



REVISTA DE
GASTROENTEROLOGÍA
DE MÉXICO

www.elsevier.es/rgmx



ENFERMEDADES DEL HÍGADO Y PÁNCREAS

Fibrosis hepática

Hepatic fibrosis

D. Kershenobich

Miembro de la Unidad de Medicina Experimental, Laboratorio de Hígado, Páncreas y Motilidad (HIPAM), Facultad de Medicina, UNAM

En un estudio sobre translocación bacteriana, cambios en el microbioma intestinal y su relación con el proceso de fibrosis hepática, investigadores de la Universidad de California en San Diego, California, estudiaron en ratones con daño hepático producido por ligadura del conducto biliar, o por la administración repetida de CCl₄, la permeabilidad intestinal y las cantidades de endotoxinas; se documentó un aumento de éstas 24 horas después, junto con la translocación de bacterias y alteración de las uniones firmes intestinales (demostrado por inmunofluorescencia con ocludina). En las ratas con ligadura del colédoco al cabo de 24 horas se observó un sobrecrecimiento bacteriano de aerobios y anaerobios, mientras que en las tratadas con CCl₄ esto ocurrió en las etapas avanzadas de la fibrosis hepática. Los investigadores llevaron a cabo estudios de pirosecuenciación masiva que mostró cambios en los genes 16S RNAm después de la ligadura del conducto biliar, mientras que la administración de CCl₄ resultó en abundancia relativa de *Firmicutes* y actinobacterias. Las observaciones indican que el daño hepático agudo se vinculan con un aumento de la permeabilidad intestinal y translocación bacteriana que precede a cambios en el microbioma. El microbioma de cuatro diferentes enfermedades hepáticas (colestasis, tóxicos, alcohol y obesidad) se comparó y ello mostró cambios distintos en el microbioma¹.

Un grupo de investigadores coreanos de la universidad KAIST, con base en el hecho de que la infusión de células de médula ósea en animales experimentales y estudios clínicos

ha demostrado efectos antifibróticos y regenerativos, llevó a cabo protocolos que demuestran que la infusión de este tipo de células se vincula con disminución de la fibrosis hepática en ratones. Estas infusiones se acompañaron de expansión intrahepática de células T regulatorias y aumento de la expresión de IL-10 en células mononucleares del hígado. *In vitro*, la expresión de IL-10 aumentó después de cocultivar las células de médula ósea con células estelares hepáticas, mientras que la expresión de colágena y actina de músculo liso en las células estelares se suprimió de manera significativa. Estas observaciones sugieren que las células estelares hepáticas activadas incrementan la expresión de IL-10 de las células madres infundidas, que a su vez expanden las células T reguladoras, lo que reduce la fibrosis hepática a través de la supresión de la activación de las células estelares hepáticas y la inflamación en el hígado. Los resultados sugieren que la infusión de células de la médula ósea puede constituir una terapia efectiva en el tratamiento de la fibrosis hepática².

Investigadores del Centro Médico Sourasky de Tel-Aviv en Israel llevaron a cabo estudios que demuestran que la vitamina D puede ser importante en el tratamiento preventivo de la fibrosis hepática e incluso tener un efecto terapéutico. Los investigadores han demostrado en estudios *in vitro* previos que la vitamina D inhibe la proliferación de células estelares hepáticas inducidas por el factor de crecimiento derivado de plaquetas. Además, la vitamina D atenúa la actividad del promotor de colágena I α 1, el RNAm y los niveles

Autor para correspondencia: Dr. Balmis 148, Colonia Doctores, México, D. F., México. C.P. 06726. Teléfono: 5623 2673.
Correo electrónico: kesdhipa@yahoo.com (D. Kershenobich).

de expresión de la proteína. La exposición a vitamina D se acompaña además de aumento de la actividad de MMP-9 y supresión de los niveles de RNAm de TIMP1. En el presente trabajo se informaron cuatro tipos de ratas, unas tratadas con tioacetamida (TAA), otras con vitamina D y TTA y otras más sólo con vitamina D, más un grupo de animales control sin ningún tratamiento. La fibrosis hepática se indujo mediante la administración de 200 mg de TAA/kg intraperitoneal, dos veces por semana, por 10 semanas. La vitamina D se administró por vía intraperitoneal a dosis de 5 µg dos veces por semana. La puntuación de la fibrosis hepática se estableció mediante el uso de tinciones con hematoxilina y eosina y rojo sirio, midiendo en particular el depósito de colágena tipo I. En el plano microscópico, las ratas tratadas con TAA tenían cirrosis hepática, mientras que las ratas que recibieron TAA + vitamina D tenían hígado de morfología casi normal. Microscópicamente, la puntuación de fibrosis del grupo de ratas tratadas con TAA fue de 3.9 ± 0.1 , mientras que las ratas tratadas con TAA y vitamina D tuvieron una calificación de 2.3 ± 0.3 ($p < 0.05$). No se observó fibrosis en los hígados controles o de ratas con vitamina D. La cuantificación del contenido total de colágena aumentó 16 veces en el grupo tratado con TAA, en tanto que en las ratas con TAA que recibieron vitamina D las concentraciones de colágena decrecieron cuatro veces en relación con los animales con TAA. El tratamiento con TAA incrementó la expresión de actina α de músculo liso en 160%, mientras que la adición de vitamina D suprimió la expresión de la actina de músculo liso a valores controles³.

Investigadores de varias universidades japonesas y del Hospital Monte Sinaí de Nueva York han demostrado con anterioridad que la sinoviolina, una ligasa de ubicuitina E3, contribuye a la maduración y modificación postraslacional de la colágena tipo I en la fibrosis hepática (AASLD 2009 # 130 y 2010 # 2017) y también han señalado que los sitios de unión (EBS) y Sp1/KLF (SBS) dentro del promotor de sinoviolina son cruciales para la expresión de ésta. En el presente trabajo se analizó el efecto de KLF6 en la expresión de la sinoviolina en una línea celular de células estelares hepáticas humanas (LX-2) mediante un vector de expresión de siRNA-KLF6 y KLF6 cuantificado por RT-PCR. Se investigaron los efectos de KLF6 sobre la actividad del promotor de sinoviolina en LX-2 con el vector KLF6 y el promotor de sinoviolina entre las bp -2055 a +845, alrededor de 2.9 kb del sitio traslacional inicial y de su delección de reporteros. Los resultados muestran que en el daño hepático agudo inducido por CCl4, la inducción del RNAm de sinoviolina ocurrió de forma temporal después de la expresión de KLF6. En cultivos celulares la transfección de KLF6 sobrerreguló la expresión del RNAm de sinoviolina endógena. En contraste, la expresión del RNAm de sinoviolina estuvo reprimida en un 30% por el siRNA KLF6 en comparación con el control de siRNA. Más aún, la transfección KLF6 activó al promotor de sinoviolina en forma dependiente de la dosis. La delección - 82 a - 63 produjo una mayor disminución de la actividad del promotor de 3.0%. El KLF6 activa al promotor de sinoviolina a través de la región promotora nuclear, que incluye EBS y SBS, en las células estelares hepáticas. Los autores concluyen que el KLF6 sobrerregula la actividad del promotor

de sinoviolina a través de la región proximal que contiene EBS y SBSW en las células estelares hepáticas, al regular en esa forma la producción de colágena tipo 1⁴.

Investigadores de la Universidad de Bonn y Hamburgo en Alemania han demostrado que la transdiferenciación miofibroblástica de las células estelares hepáticas (HSC) es crucial en el proceso de fibrogénesis hepática, proceso en el cual los miofibroblastos (MFB) aumentan su proliferación, migración y producción de colágena. La atorvastatina suprime la proliferación, apoptosis y producción de citocinas de MFB en ratas con ligadura del conducto biliar *in vivo* (Journal of Hepatology 2010). En el presente trabajo se cultivaron HSC de ratas que se activaron y transdiferenciaron a MFB. Con posterioridad se incubaron con atorvastatina por tres días y analizaron por PCR Taqman las cifras de RNAm de las citocinas TGF β 1, CTGF, TIMP1 y procolágena 1. La proliferación se estimó mediante ensayo de BrdU y la apoptosis se midió por FACS. La senescencia se investigó mediante determinación por Western Blot de p21 y por tinción de b-galactosidasa en cultivos de HSC activadas, así como en hígados de ratas cirróticas tratadas con atorvastatina (15 mg/kg/día) por siete días y cinco semanas después de la ligadura del conducto biliar. Resultados: la atorvastatina redujo la producción de colágena y citocinas, así como la proliferación de MFB. La apoptosis aumentó a 10-4M y la atenuó a 10-5 y 10-6 M de atorvastatina. La atorvastatina incrementó la expresión de la proteína p21 *in vitro* e *in vivo*. La tinción de b-galactosidasa aumentó después de la incubación con atorvastatina *in vitro* e *in vivo*. Los resultados sugieren que los mecanismos encargados de los efectos de la atorvastatina probablemente ocurran a través de la senescencia⁵.

Financiamiento

No se recibió patrocinio de ningún tipo para llevar a cabo este trabajo.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Fouts D, Torralba M, Nelson K, et al. Bacterial translocation and changes in the intestinal microbiome in mouse models of liver disease (abstract). Hepatology. 2011;54(4 Suppl):732 A.
2. Suh YG, Byun JS, Yi HS, et al. Bone marrow derived suppressor cells ameliorate liver fibrosis via enhanced IL-10 expression and expansion of intrahepatic regulatory T cells in mouse liver (abstract). Hepatology. 2011;54(4 Suppl):745 A.
3. Reif S, Bentov A, Sharvit E, et al. Vitamin D has a protective effect in rat model of liver fibrosis. Hepatology. 2011;54(4 Suppl):747 A.
4. Hasegawa D, Matsumoto N, Yagishita N, et al. A new pathway of KLF6 involvement in liver fibrosis via synoviolin. Hepatology. 2011;54(4 Suppl):748 A.
5. Klein S, Granzow M, Huss S, et al. Atorvastatin attenuates fibrosis by inducing senescence in activated hepatic stellate cells. Hepatology. 2011;54(4 Suppl):756 A.