35</sup>H. L. Reeves y S. L. Friedman, «Activation of hepatic stellate cells - A key issue in liver fibrosis», *Frontiers in Bioscience* **7**, 808-826 (2002).
- <sup>36</sup>I. Shimizu, N. Shimamoto, K. Saiki, M. Furujo y K. Osawa, «Lipid Peroxidation in Hepatic Fibrosis », en *Lipid peroxidation*, ed. por A. Catala (InTechOpen, 2012) cap. 22, págs. 483-491.
- <sup>37</sup>J. P. Iredale, «Cirrhosis: new research provides a basis for rational and targeted treatments», *BMJ* **327**, 143-147 (2003).
- <sup>38</sup>F. Vidal-Vanaclocha, «The Prometastatic Microenvironment of the Liver», *Cancer Microenvironment* **1**, 113-129 (2008).