

## MIOFIBROBLASTOS: REVISÃO DE LITERATURA

Ana Paula Batista Masseno<sup>1</sup>  
Camila Dias Porto<sup>1</sup>  
Louisiane de Carvalho Nunes<sup>2</sup>  
Julio Lopes Sequeira<sup>3\*</sup>  
Marco Antônio Alvarenga<sup>3</sup>

### RESUMO

A cicatrização é um fenômeno complexo que restabelece a integridade morfológica e funcional de qualquer tecido ou órgão lesado. A reconstituição consiste numa perfeita e ordenada cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a recomposição do tecido. Os fibroblastos são as principais células envolvidas na cicatrização e têm por principal função a manutenção da integridade do tecido conjuntivo, pela síntese dos componentes da matriz extracelular. Os miofibroblastos são componentes importantes durante a reparação do tecido lesionado e aparecem após o término dos fenômenos inflamatórios iniciais. Miofibroblastos expressando  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA) não só promovem a contração, mas também sintetizam níveis elevados de proteases degradantes da matriz extracelular.

**Palavras-chave:** Miofibroblasto, cicatrização, matriz extracelular

### MYOFIBROBLASTS: A REVIEW

#### ABSTRACT

The healing is a complex phenomenon which restores the morphological and functional integrity of any tissue or organ injured. The recovery is a perfect and orderly cascade of cellular and molecular events that interact to have the rebuilding of tissue. The fibroblasts are the main cells involved in wound healing and have the main function to maintain the integrity of the tissue, the synthesis of components of extracellular matrix. The myofibroblasts are important components for the repair of injured tissue and appear after the end of the initial inflammatory phenomena. Myofibroblasts expressing  $\alpha$ -actin of smooth muscle ( $\alpha$ -SMA) to promote not only contraction but also synthesize high levels of proteases degrading the extracellular matrix.

**Key words:** Myofibroblasts, healing, extracellular matrix.

## MIOFIBROBLASTOS: REVISIÓN DE LA LITERATURA

### RESUMEN

La cicatrización es un fenómeno complejo que restaura la integridad morfológica y funcional de cualquier tejido u órgano lesionado. La reconstitución es una cascada perfecta y ordenada de eventos celulares y moleculares que interactúan para producir la reconstrucción del tejido.

<sup>1</sup> Pós-graduandas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, Campus de Botucatu, SP.

<sup>2</sup> Docente do Centro de Ciência Agrárias – UFES, Campus de Alegre, ES.

<sup>3</sup> Docentes da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, Campus de Botucatu, SP.

\* Prof. Ass. Dr. Julio Lopes Sequeira FMVZ – UNESP Deptº. Clínica Veterinária, Distrito de Rubião Jr, s/n, CEP 18618-000 Botucatu – SP, [sequeira@fmvz.unesp.br](mailto:sequeira@fmvz.unesp.br)

Los fibroblastos son las principales células implicadas en la cicatrización y su función primordial es de mantener la integridad del tejido conjuntivo, la síntesis de los componentes de la matriz extracelular. Los miofibroblastos son componentes importantes en la reparación del tejido dañado y aparecen después del final de los fenómenos inflamatorios iniciales. Los miofibroblastos expresando  $\alpha$ -actina del músculo liso ( $\alpha$ -SMA), que promueven no sólo la contracción, sino también una síntesis de altos niveles de proteasas degradantes de la matriz extracelular.

**Palabras-clave:** Miofibroblastos, cicatrización, matriz extracelular.

## INTRODUÇÃO

A cicatrização é um fenômeno complexo que restabelece a integridade morfológica e funcional de qualquer tecido ou órgão lesado. A reconstituição consiste numa perfeita e ordenada cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a recomposição do tecido (1).

Os fibroblastos são as principais células envolvidas na cicatrização e têm por principal função a manutenção da integridade do tecido conjuntivo, pela síntese dos componentes da matriz extracelular e, na pele, esses eventos são necessários para permitir e promover a reepitelização (3). Eles são suscetíveis a alterações devido às forças mecânicas as quais são submetidos durante situações patológicas ou fisiológicas e, assim, organizam as fibras colágenas, além de estarem diretamente relacionados à formação do tecido de granulação. Além de produzirem colágeno, os fibroblastos produzem elastina, fibronectina, glicosaminoglicanas e proteases, responsáveis pelo debridamento e remodelamento fisiológico da célula (4).

Fibroblastos são células mesenquimais encontradas no estroma de variados tecidos. No pulmão adulto normal, podem ser encontradas na adventícia de estruturas vasculares e vias aéreas. Apresentam morfologia fusiforme e expressam colágeno intersticial (tipos I e III), mas não expressam marcadores de outras células diferenciadas. Estudo recente sugere a sua importância no desenvolvimento e presumivelmente na regeneração, manutenção de células-tronco, cicatrização, lesão tecidual e reparação / remodelação / fibrose (5).

Durante a formação do tecido de granulação, fibroblastos e células endoteliais se movem para o interior da ferida, produzindo matriz extracelular e angiogênese (6). Muitos destes fibroblastos adquirem aspecto morfológico e bioquímico de células musculares lisas, sendo denominados miofibroblastos (7). Os miofibroblastos participam na síntese da matriz extracelular e na produção de força mecânica, com influência na reorganização da matriz e na contração da ferida (8). Sua atividade contrátil é responsável pelo fechamento de feridas após a lesão, processo conhecido como contração da ferida (9).

Os fibrócitos são fibroblastos inativos cuja atividade celular é o desenvolvimento da fibrose (10). Eles são considerados importantes no processo cicatricial por participarem do mecanismo de formação dos granulomas, na atividade antigênica, na produção de colágeno e na formação de matriz protéica, e na inflamação como fonte rica de citocinas (11,12). Além disso, produzem fatores de crescimento, fatores angiogênicos, contribuindo para a formação de novos vasos sanguíneos e no surgimento de distúrbios fibróticos (13, 12).

Durante a cicatrização, os fibrócitos podem ser recrutados do tecido adjacente não-lesado se revertendo para o estado de fibroblasto e reativando sua capacidade de síntese (2). Os fibrócitos podem ser encontrados em vários tecidos, tanto em condições fisiológicas quanto patológicas (14). Eles são derivados de precursores da medula óssea e contribuem para a presença de miofibroblastos no tecido cicatricial (15).

## FUNÇÃO DOS MIOFIBROBLASTOS

Os miofibroblastos são componentes importantes durante a reparação do tecido lesionado e aparecem após o término dos fenômenos inflamatórios iniciais (16).

Na maioria dos órgãos, a lesão tecidual ativa fibrócitos locais que na presença dos fatores de crescimento derivados dos macrófagos se diferenciam em miofibroblastos contráteis, que são caracterizados pela expressão da  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA) (8, 9).

Quando as lesões ocorrem em locais onde não se encontram os fibrócitos (17), como nas paredes arteriais ou na córnea, os miofibroblastos são provenientes das células musculares lisas adjacentes (VSMCs) ou de queratinócitos, respectivamente (18). Miofibroblastos também são encontrados em condições patológicas caracterizadas por fibrose e arteriosclerose assim como durante a invasão e crescimento de tumores (19, 20, 9). Em tecidos lesado e não lesado, a positividade destas células para  $\alpha$ -SMA sinaliza um remodelamento do tecido e representam alvos para intervenções terapêuticas (8).

## HETEROGENEIDADE DOS FIBROBLASTOS

As lesões fibróticas, se destacam pela predominância de fibroblastos, ou de células com características morfológicas semelhantes aos fibroblastos (21). No entanto, devido à expressão de diferentes fatores, incluindo o colágeno tipo I, Thy-1, a  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA), a cicloxigenase (COX)-2, a telomerase e a caveolina-1 estas células parecem ser heterogêneas, talvez representando subpopulações distintas (22, 23).

Recentes estudos indicam a existência de subtipos distintos de fibroblastos em regiões diferentes do corpo, baseados em testes do padrão da expressão genética (24). Este fato ressalta a presença de diferentes progenitores que poderiam gerar diferentes fenótipos durante a resposta do tecido à lesão. Em todo caso, a notável diferenciação dos subtipos dos fenótipos, pode ser importante na indução da fibrose em tecidos lesados, como acontece na Fibrose Pulmonar Idiopática (FPI) (25). Dessa forma, os fibroblastos que expressam a  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA), denominados de miofibroblastos, são reconhecidos como a fonte principal de colágeno tipo I e de citocinas fibrogênicas/inflamatórias nas lesões fibróticas (25, 5). A deficiência de caveolina-1 está associada com o desenvolvimento de lesões fibróticas no pulmão, enquanto que a sua expressão determina alguma proteção contra fibrose (26).

A expressão negativa de Thy-1 e caveolina-1 por fibroblastos ou células que apresentem características morfológicas de fibroblastos, está associada com a fibrose pulmonar, no entanto estes marcadores não são expressos pelos miofibroblastos (27, 28), determinando seu papel no desenvolvimento da fibrose. O significado da expressão da telomerase em determinada subpopulação de fibroblastos, que seja distinta dos miofibroblastos ainda não foi elucidado (29, 30, 31). A análise do fenótipo de fibroblastos determinou o papel fisiopatológico, destas diferentes subpopulações de células no processo fibrótico, sugerindo sua possível interação, como ocorre na fibrose pulmonar. Estes fenótipos distintos podem representar diferentes fases de diferenciação dos miofibroblastos resultantes de subpopulações progenitoras variadas. Em função disso, uma rigorosa e completa análise destes subtipos ou subpopulações diferenciadas de fibroblastos, podem fornecer informações sobre a patogênese da fibrose em resposta a certos tipos de lesão pulmonar.

## SUBPOPULAÇÕES DIFERENCIADAS DE FIBROBLASTOS

As subpopulações diferenciadas de fibroblastos descritas acima podem contribuir para a resposta fibrótica conforme a característica de seus respectivos fenótipos. Devido a capacidade dos miofibroblastos poderem expressar elevados níveis de citocinas, matriz extracelular e  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA), estas células podem desempenhar funções fundamentais na inflamação e na deposição de tecido conectivo (5). O aumento da sobrevivência destas células pode resultar numa expansão da população precursora, com potencial de se diferenciar em miofibroblastos sob a influência do Fator Transformante do Crescimento (TGF)- $\beta$ , que é altamente expresso em lesões fibróticas. Como alternativa, ou adicionalmente, o aumento da sobrevivência de células telomerase positivas pode contribuir para a produção de citocinas fibrogênicas ou mediadores que poderiam, então, estimular a diferenciação em miofibroblastos progenitores (26). Inversamente, a expressão reduzida da telomerase pelos fibroblastos é relatada na Fibrose Pulmonar Idiopática (FPI).

O papel anti-fibrótico da caveolina-1 é confirmado pelo aumento da sua expressão, e dessa forma suprimindo a diferenciação dos miofibroblastos, sendo que, a sua deficiência resulta em fibrose pulmonar. A diminuição da expressão da COX-2 pelos fibroblastos também é característica da Fibrose Pulmonar Idiopática (FPI). Isto se explica, pela ação anti-fibrótica da COX-2, via elaboração de prostanóides, que são conhecidos pela capacidade de inibir a produção de colágeno, bem como a proliferação de fibroblastos (32).

Assim, essas características, ou seja, expressão de baixos níveis de Thy-1, Caveolina-1 ou de Cox-2 orientam sua diferenciação para um fenótipo fibrótico. Portanto, esta célula apresenta a perda de características do fenótipo antifibrótico.

A perda de propriedades anti-fibróticas sugere que, em tecidos normais, mecanismos ativos para suprimir a fibrose constitutiva, têm importância na manutenção da homeostase tecidual. Conseqüentemente, a perda ou a desregulação nestes mecanismos homeostáticos ativos teriam influência na patogênese da fibrose. A função dos fibroblastos na fibrose é a elaboração da matriz extracelular e, talvez, a elaboração de citocinas e da regulação das propriedades mecânicas do tecido. Entretanto, no contexto da interferência fibroblasto-epitelial, como postulado para componentes celulares dos focos fibróticos, estudos recentes confirmam que os elementos fibroblásticos têm influência considerável sobre fenótipo epitelial (24, 33).

## ORIGEM DO MIOFIBROBLASTO

Já foi demonstrado que os miofibroblastos presentes nas lesões teciduais podem determinar o recrutamento local de fibroblastos da derme circunvizinha e do tecido subcutâneo (34). Pericitos ou células musculares lisas da parede vascular representam outra possível fonte de miofibroblastos. Durante a fibrogênese renal, foi demonstrado que fibroblastos surgem em grande número da transição epitélio-mesenquimal local. Células precursoras, denominadas fibrócitos migram na ferida cutânea e contribuem para a formação da população miofibroblástica do tecido de granulação (14).

A reação estromal, reconhecida em diversos tumores epiteliais, tem como um de seus componentes os miofibroblastos, que interagem com as células tumorais do tecido, controlando fenômenos tais como a capacidade de invasão e a angiogênese (35, 36).

Estas células podem, quando estimuladas pelo TGF- $\beta$ 1, ser induzidas a expressar  $\alpha$ -SMA (11). Estudos demonstram que fibrócitos circulantes representam uma importante fonte de fibroblastos durante a cicatrização de feridas extensas, nas quais a migração para os bordos da lesão seja dificultada (23).

## DIFERENCIAÇÃO DOS MIOFIBROBLASTOS

Os miofibroblastos são responsáveis pelas principais características da fibrose ativa por sua capacidade em expressar níveis elevados de citocinas fibrogênicas, contribuindo para alteração das propriedades do tecido afetado. Há evidências de que a produção de colágeno pelos fibroblastos, em função do estímulo do TGF- $\beta$ , seja uma consequência da diferenciação de miofibroblastos (37). Além disso, este efeito sobre a produção de colágeno é irreversível, persistindo mesmo após a remoção do TGF- $\beta$ , indicando que o aumento da expressão gênica da matriz seja uma característica fenotípica dessas células. Recentemente, foi relacionada a expressão da  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA) à inibição do Fator de Crescimento do Tecido Conectivo (CTGF), ao qual está associada com a reduzida translocação nuclear do Fator Nuclear (NF)- $\kappa$ B (38). Assim a manifestação da expressão do fenótipo da  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA) pode ser crucial para aquisição de características do miofibroblasto totalmente diferenciado, o que pode representar um avanço importante na indução e progressão da fibrose.

Além de ser um dos principais marcadores da diferenciação do miofibroblasto e do seu papel na regulação da expressão gênica do colágeno e CTGF, a  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA) tem importância também nas interações com sinalização dos componentes de transcrição de genes diferentes (38, 28, 39).

Esta interação com a sinalização de componentes e/ou fatores de transcrição pode facilitar a translocação nuclear de fatores, bem como a localização de componentes para boa sinalização. A ativação da p38 induzida por estresse sobre as células exige a presença de  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA) (28).

A p38 é uma enzima caracterizada pela regulação de várias citocinas, sendo ativada por células do sistema imune citocinas inflamatórias e tem um importante papel na resposta imunológica (40). Similar à mediação da sinalização de TGF- $\beta$  pela p38, o princípio acima mencionado da expressão de CTGF pela  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA) é igualmente dependente da p38 (38). Estes mecanismos mediados pela p38 que promovem a diferenciação do miofibroblasto podem servir de base para os inibidores da p38, e dessa forma suprime a fibrose pulmonar em modelos experimentais em animais (41).

O efeito conhecido do TGF- $\beta$  na expressão de  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA) ocorre na diferenciação dos miofibroblastos, sugerindo a importância da associação do TGF- $\beta$ . Estudos *in vitro*, indicam a importância do gene Smad3 na expressão da  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA) pelos fibroblastos do pulmão (42). Por outro lado, estudos *in vivo*, mostram que a deficiência de Smad3 conduz a uma significativa redução na fibrose pulmonar (43).

Distintos fenótipos de fibroblastos foram recuperados a partir de tecidos submetidos à remodelação ou fibrose, com muitas propriedades que sugerem a sua contribuição para o processo fibrótico. Suas origens, as potenciais interrelações, interações e os mecanismos que deram origem a esses fenótipos foram caracterizados de forma limitada, em uma forma compartimentada, que impede a plena compreensão do seu papel exato na patogênese das doenças fibróticas progressivas (44).

## FATORES ENVOLVIDOS NA DIFERENCIAÇÃO MIOFIBROBLÁSTICA

O miofibroblasto foi identificado inicialmente por meio da microscopia eletrônica de transmissão no tecido de granulação e nas cicatrizes como um fibroblasto modificado, exibindo características de células de músculo liso, tais como agrupamentos de microfilamentos (16). A partir daí a presença de miofibroblastos foi descrita sucessivamente em praticamente todos os processos fibróticos caracterizados pela retração do tecido e pela remodelação (45). Pesquisa tem contribuído para definir essas células morfológicamente, ao demonstrarem que suas estruturas contráteis são representadas por filamentos de actina, e bioquimicamente, mostrando que a atividade das fibras expressa proteínas contráteis típicas

de células de músculo liso, em particular de células musculares lisas vasculares, tais como  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA) (46). Atualmente se admite que a diferenciação miofibroblástica a partir de fibroblastos tenha início no protomiofibroblasto, cujos filamentos de actina contêm somente actinas  $\beta$ - e  $\alpha$ -citoplasmáticas e evoluem, mas não necessariamente sempre, para o miofibroblasto diferenciado que possui filamentos que contêm  $\alpha$ -SMA. Estes miofibroblastos podem ainda, de acordo com situações clínicas ou experimentais, expressar outras proteínas contráteis de células de músculo liso, como a miosina-MS que representa o principal marcador seguro do fenótipo miofibroblástico (8).

A modificação a partir de protomiofibroblastos diferenciados para os miofibroblastos têm sido relacionados com a produção pelas células inflamatórias e, possivelmente, por fibroblastos, de Fator Transformador de Crescimento  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) (47). Mais recentemente, os mecanismos pelos quais a trombina e endotelina-1 são capazes de promover a indução do miofibroblasto têm sido investigados (48, 49). Além disso, está sendo cada vez mais aceita a hipótese de que os fatores mecânicos desempenham um papel importante em ambas as transições (50).

A questão relativa à reversibilidade da diferenciação dos miofibroblastos é importante. Fibroblastos remanescentes no tecido de granulação, após a reepitelização, reverteram a um fenótipo quiescente, não contrátil e que não apresenta os microfilamentos que estiveram presentes durante o processo cicatricial. Entretanto, esta modulação positiva e negativa do fenótipo do miofibroblasto ainda não foi claramente demonstrada *in vivo*, embora a reversão do fenótipo já tenha sido observada *in vitro*. Além disso, considera-se que os fibroblastos residuais representem uma subpopulação de células que não evoluíram até o fenótipo de miofibroblasto durante o processo de cicatrização, e assim resistem (51).

## PAPEL DO MIOFIBROBLASTO NA CONTRAÇÃO DA FERIDA

A participação importante da  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA) foi demonstrada na produção de miofibroblasto *in vitro*, utilizando modelos que envolvem fibroblastos cultivados em substratos flexíveis e flutuantes utilizados em experimentos que envolvem o processo cicatricial de feridas em ratos (52). Células expressando esta proteína, ou seja, diferenciadas em miofibroblastos, possuem uma forte atividade retrátil, em comparação aos protomiofibroblastos que apresentam ausência de qualquer outra alteração na expressão da proteína contrátil (53, 54).

### Contração Miofibroblástica e Formação Hipertrófica da Cicatriz

Um dos problemas importantes ainda não solucionado no entendimento da biologia do miofibroblasto é a evolução da diferenciação e na sua persistência nos eventos patológicos que envolvem cicatrizes hipertróficas e desenvolvimento da fibrose. Nas cicatrizes hipertróficas é intensa a expressão de  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA) pelos miofibroblastos, sendo que estes estão envolvidos na contratilidade da cicatriz. Uma possível hipótese é a inibição da apoptose destas células que caracteriza uma fase terminal da cicatrização da ferida (55). No entanto, esta hipótese ainda não foi confirmada em situações clínicas e não existem modelos animais experimentais confiáveis de cicatrizes hipertróficas. Além disso, mesmo que os miofibroblastos sofram apoptose durante a cicatrização, pouco se conhece sobre os mecanismos que regulam este fenômeno nestas células. O ponto de partida para esta morte celular pode estar relacionada a redução da concentração de fatores tróficos locais, devido a reepitelização e depleção de células inflamatórias que ocorrem após a cicatrização de feridas. A remodelação da matriz extracelular pelas metaloproteinases (MMPs) pode também desempenhar um papel importante, interferindo na aderência do

miofibroblasto à matriz extracelular como têm sido sugerido no estudo sobre a regressão de tecido de granulação na pele (56).

No início do reparo, o equilíbrio entre MMPs como colagenases e gelatinases e seus inibidores teciduais endógenos de metaloproteinases (TIMPs), favorece a produção da matriz extracelular. Mais tarde, na cicatriz em remodelação, é possível que esta tendência mude e favoreça a degradação da matriz. Como mencionado anteriormente, esta mudança pode ser o aumento na apoptose. Alterações no estresse físico causado pelo estiramento do tecido de granulação podem também contribuir para a perda de células pelo mecanismo apoptótico como têm sido sugerido em estudos *in vitro* sobre a estrutura do colágeno derivado dos fibroblastos (57). A persistência de queratinócitos ativados tem sido observada na epiderme que recobre cicatrizes hipertróficas, o que implica em interações epidérmico-mesenquimais anormais, sugerindo que os mecanismos celulares envolvidos na patogênese das cicatrizes hipertróficas sejam mais complexos do que fenômenos cutâneos isolados (58). Contudo, recentemente respostas diferentes a indutores apoptóticos foram observadas entre a pele normal, ferida e miofibroblastos nas cicatrizes hipertróficas, confirmando a hipótese de defeitos no mecanismo de apoptose e de crescimento durante a formação da cicatriz patológica, impedindo o desaparecimento do miofibroblasto no final do processo de cicatrização (59).

### **Contração e Fibrose**

O processo adequado de reparação do tecido conjuntivo, num determinado órgão exige a adequada reconstituição da sua função. Miofibroblastos expressando  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA) não só promovem a contração, mas também sintetizam níveis elevados de proteases degradantes da matriz extracelular. Os estudos sobre miofibroblastos sugerem essa possibilidade para os tecidos adultos e indicam novos mecanismos possíveis para esta ação. As interações entre miofibroblastos e a matriz extracelular desempenham um papel importante nas propriedades mecânicas do tecido e, a persistência de miofibroblastos na lesão leva à fibrose cicatricial excessiva com comprometimento funcional do órgão acometido (50). Curiosamente, foi demonstrado que em alguns processos que evoluem para cirrose hepática, anteriormente considerados como processos irreversíveis, podem ser remodelados com a diminuição da expressão do colágeno tipo I e TIMP, a ativação das MMPs e a apoptose de miofibroblastos (60).

No fígado, como em muitos órgãos, diferentes subpopulações de células fibroblásticas podem adquirir o fenótipo miofibroblástico (por exemplo, células hepáticas estreladas – células de Ito - e fibroblastos portais). Dessa forma, supõe-se que nestas diferentes populações, os mecanismos que conduzem a expressão da  $\alpha$ -SMA e a persistência em situações patológicas sejam diferentes. Dentre as células capazes de expressarem  $\alpha$ -SMA, podemos distinguir células fibroblásticas e células “pericyte-like”. Estas últimas podem modular a expressão de  $\alpha$ -SMA em resposta a alterações da pressão arterial. No entanto, ambas as populações podem ser envolvidas em processos fibróticos. É importante ressaltar que, nos diferentes órgãos os fibroblastos representam uma população heterogênea de células definidas de acordo com sua localização no órgão (61,62). Entre essas populações, diferenças fenotípicas são óbvias, como exemplo, a síntese de matriz extracelular e remodelação, a produção de fatores de crescimento e citocinas, e de envolvimento em processos de reparação de tecido. Esta distinção entre subtipos de fibroblastos tem importantes conseqüências no tecido normal ou na formação excessiva de cicatriz.

### **MIOFIBROBLASTOS NO ENDOMÉTRIO EQUINO**

Os miofibroblastos são componentes importantes durante a reparação do tecido lesionado e aparecem após o término dos fenômenos inflamatórios iniciais (16). No que diz respeito ao endométrio equino, os fibroblastos que circundam as glândulas uterinas fibróticas nas endometroses mostram forte imunoreatividade para actina de músculo liso- $\alpha$ . Mais ainda, glândulas císticas são circundadas por uma camada de células positivas para esta proteína (63).

Associado a isso, nas lesões fibróticas endometriais também já foram identificadas células mesenquimais, os miofibroblastos, cuja diferenciação é influenciada pela ação do TNF- $\alpha$  (64).

A reação fibrótica periglandular endometrial seria um mecanismo de remodelamento tecidual para que a estrutura glandular suportasse a retenção de secreções (65). Na endometrose, glândulas dilatadas e repletas de secreção e restos celulares são observadas com frequência no endométrio equino, assim como glândulas não dilatadas que mostram acentuada reação fibrótica (66). Em ambas as situações estão presentes, em meio ao tecido fibrótico, células positivas para actina de músculo liso- $\alpha$  (63). Desta forma, no processo de endometrose, a função destas células permanece uma incógnita. Por outro lado, não existem dados sobre a presença ou não de células positivas para actina de músculo liso- $\alpha$  nas endometrites infiltrativas. Não está claro também, a partir de qual estágio da lesão estas células passam a ser observadas e, no caso das endometrites infiltrativas, qual a sua localização preferencial.

## FIBROBLASTOS PROGENITORES DOS MIOFIBROBLASTOS NO PULMÃO

Pesquisas relacionadas à plasticidade em células-tronco têm indicado a possibilidade de que células mesenquimais possam surgir a partir de células progenitoras na medula óssea ou de células-tronco adultas da medula óssea, o que já foi relatado para células epiteliais e outros tipos de células diferenciadas. Nos pulmões, as células-tronco mesenquimais derivadas da medula, possuem ação protetora contra a fibrose (67). No entanto, tem sido revelado que fibroblastos ou “fibroblast-like cells” obtidas a partir da medula óssea parecem promover a fibrose neste órgão (68). Estudos utilizando células da medula óssea de ratos a fim de detectar a migração de progenitores de medula óssea, indicam infiltração de “fibroblast-like cells” em tecidos em remodelação (69,70). Esta conclusão é coerente com a presença de fibroblastos derivados de fibrócitos circulantes detectados em modelos animais (11,71). Porém ainda existem dúvidas no que diz respeito ao fenótipo de células “fibroblast-like”, a célula que é recrutada na fibrose pulmonar. O uso de marcadores de fibrócitos (CD34, CD45 e colágeno I) demonstrou uma fonte significativa de miofibroblastos em pulmões fibróticos (72,71). A presença de fibroblastos teciduais como uma fonte de miofibroblastos foi bem documentada em tecidos, primeiramente em cultivo de tecido, no qual a diferenciação em miofibroblasto pode ser induzida pelo tratamento com TGF- $\beta$  e outras citocinas. No pulmão isto implica na presença de células progenitoras do miofibroblasto normal ou de células pluripotentes mesenquimais progenitoras, ou mesmo de células epiteliais e de transição endotelial-mesenquimal (25, 73, 74, 75, 76). A real contribuição destes mecanismos para a população total de miofibroblastos permanece incerta, especialmente *in vivo*.

## CONCLUSÃO

A cicatrização é um elemento complexo que restabelece a integridade morfológica e funcional de qualquer tecido ou órgão lesado. Os fibroblastos são células mesenquimais localizadas no estroma dos tecidos, estão envolvidos na cicatrização e têm por principal

função a manutenção da integridade do tecido conjuntivo, pela síntese dos componentes da matriz extracelular.

Durante o processo de formação do tecido de granulação, fibroblastos e células endoteliais se movem para o interior da ferida, no entanto alguns destes fibroblastos podem sofrer diferenciação morfológica e bioquímica, adquirindo características de células musculares lisas, conferindo a denominação de miofibroblastos.

Os miofibroblastos participam na síntese da matriz extracelular e na produção de força mecânica, com influência na reorganização da matriz e na contração da ferida.

A lesão tecidual ativa fibrócitos locais que na presença dos fatores de crescimento derivados dos macrófagos se diferenciam em miofibroblastos contráteis, cuja principal característica é a expressão da  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA).

Estudos sugerem a existência de subtipos distintos de fibroblastos em regiões diferentes do corpo, baseados em testes do padrão da expressão genética. Este fato ressalta a existência de diferentes progenitores que poderiam gerar fenótipos diferentes durante a resposta do tecido à lesão. Estas subpopulações diferenciadas de fibroblastos podem contribuir para a resposta fibrótica conforme a característica de seus respectivos fenótipos.

Sendo assim, é de extrema importância a investigação detalhada referente ao significado da presença de miofibroblastos nas lesões fibróticas, para que se possa estabelecer o papel desempenhado por estas células.

## REFERÊNCIAS

1. Martin P, Leibovich SJ. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends Cell Biol.* 2005; 15: 599-607.
2. Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica*. 10<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
3. Amadeu TP, Coulomb BB, Desmouliere A, Costa AMA. Cutaneous wound healing: myofibroblastic differentiation and in vitro models. *Int J Low Extrem Wounds.* 2003; 2: 60-8.
4. Hildebrand KA, Gallant-Behm CL, Kydd AS, Hart AD. The basics of soft tissue healing and general factors that influence such healing. *Sports Med Arthrosc.* 2005; 13: 136-44.
5. Phan SH. The myofibroblast in pulmonary fibrosis. *Chest.* 2002; 122(6 Suppl): 286-9.
6. Singer AJ, Clark RAF. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med.* 1999; 341: 738-46.
7. Desmoulière A, Gabbiani G. The role of myofibroblasts in wound healing and fibrocontractive diseases. In: Clark RAF, editor. *The molecular and cellular biology of wound repair*. New York: Plenum Press, 1996. p. 391-423.
8. Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, Chaponier C, Brown RA. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002; 3: 349-63.
9. Gabbiani G. The myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases. *Am J Pathol.* 2003; 200: 500-3.
10. Banks WJ. *Histologia veterinária aplicada*. 2a ed. São Paulo: Manole; 1992.

11. Abe R, Donnelly SC, Peng T, Bucala R, Metz CN. Peripheral blood fibrocytes: differentiation pathway and migration to wound sites. *J Immunol.* 2001; 166: 7556–62.
12. Quan TE, Cowper S, Wu SP, Bockenstedt LK, Bucala R. Circulating fibrocytes: collagen-secreting cells of the peripheral blood. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004; 36: 598-606.
13. Metz CN. Fibrocytes: a unique cell population implicated in wound healing. *Cell Mol Life Sci.* 2002; 60: 1342-50.
14. Bucala R, Spiegel LA, Chesney J, Hogan M, Cerami A. Circulating fibrocytes define a new leukocyte subpopulation that mediates tissue repair. *Mol Med.* 1994; 1: 71-81.
15. Mori L, Bellini A, Stacey MA, Schimidt M, Mattoli S. Fibrocytes contribute to the myofibroblast population in wounded skin and originate from the bone marrow. *Exp Cell Res.* 2005; 304: 81-90.
16. Gabbiani G, Ryan GB, Majne G. Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction. *Experientia.* 1971; 27: 549-50.
17. Shi Y, O'Brien JE, Fard A, Mannion JD, Wang D. Adventitial myofibroblasts contribute to neointimal formation in injured porcine coronary arteries. *Circulation.* 1996; 94: 1655-64.
18. Jester JV, Huang J, Petroll WM, Cavanagh HD. TGFbeta induced myofibroblast differentiation of rabbit keratocytes requires synergistic TGFbeta, PDGF and integrin signaling. *Exp Eye Res.* 2002; 75: 645-57.
19. Heughan C, Niinikoski J, Hunt TK. Atherosclerosis and healing. In: Hunt TK, editor. *Wound healing and wound infection. Theory and surgical practice.* New York: Appleton Century Crofts, 1980. p. 72-80.
20. De Wever O, Westbroek W, Verloes A, Bloemen N, Bracke M, Gespach C, et al. Critical role of N-cadherin in myofibroblast invasion and migration in vitro stimulated by colon-cancer-cell-derived TGF- $\beta$  or wounding. *J Cell Sci.* 2004; 117: 4691-703.
21. Katzenstein AA, Myers JL. Idiopathic pulmonary fibrosis: clinical relevance of pathologic classification. *Am J Respir Med Crit Care Med.* 1998; 157: 1301-15.
22. Derdak S, Penney DP, Keng P, Felch ME, Brown D, Phipps RP. Differential collagen and fibronectin production by Thy 11 and Thy 12 lung fibroblast subpopulations. *Am J Physiol.* 1992; 263: 283-90.
23. Yang L, Scott PG, Giuffre J, Shankowsky HA, Ghahary A, Tredget EE. Peripheral blood fibrocytes from burn patients: identification and quantification of fibrocytes in adherent cells cultured from peripheral blood mononuclear cells. *Lab Invest.* 2002; 82: 1183-92.

24. Chang HY, Chi JT, Dudoit S, Bondre C, Van De Rijn M, Botstein D, et al. Diversity, topographic differentiation, and positional memory in human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99: 12877-82.
25. Zhang K, Rekhter MD, Gordon D, Phan SH. Co-expression of  $\alpha$ -smooth muscle actin and type I collagen in fibroblast-like cells of rat lungs with bleomycin-induced pulmonary fibrosis: a combined immuno-histochemical and in situ hybridization study. *Am J Pathol*. 1994; 145: 114-25.
26. Wang XM, Zhang Y, Kim HP, Zhou Z, Feghali-Bostwick CA, Liu F, et al. Caveolin-1: a critical regulator of lung fibrosis in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Exp Med*. 2006; 203: 2895-906.
27. Hagood JS, Prabhakaran P, Kumbala P, Salazar L, Macewen MW, Barker TH, et al. Loss of fibroblast Thy-1 expression correlates with lung fibrogenesis. *Am J Pathol*. 2005; 167: 365-79.
28. Wang J, Fan J, Laschinger C, Arora PD, Kapus A, Seth A, et al. Smooth muscle actin determines mechanical force-induced p38 activation. *J Biol Chem*. 2005; 280: 7273-84.
29. Nozaki Y, Liu T, Hatano K, Gharaee-Kermani M, Phan SH. Induction of telomerase activity in fibroblasts from bleomycin-injured lungs. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2000; 23: 460-5.
30. Liu T, Ullenbruch M, Nozaki Y, Phan SH. Regulation of telomerase activity in rat lung fibroblasts. *Am J Resp Cell Mol Biol*. 2002; 26: 534-40.
31. Liu T, Hu B, Chung MJ, Ullenbruch M, Jin H, Phan SH. Telomerase regulation of myofibroblast differentiation. *Am J Resp Cell Mol Biol*. 2006; 34: 625-33.
32. Wilborn J, Crofford LJ, Burdick MD, Kunkel SL, Strieter RM, Peters-Golden M. Cultured lung fibroblasts isolated from patients with idiopathic pulmonary fibrosis have a diminished capacity to synthesize prostaglandin E2 and to express cyclooxygenase-2. *J Clin Invest*. 1995; 95: 1861-8.
33. Yamaguchi Y, Itami S, Watabe H, Yasumoto K, Abdel-Malek ZA, Kubo T, et al. Mesenchymal-epithelial interactions in the skin: increased expression of dickkopf1 by palmoplantar fibroblasts inhibits melanocyte growth and differentiation. *J Cell Biol*. 2004; 165: 275-5.
34. Ross R, Everett NB, Tyler R. Wound healing and collagen formation. VI. The origin of the wound fibroblast studied in parabiosis. *J Cell Biol*. 1970; 44: 645-54.
35. Olaso E, Salado C, Egilegor E, Gutierrez V, Santisteban A, Sancho-Bru P, et al. Proangiogenic role of tumor-activated hepatic stellate cells in experimental melanoma metastasis. *Hepatology*. 2003; 37: 674-85.
36. De Wever O, Mareel M. Role of myofibroblasts at the invasion front. *J Biol Chem*. 2002; 277: 55-67.

37. Petrov VV, Fagard RH, Lijnen PJ. Stimulation of collagen production by transforming growth factor-beta1 during differentiation of cardiac fibroblasts to myofibroblasts. *Hypertension*. 2002; 39: 258-63.
38. Chaqour B, Yang R, Sha Q. Mechanical stretch modulates the promoter activity of the profibrotic factor CCN2 through increased actin polymerization and NF-kappaB activation. *J Biol Chem*. 2006; 281: 20608-22.
39. Furukawa F, Matsuzaki K, Mori S, Tahashi Y, Yoshida K, Sugano Y, et al. p38 MAPK mediates fibrogenic signal through Smad3 phosphorylation in rat myofibroblasts. *Hepatology*. 2003; 38: 879-89.
40. Johnson GL, Lapadat R. Mitogen-Activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 Protein Kinases. *Science*. 2002; 298: 1911-2.
41. Matsuoka H, Arai T, Mori M, Goya S, Kida H, Morishita H, et al. A p38 MAPK inhibitor, FR-167653, ameliorates murine bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2002; 283: L103-L112.
42. Hu B, Wu Z, Phan SH. Smad3 mediates transforming growth factor  $\beta$ -induced  $\alpha$ -smooth muscle actin expression. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2003; 29: 397-404.
43. Hu B, Wu Z, Liu T, Ullenbruch MR, Jin H, Phan SH. Gut-enriched Kruppel-like factor interaction with Smad3 inhibits myofibroblast differentiation. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2007; 36: 78-84.
44. Adam PJ, Regan CP, Hautmann MB, Owens GK. Positive- and negative-acting Kruppel-like transcription factors bind a transforming growth factor beta control element required for expression of the smooth muscle cell differentiation marker SM22alpha in vivo. *J Biol Chem*. 2000; 275: 37798-806.
45. Desmoulière A, Darby IA, Gabbiani G. Normal and pathological soft tissue remodeling: role of the myofibroblast, with special emphasis on liver and kidney fibrosis. *Lab Invest*. 2003; 83: 1689-707.
46. Darby I, Skalli O, Gabbiani G. Alpha-smooth muscle actin is transiently expressed by myofibroblasts during experimental wound healing. *Lab Invest*. 1990; 63: 21-9.
47. Desmoulière A, Geinoz A, Gabbiani F, Gabbiani G. Transforming growth factor-b1 induces  $\alpha$ -smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts. *J Cell Biol*. 1993; 122: 103-11.
48. Bogatkevich GS, Tourkina E, Silver RM, Ludwicka-Bradley A. A thrombin differentiates normal lung fibroblasts to a myofibroblast phenotype via the proteolytically activated receptor-1 and a protein kinase C-dependent pathway. *J Biol Chem*. 2001; 276: 4584-92.
49. Shi-Wen X, Chen Y, Denton CP, Eastwood M, Renzoni EA, Bou-Gharios G, et al. Endothelin-1 promotes myofibroblast induction through the ETA receptor via a

- rac/phosphoinositide 3-kinase/Akt-dependent pathway and is essential for the enhanced contractile phenotype of fibrotic fibroblasts. *Mol Biol Cell*. 2004; 15: 2707-19.
50. Hinz B, Gabbiani G. Mechanisms of force generation and transmission by myofibroblasts. *Curr Opin Biotechnol*. 2003; 14: 538-46.
  51. Desmoulière A, Chaponnier C, Gabbiani G. Tissue repair, contraction, and the myofibroblast. *Wound Repair Regen*. 2005; 13: 7-12.
  52. Hinz B, Celetta G, Tomasek JJ, Gabbiani G, Chaponnier C.  $\alpha$ -smooth muscle actin expression upregulates fibroblast contractile activity. *Mol Biol Cell*. 2001; 12: 2730-41.
  53. Katoh K, Kano Y, Amano M, Onishi H, Kaibuchi K, Fujiwara K. Rho-kinase-mediated contraction of isolated stress fibers. *J Cell Biol*. 2001; 153: 569-84.
  54. Bogatkevich GS, Tourkina E, Abrams CS, Harley RA, Silver RM, Ludwicka-Bradley A. Contractile activity and smooth muscle alpha actin organization in thrombin-induced human lung myofibroblasts. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2003; 52: 82-90.
  55. Desmoulière A, Redard M, Darby IA, Gabbiani G. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar. *Am J Pathol*. 1995; 146: 56-66.
  56. Darby IA, Bisucci T, Pittet B, Garbin S, Gabbiani G, Desmoulière A. Skin flap induced regression of granulation tissue correlates with reduced growth factor and increased metalloproteinase expression. *J Pathol*. 2002; 197: 117-27.
  57. Grinnell F. Fibroblast biology in three-dimensional collagen matrices. *Trends Cell Biol*. 2003; 13: 264-9.
  58. Machesney M, Tidman N, Waseem A, Kirby L, Leigh I. Activated keratinocytes in the epidermis of hypertrophic scars. *Am J Pathol*. 1998; 152: 1133-41.
  59. Moulin V, Larochele S, Langlois C, Thibault I, Lopez-Valle C.A, Roy M. Normal skin wound and hypertrophic scar myofibroblasts have differential responses to apoptotic inductors. *J Physiol*. 2004; 198: 350-8.
  60. Issa R, Zhou X, Constandinou CM, Fallowfield J, Millward-Sadler H, Gaca MD, et al. Spontaneous recovery from micronodular cirrhosis: evidence for incomplete resolution associated with matrix crosslinking. *Gastroenterology*. 2004; 126: 1795-808.
  61. Koumas L, Smith TJ, Feldon S, Blumberg N, Phipps RP. Thy-1 expression in human fibroblast subsets defines myofibroblastic or lipofibroblastic phenotypes. *Am J Pathol*. 2003; 163: 1291-300.
  62. Sorrell JM, Caplan AI. Fibroblast heterogeneity: more than skin deep. *J Cell Sci*. 2004; 117: 667-75.

63. Walter I, Handler J, Reifinger M, Aurich C. Association of endometriosis in horses with differentiation of periglandular myofibroblasts and changes of extracellular matrix proteins. *Reproduction*. 2001; 121: 581-6.
64. Masseno APB. Caracterização imunoistoquímica dos miofibroblastos endometriais e da expressão de MMP-2 nas endometrites crônicas das éguas [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2009.
65. Czernobilsky B, Remadi S, Gabbiani G. Alpha-smooth muscle actin and other stromal markers in endometrial mucosa. *Virchows Arch*. 1993; 422: 313-7.
66. Evans TJ, Miller MA, Ganjam VK. Morphometric analysis of endometrial periglandular fibrosis in mares. *Am J Vet Res*. 1998; 59: 1209-14.
67. Ortiz LA, Dutreil M, Fattman C, Pandey AC, Torres G, Go K, et al. Interleukin 1 receptor antagonist mediates the anti-inflammatory and antifibrotic effect of mesenchymal stem cells during lung injury. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007; 104: 11002-7.
68. Lama VN, Phan SH. The extrapulmonary origin of fibroblasts: stem/ progenitor cells and beyond. *Proc Am Thorac Soc*. 2006; 3: 373-6.
69. Hashimoto N, Jin H, Liu T, Chensue SW, Phan SH. Bone marrow derived progenitor cells in pulmonary fibrosis. *J Clin Invest*. 2004; 113: 243-52.
70. Kisseleva T, Uchinami H, Feirt N, Quintana-Bustamante O, Segovia JC, Schwabe RF, et al. Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis. *J Hepatol*. 2006; 45: 429-38.
71. Phillips RJ, Burdick MD, Hong K, Lutz MA, Murray LA, Xue YY, et al. Circulating fibrocytes traffic to the lungs in response to CXCL12 and mediate fibrosis. *J Clin Invest*. 2004; 114: 438-46.
72. Schmidt M, Sun G, Stacey MA, Mori L, Mattoli S. Identification of circulating fibrocytes as precursors of bronchial myofibroblasts in asthma. *J Immunol*. 2003; 171: 380-9.
73. Iwano M, Plieth D, Danoff TM, Xue C, Okada H, Neilson EG. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. *J Clin Invest*. 2002; 110: 341-50.
74. Frid MG, Kale VA, Stenmark KR. Mature vascular endothelium can give rise to smooth muscle cells via endothelial-mesenchymal transdifferentiation: in vitro analysis. *Circ Res*. 2002; 90: 1189-96.
75. Hinz B, Phan SH, Thannickal VJ, Galli A, Bochaton-Piallat ML, et al. The myofibroblast: one function, multiple origins. *Am J Pathol*. 2007; 170: 1807-16.
76. Lama VN, Smith L, Badri L, Flint A, Andrei AC, Murray S, et al. Evidence for tissue-resident mesenchymal stem cells in human adult lung from studies of transplanted allografts. *J Clin Invest*. 2007; 117: 989-96.

**Recebido em: 05/08/2009**

**Aceito em: 20/04/2010**