

Fibrosis Hepática.

El papel de las metaloproteinasas y de TGF- β

María Daniela Senties-Gómez,^a Francisco Javier Gálvez-Gastélum,^a
Eduardo Meza-García^a Juan Armendáriz-Borunda,^{a,b*}

^aInstituto de Biología Molecular y Terapia Génica, CUCS, Universidad de Guadalajara;

^bHospital Civil de Guadalajara, Guadalajara, Jal. México

Recibido en su versión modificada: 30 de julio de 2004

Aceptado: 9 de agosto de 2004

RESUMEN

La fibrosis hepática involucra múltiples eventos celulares y moleculares que inducen un excesivo depósito de proteínas de matriz extracelular que distorsionan la arquitectura del parénquima hepático, cuya etapa final es conocida como cirrosis. El daño proviene de una variedad de causas como abuso de drogas y enfermedades virales, autoinmunes, metabólicas y colestásicas. La degradación de estas proteínas de matriz ocurre predominantemente como una consecuencia de la acción de metaloproteinasas (MMPs) que degradan sustratos colágenos y no colágenos. La degradación de la matriz en el hígado se lleva a cabo principalmente por la acción de cuatro de estas enzimas: MMP-1, MMP-2, MMP-3 y MMP-9. En el sistema fibrinolítico, las MMPs pueden ser activadas a través de un corte proteolítico por acción del activador de plasminógeno tipo urocinasa y un segundo mecanismo de activación es realizado por las mismas MMPs. La regulación para restringir la actividad puede ser a diferentes niveles; en el sistema fibrinolítico el principal regulador es el PAI-1, molécula que bloquea la conversión de plasminógeno a plasmina y la MMP no puede ser activada. Un segundo nivel de inhibición es posible a través del TIMP, que inhibe la actividad proteolítica aun cuando las MMPs hayan sido activadas vía plasmina. Durante condiciones patológicas la sobreexpresión de estos inhibidores es dirigida por el factor de crecimiento transformante- β , el cual en un padecimiento fibrótico actúa como el más importante factor adverso.

Palabras clave:

Fibrosis hepática, metaloproteinasas y factor de crecimiento transformante β

SUMMARY

Liver fibrosis and cirrhosis involve multiple cellular and molecular events that lead to deposition of an excess of extracellular matrix proteins and increase the distortion of normal liver architecture. Etiologies include chronic viral hepatitis, alcohol abuse and drug toxicity. Degradation of these matrix proteins occurs predominantly as a result of a family of enzymes called metalloproteinases (MMPs) that specifically degrade collagenous and non-collagenous substrates. Matrix degradation in the liver is due to the action of at least four of these enzymes: MMP-1, MMP-2, MMP-3 and MMP-9. In the fibrinolytic system, MMPs can be activated through proteolytic cleavage by the action of urokinase plasminogen activator; a second mechanism includes the same metalloproteinases. This activity is regulated at many levels in the fibrinolytic system. The main regulator is the PAI-1. This molecule blocks the conversion of plasminogen into plasmin, and the MMP cannot be activated. At a second level, the inhibition is possible by binding to inhibitors called TIMP that can inhibit the proteolytic activity even when the MMPs had been previously activated by plasmin. During abnormal conditions, overexpression of these inhibitors is directed by the transforming growth factor- β that in a fibrotic disease acts as an extremely important adverse factor.

Key words:

Hepatic fibrosis, metalloproteinases, transforming growth factor- β

El hígado es el órgano responsable del mantenimiento de la homeostasis metabólica, que supone el procesamiento de los aminoácidos, carbohidratos, lípidos, vitaminas, síntesis de proteínas y la detoxificación de los productos de desecho. En el adulto pesa entre 1.5 kg y recibe 25% del gasto cardíaco total a través del flujo arterial hepático y el flujo venoso

esplácnico a través de la vena porta que penetran, ambas, por el hilio hepático o porta hepatis. El extenso parénquima hepático está vascularizado por pequeñas ramificaciones terminales y fenestradas de los sistemas porta y de la arteria hepática que luego desembocan en la vena cava inferior.¹

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Dr. Juan Armendáriz Borunda, Apdo. Postal 2-123, Guadalajara, Jal. 44281, Teléfono y Fax: 33-3617-4159. Correo electrónico: armendbo@cucs.udg.mx

Morfología hepática y matriz extracelular

Las células parenquimatosas hepáticas constituyen de 70 a 80% y el 20 a 30% restante son células no parenquimatosas distribuidas como se observa en el cuadro I.² Los hepatocitos representan la mayor parte de la masa hepática, y están dispuestos en forma radial alrededor de las venas centrales. Éstos están delimitados por células endoteliales que conforman los sinusoides que difieren de un capilar normal por presentar fenestraciones como característica indispensable para mantener el hígado en óptimo estado.² Entre los cordones de hepatocitos y las células sinusoidales se localiza el espacio de Disse (Figura 1).³

En el espacio de Disse, se puede observar una mezcla organizada de proteínas denominada matriz extracelular (MEC) que tiene contacto directo con la lámina basal, como se indica en la figura 1. Éste constituye alrededor de 0.5 % del peso total del hígado, es el sostén para las células parenquimatosas y, a su vez, refuerza la arquitectura del órgano.³ Gracias a su disposición no fibrilar hace posible el intercambio de moléculas, entre los hepatocitos en un flujo semicontinuo que resulta fundamental para el mantenimiento de las funciones hepáticas.⁴ Dentro del espacio de Disse, e incluidas en la MEC, se

encuentran las células estelares hepáticas (HSC, por sus siglas en inglés), también conocidas como células de Ito*, que representan 15% de la población celular total.⁵ En estado normal funcionan como almacén de ésteres de retinol (vitamina A).⁶

Metaloproteinasas

Como ya se mencionó, la MEC es el principal sostén de la celularidad hepática y permite diversas funciones. Para que esto se lleve a cabo de manera satisfactoria, es indispensable un equilibrio constante entre la síntesis y degradación de dichas proteínas.⁴ Esta actividad es realizada por unas enzimas llamadas metaloproteinasas (MMPs), que tienen la capacidad de degradar cada uno de los componentes de la MEC. Entre las MMPs más importantes están la metaloproteinasa-1 (MMP-1), que es expresada en bajas cantidades por una gran variedad de células como endoteliales, epiteliales y macrófagos. Realiza la

*Ito: Descubridor de las células estelares hepáticas. Acta Ant. Jpn 1951;(26):42

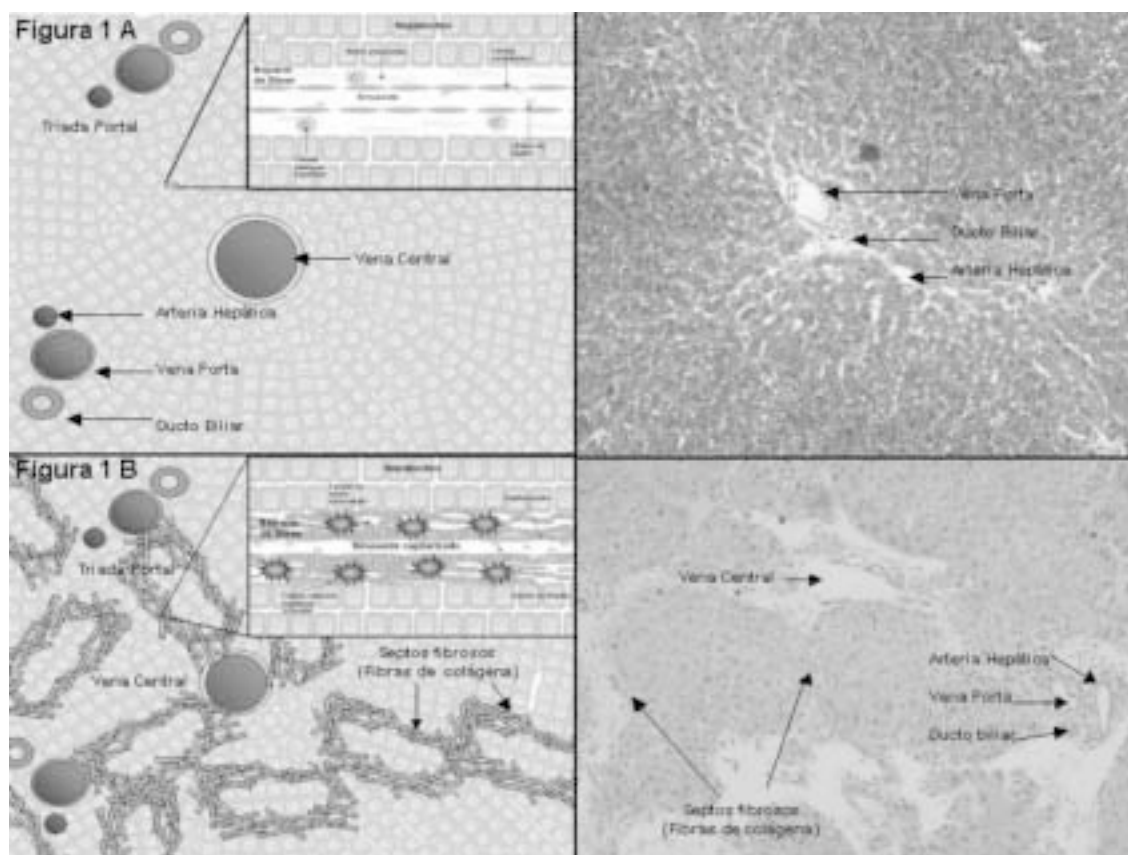


Figura 1. Histología hepática. (A) Arquitectura normal del hígado en donde se aprecia la triada portal y la vena central. Se observa la disposición radial de los hepatocitos en forma de cordones y el espacio de Disse entre los mismos. (B) Estructura del hígado fibrótico con presencia de acúmulos de proteínas de MEC (con predominancia de fibras de colágeno) depositadas en el espacio de Disse que distorsiona la conformación del órgano.

Cuadro I. Organización de las distintas poblaciones celulares no parenquimatosas existentes en el hígado

Células no parenquimatosas	Tipo celular	Importancia
40%	Células estelares hepáticas	Profibrogénicas
20%	Endoteliales (sinusoidales)	Intercomunicación celular
20%	Células de Kupffer	Respuesta inflamatoria ante un estímulo
20%	Linfocitos intrahepáticos	Respuesta inmune y/o tolerancia

proteólisis de colágena intersticial directamente sobre la triple hélice de la colágena, aproximadamente en el tercer cuarto de la molécula.⁷ Su activación depende de la metaloproteinasa-3 (MMP-3);⁸ tiene un peso molecular de 55 kDa como zimógeno y 45 kDa como una forma activa y su gen se encuentra localizado en el locus 11q22.2.⁷ Su estructura se encuentra agrupada en el dominio simple de hemopexina.⁹ La metaloproteinasa-9 (MMP-9), es un ávido proteolítico de las gelatinas y por su estructura, se clasifica dentro del grupo de región de unión a gelatinas.^{8,10} Sus principales productoras son las células de Kupffer.⁸ Es considerada como una de las enzimas más activas durante el curso de la enfermedad. También se conoce como gelatinasa B y su locus está en el gen 20q13.12.¹⁰ Su tamaño es de 92 kDa/86 kDa y es activada por la MMP-3.⁸ La metaloproteinasa-3 (MMP-3), es una de las pocas MMPs que no tiene especificidad hacia un solo sustrato, cuenta con un amplio margen de degradación como laminina, fibronectina, proteoglicanos y en menor grado algunos tipos de colágena y gelatina. La principal fuente celular de esta enzima son las HSC.⁸ Tiene la capacidad de activar a la MMP-1 y MMP-9, las cuales son muy importantes para la degradación de proteínas de MEC durante la fibrosis.¹¹ Se sintetiza como una proenzima latente con un peso molecular de 57 kDa y de 45 kDa activa.¹² El locus se encuentra en el gen 11q22.2.¹⁰ Pertenece a la familia de las estromelisin y estructuralmente al grupo de dominio simple de hemopexina.⁹

Las MMPs se pueden clasificar según su afinidad por un sustrato o por su estructura. En el primer caso, las MMPs están divididas en cinco familias, como se muestra en el cuadro II. A pesar de su alta especificidad, comparten varias características

estructurales entre sí, como el de secretarse en forma latente y depender de un átomo de zinc para su actividad.^{9,13}

Estructura

Aunque presentan algunas diferencias, las MMPs tienen regiones y secuencias conservadas. Tales regiones estructurales incluyen a la región pro-péptido, que dirige la proteína hacia retículo endoplásmico. También se encuentra el sitio catalítico (específico para su actividad), cuya característica es un átomo de zinc en complejo con residuos de cisteína, y a un grupo tiol (SH) responsable del estado de latencia. La región tipo hemopexina es la encargada de regular la unión a su sustrato y también a TIMPs. Los extremos amino y carboxiterminales también interaccionan con la unión a TIMPs.¹⁴ La actividad de las MMPs puede ser iniciada por diversas proteasas de serina y, como ya fue descrito, por enzimas de su propia familia.^{9,13} Uno de los principales activadores de las MMPs es el activador de plasminógeno tipo urocinasa (uPA, por sus siglas en inglés) que es una enzima que convierte el plasminógeno en plasmina y así activar a las MMPs al remover la cisteína del pro-péptido y dejar expuesto al átomo de zinc (Figura 2).^{13,15}

A su vez, la actividad de ciertas MMPs también es regulada por otras MMPs, tal es el caso de la MMP-3 sobre la MMP-1 y la MMP-9.¹⁶ Además favorece la cascada proteolítica al inhibir al PAI-1, permitiendo que el uPA realice sus funciones y así dar paso a la degradación de MEC.^{8,17}

Sistema fibrinolítico

En el sistema fibrinolítico, los principales activadores son el uPA y el activador de plasmina de tipo tisular (tPA).¹³ Ambos realizan la conversión de plasminógeno a plasmina. Este sistema es controlado por el inhibidor 1 del activador de plasminógeno (PAI-1), que es una proteína del tipo de las serpinas con un peso de 45 kDa, presente en bajas concentraciones en estado normal y que es producido por células endoteliales y plaquetas.¹⁰ Durante la fibrosis hepática PAI-1 se sobreexpresa gracias a citocinas proinflamatorias y TGF- β .^{13,18}

Además del PAI-1, existe una segunda vía de inhibición controlada por los TIMPs que son reguladores específicos de la actividad de MMPs al formar un complejo estequiométrico 1:1 en el dominio catalítico de las MMPs y de este modo bloquean a la MMP, aunque ésta haya sido activada previamente vía plasmina (Figura 2).⁹ Otros inhibidores de las MMPs son la α -2 macroglobulina y la Trombospondina-1 (TP-1).⁹

Cuadro II. Agrupamiento de las familias de MMPs en base a su afinidad por su sustrato específico. Los tres primeros grupos son de especial importancia durante la enfermedad

Familia	Nombre	Sustrato
Colagenasas	MMP 1/8/13	Colágenas fibrilares tipo I y III
Glatinasas	MMP 2/9	Gelatinas (colágenas fibrilares desnaturalizadas)
Estromelisin	MMP 3/7/10/11	Proteoglicanos y glicoproteínas activas colagenasas latentes
Metaloproteasas de membranas	MT-MMP 14/15/16/17/24/25	Degradan colágenas fibrilares. Activa MMP2
Metaloelastasas	MMP12	Elastina, proteoglicanos, glicoproteínas

Fibrosis hepática

La fibrosis es el evento que antecede a la cirrosis hepática. Los detonantes más frecuentes de este padecimiento son los virus de la hepatitis tipo B y C, abuso de alcohol, fármacos, ciertas drogas y la enfermedad biliar crónica, entre otros.¹⁹⁻²³

Se considera un estado dinámico, bidireccional y en ciertos casos reversible con fases de inicio, progresión y regresión.^{4,8,22} Se puede definir como una patología cuya principal característica es la acumulación desordenada de proteínas de MEC de tipo fibrilar (principalmente colágenas) que reduce las fenestraciones entre las células sinusoidales hasta eliminarlas por completo (capilarización del sinusoides), declinando así las funciones del hígado, con una pérdida de la arquitectura normal y formación de nódulos de regeneración, (Figura 1).²³ Cabe señalar que el acúmulo de proteínas fibrilares es el resultado de un desequilibrio entre síntesis y degradación de MEC a causa de una baja producción de MMPs, sobreproducción de sus inhibidores o de citocinas pro-fibrogénicas como TGF- β .^{22,23}

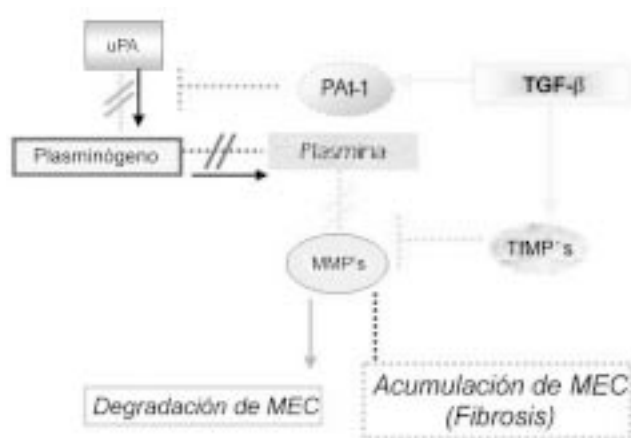


Figura 2. Representación esquemática del sistema fibrinolítico. La proenzima plasminógeno es convertida a plasmina por medio del uPA. La plasmina se ancla a las MMPs y las activa. Esta cascada tiene un inhibidor llamado PAI-1, capaz de impedir la activación de cualquier MMP.

En la cirrosis hepática, las colágenas tipo I y III se depositan en los lobulillos hepáticos creando septos irregulares que pueden llegar a ser muy gruesos y que seccionan y circundan porciones del lobulillo hepático (nódulos de regeneración). Este depósito proteico también provoca el reclutamiento de células inflamatorias. La mayor parte de la colágena depositada durante la fibrosis hepática es producto de las HSC.^{4,22} Esta población celular sufre un cambio radical llamado activación que consta de varias fases y características, entre otras cosas adquieren fenotipo miofibroblástico, proliferan y se convierten en fuertes productoras de colágena, TIMP-1, TIMP-2 y TGF- β .⁴ Durante la etapa temprana de activación de la HSC, conocida como de iniciación se produce una respuesta programada y compleja, en donde la célula se encuentra en un estado pre-inflamatorio, aquí son predominantes los cambios en la expresión génica y

la célula se vuelve altamente sensible a citocinas.⁴ En esta etapa resalta la producción de fibronectina vía TGF- β , infiltración de macrófagos (células de Kupffer) que estimulan la síntesis de MEC y la liberación de los retinoides por parte de las HSC.⁵ En la fase de perpetuación se amplifica el fenotipo activado, así como la expresión de citocinas y su capacidad de respuesta a las mismas de manera autocrina y paracrina; también se acelera la producción de MEC que durante la etapa de proliferación, las células aumentan en número. Este estímulo es dirigido por una citocina mitogénica conocida como factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). En la fibrogénesis se sobreexpresan proteínas de MEC a cargo de TGF- β ; también se secretan diferentes tipos de MMPs, TIMP-1 y TIMP2, lo que conduce a recambio de tipos moleculares de colágena. Durante la contractilidad las HCS se tornan contráctiles con el fin de aumentar la resistencia portal, así se impidiendo el flujo sanguíneo portal y el hígado en general se contrae, además de que se liberan otras sustancias que contribuyen a este fenómeno como la endotelina-1 (ET-1). Otros fenómenos observados son la liberación del factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), quimiotaxis y apoptosis, fenómenos que se atribuyen principalmente al procesos de regeneración hepática y mecanismos de remoción de HSC activadas, respectivamente.^{4,19,22}

Factor de crecimiento transformante β

El factor de crecimiento transformante β (TGF- β , por sus siglas en inglés), es el miembro mejor estudiado de una familia de factores de crecimiento celular, ubicuos, multifuncionales y esenciales para la supervivencia, que tienen un papel importante para el desarrollo embrionario, proliferación celular, inflamación, reparación de tejidos y la respuesta inmune.^{24,25} Durante los años ochenta, fue descubierto por Anita Roberts y Michael Sporn como un factor que hacía crecer células normales en cultivo.^{24,26,27}

Existen 5 isoformas de TGF- β en diferentes organismos. En los mamíferos se han descrito 3 formas de TGF- β (β 1, β 2 y β 3), las cuales residen en diferentes cromosomas (19q13, 1q41 y 14q24 en humanos, respectivamente), pero poseen 80% de homología en secuencia de aminoácidos, mientras que las isoformas 4 y 5 se han identificado en aves y anfibios, respectivamente.²⁷⁻³⁰ Es sintetizado como una proteína de 390 aminoácidos y son los 112 residuos localizados en el extremo C-terminal los que constituyen la forma madura. En estado inactivo (TGF- β latente) se encuentra unido al péptido asociado a la latencia (LAP). Después de secretarse, TGF- β se activa por medio de proteólisis de una proteína asociada a TGF- β latente (LTBP, por sus siglas en inglés) y en este momento está listo para unirse a sus receptores y dar paso a la señalización correspondiente.^{25,31} La activación de TGF- β es dada por varios factores, incluyendo un pH extremo, altas temperaturas, proteólisis limitada o desglucosilación de LAP. También existe un mecanismo particular de activación, iniciado por la unión del complejo latente de TGF- β 1 a la trombospodina 1 (TSP-1).^{25,27,32,33} Se ha sugerido que la TSP-1 se une al complejo LAP-TGF- β cambiándole su conformación y permitiendo que el TGF- β se una con su receptor. Para que esto ocurra es indispensable la unión específica entre TSP-1 y LAP, la cual es mediada por dos péptidos cortos localizados en cada una de estas proteínas,

las secuencias KRFK415 en la TSP-1 y LSKL57 en el LAP. La integrina $\beta v\beta 6$ es otra proteína capaz de activar al TGF- $\beta 1$ gracias a su unión con el LAP.²⁵

En el sistema inmune TGF- β induce quimiotaxis de monocitos, fibroblastos, leucocitos y eosinófilos, modula la adhesión celular, provee el entorno propicio para la proliferación y diferenciación de células B y T *in vitro*, antagonizando los efectos de IL-1 β , TNF- α e IFN- γ , suprime la expresión de receptores para IL-1 β e IL-2, bloquea la producción de óxido nítrico y radicales superóxido en macrófagos e inhibe la adhesión de neutrófilos a células endoteliales.³⁴

El TGF- β es de conformación polimérica para el que existen formalmente tres receptores, dos de los cuales forman un homodímero y un tercero está anclado a membrana celular y es conocido como receptor tipo β -glicano. Estos receptores, son cinasas de residuos serina-treonina e inician la transducción de señales vía smads, cuyo fin es la translocación al núcleo para la transcripción de genes blanco.^{18,35,36}

En el caso de la fibrosis hepática, el TGF- β está directamente implicado en la sobre-expresión de colágena, TIMPs y PAI-1, contribuyendo de esta manera al establecimiento y avance de la enfermedad.³⁵⁻³⁸ La producción de TGF- β tiene un lugar clave en el establecimiento de la respuesta fibrótica.^{25,38-40} Los receptores

están en la superficie celular y se distinguen por su alta especificidad para fosforilar residuos de serina y treonina.^{24,30}

Para el inicio de la señalización intracelular, es necesaria la presencia de un complejo tetramérico que consiste en dos receptores tipo I que van de 75 a 85 kDa (T β RI) y dos receptores tipo II de 50 a 60 kDa (T β RII).²⁶ Estos receptores son cinasas de serina-treonina y su función principal es la transducción de señales al interior de la célula (Figura 3). La principal función del receptor tipo III (T β RIII), o β -glicano, es la estabilización del heterotetrámero de receptores I y II.^{28,30,31}

Señalización intracelular

El envío de señales de TGF- β hacia el interior del núcleo es mediada por moléculas denominadas Smads, cuyo nombre proviene de la conjunción del gen Sma en *Drosophila melanogaster* y genes Mad en *Caenorabditis elegans*.^{25,41} En el humano se codifican 8 Smads, son expresados en todos los tejidos adultos y tienen la capacidad de unirse al ADN directamente o por medio de cofactores.³⁶ El tipo de Smad al que se une el receptor determina la unión directa al ADN, los cofactores que participarán y por tanto los genes que van a expresarse.²⁴⁻²⁶

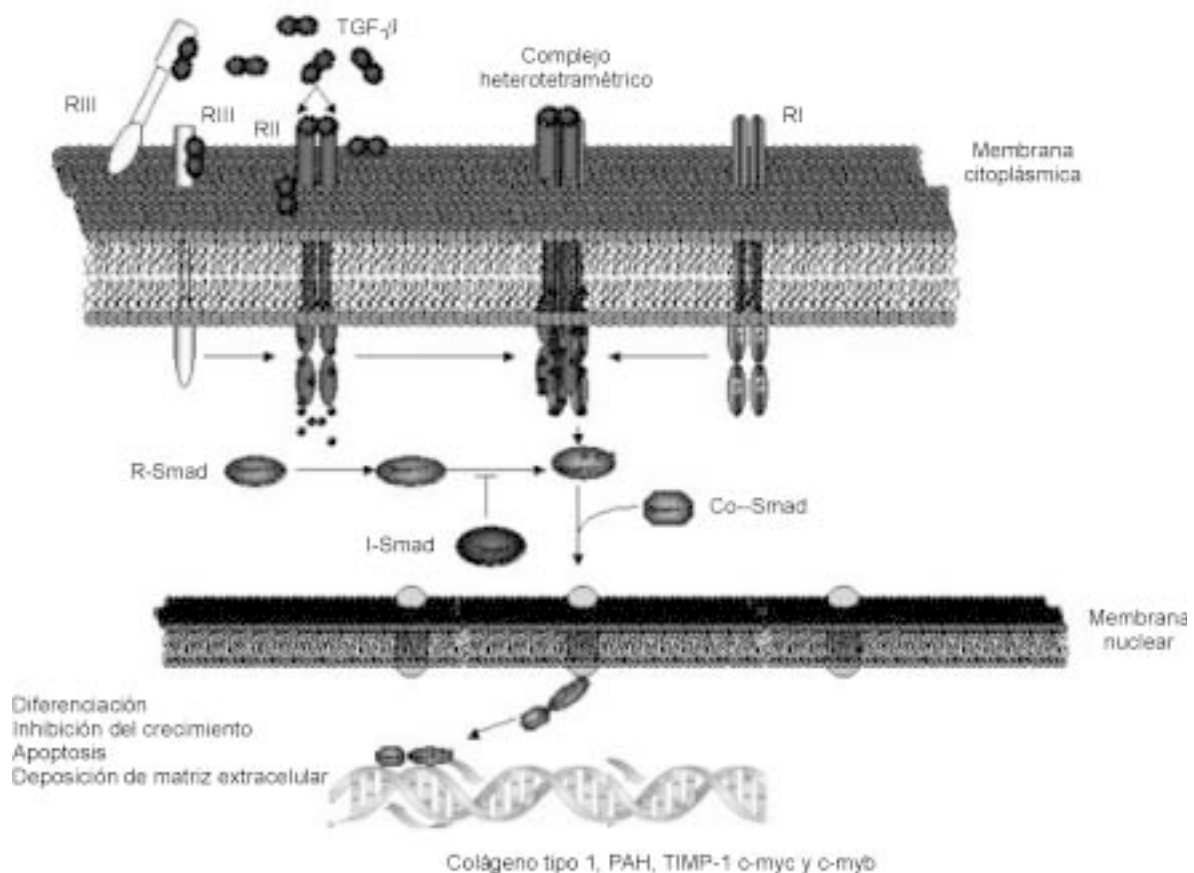


Figura 3. Señalización de TGF- β . Se representa la vía de unión a receptores hasta la translocación al núcleo con las correspondientes moléculas mensajeras (Smads). Después de la unión a receptores se inicia la señalización por las Smads que se encargan de transcribir genes blanco para la respuesta requerida en ese momento. La línea punteada representa bloqueo y la línea continua, representa activación.

Los Smads se clasifican en 3 grupos porque al momento del contacto ligando-receptor se desencadenan una serie de reacciones en las que son los principales efectores. Para cada etapa de esta cascada existen smads específicos, donde los R-Smads (Smads activados por receptor) son los primeros en tener contacto con el complejo ligando-receptor, fosforilándose inmediatamente en el extremo C-terminal y dando paso al inicio de la cadena de señales. Para el caso del TGF- β 1, los R-Smads son el 2 y 3. Una vez que los R-Smads se fosforilan se asocian inmediatamente a un C-Smad (Smad común) o Smad 4 que se activa por fosforilación y sufre un cambio conformacional que permite interactuar con R-Smad. Entre algunas de sus peculiaridades, los C-Smad cuentan con un sitio específico que previene su autoheterodimerización cuando su actividad no es requerida. Tiene la capacidad de interaccionar con los diferentes R-Smads (1, 2, 3, 5, y 8) para dirigirlos y translocarlos al núcleo. Finalmente, los I-Smad (Smads inhibitorios) participan cuando

es necesario terminar con la respuesta celular. En este grupo están las Smads 6 y 7, (Figura 3).^{24,42,43}

La señalización inicia con la unión de TGF- β al receptor tipo II (TbRII), se autofosforila y recluta al receptor tipo I (TbRI) que es el principal responsable de la propagación de la señal intracelular (Figura 3). La especificidad del TbRI está dada por una región llamada asa.^{45,18} Es una región rica en residuos de serina y treonina (dominio GS) insertada en el dominio con actividad de cinasa que mantiene al sitio de unión dislocado del centro catalítico, en donde TbRII fosforila y provoca un rearrreglo conformacional que finalmente lo activa. Posteriormente ocurre una interacción con R-Smads específicos para el inicio de la señal de transducción, unión de R-Smad con C-Smad (el principal transportador de estas moléculas hacia el núcleo celular) y una vez ahí, activan la transcripción de genes blanco. Una vista más detallada de la cascada de señalización se muestra en la figura 3.^{18,24-26,40,42}

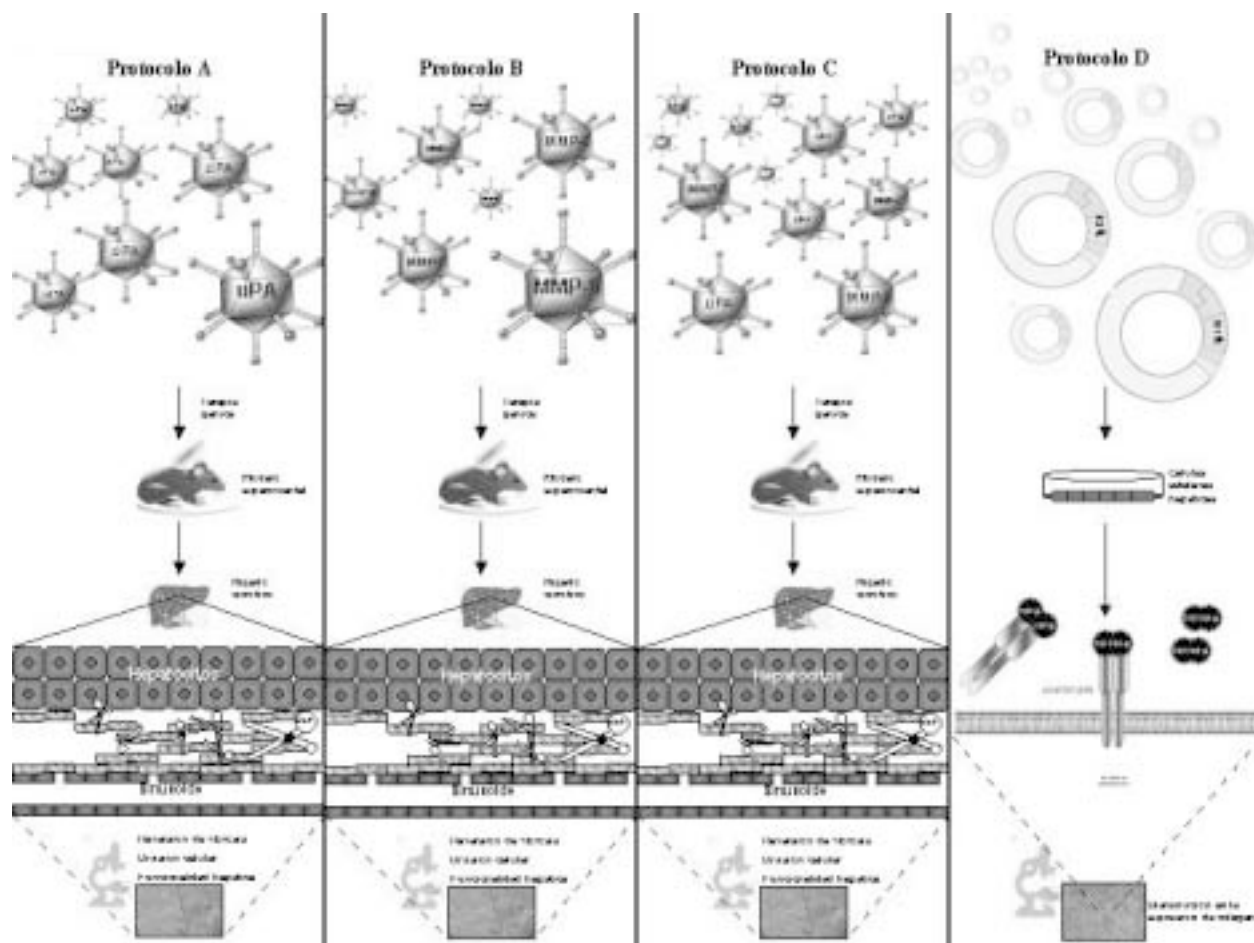


Figura 4. Diseños experimentales de terapia génica. Se representan las estrategias terapéuticas desarrolladas para inducir una reversión de la fibrosis hepática experimental utilizando herramientas de terapia génica con vectores adenovirales que portan los cDNAs de uPA y MMP-8, así como el envío del plásmido con el receptor truncado de TGF- β (DCyTbRII) a HSC cultivadas.

Perspectivas terapéuticas

Los conocimientos biomoleculares han permitido idear numerosas estrategias terapéuticas, unas son preventivas y están orientadas a inhibir la función fibrogénica de las HSC para evitar la fibrosis consecutiva a la lesión hepática, en tanto que otras están encaminadas a promover la reabsorción de la colágena ya depositada en hígados fibróticos y/o cirróticos. Dentro de las primeras se encuentran un número importante de agentes antiinflamatorios que eliminan los estímulos que activan a las HSC como los esteroides. Por otra parte el tranilast y el captopril han mostrado una actividad antifibrótica indirecta, porque reducen la acumulación de células que favorecen la fibrogénesis. Para inhibir la transformación fenotípica de las HSC en miofibroblastos se han utilizado diferentes estrategias antioxidantes (como el tocoferol o vitamina E), IFN- γ y HGF.²²

Existen muchas estrategias para inducir la reabsorción de MEC. Una de ellas es el antimetabolito micótico conocido como gliotoxina que induce apoptosis selectiva en las HSC y reduce la fibrosis hepática experimental.²²

La vía más prometedora, pero más difícil de lograr es la de inducir la degradación de MEC mediante la estimulación de MMPs. Ya existen algunos modelos experimentales que demuestran que la hiperproducción de MMPs es capaz de degradar la colágena depositada en el hígado y que la involución del estado fibrótico/cirrótico es posible.²² Tal es el caso del envío adenoviral de la MMP-1 que atenúa la fibrosis hepática en ratas.⁴⁴ Además los trabajos de investigación del doctor Armendáriz-Borunda y su grupo han dado resultados prometedores para revertir la fibrosis hepática utilizando diversas metodologías terapéuticas, como el uso de pirfenidone⁴⁵ y los protocolos de terapia génica mediante vectores adenoviral que contienen los cDNAs de la MMP-8, una potente collagenasa neutrofílica que degrada la colágena tipo I con mayor eficiencia,⁴⁶⁻⁴⁸ y de uPA truncado,^{49,50} Estas estrategias han culminado con una exitosa degradación de proteínas colagénicas, disminución en la expresión de TGF- β , activación de MMPs y del estado regenerativo de hepatocitos en modelos experimentales de fibrosis hepática e *in vitro* (Figura 4). También se han dirigido trabajos en un esfuerzo por bloquear la actividad de TGF- β a través del envío *in vitro*, mediante un plásmido que lleva inserto el cDNA del receptor truncado tipo II (Δ CyT β RII) de TGF- β ,³¹ la expresión adenoviral de un mRNA antisentido de TGF- β 1 en un modelo de fibrosis hepática, el envío de adenovirus con el Smad-7 tanto en HSC como en fibrosis hepática en ratas, además del desarrollo de antagonistas (como HGF) y el bloqueo de su activación vía receptores.^{19,51,52} Recientemente se está utilizando de manera conjunta el envío de adenovirus con los genes de uPA y MMP-8 a hígados fibróticos para determinar si la terapia génica combinada es más eficiente en los modelos experimentales antes mencionados; dicha estrategia al parecer tiene efecto favorable.⁵³

Conclusión

Las MMPs son enzimas claves en la degradación de los componentes de la cicatriz característica del proceso fibrótico. A su vez, el TGF- β juega un papel importante como profibrogénico que interviene disminuyendo y/o bloqueando la

activación de MMPs por diversas vías. Es notorio que la degradación de la cicatriz fibrosa implica una estrecha interrelación entre MMPs y citocinas, razón por la cual los estudios enfocados al entendimiento de estos mecanismos representan un arma poderosa en la planeación y desarrollo de terapias eficaces y de menor riesgo para el tratamiento de la fibrosis hepática. Gracias a este gran esfuerzo, las terapias antifibróticas tienen un futuro prometedor cada vez más cercano. El conocimiento de éste y muchos otros padecimientos relacionados con MMPs y TGF- β ha sido importante y representativo de los grandes esfuerzos realizados en busca de una solución y/o métodos de prevención efectivos que en un futuro cercano minimicen las consecuencias sociales y económicas de esta enfermedad.

Referencias

1. Zakim D. In: Fisiopatología: principios biológicos de la enfermedad (eds. Smith LH & Thier) 1138-1177 (Médica Panamericana, México, 1999).
2. Crispe NI. Hepatic cells and liver tolerance. *Nature Rev Immunol* 2003;3:51-62.
3. Geerts A. History heterogeneity developmental biology and functions of quiescent hepatic stellate cells. *Semin Liv Dis* 2001;21:311-335.
4. Friedman S. Liver fibrosis-from bench to bedside. *J of Hepatol* 2003;38:s38-s53.
5. Friedman S, Michael A. Reversing hepatic fibrosis. *Science & Medicine* 2002;8:194-205.
6. Harrison EH. Symposium: Mechanistic aspects of vitamin and coenzyme utilization and function: A symposium in recognition of distinguished career of Donald B. McCormik. *Journal of Nutrition* 2000;130:340S-344S.
7. Brinckerhoff C. Interstitial collagenases as a markers of tumor progression. *Clin Cancer Res* 2000;6:4823-4830.
8. Arthur MJ. Fibrogenesis II. Metalloproteases and their Inhibitors in liver fibrosis. *Am J Physiol, Gastrointest Liver Physiol* 2000;279:G245-G249.
9. Egeblad M, Zena W. New functions of the matrix metalloproteases in cancer progression. *Nat Rev Cancer* 2002;2:161-174.
10. www.rzpd.de/cards/index/html.
11. Murphy G, Stanton H, Cowell S, Butler G, Knäuper V, Atkinson S, et al. Mechanism for pro-matrix metalloprotease activation. *APMIS* 1999;107:38-44.
12. Westermarck J, Kähäri VM. Regulation of matrix metalloproteases expression tumor invasion. *FASEB J* 1999;13:781-792.
13. Lijnen HR. Matrix metalloprotease and the cellular fibrinolytic activity. *Biochemistry (Moscow)* 2002;67:107-115.
14. Wallon M & Christopher MO. The hemopexin like domain (C domain) of human gelatinase A (matrix metalloprotease -2) requires Ca²⁺ for fibronectin and heparin binding. *JBC* 1997;272:7473-7481.
15. Harold E, Van W, Henning BH. The cysteine switch. A principle of regulation of metalloproteases activity with potential applicability to the entire matrix metalloprotease gen Family. *PNAS* 1990;87:5578-5582.
16. Ramos De Simone N, Hahn-Dantona E, Hideaki Nagase JS, French DL, Quigley J. Activation of matrix metalloprotease -9 (MMP-9) a converging plasmin/stromelysin-1 cascade enhances tumor cell invasion. *JBC* 1999;274:13066-13076.
17. Lijnen HR, Begona A, Berthe VH, Desiré C & Paul GD. Inactivation of Plasminogen Activator Inhibitor-1 by specific proteolysis with stromelysin-1 (MMP-3). *JBC* 2000;275:37645-37650.
18. Massagué J. Integration of Smad and MAPK pathways: a link and a linker revised. *Genes Dev* 2003;17:2993-2997.
19. Iredale J. Cirrhosis: new research provides a basis for rational and targeted treatments. *British Medical Journal* 2003;327:143-147.
20. Fujimoto J. Gene therapy for liver cirrhosis. *J of Gastroenterol and Hepatol* 2000;15:D33-D36.
21. <http://www.SSA.gob.mx>.
22. Bribiesca LB. La cirrosis hepática. ¿puede ser reversible? *Acta Médica Grupo Ángeles* 2003;1:37-39.
23. Olaso E, Fridman S. Molecular regulation of hepatic fibrogenesis. *J of Hepatol* 1998;29:836-847.
24. Roberts A. TGF- β signaling from receptors to the nucleus. *Microbes and Infection* 1999;1:1265-1273.
25. Vilchis-Landeros M, Juaréz P, López-Casillas F. El papel fisiopatológico del TGF- β en las nefropatías de diversas etiologías: los inhibidores del TGF- β como agentes terapéuticos potenciales. *Gac Med Mex* 2003;139:126-134.
26. López-Casillas F, Massagué J. TGF- β : receptores, señales y acciones. *Gac Med Mex* 2003;139:139-143.
27. Galvez-Gastelum FJ, Sandoval-Rodríguez A, Armendariz-Borunda J. El factor de crecimiento transformante B como blanco terapéutico. *Salud Publica Mex* 2004;46:

28. **Border AW, Noble AN.** TGF-B. Scientific American Science & Medicine 1995;2:68-77.
29. **Peralta-Zaragoza O, Lagunas-Martinez A, Madrid-Marina V.** Transforming growth factor beta-1: structure, function, and regulation mechanisms in cancer. Salud Publica Mex 2001;43:340-351.
30. **Bissell M, Roulot D, George J.** Transforming growth factor and the liver. Hepatol 2001;34:859-867.
31. **Hernandez-Canaveral I, Gonzalez J, Lopez-Casillas F, Armendariz-Borunda J.** Amplified expression of dominant-negative transforming growth factor-beta type II receptor inhibits collagen type I production via reduced Smad-3 activity. J Gastroenterol Hepatol 2004;19:380-387.
32. **Caestecker M.** The transforming growth factor-B superfamily of receptors. Cytokine Growth Factor Rev 2004;15:1-11.
33. **Kondou H, Mushiaki S, Etani Y, Moyoshi Y, Michigami T, Ozono K.** A blocking peptide for transforming growth factor-B1 activation prevents hepatic fibrosis in vivo. J Hepatol 2003;39:742-748.
34. **Armendariz-Borunda J.** Transforming Growth Factor B gene expression is transiently enhanced at critical stage during liver regeneration after CCl4 treatment. Laboratory Investigation 1993;69:283-294.
35. **Tsuchida K, Zhu Y, Silva S, Dunn SR, Sharma K.** Role of Smad-4 on TGF-B induced extracellular matrix stimulation in mesangial cells. Kidney Int 2003;63:2000-2004.
36. **Zhu H A, B.** Regulation of transforming growth factor B signaling. Mol Cell Biol Res Commun 2001;4:321-330.
37. **Armendáriz Borunda J, Jeorme S, Andrew K, Raghow P.** Regulation of TGF-B gene expression in rat liver intoxicated with carbon tetrachloride. FASEBJ 1990;4:215-221.
38. **Armendáriz-Borunda J.** Kupffer cells from carbon tetrachloride-injured rat livers produce chemotactic factors for fibroblast and monocytes: the role of tumor necrosis factor -α. Hepatology 1991;14:895-900.
39. **Eikmans M, BJJ, De Heer E, Bruijn JA.** ECM homeostasis in renal disease: a genomic approach. Journal of Pathology 2003;200:526-536.
40. **Flavell GLR.** Transforming growth factor -β in T cell biology. Nature Immunol Rev 2002;2:46-53.
41. **Moustakas Aristidis SS, Heldin Carl-Henrik.** Smad regulation in TGF-β signal transduction. Journal of Cell Science 2001;114:4359-4369.
42. **Massagué Joan WD.** Transcriptional control of the TGF-β/Smad signaling system. EMBO Journal 2000. p. 1745-1754.
43. **Piek Ester H. C.-H. D. T. P.** Specificity, diversity and regulation in TGF-β superfamily signaling. FSEB Journal 1999;13:2105-2124.
44. **Imuro Y, Nishio T, Morimoto T, Nitta T, Stefanovic B, Choi S et al.** Delivery of matrix metalloproteinase-1 attenuates established liver fibrosis in the rat. Gastroenterology 2003;124:445-458.
45. **García L, Hernández I, Sandoval A, García J, Vera J, Grijalva G, et al.** Pirfenidone effectively reverses experimental liver fibrosis. J Hepatol 2002;37:797-805.
46. **García-Bañuelos J, Siller-López F, Aguilar-Córdova E, Armendáriz-Borunda J.** Cirrhotic rat livers with extensive fibrosis can be transduced with clinical grade adenoviral vectors. Gene Ther 2002;9:127-134.
47. **Siller-López F, García-Bañuelos J, Hasty K, Segura J, Ramos-Marquez M, Qoronfle M, et al.** Truncated active matrix metalloproteinase-8 gene expression in HepG2 cells is active against native type I collagen. Journal of Hepatology 2000;33:758-763.
48. **Siller-López F, Sandoval A, Salgado S, Salazar A, Bueno M, García J et al.** Treatment with human metalloproteinase-8 gene delivery ameliorates experimental rat liver cirrhosis. Gastroenterology 2004;126:1122-1133.
49. **Alejandra Miranda, Ana Rosa Rincón, Silvia Salgado, José Vera-Cruz, Javier Gálvez, Ma Cristina Islas et al.** Improved Effects of Viral Gene Delivery of human uPA plus Biliodigestive Anastomosis Induce Recovery from Experimental Biliary Cirrhosis. Molecular Therapy 2004; 9:
50. **Salgado S, García J, Vera J, Siller F, Bueno M, Miranda A et al.** Liver cirrhosis is reverted by urokinase-type Plasminogen Activator gene therapy. Mol Ther 2000;2:545-551.
51. **Dooley S, Hamzavi J, Breitkopf K, Wiercinska E, Said H, Lorenzen J, et al.** Smad-7 prevents activation of hepatic stellate cells and liver fibrosis in rats. Gastroenterology 2003;125:178-191.
52. **Arias M, Sauer-Lehnen S, Treptau J, Janoschek N, Theuerkauf I, Buettner R et al.** Adenoviral expression of a transforming growth factor B1 antisense mRNA is effective in preventing liver fibrosis in bile-duct ligated rats. BMC Gastroenterol 2003;3:1-12.
53. **Armendáriz Borunda J, Gálvez J, Segura A, Miranda A & Beas C.** Combined hUPA plus MMP-8 gene therapy reverts cirrhosis and improves hepatic encephalopathy. Hepatology 2003; 38: 336A-337A.