



REVISTA DE
GASTROENTEROLOGÍA
DE MÉXICO

www.elsevier.es



■ Hígado

Avances en fibrogénesis

David Kershenobich-Stalnikowitz

Director de investigación del Departamento de Investigación
del Hospital General de México.

El grupo de investigadores de Takahiro Kodama¹ presentó un trabajo sobre el papel del p53 en la fibrosis hepática. Con este fin generaron un modelo en ratones con delección específica de Mdm2 en hepatocitos, un inhibidor crítico de p53, que en forma estricta mantiene niveles bajos de p53 a través de la promoción de la degradación de p53 a través de la vía ubiquitina/proteosoma. Estos ratones evidenciaron que la activación de p53 en hepatocitos causa fibrosis hepática espontánea con aumento de la apoptosis y expresión del gen del factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF) en los hepatocitos y que la delección de p53 en los ratones *knock out* de Mdm2 abolió completamente estos fenotipos. Experimentos *in vitro* revelaron que p53 sobrerreguló el CTGF a través de la represión del gen miR-17-92 en hepatocitos. En muestras de hígado humano encontraron una correlación significativa entre CTGF y la expresión sobrerregulada de p53, ambas elevadas en el hígado fibrótico. En resumen, el presente trabajo mostró una propiedad previamente desconocida del p53 en inducir la expresión de CTGF y promover la fibrosis hepática, lo que sugiere que las vías p53 y CTGF pueden ser un blanco terapéutico para la fibrosis hepática.

Li Chen y colaboradores² estudiaron por su parte también la expresión del CTGF en respuesta a la administración de etanol y enfocaron el estudio en microRNA (miR) que previamente se ha demostrado que intervienen en el control de la traducción y transcripción del CTGF en distintos sistemas. En particular, estudiaron el miR 214 que se

localiza en la región 3' del CTGF y que no se había investigado con anterioridad. El CTGF mRNA y la expresión de miR214 se determinaron por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de tiempo real del RNA de ratones expuestos a la administración crónica de etanol intragástrico. Se aislaron células estelares (HSC) que se cultivaron por 20 días en la presencia o ausencia de 25mM de etanol por 48 h y después de la transfección con miR214 en presencia o ausencia de un protector de CTGF 3'UTR. La producción de CTGF se determinó mediante inmunoprecipitación. La interacción funcional entre miR214 y el mRNA 3'UTR de CTGF se efectuó mediante pruebas en HSC transfectadas con un gen de luciferasa clonado de 3'UTR. Los estudios mostraron que la administración crónica de etanol en ratones resulta en un aumento de 1.6 veces de los niveles hepáticos de mRNA de CTGF y 92% ($p < 0.001$) de descenso de los niveles hepáticos de miR214. Una relación inversa se tornó evidente durante la activación en cultivo de HSC (aumento de dos veces del mRNA de CTGF y disminución de 60% de miR214 entre los días uno y 20) o después de la exposición de las células al etanol (aumento de 1.5 veces en el mRNA de CTGF y disminución de 48% en miR214). Luego de la transfección de las HSC cultivadas con miR214, la activación inducida de mRNA de CTGF se redujo en 80 ($p < 0.001$). Este efecto se bloqueó por la cotransfección de las células con un protector de CTGF UTR, pero no por un control negativo. La actividad de reportero de luciferasa CTGF 3'UTR se contrajo en 50%

Correspondencia: Hospital General de México, Dr. Balmis No. 148, Col. Doctores, Del. Cuauhtémoc, C.P. 06726, México, D.F. **Correo electrónico:** kesdhipa@yahoo.com

después de la cotransfección con miR214. En conclusión, se documentó que miR214 es un regulador de la producción de CTGF y que inhibe directamente la fijación de CTGF 3'UTR. En un escenario de daño hepático mediado por alcohol o activación de HSC, los niveles de miR214 están suprimidos y el resultado es un aumento de la producción de CTGF que se vincula con el inicio y progresión de la fibrosis hepática. Estos hallazgos podrían tener implicaciones en el diagnóstico o el tratamiento de la fibrosis hepática.

Michael Fausther y Jonathan A Dranoff,³ con el antecedente de que la adenosina extracelular es un potente regulador de la fibrosis hepática e inflamación, presentaron un trabajo diseñado para determinar los mecanismos moleculares que regulan la expresión de CD 37 en células estelares hepáticas (HSC). La ecto 5' nucleotidasa /CD73 es la enzima limitante en la generación de adenosina extracelular. Se ha demostrado que los ratones con deficiencia de CD37 son resistentes a la fibrosis hepática experimental y que tienen alterada la generación de adenosina en el hígado (Peng Z, Fafeseb J, 2008). Los investigadores estudiaron la expresión de CD37 en hígados de ratas sometidas a ligadura del conducto biliar, o controles *sham* (intervención simulada), o después de la administración de CCl₄ mediante inmunohistoquímica. La expresión de la proteína CD73 y su distribución se efectuó por inmunoblot e inmunofluorescencia confocal. La expresión del mRNA de CD73 en los días uno y siete en HSC se determinó mediante RT-PCR cuantitativo. Encontraron que CD37 se expresaba sólidamente en los septos fibrosos de ratas con ligadura de conducto biliar o en aquellas tratadas con CCl₄. La proteína CD37 está sobrerregulada hasta tres veces en HSC entre los días 12 y siete, al igual que la expresión del mRNA de CD37. La inmunofluorescencia confocal mostró en el primer día una expresión difusa del CD37, mientras que en el día siete el CD37 se expresó en la membrana plasmática y en las fibras de tejido colágeno. Se reconoció además que las HSC sobrerregulan CD73 a través de elementos de un promotor específico de diferenciación de miofibroblastos.

Daisuke Hasegawa y colaboradores⁴ estudiaron el mecanismo por el cual la ligasa de ubiquitina E3 sinoviolina (*Syno*) participa en la síntesis de colágena en el hígado en un modelo de cirrosis hepática por CCl₄. Se cuantificaron el grado de fibrosis y el número de células estelares hepáticas

activadas tanto en ratones *wild type* (wt) como en ratones *Syno* +/- y se comparó además en ellos el grado de apoptosis de células estelares hepáticas activadas. También analizaron el efecto de la sinoviolina en la síntesis de colágena en HSC mediante un siRNA de sinoviolina y analizaron por inmunohistoquímica la localización de la colágena.

Los investigadores encontraron que en la cirrosis, la sinoviolina está sobrerregulada en las células estelares hepáticas activadas, mientras que los ratones *Syno* +/- tenían menos fibrosis hepática que los animales *wt*; en los ratones *Syno* +/- el número de células hepáticas estelares activadas estaba disminuido y algunas de estas células mostraban apoptosis. En animales *Syno* -/- la cantidad de colágena madura intracelular y secretada estaba significativamente disminuida y la procolágena se acumuló en forma anormal en el retículo endoplásmico. Estos estudios muestran la importancia de la ligasa de ubiquitina E3 sinoviolina en la fibrosis hepática.

Keiko Iwaisako y colaboradores⁵ estudiaron el origen de los miofibroblastos que contribuyen a la fibrosis hepática de ratones. La importancia de ello radica en que los miofibroblastos hepáticos activados, en respuesta al daño hepático crónico, son uno de los principales blancos terapéuticos de la terapia antifibrótica. Para ello utilizaron técnicas de citometría de flujo, inmunohistoquímica, microarreglos de expresión de genes y RT-PCR, con uso de dos modelos de fibrosis hepática. Demostraron que las células estelares hepáticas (HSC) y los fibroblastos portales (PFs) constituyen la fuente mayor (> 95%) de los miofibroblastos fibrogénicos en ratones, si bien se observó que a pesar de existir una similitud histológica dependiendo del mecanismo del daño hepático hubo una diferencia en los mecanismos de diferenciación de los miofibroblastos. Las HSC activadas en respuesta a CCl₄ contribuyeron con 83% + 5.2% a los miofibroblastos que expresaban colágena, en tanto que ello ocurrió sólo en 42% de las HSC en respuesta a la ligadura del conducto biliar.

Referencias

1. Kodama T, Tahehara T, Shimizu S, et al. A crucial role of hepatocyte p53 in liver fibrogenesis. Sesión de trabajos orales presentada en DDW 2011; mayo 7-10; Chicago, IL, USA. Abstract 1061.
2. Chen L, Tsukamoto H, Brigstock D. Ethanol-dependent expression of connective tissue growth factor is associated with down-regulation of microRNA 214. Sesión de trabajos orales presentada en DDW 2011; mayo 7-10; Chicago, IL, USA. Abstract 1063.

3. Fausther M, Dranoff JA. Activated hepatic stellate cells transcriptionally upregulate Ecto-5'- Nucleotidase/CD73 via specific promoter elements. Sesión de trabajos orales presentada en DDW 2011; mayo 7-10; Chicago, IL, USA. Abstract 1062.
4. Hasegawa D, Matsumoto N, Nishioka K, et al. E3 ubiquitin ligase synoviolin is involved in liver fibrogenesis. Sesión de trabajos orales presentada en DDW 2011; mayo 7-10; Chicago, IL, USA. Abstract 1064.
5. Iwaisako K, Jiang C, Scholten D, et al. The origin of myofibroblasts contributing to liver fibrosis in mice. Sesión de trabajos orales presentada en DDW 2011; mayo 7-10; Chicago, IL, USA. Abstract 1066.