FUNDACION
JOSE CASARES GIL
de Amigos de la
REAL ACADEMIA de FARMACIA

MESA REDONDA

Regeneración hepática

María Cascales Angosto
Ramón Bataller Alberola
Valentín Cuervas-Mons Martínez



REAL ACADEMIA NACIONAL de FARMACIA

Agradecimientos: A Pepa Ortega
por su inestimable ayuda en la preparación
de los manuscritos.

Reservados todos los derechos. Ni la totalidad ni parte de este libro puede reproducirse o transmitirse por ningún procedimiento electrónico o mecánico, incluyendo fotocopia, grabación magnética o cualquier almacenamiento de información y sistema de recuperación, sin permiso escrito del editor.

© Fundación José Casares Gil
Farmacia, 11 - 28004 Madrid
Tels. 91 531 03 07 / Fax: 91 531 03 06

Depósito legal: M. 43.457-2006

Imprime Realigraf, S. A.
Pedro Tezano, 26. 28039 Madrid

ÍNDICE

El extraordinario fenómeno de la regeneración hepática. *María Cascales Angosto* 7

Fibrosis hepática: una respuesta regenerativa patológica en las hepatopatías crónicas. *Ramón Bataller Alberola* 29

Trasplante hepático y regeneración hepática. *Valentín Cuervas-Mons Martínez* 45

EL EXTRAORDINARIO FENÓMENO DE LA REGENERACIÓN HEPÁTICA

MARIA CASCALES ANGOSTO *

Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

* E-mail: cascales@ranf.com

Abreviaturas: CDK, quinasa dependiente de ciclina; C/EBP, proteína beta de unión al intensificador CAAT; EGF, factor de crecimiento epidérmico; ERK, quinasa regulada por señales extracelulares; Fox1M, forkhead Box M1; HGF, factor de crecimiento hepatocítico; IL-6, interleuquina 6; JAK, quinasa asociada a Janus; LPS, lipopolisacárido; MAPK, proteína quinasa activada por mitógenos; MEC, matriz extracelular; MPP, metaloproteinasa de la matriz extracelular; MyD88, factor de diferenciación mieloide 88; NFκB, factor nuclear kappa B; PCNA, antígeno nuclear de proliferación celular; Rb, proteína retinoblastoma; SCF, stem cell factor; SOCS3, supresor de la señalización por citoquinas; STAT3, transductor señales y activador de la transcripción; TGFα, factor transformante del crecimiengto alfa; TGFβ, factor transformante del crecimiento beta; TNF, factor de necrosis tumoral; TIMP1, inhibidor tisular de la metaloproteinasa; uPa, uroquinasa activadora del plasminógeno.

RESUMEN

Una notable característica del hígado es su extraordinaria capacidad de regeneración en respuesta a la pérdida de sus propias células, por lesión producida por toxinas o virus o por hepatectomía parcial. El hepatocito adulto normal, transcripcionalmente muy activo, se encuentra en estado quiescente, aunque puede entrar rápidamente en estado proliferativo cuando se estimula. La hepatectomía de los 2/3 del hígado es el medio más potente para estimular la regeneración hepática. La regeneración procede siguiendo una secuencia de eventos: una fase de iniciación que hace entrar a los hepatocitos en estado de competencia replicativa; una fase proliferativa donde se verifica la expansión de las células hepáticas; y una fase de terminación donde la proliferación se detiene de manera súbita en un momento definido cuando la masa y función hepáticas están completamente restauradas. Estas tres fases están gobernadas por citoquinas (TNFα and IL-6) y factores de crecimiento (HGF, TGFα, EGF, TGFβ, etc), que estimulan una serie de mecanismos señalizadores que activan factores de transcripción y la expresión de múltiples genes.

Palabras clave: Regeneración Hepática; Citoquinas y Factores de crecimiento; Factores de transcripción

SUMMARY

A fascinating aspect of the liver is its remarkable capacity to regenerate itself in response to the loss of its own cells, either by toxic or virus injury or by partial hepatectomy. Normal adult hepatocytes, transcriptionally very active cells, are in the quiescent state, although they can enter rapidly in the proliferative state upon stimulation. Partial hepatectomy of 2/3 of the liver is the strongest stimulator of hepatic regeneration. Hepatocyte regeneration proceeds along a sequence of events: an initiation or priming phase that renders

hepatocytes in a state of replicative competence; a proliferative phase where expansion of the hepatic cells takes place; and a termination phase where proliferation is abruptly suppressed at a defined point where the hepatic mass and function is restored. These three phases are governed by cytoquines (TNFα and IL-6) and growth factors (HGF, TGFα, EGF, TGFβ, etc), which stimulate a series signalling mechanisms that activate transcription factors and the expression of multiple genes.

Key words: Liver regeneration; Cytokines and Growth Factors; Transcriptions Factors

La **regeneración hepática** puede definirse como la respuesta orquestada y controlada del hígado frente a la pérdida del propio tejido, inducida por estímulos específicos exógenos y endógenos, que originan cambios secuenciales en la expresión génica y en la estructura. Los cambios morfológicos y funcionales han sido estudiados en profundidad y en las dos últimas décadas se ha adquirido gran cantidad de información respecto a la expresión génica que acompaña a la recuperación del hígado después de la lesión tóxica o vírica o de la hepatectomía parcial.

El hepatocito adulto de los mamíferos posee larga vida (300 a 400 días), es transcripcionalmente muy activo y en condiciones normales se encuentra en estado quiescente o de reposo proliferativo. Sin embargo, mantiene su capacidad de dividirse en respuesta a cualquier tipo de lesión, tóxica o vírica o resección quirúrgica. Esta capacidad regenerativa del hígado es un proceso surgido a lo largo de la evolución para proteger a los animales de los catastróficos resultados de la necrosis hepática causada por efecto de las toxinas de las plantas que les servían de alimento.

El fenómeno de la regeneración hepática ha sido objeto de la curiosidad de los científicos de todos los tiempos. La alusión más antigua se encuentra en la Teogonía de Hesiodo (750-700 AC). El Titán Prometeo irritó a Zeus cuando robó fuego del Olimpo para ofrecérselo a los primitivos humanos. Como castigo, fue encadenado a una roca en las montañas del Cáucaso donde Zeus le atormentó enviándole un buitre que le devoraba cada día las entrañas (el hígado), que se regeneraban durante la noche (Figura 1) (1).



FIGURA 1. *Cerámica lacónica, siglo IV AC, en la que se muestra el castigo de Prometeo. Museo Vaticano.*

El hígado es capaz de modular su masa de acuerdo con los requerimientos funcionales, bien proliferando en condiciones de deficiencia, o bien sufriendo apoptosis en casos de exceso. En ambos casos el hígado se remodela preservando la arquitectura y organización histológica (2- 4). Cada tipo celular tiene capacidad de entrar en el estado proliferativo, de manera que se puede considerar que estas células hepáticas poseen características innatas de células progenitoras.

El modelo experimental que muestra con más claridad el fenómeno de la regeneración hepática es el que se obtiene por hepatectomía parcial, descrito por Higgins y Anderson en 1931 (5). En este modelo dos tercios del hígado se eliminan por cirugía y la porción del hígado remanente (1/3), crece hasta que se restaura la masa hepática original. Una vez restaurada, aproximadamente en una semana a diez días, después de la resección quirúrgica, el proceso regenerativo se detiene de forma súbita.

El hígado al tener la capacidad de regular de manera precisa su crecimiento y su propia masa, la resección quirúrgica de los lóbulos

hepáticos o la pérdida hepatocelular causada por agresión tóxica o vírica, desencadena la replicación del DNA en los hepatocitos y en las otras células hepáticas. Los hepatocitos poseen una gran capacidad replicativa que les permite restaurar con gran rapidez la población celular perdida.

Las resecciones quirúrgicas en humanos tienen lugar en casos de transplantes o de eliminación de tumores. El transplante de un hígado pequeño a un recipiendario adulto es un ejemplo de la deficiencia funcional hepática (6). Los ejemplos más típicos de deficiencia funcional implican necrosis celular y tisular sin alteración de la masa hepática (7), que ocurren en casos de muerte masiva de los hepatocitos ocasionada por agentes hepatotóxicos (fármacos y xenobióticos) o virus. En todas estas condiciones los hepatocitos quiescentes experimentan una transición al estado proliferativo, replican su DNA y se dividen para restaurar las células perdidas y con ello la funcionalidad hepática. La capacidad funcional, es sin embargo, un parámetro relativo, ya que la regulación del crecimiento está basada en el cociente entre la masa hepática y la masa corporal. El valor óptimo de este cociente indica que el hígado ha alcanzado un estado en el cual puede realizar el trabajo metabólico necesario para atender las demandas funcionales del organismo.

La regulación de la masa y función hepáticas no se manifiesta solamente por control del crecimiento, ya que cuando la masa supera los requerimientos del organismo, el hígado ha de perder dicha masa (células), para restaurar el cociente hígado/cuerpo. Esto sucede en casos de hiperplasia o hipertrofia inducida por fármacos estimuladores de la proliferación celular (fenobarbital), una vez que finaliza el tratamiento terapéutico. La eliminación del estímulo del crecimiento causa la muerte celular por apoptosis de los hepatocitos en exceso, hasta la restauración de la masa normal (2 – 4).

A pesar de su gran actividad transcripcional, el hígado es un órgano quiescente en términos de proliferación celular ya que en condiciones normales, solo 1 de cada 1000 hepatocitos se encuentra en estado pro-

liferativo (8 - 10). Este recambio celular tan bajo en hígado sano, se altera por lesión tóxica, infección vírica o resección quirúrgica, lo cual origina un cambio súbito hacia un estado proliferativo con el objeto de recuperar la masa hepática original. En el caso de resección quirúrgica de las dos terceras partes del hígado, la recuperación de logra de manera rápida en períodos de 8 a 10 días (Figura 2). La respuesta regenerativa se verifica por la proliferación de los hepatocitos supervivientes en el interior de la arquitectura acinar del hígado remanente. En el caso de hepatectomía parcial, este fenómeno da como resultado la hipertrofia del hígado remanente en vez de la restauración de los lóbulos reseccionados, lo que se considera hiperplasia compensatoria y no una verdadera regeneración. La proliferation cesa una vez que la masa y función hepáticas alcanzan la fracción específica de la especie y la edad de la masa total del organismo (9).

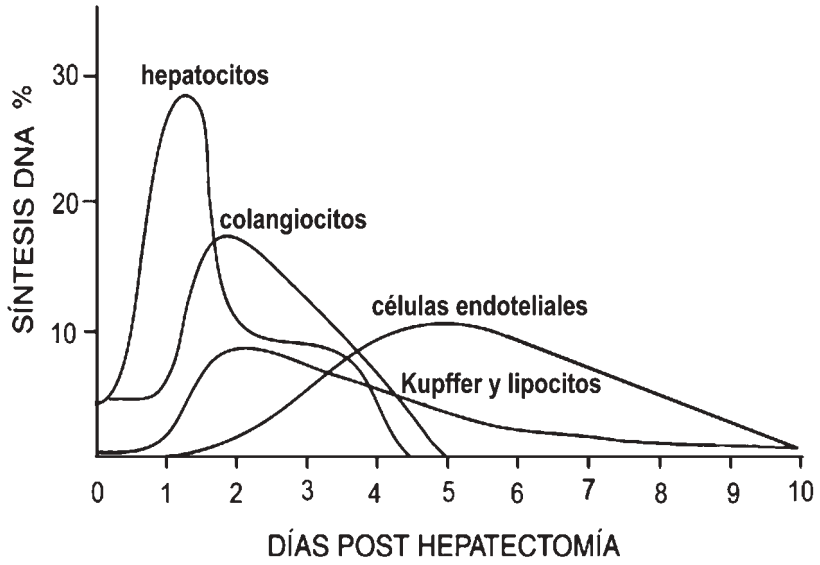


FIGURA 2. *Cronología de la replicación de las diferentes células hepáticas después de la hepatectomía parcial. Michalopoulos y De Frances (10).*

La hepatectomía parcial reduce la masa hepática pero no lesiona las células, es decir, no produce necrosis hepatocelular. La masa hepática se elimina al extirpar, por ligadura y escisión de dos de los

lóbulos hepáticos (izquierdo y medio), con lo cual los segmentos que permanecen se encuentran sometidos a un fuerte incremento en el flujo y presión de sangre portal. La hepatectomía parcial es hasta la fecha el modelo experimental más claro de regeneración hepática, que no va acompañada de lesión hepatocelular y es el preferido para estudiar *in vivo* la respuesta regenerativa (5).

FACTORES IMPLICADOS EN LA TRANSICIÓN AL ESTADO PROLIFERATIVO

El hígado puede restaurar la pérdida de sus propias células mediante el mecanismo de regeneración hepatocelular, capacidad considerada de relevancia fisiológica en numerosas enfermedades hepáticas, tales como hepatitis aguda vírica y alcohólica, alteraciones metabólicas o después de cirugía hepática. Después de la hepatectomía parcial de un 70% del hígado en ratas, los hepatocitos remanentes una vez iniciados entran en el ciclo celular de manera sincrónoma. La síntesis del DNA comienza a las 12 – 16 horas después de la hepatectomía y alcanza su máximo a las 24 – 48 horas. La mitosis se detecta 6 a 8 horas más tarde que la síntesis del DNA. Tres días después de la hepatectomía, la masa celular original del órgano se encuentra casi restaurada. Sin embargo, en este momento de la regeneración hepática, la histología del hígado difiere sustancialmente de la normal. Los hepatocitos se encuentran agrupados formando racimos no vascularizados de 12 a 15 células y la cantidad de matriz extracelular se encuentra claramente disminuida como consecuencia de que la proliferación de los hepatocitos se ha verificado sin una simultánea síntesis de esta matriz. A partir de este momento, la intensidad de la proliferación de los hepatocitos decae y los lipocitos migran al interior de los racimos. Es ahora cuando se comienzan a formar nuevos ramales vasculares y la histología hepática normal se restablece a los 8 – 10 días de la operación (2 – 4, 10, 11).

EVENTOS INICIADORES

El proceso de la regeneración hepática está constituido por una serie de etapas: *iniciación, proliferación y terminación*. El conocimiento de las señales de iniciación que conducen a las células remanentes hacia el ciclo celular ha sido la meta de muchas investigaciones. La delineación molecular de los eventos iniciadores «priming» puede llevar a conseguir una terapia útil en casos de lesión hepática Diversos estudios utilizando animales genéticamente manipulados (transgénicos o knockouts) han llegado a responsabilizar a las citoquinas TNFα e IL-6 (8 - 12), como las principales promotoras de la iniciación de los hepatocitos, haciéndolos competentes para responder a los factores de crecimiento: HGF (factor de crecimiento hepatocítico), TGFα (factor transformante del crecimiento alfa) y EGF (factor de crecimiento epidérmico). También el factor de transcripción C/EBP-β (proteina beta de unión al intensificador CAAT), es un objetivo posterior a la señalización de las citoquinas, que juega un importante papel en el resultado de la respuesta proliferativa (8 - 12).

Una amplia variedad de genes se expresa en la fase de iniciación, muchos de ellos, intervienen en la vías activadas por las citoquinas. Las evidencias que demuestran la importancia de las citoquinas durante la iniciación tienen su base en los siguientes datos experimentales:

1. notable elevación en la concentración del mRNA del TNF y de la IL-6 en hígado y en suero;
2. activación de NF-κB y STAT3;
3. inhibición de la replicación del DNA por anticuerpos anti-TNF;
4. bloqueo de la regeneración hepática en ratones knockouts en IL-6 y receptor TNF tipo I; y
5. elimicación del defecto en *Tnfr1* en estos ratones knockouts por inyección de IL-6.

La cascada de las citoquinas se inicia mediante la unión del TNF a su receptor, TNFR1, lo que conlleva la activación del NF-κB en células no parenquimáticas, producción de IL-6, y activación de STAT3 en he-

patocitos (Figuras 3 y 4). Un objetivo genético importante de STAT3 es SOCS3, que previene la continua activación de la señalización inducida por IL-6, mediante la inhibición de la fosforilación de STAT3 (9)

POTENCIAL REPLICATIVO DE LOS HEPATOCITOS

En el modelo de hepatectomía parcial antes mencionado, la pérdida del 70% de masa hepática induce la replicación del 95 por ciento de los hepatocitos, lo cual indica que con dos rondas de replicación se completa la restauración del órgano. Como se eliminan aproximadamente los dos tercios del tejido hepático, para la restauración total del tejido original, se necesitarían, en teoría 1,66 ciclos de división celular por hepatocito remanente. La mayoría de los hepatocitos en los lóbulos residuales, participan en una o dos rondas de proliferación. Estudios originales en ratones transgénicos con deleción somática del transgen uroquinasa activadora del plasminógeno (uPA), han estimado que la repoblación del hígado puede conseguirse con un número pequeño de hepatocitos trasplantados que pueden sufrir de 12 a 18 rondas de replicación (13). En otro modelo de lesión hepática causada por tirosinemia, se ha encontrado que los trasplantes seriados de hepatocitos dieron lugar a 69 rondas de replicación, una expansión masiva equivalente a la de las células precursoras hematopoyéticas (14, 15). Cálculos matemáticos han establecido que los hepatocitos maduros pueden replicarse indefinidamente.

El potencial clonogénico del hepatocito mismo es casi ilimitado. Considerando que un solo hepatocito después de 34 divisiones da lugar a $1,7 \times 10^{10}$ células y que un hígado normal de rata posee unos 3×10^{8} hepatocitos, se puede calcular que un solo hepatocito de rata en estas condiciones experimentales posee suficiente capacidad clonogénica para generar 50 hígados de rata. También se sabe, que los hepatocitos bajo la influencia de HGF y EGF se desdiferencian, sufren múltiples rondas de proliferación, se expanden de manera clonal y se rediferencian para formar hepatocitos maduros o incluso estructuras ductulares. Todos estos hallazgos demuestran que los hepatocitos maduros no son célu-

las diferenciadas terminales ya que pueden proliferar casi de manera ilimitada para asegurar su propia preservación (16).

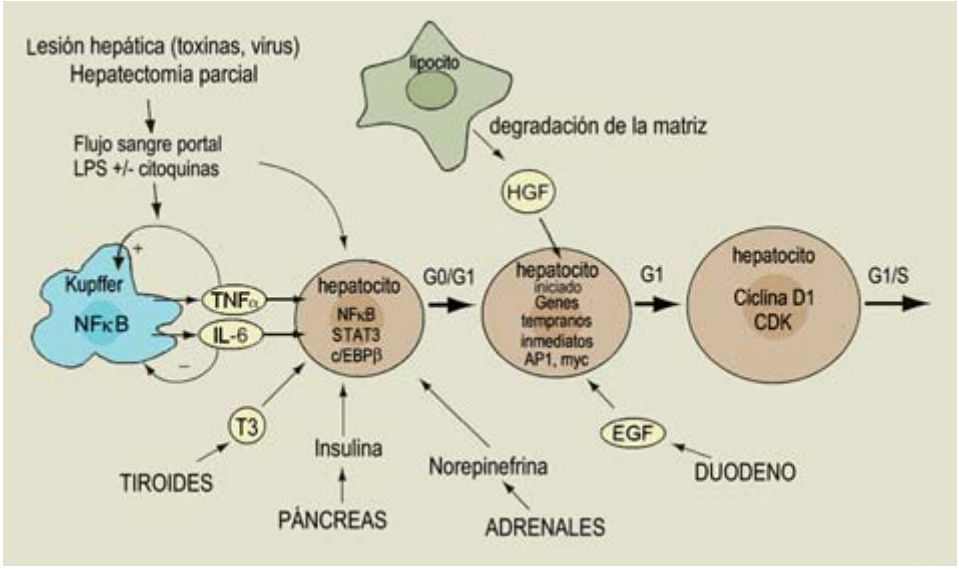


FIGURA 3. *Iniciación de señales en las células hepáticas parenquimáticas (hepatocitos) y no parenquimáticas (células de Kupffer y lipocitos), inducida por hepatectomía parcial o lesión hepatocelular infligida por agentes hepatotóxicos o virus. (12).*

ACTIVACIÓN DE LOS GENES TEMPRANOS INMEDIATOS

Después de los eventos iniciadores discutidos anteriormente, se induce la expresión de los genes tempranos inmediatos, debido en gran parte a modificaciones post-traduccionales de los factores de transcripción preexistentes AP1, C/EBP-β y NF-κB, inducidas por las citoquinas.

La expresión de los genes tempranos inmediatos se verifica pocas horas después de la resección quirúrgica y no requiere nueva síntesis proteica. Algunos de los bien caracterizados genes tempranos inmediatos que son inducidos incluyen: cmyc, c-fos, c-jun, EGF1, IGFBP-1, y HGF (17, 18). La disposición de los genes tempranos inmediatos ha sido parcialmente establecida por perfiles de expresión génica, que dan una

completa imagen de los acontecimientos moleculares que tienen lugar en la iniciación y en la fase temprana inmediata. Después de esta fase temprana inmediata, tienen lugar numerosos cambios en la expresión génica que requieren nueva síntesis proteica. Estos acontecimientos empujan a la célula para salir de G0 y entrar en G1 y de aquí a la fase S (síntesis del DNA), del ciclo. Después de la hepatectomía parcial o lesión hepatocelular infligida por agentes hepatotóxicos o virus, se inicia una serie de señales en el hígado. Factores derivados del intestino, como el lipopolisacárido (LPS) y citoquinas, alcanzan el hígado a través de la sangre portal y activan las células de Kupffer e incrementan la producción de TNF e IL-6 (12). Otros factores se liberan del páncreas (insulina), duodeno (EGF), glándula adrenal (norepinefrina), glándula tiroides (triyodotiroxina; T3) y lipocitos (HGF). Estas citoquinas y factores de crecimiento son responsables de la activación de una serie de factores de transcripción tales como NFκB, STAT3, C/EBPβ y otros en los hepatocitos remanentes. Como resultado de la activación de estos factores de transcripción en los hepatocitos, se inicia el primer programa de respuesta. La cooperación de estos factores permite a los hepatocitos superar los puntos de control del ciclo celular y pasar de la fase G0 a la G1 y de la G1 a la fase S. Esto conduce a la síntesis del DNA y a la proliferación de los hepatocitos. La señalización a través del TGFβ, que inhibe la síntesis del DNA en los hepatocitos, se bloquea durante la fase proliferativa y se restaura al final del proceso regenerativo para que los hepatocitos retornen al estado quiescente (17).

En la figura 4 se muestran las interacciones entre las células de Kupffer y los hepatocitos en el hígado en regeneración. En estas interacciones también pueden estar implicadas otras células no parenquimáticas tales como los lipocitos y las células endoteliales. El TNF se une a su receptor tipo I en las células de Kupffer, lo que conduce a la activación de NF-κB. Los factores del complemento C3a, C5a y el factor mieloide de diferenciación MyD88, derivados del sistema immune innato, pueden también activar NF-κB después de la hepatectomía parcial. Los genes *Il-6* y *Tnf* son objetivos del NF-κB. La IL-6 sale de las células de Kupffer, se libera en suero y se une a su receptor, un complejo de subunidades gp80 y gp130 en los hepatocitos. La activación de gp130 conduce a la

fosforilación de los monómeros STAT3, por las quinasas asociadas a Janus (JAK). STAT3 fosforilado, homodimeriza y se traslada al núcleo, donde induce la transcripción de una serie de genes entre los que se incluye el que codifica la proteína SOCS3, cuya misión es inhibir la fosforilación de STAT3. SCF (stem cell factor) es otro factor implicado en la activación de STAT3 después de la hepatectomía. Paralela a la fosforilación de STAT3, la activación de gp130 conduce a una cascada señalizadora que implica la fosforilación de ERK1/2 y la regulación de la transcripción de multiples genes necesarios para la regeneración hepática. (Figura 4) (9).

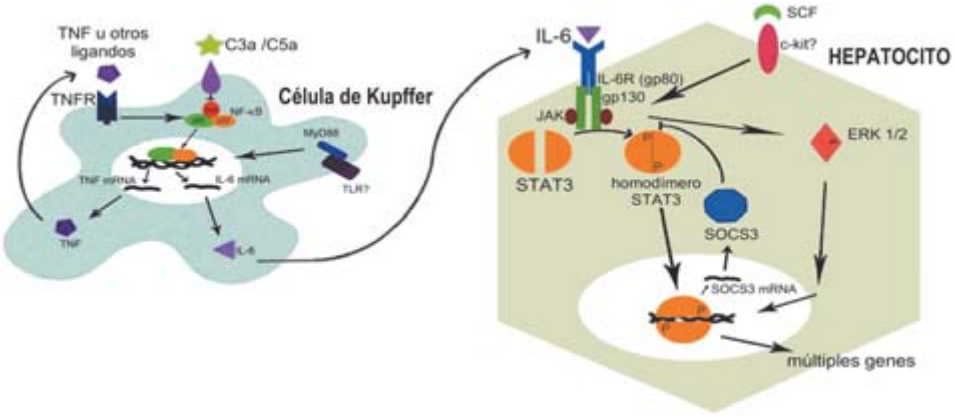


FIGURA 4. *Vías activadas por las citoquinas en la regeneración hepática. Interacciones entre las células de Kupffer y los hepatocitos en el hígado en regeneración (9).*

RECAMBIO DE LA MATRIZ EXTRACELULAR EN LA REGENERACIÓN HEPÁTICA.

Es un hecho reconocido que la matriz extracelular sufre remodelación en las etapas iniciales de la regeneración y que en esta remodelación se encuentran involucradas las metaloproteinasas de la matriz (MMP) (4, 21). Es interesante conocer cómo se conectan las señales mitogénicas y la degradación de la matriz extracelular para promover la entrada y progresión en el ciclo celular de los hepatocitos diferenciados.

La señal de remodelación de la matriz extracelular se requiere para iniciar una nueva ronda de división de los hepatocitos en presencia de mitógenos (22, 23). Esto indica que la proliferación de los hepatocitos depende de la deposición de la matriz extracelular asociada al estado diferenciado. La rotura proteolítica facilita la liberación de los factores del crecimiento, retenidos en la matriz y la maduración y activación de dichos factores del crecimiento (EGF).

La regeneración hepática, por tanto, depende de la restauración ordenada de la masa celular mientras se remodela la matriz extracelular. Las MMP y su inhibidor endógeno TIMP, regulan el recambio de la matriz extracelular y el procesamiento de factores de crecimiento y citoquinas. Se ha observado que TIMP1 inhibe la proliferación de hepatocitos al atenuar la biodisponibilidad de los factores del crecimiento. Recientemente se ha examinado el papel de TIMP1 sobre la división celular de hepatocitos durante la regeneración hepática. Por análisis de la reacción en cadena de la polimerasa se ha detectado, en hígado en regeneración, que la inducción de los mRNA de TIMP1, coincide con el máximo de síntesis del DNA en los hepatocitos (23). Estudios con ratones genéticamente alterados han revelado que la pérdida de función de TIMP1 acelera la progresión de los hepatocitos en el ciclo celular. Esto se demostró por la expresión temprana de ciclina D1, PCNA e histona fosforilada H3, que marcan la transición G1-S y G2-M. Por el contrario la ganancia de función de TIMP1 retrasó la progresión en el ciclo celular. Las actividades de las MMP se elevaron en ausencia de *Timp1*. El examen del HGF y su receptor c-Met, ambos responsables de emitir una señal mitogénica para la división de los hepatocitos, mostraron concentraciones elevadas en hígado regenerante *Timp1*$^{-/-}$. El HGF se libera de la matriz extracelular en forma pro-HGF y sufre proteolisis para convertirse en su forma activa. El HGF activo se encontró elevado en ratones *Timp1*$^{-/-}$, lo que condujo a un incremento del c-Met fosforilado (Figura 5), como también a la activación de un efector, el p38. En conclusión, TIPM1 es un nuevo regulador negativo de la actividad del HGF durante la regeneración hepática (23).

Para la progresión del ciclo celular es necesario superar la transición G1-S, transición estimulada por HGF vía señalización a través de

su receptor Met. Ratones con deleciones en los genes que codifican el HGF o su receptor c-Met, mueren *in utero* con defectos en el desarrollo del hígado. El HGF es un potente mitógeno para hepatocitos en cultivo e induce la expresión de genes tempranos durante la regeneración hepática. Después de la hepatectomía parcial, los niveles plasmáticos de HGF se elevan inmediatamente (1 hora), pero su mRNA no se sintetiza hasta las 3 – 6 horas, lo que hace pensar en un mecanismo alternativo que proporciona el incremento plasmático inmediato de HGF. HGF se sintetiza como una sola cadena polipeptídica unida a la matriz extracelular hepática y ha de ser liberado y activado por rotura proteolítica en dos cadenas peptídicas. De esta manera, el EGF inactivo, unido a la matriz extracelular, sirve como reservorio para la disponibilidad inmediata que se libera en el momento de remodelación de la matriz. Los principales enzimas proteolíticos de la matriz extracelular son las MMP, cuya transcripción se induce durante la regeneración hepática. Estas proteasas extracelulares liberan citoquinas y factores de crecimiento que se encuentran anclados en la matriz extracelular hepática y requieren ser procesados para su bioactividad. Las señales cruciales para la regeneración están reguladas por serina proteasas y MMP, que proporcionan una interfase entre las cascadas proteolíticas y la señalización intracelular durante la división de los hepatocitos (23)

La actividad uPA, se eleva inmediatamente después de la hepatectomía parcial, y es uno de los iniciadores principales de la cascada proteolítica de la matriz ya que cataliza la hidrólisis del plasminógeno y su conversión en plasmina, serina proteasa que interviene en la activación de las metaloproteínasas de la matriz y del HGF (24). Kim *et al* (25) han estudiado la degradación de la matriz en hígado después de la hepatectomía parcial. La activación de la transformación plasminógeno→ plasmina, examinada por análisis Western blot, detectó un pequeño incremento inicial en plasmina a los 15 minutos, seguido por una gran elevación entre las 3 y las 6 horas después de la hepatectomía parcial. Además, el fibrinógeno, el sustrato principal de la plasmina, empezó a degradarse a los 15 a 30 min. Se ha detectado una menor distribución de fibrinógeno en la region periportal a los 15 minutos, que se mantuvo en las próximas 24 h. La distribución de fibronectina en hígado normal

se localizó en el espacio perisinusoidal que rodea las regiones periportales y perivenosas. A los 5 minutos de la hepatectomía se encontró una menor distribución de fibronectina en la región periportal. También se observó, en una preparación de matriz extracelular enriquecida, que los niveles proteicos de laminina, entactina y fibronectina disminuían inmediatamente después de la hepatectomía y se restauraban más tarde. Los resultados obtenidos por estos autores demuestran que la rápida reorganización de los componentes de la matriz extracelular juega un importante papel en la proliferación de los hepatocitos en las etapas iniciales de la regeneración hepática.

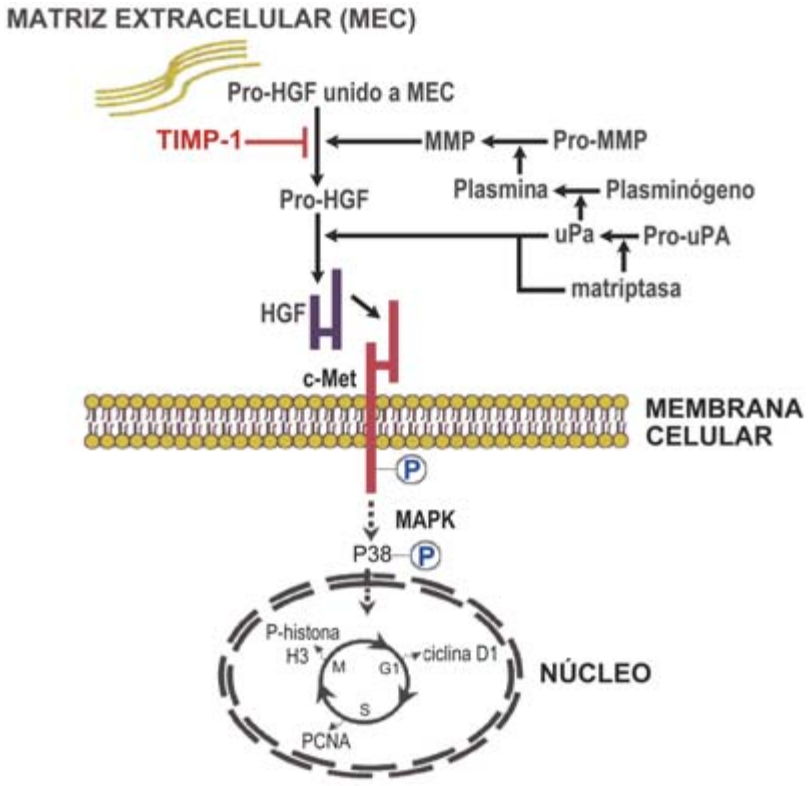


FIGURA 5. *Cascada proteolítica en hígado en regeneración que conduce a la liberación y activación de HGF, que promueve la división de los hepatocitos. HGF, factor de crecimiento de los hepatocitos; TIMP-1, inhibidor tisular de la metaloproteinasa1, MMP, metaloproteinasa de la matriz; uPA, uroquinasa activadora del plasminógeno; MAPK, proteína quinasa activada por mitógenos; PCNA, antígeno nuclear de proliferación celular (23)*

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LOS GENES DEL CICLO CELULAR POR EL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN FOXM1B

Se ha demostrado que Foxm1b, miembro de la familia de factores de transcripción Forkhead Box (Fox), interviene en la regulación de genes del ciclo celular (26, 27) y que es una proteína esencial para la proliferación de los hepatocitos (28). Durante el desarrollo y diferenciación de los hepatocitos la familia del factor forkhead esta presente en los tejidos embrionarios y regula la entrada de las células en la fase S y en la mitosis.

El grupo de Costa ha contribuido significativamente al conocimiento del papel de Foxm1b mediante el uso de ratones transgénicos que superexpresaban la proteína humana y de ratones knockout carentes de Foxm1b en hepatocitos. Se ha observado que los ratones que carecían de Foxm1b en el hígado mostraban una respuesta proliferativa muy disminuida después de la resección quirúrgica del hígado, y que la superexpresión de la FoxM1B humana introducida mediante adenovirus a ratones silvestres de 12 meses, restauraba la respuesta normal a la hepatectomía parcial. La superexpresión de FoxM1B en los animales transgénicos causó un adelanto en la iniciación de la síntesis del DNA. Este adelanto en la entrada en la fase S en respuesta FoxM1B, fue paralelo a la expresión de otros componentes críticos de la maquinaria del ciclo celular, incluyendo la ciclinas D y E y acopla la expresión de Foxm1b con la progresión del ciclo celular, promoviendo la transición G1/S y G2/M. La proteína FoxM1 es esencial para disminuir la acumulación nuclear de las proteínas inhibidoras de las CDK, $p21^{Cip1}$ y $p27^{Kip1}$ y para la transcripción de la fosfatasa Cdc25B requerida para la activación de los complejos ciclina/CDK. La multiplicidad de puntos de control de Foxm1b indica que la actividad del factor Forkhead es un determinante principal en el proceso de división de los hepatocitos (29 – 32).

Otros estudios de este mismo grupo han responsabilizado a FoxM1 de estar implicado en la transición G2/M y que la falta es este factor de transcripción retrasa la mitosis por impedir la normal segregación de los cromosomas y la progresión G2-M. También se ha observado

que la carencia de este factor produce la acumulación de células poliploides (33).

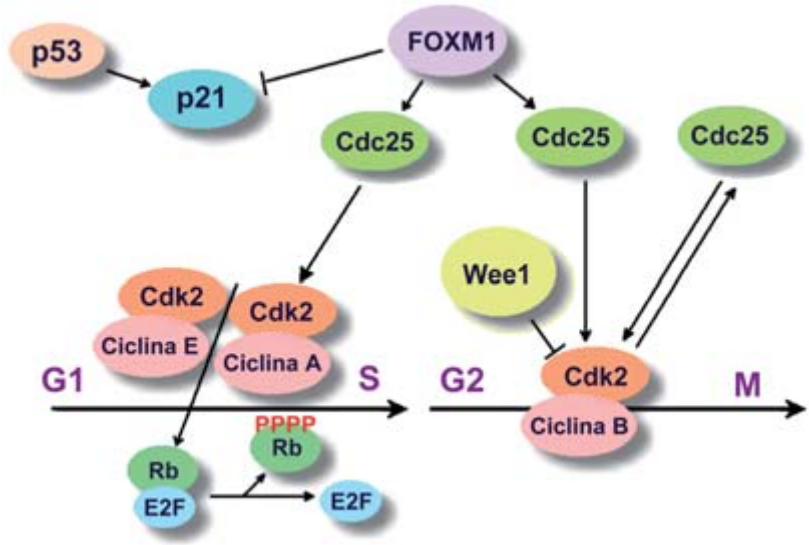


FIGURA 6. *Intervención del factor de transcripción FoxM1 en la regulación de la transcripción de los genes del ciclo celular esenciales para la progresión de G1/S y G2/M, segregación cromosómica y citoquinesis. La actividad transcripcional de FoxM1 requiere la unión de Cdk2-ciclina E/A para la transición G1/S y la unión Cdk2-ciclina B para la transición G2/M en su dominio de activación transcripcional. FoxM1 impide la acción de las proteínas p21 y Rb, ambas inhibidoras de la progresión de ciclo celula (33).*

PERSPECTIVAS FUTURAS

Se ha avanzado mucho en los últimos años en el conocimiento de los mecanismos implicados en el proceso de regeneración hepática. Este avance se ha basado en parte en el desarrollo de modelos de ingeniería genética en ratones en los cuales se han insertado o inactivado genes específicos. Hoy se sabe que los hepatocitos maduros poseen una asombrosa capacidad proliferativa y que tanto la proliferación como la apoptosis pueden ser desencadenadas por un solo agente, el TNFα. Sin embargo, quedan todavía muchas preguntas sin respuesta. Por ejemplo: ¿está el lipopolisacárido implicado en esta inducción y en los mecanismos que

causan el incremento del TNF que inicia la proliferación?, ¿por qué los hepatocitos se dividen una o dos veces y la regeneración termina en un determinado momento? Es necesario estudiar las conexiones entre la actividad metabólica hepática y la compleja cascada de activación genética necesaria para la síntesis del DNA. También podría ser que las especies reactivas de oxígeno liberadas por la elevada demanda metabólica de las mitocondrias de los hígados que han perdido un 70 % de sus masas, funcionaran como conductoras de proceso mitogénico mediante la activación del NFκB. En este caso la restauración de la masa hepática y la actividad metabólica normal eliminaría las señales necesarias para la proliferación.

La regeneración hepática presenta un gran interés por la posibilidad de su aplicación a la clínica. El transplante de los hepatocitos puede ser de una gran utilidad en el tratamiento de la enfermedad metabólica hepática y las perspectivas son hoy mucho más alentadoras. Los hepatocitos en cultivo permanecen viables por largos períodos de tiempo y pueden ser inducidos a proliferar mediante la adición al medio de cultivo de factores del crecimiento. La infusión de factores del crecimiento precedida por la administración intrahepática de TNF podría incrementar notablemente el efecto de otros factores del crecimiento como el HGF, TNFα o EGF, especialmente en casos de transplante de hígados pequeños o trozos pequeños de hígado y en casos de lesión masiva aguda inducida por hepatotóxicos.

BIBLIOGRAFÍA

(1) Reuben A 2004, Prometeus and Pandora. *Hepatology* **39,** 1460-1463

(2) Cascales M y Martín Sanz P (1990) Regeneración Hepática. En Hepatología. Nuevas Tendencias (Editores Cascales M y Rodés J) CSIC. Madrid pp 107-127

(3) Cascales Angosto M (1994) Regeneración hepática post-necrótica y hepatocarcinogenesis. En Proliferación Celular y Cáncer. Editores: Cascales M y Villanueva JR. Real Academia de Farmacia y Fund Cien Asoc Española Contra el Cancer. Madrid pp 345-378.

(4) Cascales (2001) Regeneración Hepática, en Mecanismos de Hepatotoxicidad. Real Academia de Doctores. Madrid. pp 215 – 251

(5) Higgins GM y Anderson RM (1931) Experimental pathology of the liver. I. Restoration of liver of while rat following partial surgical removal. *Arch Pathol Lab Med* **12,** 186-202.

(6) Francavilla A, Zeng Q, Polimeno L (1995) Small-for-size liver transplantes into larger recipient: a model of liver regeneration. *Hepatology* **19,** 210-216

(7) Czaja MJ (1998) Liver regeneration following hepatic injury. En: *Liver growth and repair* (eds Strain AJ y Diehl AM) pp 28-49, Chapman & Hall. Londres,

(8) Fausto N (2000) Liver regeneration. *J Hepatol* **32**, 1 19-31

(9) Fausto N (2006) liver regeneration. *Hepatology* **43**, S45 – S53

(10) Michalopoulos GK, DeFrances MC (1997). Liver regeneration. *Science* 276, 60-66.

(11) Fausto N (2004) Liver regeneration and repair. Hepatocytes, progenitor cells and stem cells. Heatology 39, 1477-1487

(12) Taub R (2003) Hepatic regeneration En: Hepatology (Eds Zakim D y Boyer T) pp 31-48. Elsevier

(13) Sandgren EP, Palmiter RD, Heckel JL, Daugherty CC, Brinster RL y Degen JL. (1991) Complete Hepatic Regeneration after Somatic Delecion of an Albumin-Plasminogen Activator Transgene. *Cell* **66**, 245-256.

(14) Overturf K, Al-Dhalimy M, Tanguay R, Brantly M, Ou CN, Finegold M y Grompe M (1996) Hepatocytes corrected by gene therapy are selected in vivo in a murine model of hereditary tyrosinemia type I. *Nat Gen* 12, 266-273.

(15) Grompe M, Lindstedt S, Al-Dhalimy M, Kennaway NG, Papaconstantinou J, Torres-Ramos CA, Ou CN y Finegold M (1995) Pharmacological correction of neonatal lethal hepatic dysfunction in a murine model of hereditary tyrosinemia type I. *Nat Gen* **10,** 453-460.

(16) Overturf K, Al-Dhalimy M, Ou CM, Finegold M. y Grompe M (1997) Serial transplantation reveals the stem-cell like regenerative potencial of adult mouse hepatocytes. *Am J Pathol* **151,** 1273-1280

(17) Su AI, Guidotti LG, Pezacki JP, Chisari FV y Schultz PG (2002) Gene expression during the priming phase of liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* **99,** 11881-11888

(18) Taub R (2004) Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nat Rev Mol Cell Biol* **5,** 836-847

(19) Stocker E, Heine W-D (1971) Regeneration of liver parenchyma under normal and pathological conditions. *Mol Cell Biol* **144,** 400-408.

(20) Koniaris LG, McKillop IH, Schwartz SI y Zimmers TA (2003) Liver regeneration. *J Am Coll Surg* **197,** 634-659

(21) Serandour AL, Loyer P, Garnier D, Courselaud B, Theret N, Glaise D, et al (2005) TNFalpha-mediated extracellular matrix remodeling is required for multiple division cycles in rat hepatocytes. *Hepatology* **41**, 478-486

(22) Mohammed FF, Smookler DS, Taylor SE, Fingleton B, Kassiri Z, Sanchez OH, et al (2004). Abnormal TNF activity in Timp3$^{-/-}$ mice leads to chronic hepatic inflammation and failure of liver regeneration. *Nat Genet* **36,** 969-977.

(23) Mohammed FF, Pennington CJ, Kassiri Z, Rubin JS, Soloway PD, Rither U, Edwards DR y Khokha R (2005) Metalloproteinase inhibitor TIMP-1 affects hepatocyte cell cycle via HGF activation in murine liver regeneration. *Hepatology* **41,** 857-867

(24) Mars WM, Zarnegar R y Michalopoulos GK (1993) Activation of hepatocyte growth factor by the plasminogen activator uPA. *Am J Pathol* **143,** 949-958.

(25) Kim TH, Mars WM, Stolz DB, Michalopoulos GK (2000). Expression and activation of pro-MMP-2 and pro-MMP-9 during rat liver regeneration. *Hepatology* **31,** 75-82

(26) Burgering BM, Kops GJ (2002) Cell cycle and death control: long live Forkheads. *Trends Biochem Sci* **27**, 352-360.

(27) Wang X, Kiyokawa H, Dennewitz M, Costa R (2002). The Forkhead Box m1b transcription factor is essential for hepatocyte DNA replication and mitosis during mouse liver regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* **99,**16881-16886fox

(28) Leung TW, Lin SS, Tsang AC, Tong CS, Ching JC, Leung WY, Gimlich R, et al (2001) Over-expression of FoxM1 stimulates cyclin B1 expression. *FEBS Lett* **507,** 59-66.

(29) Wang X, Krupczak-Hollis K, Tan Y, Dennewitz M, Adami GR, Costa RH (2002). Increased Forkhead Box M1B (FoxM1B) levels in old-aged mice stimulated liver regeneration through diminished p27Kip1 protein levels and increased Cdc25B expression. *J Biol Chem* **277,** 44310-44316

(30) Krupczak-Hollis K, Wang X, Dennewitz MB y Costa RH (2003) Growth Hormone Stimulates Proliferation of Old-Aged Regenerating Liver Through Forkhead Box m1b *Hepatology* **38**, 1552-1562

(31) Costa RH, Kalinichenko VV, Holterman A-XL y Wang X (2003) Transcription Factors in Liver Development, Differentiation, and Regeneration *Hepatology* **38**

(32) Tan YJ, Yoshida Y, Hughes DE y Costa RH (2006) Increased Expression of Hepatocyte Nuclear Factor 6 Stimulates Hepatocyte Proliferation During Mouse Liver Regeneration *Gastroenterology* **130,** 1283–1300

(33) Costa RH (2005) FoxM1 dances with mitosis *Nature Cell Biol* **2,** 108-110

FIBROSIS HEPÁTICA: UNA RESPUESTA REGENERATIVA PATOLÓGICA EN LAS HEPATOPATÍAS CRÓNICAS

RAMÓN BATALLER ALBEROLA *

Servicio de Hepatología, Institut de Malalties Digestives, Hospital Clínic, IDIBAPS, Barcelona.

* *Correspondencia:* Dr. Ramón Bataller, Servicio de Hepatología, Hospital Clínic, Villarroel 170, Barcelona 08036; e-mail: bataller@clinic.ub.es

Abreviaturas: HSC: células estrelladas hepáticas; HGF: factor de crecimiento hepatocitario; PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas; TGFβ: factor de crecimiento transformador tipo β.

RESUMEN

La fibrosis hepática es el acúmulo excesivo de proteínas de la matrix extracelular, principalmente colágeno, que ocurre en la mayoría de enfermedades crónicas del hígado. La fibrosis distorsiona la arquitectura normal del hígado, causando hipertensión portal e insuficiencia hepática. El diagnóstico de la fibrosis se basa en la biopsia hepática, aunque existen pruebas no invasivas (Fibroscan, marcadores serológicos, pruebas de imagen) que permiten estimar el grado de fibrosis hepática. Actualmente, la eliminación del agente causal es la única terapia efectiva para parar o incluso reverit la fibrosis hepática. Por tanto, el desarrollo de fármacos antifibróticos representa un reto para la hepatología moderna. En la última década, se han hecho grandes avances en el conocimiento de las bases celulares y moleculares de la fibrogénesis hepática. La identificación de las células estrelladas (HSCs) activadas como el tipo celular más importante de este proceso y el reconocimiento de varias citoquinas involucradas ha facilitado el diseño de nuevas terapias antifibrogénicas prometedoras. Dichas terapias están dirigidas a inhibir el acúmulo de HSCs activadas en las zonas de daño hepático y/o preveniur el depósito de proteínas de la matriz extracelular. Aunque muchos de estas terapias son efectivas en modelos experimentales de fibrosis, su eficacia y seguridad en humanos es todavía desconocida. Los fármacos que inhiben el sistema renina-angiotensina son los más prometedores, aunque se necesitan estudios prospectivos controlados para confirmar su utilidad en el tratamiento de la fibrosis hepática.

Palabras clave: fibrosis, colágeno, células estrelladas hepáticas.

SUMMARY

Liver fibrosis is the excessive accumulation of extracellular matrix, mainly collagen, that occurs in most chronic liver diseases. Fibrosis distorts the normal hepatic architecture causing portal hypertension and liver insufficiency. The diagnosis of fibrosis is based on liver biopsy, yet non-invasive methods (Fibroscan, serum markers, imaging) are able to estimate the degree of fibrosis. To date, removing the causative agent is the only effective therapy to stop or even reverse liver fibrosis. Therefore, the development of effective antifibrotic therapies represents a challenge for modern hepatology. In the last decade, dramatic advances have been made in the understanding of the cellular and molecular mechanisms underlying liver fibrogenesis. The identification of activated hepatic stellate cells (HSCs) as the major fibrogenic cell type in the injured liver as well as the recognition of key cytokines involved in this process have facilitated the design of promising new antifibrotic therapies. These therapies are aimed at inhibiting the accumulation of activated HSCs at the sites of liver injury and/or preventing the deposition of extracellular matrix proteins. Although many of these approaches are effective in experimental models of liver fibrosis, their efficacy and safety in humans are still unknown. Drugs inhibiting the renin-angiotensin system are the most promising ones, yet prospective controlled clinical trials are needed to confirm their usefulness in the treatment of liver fibrosis.

Key words: fibrosis, collagen, hepatic stellate cells

1. INTRODUCCIÓN

El hígado es un órgano con gran capacidad de regeneración (1). Tras un daño hepático autolimitado (ej. una hepatitis aguda), se produce una rápida respuesta regenerativa de los hepatocitos que sustituyen el tejido necrótico, reestableciendo la arquitectura hepática normal. Durante este proceso reparativo, existe una reacción inflamatoria junto a un depósito de matriz extracelular constituido por colágeno no fibrilar, que servirá de tejido de sostén para los hepatocitos regenerados y que contribuye a recomponer el lobulillo hepático dañado. Sin embargo, si la necrosis hepática es mantenida, este proceso reparativo se perpetua. Con el tiempo, la capacidad de regeneración hepática disminuye, mientras que aumenta considerablemente la producción de matriz extracelular, que se

deposita de manera desorganizada en el lobulillo hepático (2). En fases avanzadas, la población normal de hepatocitos ha sido parcialmente sustituida por abundante matriz extracelular formada por colágeno fibrilar y otras proteínas como la fibronectina y diversos glicosaminglicanos. En fases avanzadas, las bandas de colágeno son muy evidentes y unen a varios espacios porta, que se denominan «puentes de fibrosis». Esta condición precede a la formación de nódulos de regeneración y, por tanto, al desarrollo de cirrosis.

La fibrosis hepática es pues el depósito de colágeno y otras proteínas de la matriz extracelular que ocurre en la mayoría de enfermedades hepáticas crónicas (2,3). La aparición de fibrosis es un hallazgo común en las hepatopatías crónicas de cualquier etiología, como la infección crónica por el virus de la hepatitis C, la hepatopatía alcohólica, las colestasis crónicas o diversas enfermedades metabólicas hepáticas. Las principales consecuencias clínicas de la fibrosis hepática avanzada son la hipertensión portal y la insuficiencia hepática, que son debidas a un aumento de la resistencia del flujo sanguíneo intrahepático y a una disminución de la masa funcionante de hepatocitos, respectivamente (4). En la actualidad, la maniobra terapéutica más eficaz para evitar el progreso de la fibrosis hepática o incluso para revertir su curso consiste en la eliminación del agente causante de la hepatopatía. Sin embargo, durante la última década se han realizado importantes avances en el conocimiento de la historia natural y la patogenia de la fibrosis hepática. Se han definido los factores que regulan la progresión de la fibrosis en diferentes tipos de hepatopatías crónicas, así como las bases celulares y moleculares responsables de la acumulación de colágeno en el hígado fibrótico (2). Estos avances han facilitado el diseño de nuevos tratamientos con el objetivo de enlentecer el curso de la fibrosis hepática en pacientes con diversos tipos de hepatopatías crónicas (5). Aunque la mayoría de dichos tratamientos están todavía en fase experimental, alguno de ellos se han mostrado seguros y eficaces en estudios clínicos.

2. DIAGNÓSTICO E HISTORIA NATURAL DE LA FIBROSIS HEPÁTICA

El diagnóstico de la fibrosis hepática es un tema de gran actualidad. La evaluación del grado de fibrosis hepática es importante para decidir el tratamiento y establecer el pronóstico de los pacientes con hepatopatías crónicas. La biopsia hepática es el método más preciso para determinar la presencia y grado de fibrosis (6). El examen histológico hepático permite detectar y cuantificar la presencia de tejido fibroso, así como la actividad necroinflamatoria acompañante. Además, los lesiones histológicas orientan en muchos casos sobre el diagnóstico de la causa de la hepatopatía. La tinción estándar de hematoxilina-eosina permite detectar la presencia de tractos fibrosos, aunque una cuantificación precisa del grado de fibrosis requiere el uso de tinciones específicas (tricrómico de Masson, Sirius red, etc). La escala más utilizada es la escala METAVIR (Tabla 1) (7). Sin embargo, la biopsia hepática es un método invasivo que además puede presentar error de muestreo. En la actualidad se está realizando un gran esfuerzo es desarrollar métodos no invasivos para determinar el grado de fibrosis. Los métodos más prometedores son la elastografía hepática (Fibroscan®), las pruebas de imagen como la TAC y la utilización de marcadores biológicos de fibrogénesis en sangre periférica (TGFβ1, TIMP-1, ácido hialurónico) (8). Además, parámetros sencillos que incluyen la edad, el número de plaquetas, el colesterol, etc. pueden predecir razonablemente la presencia o ausencia de fibrosis significativa (9). La utilización simultánea de varios de estos marcadores es útil para estimar el grado de fibrosis hepática y está sustituyendo progresivamente a la biopsia hepática como método diagnóstico de elección.

TABLA 1. *Escala METAVIR para la cuantificación de la fibrosis hepática.*

F0: ausencia de fibrosis
F1: fibrosis periportal sin septos visibles
F2: presencia de algunos septos de fibrosis
F3: presencia de abundantes septos de fibrosis
F4: cirrosis hepática

La historia natural de la fibrosis hepática se ha descrito con detalle en los pacientes con infección crónica por el virus de la hepatitis C (10). Hoy se sabe que la evolución de la fibrosis hepática es un proceso muy lento en la mayoría de estos pacientes, siendo el tiempo medio de evolución a cirrosis de 30 años a partir del inicio de la infección. La progresión de la fibrosis es muy lenta en los primeros años tras la infección, para acelerarse de manera progresiva con los años. Los factores que se asocian a una evolución más rápida de la fibrosis incluyen la edad de adquisición de la infección mayor de 40 años, el consumo de alcohol superior a 50 g/día, la coinfección por virus de la inmunodeficiencia humana y el sexo masculino (Figura 1) (11). Factores como la carga viral, el genotipo del virus C, el nivel de transaminasas, el modo de infección o el grado de inflamación en la biopsia hepática no parecen influir el grado de progresión de la fibrosis. Los pacientes que poseen varios de estos factores pronósticos pueden evolucionar a cirrosis en menos de 10 años tras la infección del virus C, y son considerados «fibrosadores rápidos». Otros pacientes progresan de manera espontánea a cirrosis en un periodo de 20-30 años, y son considerados «fibrosadores intermedios». Por último, existen pacientes que no progresan a cirrosis incluso después de un seguimiento superior de 50 años, y son considerados

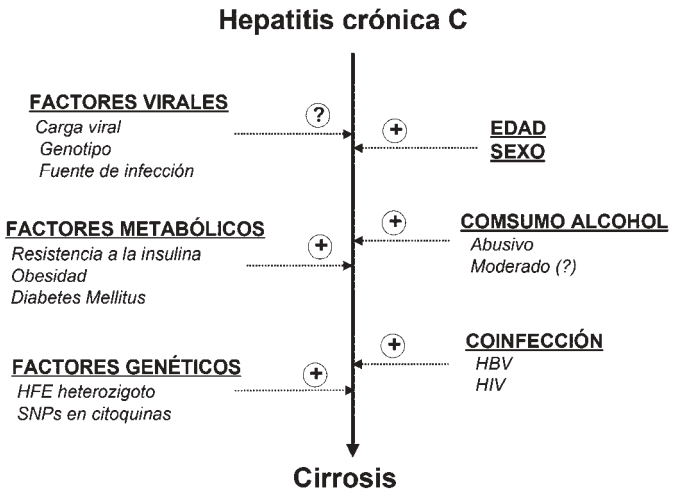


FIGURA 1. *Factores que influencian la progresión de la fibrosis hepática en pacientes con hepatitis crónica C.*

«fibrosadores lentos». En los pacientes con hepatopatía avanzada por virus C que son trasplantados de hígado, la fibrosis hepática evoluciona de una forma más rápida que en los pacientes no trasplantados (12). En estos pacientes, la reinfección del injerto es prácticamente universal, desarrollando una hepatitis crónica de curso agresivo. A los 5 años del trasplante, más de un tercio de los pacientes han desarrollado una cirrosis establecida. Los factores que determinan esta rápida evolución de la fibrosis en los pacientes trasplantados no son bien conocidos. Se sabe que el genotipo viral tipo 1, la existencia de episodios de rechazo y un mayor uso de inmunosupresores se asocian a un curso más agresivo de la fibrosis.

3. PATOGENIA DE LA FIBROSIS HEPÁTICA

La fibrosis hepática ha sido considerada tradicionalmente un proceso «pasivo» e irreversible, consecuencia del colapso del parénquima hepático y su sustitución por un tejido rico en colágeno. Sin embargo, numerosas observaciones clínicas y experimentales indican que este concepto no es correcto. La fibrosis hepática es considerada en la actualidad un proceso de reparación tisular altamente complejo que aparece ante un daño hepatocelular mantenido y en el que interviene de manera activa diversos tipos celulares y citocinas profibrogénicas (2).

Uno de los avances más importantes en el conocimiento de la patogenia de la fibrosis hepática ha sido el descubrimiento de las células estrelladas hepáticas (HSC, *hepatic stellate cells)* como el principal tipo celular responsable del exceso de síntesis de colágeno en el hígado fibrótico (13). En el hígado normal, la función más importante de las HSC es el almacenamiento de la vitamina A. En el curso de las hepatopatías crónicas, las HSC sufren una transformación fenotípica o «activación celular» caracterizada por la adquisición de funciones típicas de los miofibroblastos, como la contractilidad celular y la secreción de citocinas proinflamatorias y de matriz extracelular. Las HSC activadas migran y proliferan en los focos de necrosis hepatocelular, donde depositan matriz extracelular y participan en el reclutamiento de celulas inflamatorias. Por

tanto, el proceso de «activación» de las HSC es considerado un evento clave en la patogenia de la fibrosis hepática. Las sustancias que regulan la transformación fenotípica y la proliferación de las HSC en los focos de reparación tisular derivan en su mayoría de los hepatocitos dañados, de las células de Kupffer activadas y del propio infiltrado inflamatorio. Así, diversos factores de crecimiento como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas -PDGF- o el factor de crecimiento transformador tipo β -TGFβ- y sustancias vasoactivas (trombina, angiotensina II y endotelina-1) contribuyen a la acumulación de HSC activadas y ejercen por tanto una acción profibrogénica en las hepatopatías crónicas (14). Por el contrario, diversas citocinas como el interferón-a y el factor de crecimiento hepatocitario -HGF- son potentes inhibidores de la activación de las HSC (15). Los mecanismos moleculares responsables de la activación y proliferación de las HSC incluyen proteínas de membrana (canales de calcio, intercambiador de sodio/potasio) y diversas vías de señalizacion intracelular (MAP kinasas, PI3-kinasa/AKT), así como el estrés oxidativo debido a la formación de radicales libres. La modulación farmacológica de estas citoquinas y/o de sus vías intracelulares atenua la progresión de fibrosis en diversos modelos experimentales al evitar la acumulación de HSC activadas en el hígado.

Investigaciones recientes indican que en el curso de las hepatopatías crónicas no sólo se produce un incremento de la síntesis de colágeno, sino una marcada disminución en su degradación (17). Las principales enzimas encargadas de regular este proceso son las colagenasas, cuya actividad es modulada por otras enzimas denominadas inhibidores tisulares de las colagenasas o TIMPs (*tissue inhibitors of metalloproteinases*). Durante el proceso de fibrogénesis hepática, existe un marcado incremento en la expresión de las TIMPs y por tanto una inhibición de la actividad de las colagenasas. Por el contrario, durante el proceso de regresión de la fibrosis que acontece una vez eliminada la noxa hepática, la actividad de las TIMPs disminuye y la expresión de las colagenesas aumenta marcadamente, favoreciendo la degradación del colágeno. El principal tipo celular implicado en la síntesis de estas enzimas en el hígado fibrótico son las HSC. Tras el proceso de activación celular, las HSC secretan grandes cantidades de TIMPs, impidiendo la degradación

del colágeno secretado y por tanto aumentando su capacidad fibrogénica. La modulación farmacológica de los enzimas responsables de la degradación de colágeno supone una prometedora estrategia terapéutica para la fibrosis hepática.

Aunque el desarrollo de fibrosis es común en la mayoría de enfermedades crónicas del hígado, su patogenia varía según el agente etiológico. Así, las hepatopatías de origen alcohólico se caracterizan por la infiltración por polimorfonucleares y el depósito de colágeno alrededor de los sinusoides y las venas centrolobulillares (18). En dichas zonas existe una mayor actividad del enzima alcohol-deshidrogenasa y por tanto una mayor síntesis de acetaldehído, que es el metabolito del alcohol con mayor poder fibrogénico. El acetaldehído induce un marcado estrés oxidativo en los hepatocitos y estimula la actividad de las células de Kupffer, que secretan potentes citocinas proinflamatorias (19). Dichos factores contribuyen a activar las HSC y aumentan su poder fibrogénico. En el caso de las colestasis crónicas, el desarrollo de fibrosis es debida a la acumulación de ácidos biliares en el hígado. El exceso de ácidos biliares se asocia a una intensa respuesta inflamatoria, estimula la produción hepática de radicales libres e induce la apoptosis de los hepatocitos (2). Además, los ácidos biliares activan las HSC en cultivo y aumentan la síntesis de colágeno, lo que podría contribuir a su acción fibrogénica. En las hepatopatías víricas, el depósito de colágeno se produce en la zona periportal, donde existe una mayor necrosis hepatocitaria y una reacción inflamatoria caracterizada por la infiltración de linfocitos. La liberación de radicales libres y de citocinas profibrogénicas en dichas zonas induce la activación y proliferación de las HSC, que secretan localmente abundante colágeno. Además, las HSC contribuyen a amplificar la respuesta inflamatoria al estimular la proliferación de los linfocitos (20). La progresión de la fibrosis en pacientes con similar grado de inflamación es muy variable. Por tanto, se cree que factores propios del virus y/o del huésped también influyen en el desarrollo de fibrosis. En el caso de la hepatitis C, el genotipo viral, que determina la respuesta al tratamiento antiviral, no parece influir en el desarrollo de fibrosis. Factores genéticos del huésped, como la existencia de polimorfismos de algunas citocinas y

sustancias vasoactivas parecen influir en la diferente susceptibilidad individual al desarrollo de fibrosis (21).

Numerosas observaciones experimentales y clínicas indican que la fibrosis hepática es un proceso potencialmente reversible (22). En diversos modelos de hepatopatía crónica en ratas, la eliminación del agente causal se asocia a una progresiva desaparición de la matrix extracelular que se había acumulado en el tejido hepático. Este proceso se asocia a un aumento en la actividad de las colagenasas que degradan la matrix extracelular existente así como una desaparición de las HSC mediante apoptosis. En las hepatopatías humanas, la eliminación del agente hepatotóxico no sólo frena la progresión de la fibrosis, sino que puede asociarse a una disminución de la misma (23-26). Cuando se elimina el agente causal en fases precoces, puede lograrse una desaparición total del tejido fibroso restaurando la arquitectura hepática normal. Estas observaciones han animado a numerosos investigadores a ensayar sustancias con acción antifibrogénica capaces de frenar e incluso revertir la acumulación de tejido fibroso en las hepatopatías crónicas. Se desconoce, sin embargo, si la capacidad del hígado de eliminar el tejido fibroso es igual en todos los pacientes y si depende del momento evolutivo de la hepatopatía.

4. TRATAMIENTO DE LA FIBROSIS HEPÁTICA

A pesar de que se ha avanzado mucho en el conocimiento de la historia natural, diagnóstico y patogenia de la fibrosis hepática, no existe en la actualidad un tratamiento antifibrótico hepático bien aceptado. El tratamiento más eficaz sigue siendo la eliminación del agente causante de la hepatopatía. Sin embargo, en muchos pacientes este objetivo no es posible. El descubrimiento de compuestos capaces de enlentecer o mejor aún eliminar el depósito de colágeno en estos pacientes constituye uno de los mayores retos de la hepatología moderna. En los últimos años se han descrito diversos compuestos eficaces en el tratamiento de la fibrosis hepática en modelos animales experimentales (Tabla 2) (5). La mayoría de estos compuestos actúan disminuyendo la acumulación de

HSC en el hígado fibrótico o bien inhibiendo de forma directa la síntesis de colágeno. Algunos de estos tratamientos se han demostrado seguros y eficaces en pacientes, mientras otros están siendo investigados en la actualidad. Sin duda, el hecho de que el desarrollo de fibrosis hepática es un proceso evolución muy lenta dificulta la realización de estudios clínicos controlados a medio plazo.

La eliminación del agente causal de la hepatopatía constituye el tratamiento más eficaz de los pacientes con fibrosis hepática. Esta maniobra evita la progresión de la fibrosis en la mayoría de los casos, y cuando se instaura en estadios precoces, puede revertir por completo la fibrosis restaurando la histología hepática normal. Así, la curación de la hepatitis por virus de la hepatitis B o C mediante tratamiento con lamivudina (100-200 mg/día) o interferón-a (3 MU/tres veces al día) más rivabirina (1200 mg/día), respectivamente, no sólo se asocia a la desaparición de la lesión necroinflamatoria, sino de una disminución de la fibrosis acompañante (23-26). De manera similar, la abstinencia alcohólica en pacientes con hepatopatía de origen alcohólico, el tratamiento inmunosupresor en la hepatitis autoinmune, la descompresión biliar en pacientes con fibrosis secundaria a obstrucción biliar, o la depleción de hierro en pacientes con hemocromatosis frenan la progresión de la fibrosis y en algunos casos se asocian a la resolución de la misma. No se sabe con exactitud en qué momento evolutivo de la fibrosis hepática las lesiones son irreversibles a pesar de eliminar el agente causal. Existen descripciones aisladas de resolución parcial de las lesiones fibróticas en pacientes con cirrosis establecida, lo que sugiere que incluso en los casos avanzados la fibrosis hepática no es un proceso irreversible.

Numerosos compuestos con propiedades antifibrogénicas se han propuesto para tratar la fibrosis hepática. La mayoría de estos compuestos se han mostrado eficaces *in vitro* (con HSC) y en animales de experimentación (Figura 2). Sin embargo, su eficacia y seguridad en humanos no ha sido probada en la mayoría de casos (6). Los principales tratamientos están resumidos en la Tabla 2. De estos compuestos, los más prometedores son los inhibidores del sistema renina-angiotensina (27). Los fármacos que interfieren con la síntesis y acción de la angiotensina

TABLA 2. *Compuestos con efecto antifibrogénico en la fibrosis hepática.*

	Efecto sobre las HSC	*Mecanismo de acción*		*Efecto sobre el colágeno*	*Estudios clínicos*
		Antioxidante	*Antiinflamatorio*		
Amiloride	sí	no	?	sí	no
Inhibidores angiotensina	sí	sí	?	sí	no
Colchicina	?	sí	sí	sí	sí
Corticosteroides	?	no	sí	sí	sí
Inhibidores endotelina	sí	no	no	sí	no
Halofuginona	sí	no	no	sí	no
HGF	sí	no	no	sí	no
HOE 077	sí	no	no	sí	no
Interferón-α	sí	no	sí	sí	sí
Interferón-γ	sí	no	sí	sí	en curso
Interleucina-10	?	no	sí	?	sí
Malotilato	?	no	sí	sí	sí
Pentoxifilina	sí	sí	sí	sí	no
Fosfatidilcolina	sí	sí	?	sí	en curso
SAMe	?	sí	no	sí	sí
Silimarina	?	sí	no	sí	sí
Inhibidores TGFβ	sí	?	no	sí	no
Tocoferol	sí	sí	no	no	sí
uPA	?	no	?	sí	sí

HSC: *hepatic stellate cells;* HGF: *hepatocyte growth factor,* TGFβ: *transforming growth factor* β; SAMe: s-adenosil-metionina; uPA: inhibidor del activador del plasminógeno.

II (inhibidores del enzima convertidor de la angiotensina y/o antagonistas de los receptores AT1) son de gran utilidad en el tratamiento de la fibrosis cardíaca y renal. Recientes estudios experimentales sugieren que estos fármacos podrían ser también eficaces en la fibrosis hepática (40). En la actualidad se están realizando estudios clínicos controlados para valorar su eficacia en pacientes con hepatopatías crónicas.

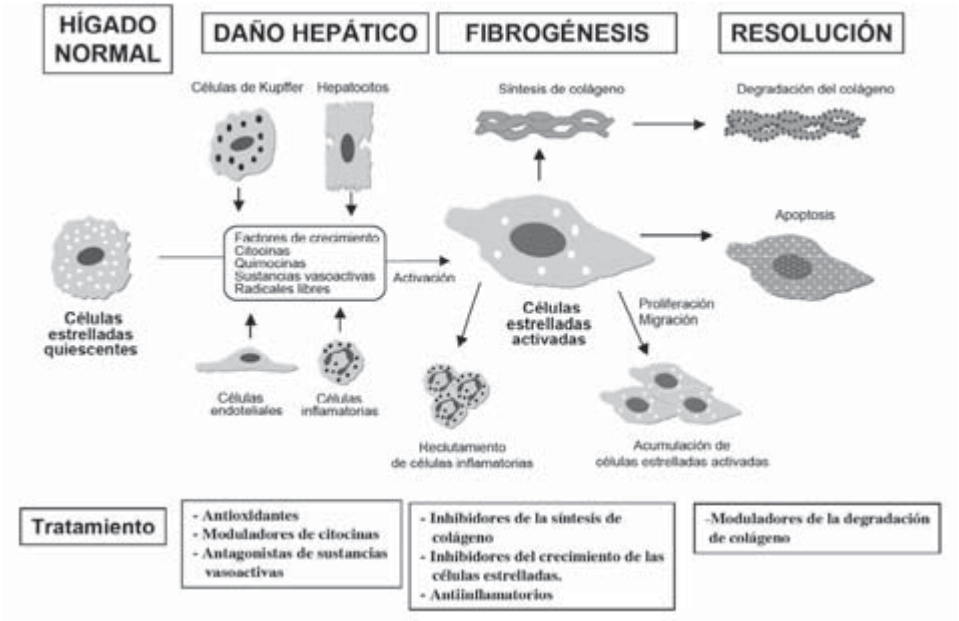


FIGURA 2. *Acciones biológicas de las células estrelladas hepáticas en la fibrosis hepática y mecanismo de acción de los diversos tratamientos antifibrogénicos. En el hígado normal, las células estrelladas presentan un fenotipo «quiescente», y su función principal es el almacenamiento de vitamina A. Ante un daño hepático prolongado, diversas citocinas y mediadores procedentes de otros tipos celulares hepáticos estimulan la transformación fenotípica o «activación» de las células estrelladas. Estas células estrelladas activadas migran y proliferan a los focos inflamatorios, jugando un papel clave en la patogenia de la fibrosis hepática. Por una parte, secretan sustancias quimiotácticas que reclutan más células inflamatorias, amplificando la respuesta inflamatoria. Por otra, sintetizan grandes cantidades de colágeno que se acumula en el tejido hepático. Si el agente causal del daño hepático es eliminado, se produce una resolución parcial de la fibrosis, mediante la degradación del colágeno por medio de las colagensas y la desaparición de las células estrelladas hepáticas activadas mediante su apoptosis. Compuestos capaces de inhibir la activación de las células estrelladas hepáticas o algunas de sus acciones biológicas son de utilidad en el tratamientro de son pues de utilidad en el tratamiento de la fibrosis hepática.*

BIBLIOGRAFIA

(1) Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. (2006) Liver regeneration. *Hepatology* 43(2 Suppl 1):S45-53.

(2) Bataller R, Brenner DA. (2005) Liver fibrosis. *J Clin Invest* 115:209-18.

(3) Friedman SL. (2000) Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 275:2247-2250.

(4) Pinzani M, Gentilini P. (1999) Biology of hepatic stellate cells and their possible relevance in the pathogenesis of portal hypertension in cirrhosis. *Semin Liver Dis* 19:397-410.

(5) Bataller R, Brenner DA. (2001) Hepatic stellate cells as a target for the treatment of hepatic fibrosis. *Semin Liver Dis* 21:437-451.

(6) Saadeh S, Cammell G, Carey WD, Younossi Z, Barnes D, Easley K. (2001) The role of liver biopsy in chronic hepatitis C. *Hepatology* 33:196-200

(7) Poynard T, Bedossa P, Opolon P. (1997) Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet* 349:825-832.

(8) Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L. (2001) Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet* 357:1069-1075.

(9) Oh S, Afdhal NH. (2001) Hepatic fibrosis: are any of the serum markers useful? *Curr Gastroenterol Rep* 3:12-18.

(10) Lauer GM, Walker BD. (2001) Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 345:41-52.

(11) Poynard T, Ratziu V, Charlotte F, Goodman Z, McHutchison, Albrecht J. (2001) Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 34:730-739.

(12) Berenguer M, Prieto M, Rayon JM, Mora J, Pastor M, Ortiz V, et al. (2000) Natural history of clinically compensated hepatitis C virus-related graft cirrhosis after liver transplantation. *Hepatology* 32(4 Pt 1):852-858.

(13) Friedman SL. (2000) Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 275:2247-2250.

(14) Bataller R, Schwabe RF, Choi YH, Yang L, Paik YH, Lindquist J, et al. (2003) NADPH oxidase signal transduces angiotensin II in hepatic stellate cells and is critical in hepatic fibrosis. *J Clin Invest* 112:1383-94.

(15) Mallat A, Preaux AM, Blazejewski S, Rosenbaum J, Dhumeaux D, Mavier P. (1995) Interferon alfa and gamma inhibit proliferation and collagen synthesis of human Ito cells in culture. *Hepatology* 21:1003-1010.

(16) Benyon RC, Iredale JP. (2000) Is liver fibrosis reversible? *Gut* 46:443-446.

(17) Arthur MJ. (2000) Fibrogenesis II. Metalloproteinases and their inhibitors in liver fibrosis. *Am J Physiol* 279:G245-249.

(18) Tsukamoto H, Lu SC. (2001) Current concepts in the pathogenesis of alcoholic liver injury. *FASEB J* 15:1335-1349.

(19) Maher JJ, Zia S, Tzagarakis C. (1994) Acetaldehyde-induced stimulation of collagen synthesis and gene expression is dependent on conditions of cell culture: studies with rat lipocytes and fibroblasts. *Alcohol Clin Exp Res* 18:403-409.

(20) Poli G. (2000) Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. *Mol Aspects Med* 21:49-98.

(21) Rockey DC. (2000) Hepatic fibrogenesis and hepatitis C. *Semin Gastrointest Dis* 11:69-83.

(22) Bonis PA, Friedman SL, Kaplan MM. (2001) Is liver fibrosis reversible? *N Engl J Med* 344:452-454.

(23) Suzuki Y, Kumada H, Ikeda K, Chayama K, Arase Y, Saitoh S, et al. (1999) Histological changes in liver biopsies after one year of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B infection. *J Hepatol* 30:743-748.

(24) Parés A, Caballería J, Bruguera M, Torres M, Rodés J. (1986) Histological course of alcoholic hepatitis. Influence of abstinence, sex and extent of hepatic damage. *J Hepatol* 2:33-42.

(25) Hammel P, Couvelard A, O'Toole D, Ratouis A, Sauvanet A, Flejou JF, et al. (2001) Regression of liver fibrosis after biliary drainage in patients with chronic pancreatitis and stenosis of the common bile duct. *N Engl J Med* 344:418-423.

(26) Dufour JF, DeLellis R, Kaplan MM. (1997) Reversibility of hepatic fibrosis in autoimmune hepatitis. *Ann Intern Med* 127:981-985.

(27) Bataller R, Sancho-Bru P, Gines P, Brenner DA. (2005) Liver fibrogenesis: a new role for the renin-angiotensin system. *Antioxid Redox Signal* 7:1346-55.

TRASPLANTE HEPÁTICO Y REGENERACIÓN HEPÁTICA

VALENTÍN CUERVAS-MONS MARTÍNEZ

Catedrático de Universidad y Jefe de Servicio. Unidad de Hepatología y Trasplante Hepático. Hospital Universitario Puerta de Hierro

RESUMEN

El trasplante hepático es el tratamiento de elección de las enfermedades hepáticas graves que no han respondido a otros tratamientos. La supervivencia del paciente al primer año del trasplante es del 80%, y es del 68% al 5º año, del 60% al 10º año y del 57% a los 15 años, respectivamente. A pesar de las elevadas tasas de donación de hígados de cadáver, existe una discrepancia entre el número de candidatos potenciales a trasplante y el número de donaciones efectivas, lo que condiciona un incremento en el número de pacientes y de la mortalidad durante la permanencia en la lista de espera para trasplante.

Para intentar aumentar el número de injertos disponibles para trasplante se han desarrollado técnicas que permiten la partición de un hígado de cadáver en dos y su utilización para dos pacientes y se ha generalizado la realización de trasplante hepático con injertos procedentes de donantes vivos. Estas nuevas estrategias no hubieran tenido aplicación clínica sin la extraordinaria capacidad que tiene el hígado para regenerarse después de haber sufrido una resección. A pesar de la gran dificultad técnica y logística, el trasplante de donante vivo en adulto ha experimentado una rápida expansión, representando en la actualidad el 1,9 % de los trasplantes hepáticos realizados en adultos en Europa, ya que los resultados obtenidos son equiparables, o mejores, que los del trasplante de hígado de cadáver. El freno lo constituye el riesgo a que se enfrenta el donante (mortalidad 0,23 – 0,5% y morbilidad 16%).

Palabras clave: Trasplante hepático; Donantes vivos.

SUMMARY

Liver transplantation is the treatment of election for severe liver diseases that do not respond to other treatments. Patient survival after liver transplan-

tation is 80%, 68%, 60% and 57% at 1st, 5th, 10th and 15th years, respectively. In spite of the high rates of cadaveric liver donation there is a discrepancy between the number of potential candidates to be transplanted and the number of effective donations, which produce an increase in mortality rates in the waiting list. In order to increase the number of available grafts, several techniques has been developed that permit split one liver to be used in two patients and also it has been generalized to utilize living donors for liver transplant. These new strategies have been developed due to the remarkable ability of the liver to regenerate following a surgical resection. In spite of the great surgical and logistic difficulties adult liver transplantation from the living donors represent today the 1.9% of liver transplants in Europe, since the results are even better than those obtained from cadaver donors. However, risk of mortality of donors ranges from 0.23% to 0.5% and morbidity of 16%.

Key words: liver transplantation; living donors

El hígado es el órgano de mayor tamaño de nuestra economía. Su peso oscila entre 1 - 1.5 kilogramos, lo que representa el 1.5% - 2.5% del peso corporal. El hígado desarrolla más de quinientas funciones metabólicas diferentes, incluyendo las de síntesis, excreción, detoxificación y almacenamiento. Muchas de estas funciones son vitales y mantienen la homeostasis y la salud. Estas funciones incluyen la síntesis de la mayoría de las proteínas séricas esenciales (albúmina, proteínas trasportadoras, factores de coagulación, muchas hormonas y factores de crecimiento), la producción de bilis y sus trasportadores (ácidos biliares, colesterol, lecitinas, fosfolípidos), la regulación de nutrientes (glucosa, glucógeno, lípidos, colesterol, aminoácidos), y el metabolismo y conjugación de compuestos lipofílicos (bilirrubina, cationes, drogas) para su excreción por bilis o por orina. Estos procesos vitales dependen de una arquitectura hepática bien organizada, consistente en vasos sanguíneos, vía biliar, tejido hepático de trabajo (parénquima) y tejido de soporte (tejido conjuntivo).

La mayoría de las células del hígado son hepatocitos. Se calcula que en el hígado humano existen doscientos cincuenta mil millones de hepatocitos, que representan el 60% de todas las células y el 80% del volumen hepático. El resto de las células del hígado son células de Kupffer (componentes del sistema reticuloendotelial), células estrelladas

(o de Ito), células endoteliales y vasos sanguíneos, células del dúctulo biliar y estructuras de soporte. El aporte sanguíneo que recibe el hígado es doble; aproximadamente el 20% del flujo sanguíneo hepático es muy rico en oxígeno, y lo recibe a través de la arteria hepática, y el 80% restante es sangre muy rica en nutrientes llevada por la vena porta. El hígado está formado por dos lóbulos (derecho e izquierdo) separados por tabiques de tejido conjuntivo. Cada lóbulo tiene casi 100.000 lobulillos, compuestos de células hepáticas y vasos sanguíneos formando columnas microscópicas de hepatocitos que van desde el área portal hasta la vena centrolobulillar, separados por un espacio en el cual la sangre se dirige desde el espacio portal hasta la vena centrolobulillar dentro de unos canales planos anastomosados denominados sinusoides. La bilis va en sentido contrario, desde la vena centrolobulillar hasta el espacio porta, dentro de este tabique entre hepatocitos.

El fracaso de las funciones del hígado es incompatible con la vida, ya que son funciones demasiado complejas y diversas como para ser suplidas por bombas mecánicas, membranas de diálisis o infusión de hormonas, proteínas y factores de crecimiento. Por ello, el único tratamiento curativo de la insuficiencia hepática grave, aguda o crónica, de cualquier etiología, es el trasplante hepático.

El trasplante hepático consiste en la sustitución del hígado enfermo por otro sano (injerto hepático) colocado en la misma localización anatómica. En la gran mayoría de los casos, el injerto procede de un donante cadáver, en muerte cerebral (Figura 1).

El trasplante hepático es el tratamiento de elección de la enfermedad hepática terminal, cuando otros tratamientos han fracasado, ya que aumenta la supervivencia del paciente y mejora su calidad de vida. En la actualidad el trasplante hepático es una terapéutica rutinaria en casi todos los países desarrollados. Hasta diciembre de 2004 se habían realizado en Europa 63.430 trasplantes hepáticos, 11660 de ellos en España (1,2) (Figura 2 y 3).

Las indicaciones más frecuentes de trasplante hepático son:

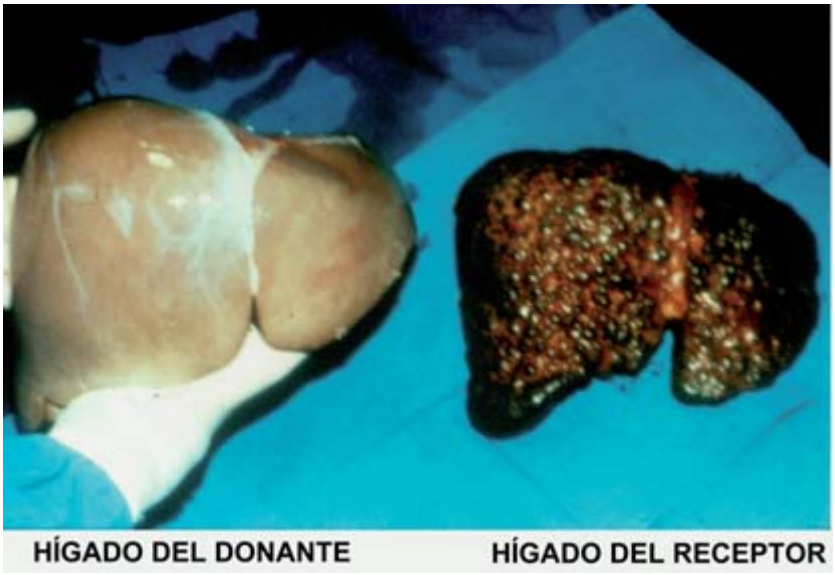


FIGURA 1. *Hígado de donante cadáver para sustituir por trasplante al hígado cirrótico del paciente receptor.*



FIGURA 2. *Registro de trasplante hepático en Europa en 23 países – 129 instituciones activas, 63.430 trasplantes y 56.836 pacientes (05/1968 – 12/2004) (www.eltr.org).*

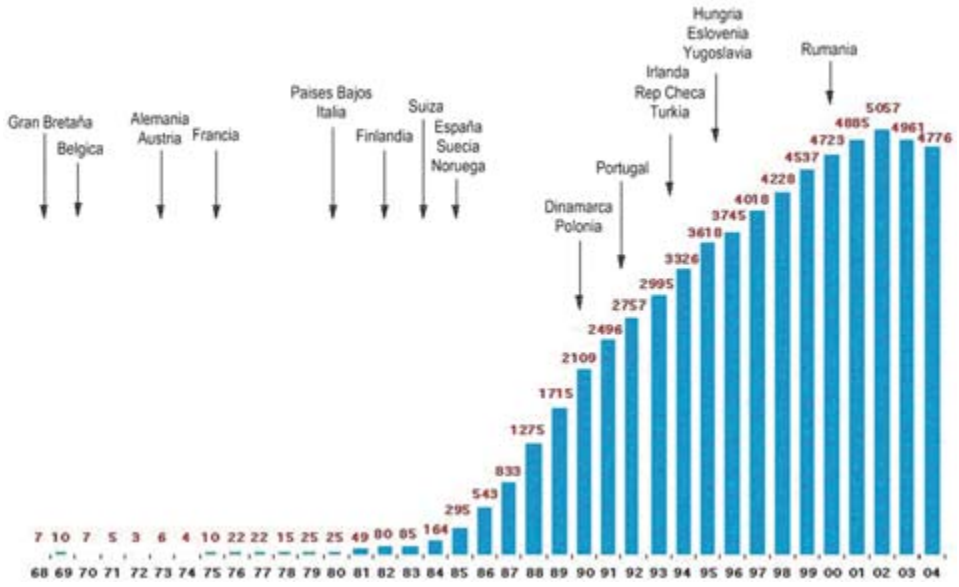


FIGURA 3. *Evolución de los 63.430 trasplantes hepáticos realizados en Europa. Se señala el momento en el que cada país realizó el primer trasplante (www.eltr.org).*

(a) la insuficiencia hepática crónica de cualquier etiología;
(b) la insuficiencia hepática aguda grave de cualquier causa; y
(c) el carcinoma hepatocelular.

Otras indicaciones menos frecuentes son la insuficiencia hepática por oclusión de las venas hepáticas (síndrome de Budd-Chiari y enfermedad venooclusiva), la poliquistosis hepatorenal, la amiloidosis familiar, los síndromes hiperamoniémicos, las enfermedades por depósito de glucógeno, la colestasis intrahepática familiar progresiva, la protoporfiria eritropoyética, la oxalosis hereditaria y el síndrome de Crigler-Najjar (Figura 4).

El tiempo medio de permanencia en lista de espera para trasplante hepático es de tres meses, variando mucho de un centro a otro, y las posibilidades de que un paciente sea trasplantado en España durante el primer año de su inclusión en lista de espera son elevadas, con una media del 55%, y unos valores extremos de 43%-81% (1).

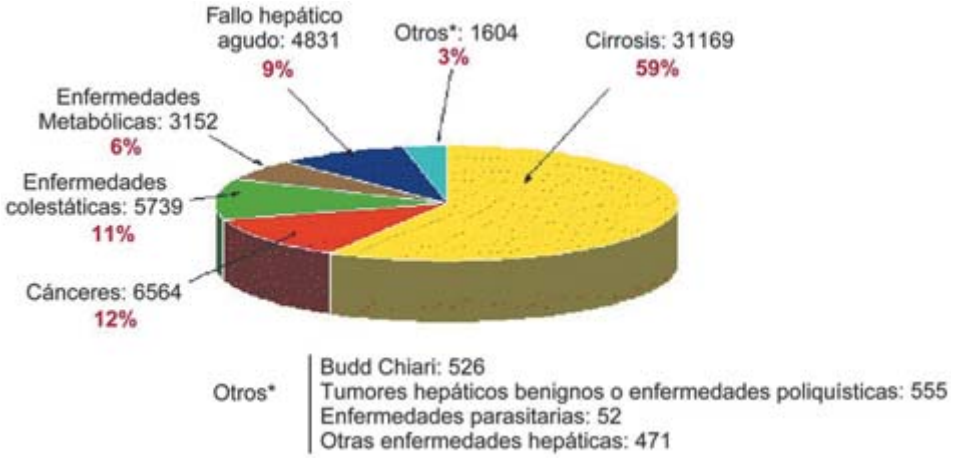


FIGURA 4. *Enfermedad primaria por la que se realiza trasplante hepático en Europa. Se destaca la cirrosis (59%), el cáncer (12%) y las enfermedades colestáticas (11%). (www.eltr.org).*

En España, la supervivencia del paciente al primer año del trasplante es del 80%, y es del 68% al 5º año, del 60% al 10º año y del 57% a los 15 años, respectivamente (1) (Figura 5). Estos resultados han mejorado durante los últimos cinco años, obteniéndose, actualmente, supervivencias del 90% al año de la cirugía. Los resultados del trasplante hepático en España son similares a los otros países europeos (2) y a los obtenidos en los Estados Unidos de Norte América (3).

Debido a los buenos resultados del trasplante hepático, cada año aumenta el número de pacientes que se incluyen en lista de espera. A pesar de las elevadas tasas de donación de hígados de cadáver, existe una discrepancia entre el número de candidatos potenciales a trasplante y el número de donaciones efectivas, lo que condiciona un incremento en el número de pacientes y de la mortalidad durante la permanencia en la lista de espera para trasplante, que en España es de 10 % anual, cifra inferior a la de otros países. Aunque se realizan continuos esfuerzos para ayudar a aumentar la donación de órganos, es muy poco probable que el número de injertos procedentes de donante cadáver sea en

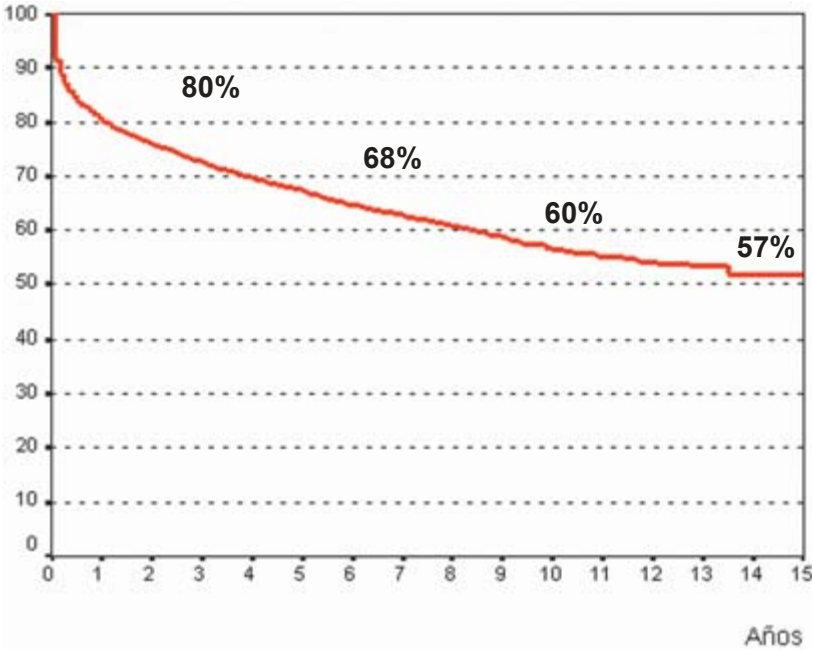


FIGURA 5. *Supervivencia del paciente después del trasplante hepático (1984-2004). Supervivencia media 15 años. Se detecta un 2% mortalidad anual a partir del primer año. (Registro Español de Trasplante Hepático; www.msc.es/ont).*

algún momento suficiente para el número de potenciales receptores de trasplante hepático.

Para intentar aumentar el número de injertos disponibles para trasplante y poder satisfacer, parcialmente, la creciente demanda de trasplante, se han utilizado injertos hepáticos considerados en épocas anteriores como inaceptables, incluyendo entre éstos a los injertos procedentes de donantes de edad avanzada y a los obtenidos de donantes en asistolia. Además, se han desarrollado técnicas quirúrgicas innovadoras que permiten la partición de un hígado de cadáver en dos y su utilización para dos pacientes (un niño y un adulto, o dos adultos). Sin embargo, debido a problemas técnicos y logísticos, la aplicabilidad de esta técnica es limitada. Otra estrategia utilizada para ampliar el número de donantes es la utilización de injertos procedentes de donantes vivos.

Estas nuevas estrategias innovadoras de trasplante hepático (partición de un hígado de cadáver para trasplante en dos pacientes y el trasplante de donante vivo), se han desarrollado gracias a la apreciación de que el hígado está compuesto de ocho segmentos y que cada uno de ellos se puede considerar una discreta unidad anatómica y funcional independiente (Figura 6). De hecho, los segmentos están separados por planos de tejido conjuntivo y cada uno de ellos tiene su pedículo portal propio, que contiene ramas de la vena porta, de la arteria hepática y de la vía biliar, y drena a través de una vena tributaria de las venas hepáticas. Sin embargo, no hubieran tenido aplicación clínica sin la extraordinaria capacidad que tiene el hígado para regenerarse después de haber sido lesionado o sufrido una resección.

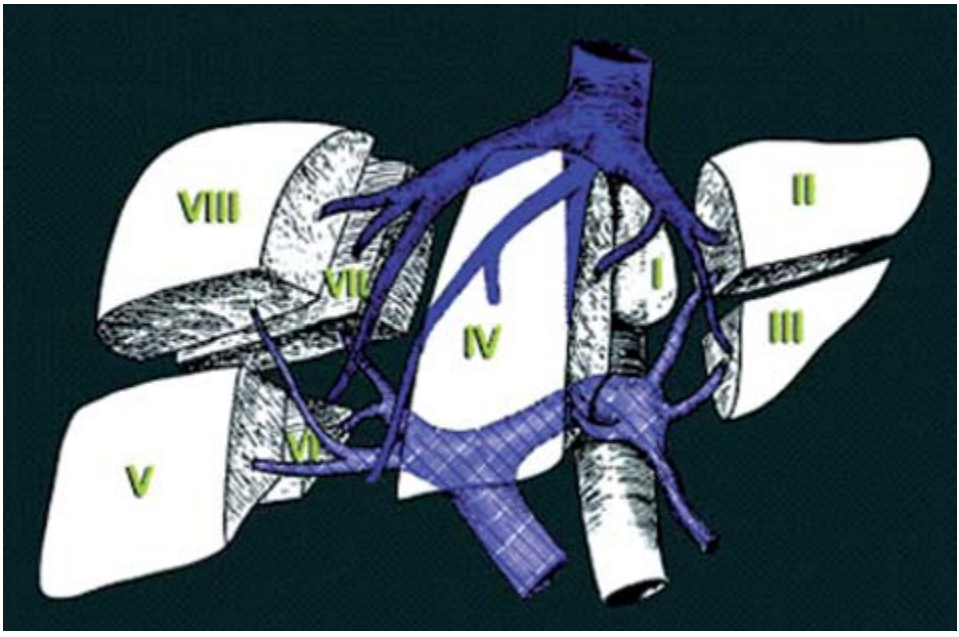


FIGURA 6. *Anatomía en segmentos del hígado. Segmento hepático como unidad anatómica y funcional. Cada segmento hepático (números romanos) tiene su pedículo portal: ramas de la vena porta, ramas de la arteria hepática, ramas de la vía biliar, drena a través de una vena tributaria de las venas hepáticas y planos de tejido conjuntivo definen cada segmento. (Liver Transplantation, 2001, 7, 1077-1080.*

La capacidad de regeneración del hígado se refleja ya en la mitología griega con el mito de Prometeo (Theogonía; Hesiodo, 750-700 años antes de Cristo), aunque la primera documentación científica no fue realizada hasta el año 1890 (4).

El hígado sano es un órgano quiescente en términos de proliferación celular, ya que únicamente el 0,0012% - 0,01% de los hepatocitos están en fase de mitosis en un momento dado (5,6). Por el contrario, cuando el hígado se lesiona (por causas infecciosas, isquémicas, o por inhalación, ingestión, o administración parenteral de productos químicos o farmacológicos), o sufre un proceso de resección quirúrgica, los hepatocitos diferenciados abandonan (por estímulos no bien identificados, que incluyen citocinas y factores de crecimiento) su estado de no división y entran en mitosis, produciéndose una rápida y masiva proliferación de los hepatocitos, proporcional en su intensidad a la intensidad de la lesión o resección, sufriendo una o dos divisiones hasta que se restaura la masa hepática original (7,8). Se estima que el hígado es capaz de recuperar la masa funcional hepática durante las primeras dos semanas de la pérdida de hasta dos tercios de la masa hepática total. Este proceso de regeneración se origina por proliferación de los hepatocitos supervivientes dentro de la arquitectura acinar del hígado remanente (en el caso de lesión hepatocitaria), o por hipertrofia del hígado remanente (en el caso de resección quirúrgica).

A pesar de este alto potencial proliferativo del hepatocito, la capacidad regenerativa del hígado sano es limitada, precisándose un mínimo del 20% - 30% de masa hepática residual para que el hígado sano remanente regenere, proporción que se incrementa si el hígado remanente es patológico. Por ello, un factor importante en el trasplante de injertos hepáticos no completos es saber si el receptor está recibiendo una masa hepática adecuada. Se recomienda que la masa hepática que recibe el receptor sea, como mínimo, el 0,8% de su peso corporal, e idealmente, lo más aproximado al 1%. En el caso del trasplante de donante vivo, el volumen del injerto se determina habitualmente mediante tomografía computarizada o resonancia magnética. Para ello se marca el lóbulo derecho hepático del donante, usando la vena hepática media como

límite externo izquierdo, y mediante un programa informático se calcula el volumen hepático que se va a resecar, e implantar, y el volumen residual que quedará en el donante.

El primer trasplante hepático de donante vivo se realizó en un niño en el año 1989, en Brisbane. El trasplante hepático de donante vivo ha sido un gran avance en el trasplante hepático pediátrico, ya que ha permitido reducir la mortalidad en lista de espera y los resultados obtenidos son comparables a los obtenidos con donante cadáver (9). Su utilización se ha generalizado, siendo en la actualidad un tratamiento establecido, alternativo al trasplante hepático de donante cadáver (9). En el trasplante hepático de donante vivo en población pediátrica se suele utilizar un injerto procedente de un adulto, generalmente uno de sus padres.

El trasplante pediátrico ha estimulado la realización de trasplante de donante vivo en población adulta. El primer trasplante hepático en adulto de donante vivo se realizó en Japón en el año 1994 (10). A diferencia del trasplante de donante vivo en el niño, en donde la mayoría de los programas utilizan el segmento lateral izquierdo del donante para el receptor pediátrico, en el trasplante de donante vivo para un receptor adulto se precisa mayor masa hepatocitaria, que se consigue utilizando como injerto el lóbulo hepático derecho del donante. La hepatectomía del lóbulo derecho implica la exéresis del 60% de la masa hepática del donante, observándose después de la cirugía una rápida regeneración del hígado remanente del donante, y del injerto trasplantado, que incrementa su volumen dentro del receptor.

A pesar de la gran dificultad técnica y logística, el trasplante de donante vivo en adulto ha experimentado una rápida expansión, representando en la actualidad el 1,9 % de los trasplantes hepáticos realizados en adultos en Europa (2), ya que los resultados obtenidos son equiparables o mejores que los del trasplante de hígado de cadáver (2) (Figura 7).

El freno a este tipo de trasplante lo constituye el riesgo al que se somete el donante. En una revisión sistemática de la literatura médica hasta el mes de enero de 2004 sobre la mortalidad y morbilidad del

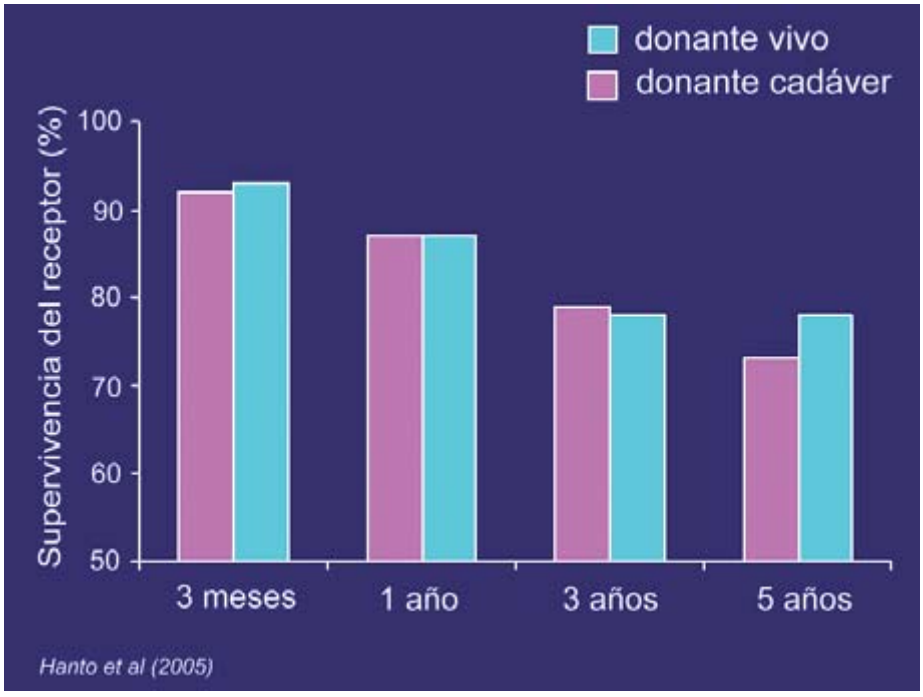


FIGURA 7. *Supervivencia de los pacientes trasplantados con hígado de cadáver versus trasplantados con hígado de donante vivo*

donante vivo para trasplante hepático en adulto, se ha descrito el fallecimiento del 12-13 donantes en alrededor de 6000 trasplantes (0,2%) publicados en 117 estudios (11). La mortalidad de los donantes de lóbulo hepático derecho para su trasplante en adultos en los 131 estudios analizados en esta revisión fue de 0,23 – 0,5% (11). La morbilidad media del donante fue del 16% (10), siendo las complicaciones más frecuentes las complicaciones biliares y las infecciones. Casi todos los donantes regresaron a su actividad normal durante los 3-6 meses después de la cirugía (11). Esta revisión sistemática indica claramente que existe un riesgo pequeño, pero real, para los donantes vivos de trasplante hepático, desconociéndose aún los riesgos a largo plazo, por la corta experiencia que se tiene con trasplante hepático de donante vivo en adulto. Un seguimiento más largo de los donantes y de los receptores determinará los beneficios y riesgos a largo plazo, para el donante y para el receptor, de este tipo de trasplante.

En resumen, la regeneración hepática es una ayuda para intentar paliar la escasez de donantes para trasplante hepático. La regeneración hepática permite aumentar el número de injertos para trasplante, reduciendo la mortalidad en lista de espera, mediante la utilización de un hígado de cadáver para dos pacientes (un adulto y un niño, o dos adultos), o mediante la realización de trasplante hepático en niños y en adultos, en ambos casos con injerto procedente de un donante vivo adulto.

BIBLIOGRAFÍA

(1) Registro Español de Trasplante Hepático. Séptima memoria 1984-2004. Disponible en http://www.ont.msc.es/

(2) European Liver transplanr Registry. Disponible en URL: http://www.eltr.org

(3) UNOS data Registry. Disponible en URL: http://www.unos.org

(4) Ponfick VA. (1890) Ueber Leberresection und Leberreaction. *Verhandl Deutsch Gessellsch Chir* 19;28

(5) Diehl AM; Rai R. (1996) Regulation of liver regeneration by pro-inflammatory cytokines. *J Gastroenterol Hepatol* 11:466-470

(6) Michalopoulos GK; De Frances MC. (1997) Liver regeneration *Science* 276:60-66

(7) Kren BT, Trembley JH, Fan G, Steer CJ. (1997) Molecular regulation of liver regeneration. *Ann N Y Acad Sci.* 831:361-81.

(8) Zimmermann A. (2004) Regulation of liver regeneration. *Nephrol Dial Transplant.* Suppl 4:6-10.

(9) Sugawara Y, Makuuchi M. (2006) Living donor liver transplantation: present status and recent advances. *Br Med Bull*.75-76:15-28

(10) Kawasaki S, Makuuchi M, Matsunami H, Hashikura Y, Ikegami T, Kawarazaki H, Takayama T. (1995) Living related liver transplantation: a wider application *Transplant Proc.* 1:1170-2.

(11) Middleton PF, Duffield M, Lynch SV, Padbury RT, House T, Stanton P, Verran D, Maddern G. (2006) Living donor liver transplantation--adult donor outcomes: a systematic review. *Liver Transpl*.12:24-30

Socios de la Fundación José Casares Gil de Amigos de la Real Academia Nacional de Farmacia a quien expresamos nuestra sincera gratitud por su mecenazgo:

CAJA MADRID

Farmaindustria

Alcaliber, S. A.
Almirall Prodesfarma
Bristol-Myers Squibb, S. L.
Fundación Aventis
Grupo Ferrer Internacional
Laboratorios Esteve
Laboratorios Lilly
Laboratorios Menarini
Laboratorios Rovi
Novartis Farmacéutica
Tedec-Meiji Farma, S. A.

Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos
Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid

Colegios Oficiales de Farmacéuticos de: A Coruña, Alicante, Badajoz, Barcelona, Bizkaia, Burgos, Cáceres, Cádiz, Ciudad Real, Girona, Palencia, Principado de Asturias, Santa Cruz de Tenerife, Tarragona, Toledo y Zaragoza.