

La hepatología
molecular:
un enfoque
multidisciplinar

Predisposición genética a daño hepático por alcohol

BLANCA ESTELA BASTIDAS RAMÍREZ
VIDAL DELGADO RIZO
JOSÉ FRANCISCO MUÑOZ VALLE
MERCEDES GONZÁLEZ HITA
MARTHA ELOÍSA RAMOS MÁRQUEZ
MA. DEL CARMEN CARRILLO PÉREZ

PREDISPOSICIÓN GENÉTICA A DAÑO HEPÁTICO POR ALCOHOL

Los mecanismos de daño hepático causado por el consumo de etanol que conducen a la acumulación progresiva de matriz extracelular son diversos (1,2,3), lo cual indica que la patogénesis de la enfermedad hepática alcohólica (EHA) es compleja y multifactorial. Entre los individuos con un patrón exagerado de ingestión de alcohol, se observa que aproximadamente el 25% no presentan alteración hepática alguna, 33% muestran hígado graso, un 20% solo inflamación aguda y el 25% una cirrosis franca (4,5,6).

Estudios recientes indican que varios polimorfismos génicos se asocian con la progresión de la fibrosis en pacientes con EHA (7). La variabilidad genética puede explicar

la gran gama de respuestas hacia los mismos factores etiológicos observados como respuesta individual. Sin embargo, estos estudios aun no son contundentes, sino que han mostrado resultados contradictorios en algunos casos, debido probablemente a limitaciones en el diseño experimental y a una falta de homogeneidad de criterios de evaluación y comparación. Para determinar la influencia de un gen en el desarrollo de la EHA se llevan a cabo estudios en cultivos de células, modelos experimentales animales y en ratones modificados genéticamente (8,9).

Al comprender la fisiopatología de la EHA a nivel molecular, se puede perfectamente elaborar una lista de genes candidatos involucrados.

RESUMEN

La enfermedad hepática alcohólica (EHA) es un proceso complejo y multifactorial, en el que las variaciones génicas podrían explicar las diferencias individuales de los efectos tóxicos del alcohol. Algunos polimorfismos en genes que participan en la fisiopatología de la EHA, afectan positiva o negativamente la transcripción o la actividad de factores profibrogénicos. Se han reportado polimorfismos en genes de receptores que intervienen en la interacción del lipopolisacárido bacteriano con la célula de Kupffer, LPB Y CD14, así como en el factor transcripcional NFkB; moléculas proinflamatorias, TNF- α , IL-1, R-IL-1, IL-6 e IL-8; factores de crecimiento, TGF- β y PDGF; las enzimas metabolizadoras de etanol ADH, ALDH y CYP2E1; y en sistemas eliminadores de sustancias reactivas de oxígeno, como MnSOD. Para dilucidar el papel que juegan las alteraciones génicas en el desarrollo de la EHA, es necesario considerar las interacciones de estas variaciones con variables ambientales y estilo de vida de los individuos.

Palabras clave: genes y alcohol, enfermedad hepática alcohólica, enzimas metabolizadoras de etanol, polimorfismos y alcohol, genes candidatos.

ABSTRACT

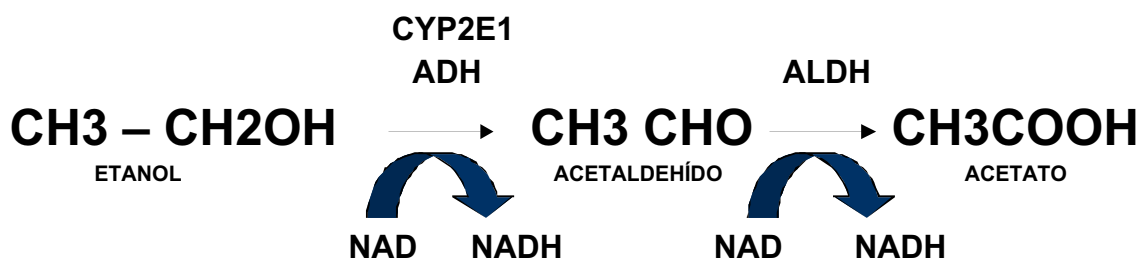
Alcoholic liver disease (ALD) constitutes a complex and multifactorial pathophysiological condition where specific gene variation could explain the individual response to the toxic effects of alcohol. Genetic polymorphisms influencing the pathophysiology of ALD can positively or negatively regulate the transcriptional rate or the activity of molecules which contribute to the fibrogenic process. Polymorphisms in genes coding molecules underlying the signaling triggered by bacterial lipopolisaccharide, LBP and CD14, which in turn activate Kupffer cells via the nuclear transcription factor NFkB, have been reported. Likewise, genetic polymorphisms in proinflammatory molecules, TNF- α , IL-1, R-IL-1, IL-6 and IL-8; growth factors, TGF- β and PDGF; alcohol metabolizing enzymes ADH, ALDH and CYP2E1; and in systems involved in the clearance of oxygen reactive species, like MnSOD, have been studied. Interaction between genetic variations and life-style or environmental factors, should be considered in order to elucidate the role of genetic alterations in the development of the ALD.

Key words: genes and alcohol, alcoholic liver disease, ethanol metabolizing enzymes, polymorphisms and alcohol, candidate genes.

FIGURA 1

METABOLISMO DEL ETANOL. ADH, ENZIMA ALCOHOL DESHIDROGENASA; ALDH, ENZIMA ALDEHÍDO DESHIDROGENASA; CYP2E1, ENZIMA CITOCROMO P4502E1.

Metabolismo del Etanol



FISIOPATOLOGÍA DE LA EHA

El etanol es absorbido del tracto gastrointestinal y metabolizado principalmente por el hígado (10), en donde se observan fundamentalmente: hepatocitos, células de Kupffer, células estelares hepáticas (CEH), células endoteliales, células del ducto biliar y células NKT (11,12).

La reacción de oxidación del etanol es como se muestra en la figura 1. El etanol es oxidado en el citoplasma del hepatocito por acción de la alcohol deshidrogenasa (ADH) en acetaldehído, y posteriormente en acetato por la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH2) mitocondrial. La enzima citocromo P4502E1 (CYP2E1) es inducida por la ingestión crónica de alcohol y oxida al etanol en acetaldehído en el sistema microsomal de la célula (10,5).

El daño hepático inducido por etanol se produce por diversas vías, como se observa en la figura 2. Por un lado, el etanol por sí mismo ejerce una acción sobre la mucosa intestinal haciéndola más permeable al paso de lipopolisacárido (LPS) proveniente de las bacterias presentes en intestino (13). Éste a su vez se une a la proteína de unión de LPS (LBP), la cual es una glucoproteína de 60 kDa producida principalmente por el hígado y secretada al suero, y enseguida LBP cataliza la transferencia de LPS a los receptores de membrana CD14, presentes en las células de Kupffer (14), y promueve la translocación del factor nuclear κB (NF- κB), lo cual induce la transcripción de citocinas y quimiocinas, tales como IL-1, IL-6 e IL-8. Estas moléculas participan activamente en el proceso de inflamación y migración de polimorfonucleares hacia el hígado. El NF κB , además induce la transcripción del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), el factor transformante de crecimiento beta (TGF- β) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). El TNF- α puede inducir la apoptosis en el hepatocito. El TGF- β es un factor fibrogénico potente que estimula a la célula estelar hepática para que produzca proteínas de matriz extracelular, principalmente colágena tipo I. Además, el TGF- β induce la expresión de inhibidores de proteasas, como TIMP-1 y PAI-1, favoreciendo el proceso profibrogénico (15,16). Las células de Kupffer también pueden ser activadas por la oxidación del etanol mediante CYP2E1 expresada en este tipo celular, lo cual genera especies reactivas de oxígeno (ROS) y refuerza la activación NF-

κB y toda su cascada de señalización (17). Por otro lado, el metabolismo del etanol en el hepatocito también conduce a la formación de ROS, provocando la peroxidación de lípidos de membrana y llevando al hepatocito a la muerte. Además, se forman aductos de proteínas con el acetaldehído proveniente directamente del metabolismo del etanol y también con otros aldehídos reactivos formados en la descomposición de los peróxidos de lípidos, que conducen al hepatocito a la muerte. A su vez, existen mecanismos intracelulares capaces de eliminar los ROS, como la enzima superóxido dismutasa (MnSOD), cuya función no es suficiente para mantener el equilibrio dando lugar a la acumulación de ROS, capaces de alterar la ultraestructura y funcionalidad hepática. Los ROS, junto con el PDFG y el TGF- β , activan a la CEH (15,16).

ESTRÉS OXIDATIVO

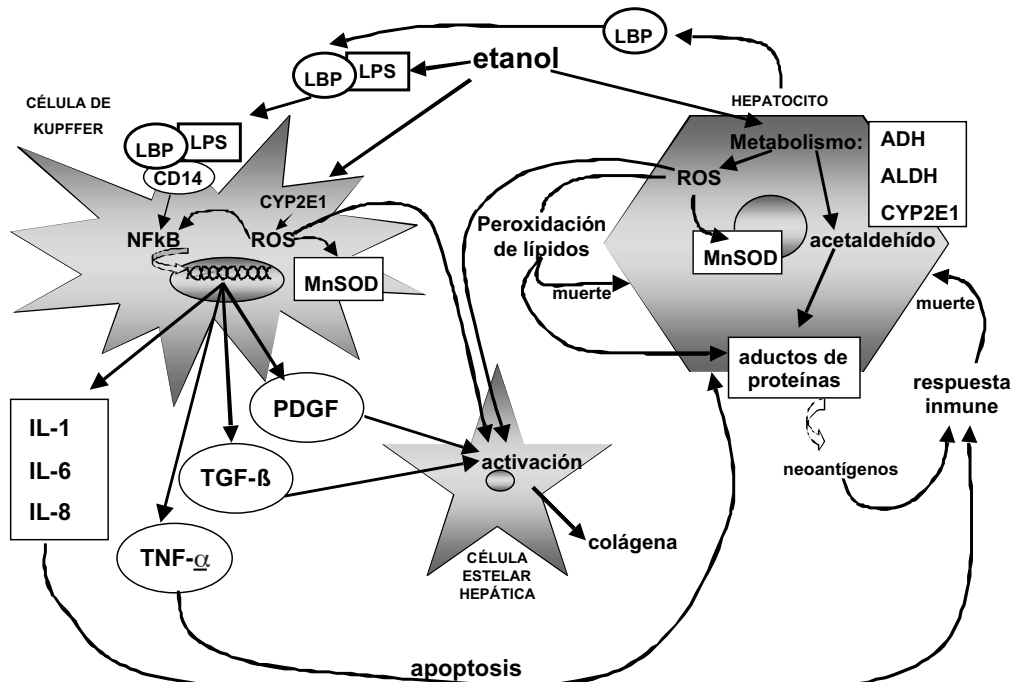
El estrés oxidativo es uno de los mecanismos más importantes propuestos en la inducción del daño hepático y por supuesto los genes que participan en la codificación de proteínas eliminadoras de ROS, como MnSOD, juegan un papel fundamental.

En la figura 3 se explica cómo se lleva a cabo el daño hepático mediado por estrés oxidativo. El metabolismo del etanol induce la formación de ROS, tales como el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical oxhidrilo (OH^\cdot), provocando estrés oxidativo dentro del hepatocito. Este estado genera la peroxidación de lípidos de membrana. Enseguida, el radical libre lipídico sufre la adición de oxígeno para formar un hidroperóxido de lípido y luego descomponerse. La descomposición de los hidroperóxidos dan lugar a la formación de aldehídos reactivos, tales como el malondialdehído (MDA) y el 4-hidroxinonenal (4-HNE). El acetaldehído proveniente directamente del metabolismo del etanol, constituye también una sustancia tóxica para el hepatocito, ya que forma aductos de proteínas, que junto con el MDA y el 4-HNE, son reconocidos como neoantígenos. Los aductos de proteínas se forman a través de enlaces covalentes entre las cadenas laterales de las proteínas y la sustancia reactiva, en este caso acetaldehído, MDA y 4HNE. Los neoantígenos promueven la respuesta inmune y conducen a los hepatocitos a la

FIGURA 2

LOS DIFERENTES TIPOS CELULARES PRESENTES EN EL HÍGADO (HEPATOCITOS, CÉLULAS ESTELARES HEPÁTICAS Y CÉLULAS DE KUPFFER), RESPONDEN A LA AGRESIÓN PRODUCIDA POR EL ETANOL, CADA UNA LLEVANDO A CABO FUNCIONES ESPECÍFICAS QUE FINALMENTE CONDUCE A MUERTE CELULAR Y REEMPLAZO DE HEPATOCITOS POR FIBRAS DE COLÁGENA.

Patogénesis del daño hepático por alcohol



muerte. Las proteínas identificadas como aductos incluyen a la tubulina, las lipoproteínas de baja densidad, el citocromo C, CYP2E1 y otras proteínas de membrana del hepatocito. Además de promover la respuesta inmune, los aductos de proteínas no son funcionales, y hacen que disminuya la secreción de ellas debido a su cambio conformacional, haciendo que el hepatocito adquiera un aspecto redondeado de tamaño aumentado, concomitante a la acumulación de lípidos (18).

SUCESIÓN DE EVENTOS EN LA EHA

De esta manera, podemos visualizar el daño hepático como el resultado de una sucesión de eventos atribuibles a moléculas con una función específica dentro de este proceso, como un desequilibrio escalonado de varios sistemas, como se observa en la figura 3. La EHA comienza con un consumo exagerado de bebidas alcohólicas, catalogado como alcoholismo, en el cual participan directamente las enzimas ADH y ALDH. Enseguida, el estrés oxidativo, causado por el desequilibrio entre la acción de la enzima CYP2E1, inductora de ROS, y la enzima MnSOD, eliminadora de ROS, es el paso siguiente en el daño hepático por alcohol. Las células de Kupffer responden a través de moléculas proinflamatorias y anti-inflamatorias, como el TNF- α e IL-10, respectivamente. También se sintetizan factores fibrogénicos que activan a las CEH. Y por último, se produce un desequilibrio entre

la síntesis y la degradación de colágeno, mediado por el TGF- β y el TIMP-1 (7).

POLIMORFISMOS Y EHA

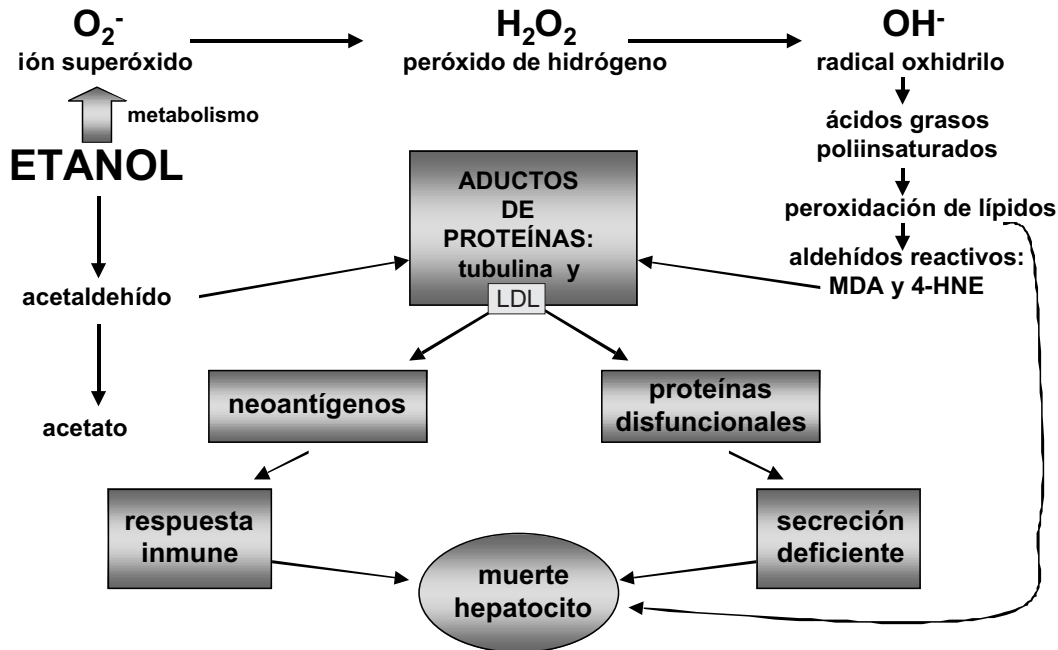
Con este panorama y en base a la literatura reportada, se puede elaborar y comprender un listado de genes con un posible papel dentro de la fisiopatología del daño hepático, que confieran susceptibilidad a los portadores de ciertos polimorfismos (7). Las alteraciones génicas reportadas consisten principalmente en polimorfismos de la región promotora del gen, que afectan positiva o negativamente su tasa de transcripción. En otros casos, el polimorfismo se encuentra en una región codificante de la proteína influyendo directamente sobre la actividad de la enzima. En la tabla 1 se muestran los genes que hasta este momento se han estudiado y que se ha demostrado que poseen un efecto fibrogénico que contribuye al desarrollo de la EHA, así como la función de la proteína para la cual codifican, los alelos reportados y el efecto del polimorfismo sobre la proteína.

El gen de la IL-1, codifica para una citocina proinflamatoria y los polimorfismos ubicados en la región promotora distal -511 y -3953, dados por el cambio de una citosina por una timina y el cambio de una timina por una citosina, respectivamente, se han relacionado con una secreción aumentada de la proteína, exacerbando la respuesta inmune. Así mismo, el receptor de IL-1 (R-IL-1), cuyo

FIGURA 3

MECANISMO DE INDUCCIÓN DE DAÑO HEPÁTICO POR ESTRÉS OXIDATIVO. MDA, MALONDIALDEHÍDO; 4-HNE, 4 HIDROXINONENAL.

Daño hepático generado por estrés oxidativo



polimorfismo se encuentra en el intrón 2, aumenta la tasa de transcripción de este gen, y hace que la respuesta a los efectos de IL-1 se magnifiquen (19). Los polimorfismos de ADH, asociados con EHA, aumentan la actividad de la enzima, y en el caso de CYP2E1 aumenta su tasa de transcripción, haciendo que se incremente la producción de acetaldehído a partir de etanol en los individuos que presentan estos polimorfismos en comparación con los que no los presentan, y se favorezca la formación de aductos de proteínas. Consecuentemente, estos polimorfismos contribuyen al estrés oxidativo dentro de la célula por la formación incrementada de ROS, lo cual produce un daño mayor a la célula hepática (20). Por el contrario, el polimorfismo reportado de la enzima ALDH asociado con EHA, inactiva a la enzima, inhibiendo la eliminación de acetaldehído, y favoreciendo también la formación de aductos de proteínas (21). Como podemos observar, la combinación de estos tres polimorfismos da como resultado un incremento en la formación de acetaldehído y la incapacidad para eliminarlo, además de favorecer la producción de ROS, explicando su participación en el desarrollo de EHA. Específicamente, los polimorfismos en *ADH*, *CYP21* y *ALDH*, se han estudiado en diversas poblaciones del mundo; sin embargo, los resultados aun son controversiales (22).

El gen *TNFα* presenta un polimorfismo en el sitio -308, que genera el cambio de una guanina por una adenina, lo cual aumenta la tasa de transcripción de este gen exacerbando el proceso inflamatorio y activando el proceso de apoptosis (23). Se ha estudiado también el polimorfismo ubicado en la posición -159 del gen *CD14*, codificante del

receptor para LPS, en el que se produce el cambio de una citosina por una timina, que afecta positivamente su tasa de transcripción y facilita la cascada de activación de NFκB (24). El gen *CTLA-4*, involucrado en la respuesta inmune, muestra un polimorfismo ubicado en el sitio -66, dado por el cambio de adenina por guanina, que conduce a un aumento en su tasa de transcripción (25). Por último, en el gen *MnSOD*, que codifica para una de las enzimas antioxidantes más importantes de la célula, se ha reportado el polimorfismo ubicado en el sitio 1183, dado por el cambio de citosina por timina, que da como resultado una proteína con actividad menor a lo normal, y por consiguiente una deficiente eliminación de ROS, aumentando el estrés oxidativo de la célula (26).

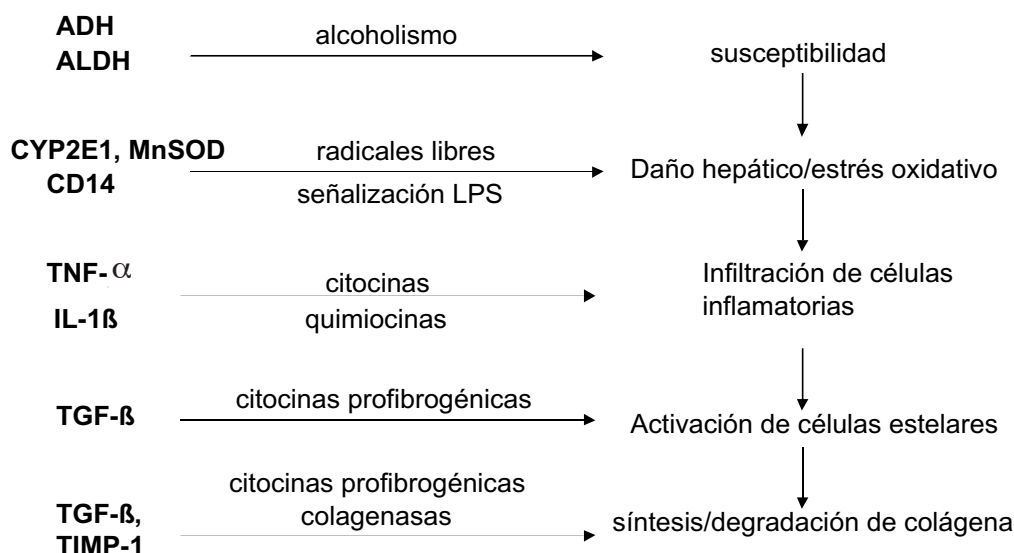
CONCLUSIONES

Es muy importante analizar la influencia aislada que ejercen estos polimorfismos en el desarrollo de la EHA, así como la interacción de ellos en su conjunto; sin embargo, para que esta información sea completa, deben tomarse en cuenta las interacciones entre las variaciones genéticas, los hábitos alimentarios y la actividad física, elementos fundamentales del estilo de vida, así como la edad, el sexo, la etnicidad y las patologías asociadas en pacientes con EHA, ya que los genes predisponen pero definitivamente el ambiente determina y la mayoría de las ocasiones nuestro estado de salud-enfermedad depende de nuestras decisiones personales: "...he puesto delante de tí la vida y la muerte, el bien y el mal, escoge la vida..." (27).

FIGURA 4

SUCESIÓN DE EVENTOS QUE CONDUCEN A DAÑO HEPÁTICO POR ALCOHOL Y LA PARTICIPACIÓN ESPECÍFICA DE MOLÉCULAS EN CADA ETAPA.

Enfermedad hepática alcohólica/*Genes candidatos*



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Neuman MG, Brenner DA, Rehmann B, Taieb J, Choller-Martin S, Cohard M. Mechanisms of alcoholic liver disease: cytokines. *Alcohol Clin Exp Res*, 2001;25(Suppl ISBRA):251S-253S.
- Nanji AA, Su GL, Laposata M, y French SW. Pathogenesis of alcoholic liver disease, recent advances. *Alcoholism Clin Exp Res*, 2002;26(5):731-736.
- French SW, Nanji AA. Pathogenesis of alcoholic liver disease. *Alcoholism Clin Exp Res*, 2002;26(5):731-736.
- Achord JL. Alcohol and the liver. *Sci Am Sci Med*, 1995;2(2):16-25.
- Lieber CS. Alcoholic liver disease: new insights in pathogenesis lead to new treatments. *J Hepatol*, 2000;32:113-28.
- Pares A, Caballería J, Bruguera M, Torres M, Rodes J. Histologic course of alcoholic hepatitis: influence of abstinence, sex and extent of hepatic damage. *J Hepatol*, 1986;2:33-42.
- Battaller R, North KE, Brenner DA. Genetic polymorphism and the progression of liver fibrosis: a critical appraisal. *Hepatol*, 2003;37(3):493-503.
- Reeves HL, Friedman SL. Activation of hepatic stellate cells, a key issue in liver fibrosis. *Front Biosci*, 2002;7:d808-d826.
- Jiménez W, Claria J, Arroyo V, Rodés J. Carbon tetrachloride induced cirrhosis in rats: a useful tool for investigating the pathogenesis of ascites in chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 1992;7:90-97.
- Lieber CS. Alcoholic liver disease; Metabolism of alcohol. *Clin Liver Dis*, 1998; 2(4):1-17.
- Doherty DG, Norris S, Madrigal-Esteban L, McEntee G, Traynor O, Hegarty JE, O'Farrelly C. The human liver contains multiple populations of NK cells, T cells, and CD3+CD56+ natural T cells with distinct cytotoxic activities and Th1, Th2, and Th0 cytokine secretion patterns. *J Immunol*, 1999;163:2314-2321.
- Ghany M, Hoofnagle JH. Estudio del paciente con enfermedad hepática. En: *Harrison. Principios de Medicina Interna*. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. McGraw Hill Interamericana, 2002; 15ª edición, sec. 2, cap. 292:1995-2000.
- Nanji AA, Khettry U, Sadrzady SM, Yamanaka T. Severity of liver injury in experimental alcoholic liver disease. Correlation with plasma endotoxin, prostaglandin E2, leukotriene B4, and thromboxane B2. *Am J Pathol*, 1993;142:367-373.
- Su GL. Lipopolysaccharides in liver injury: molecular mechanism of Kupffer cell activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002;283:G256-G265.
- Diehl A. Cytokines and the molecular mechanisms of alcoholic liver disease. *Alcoholism: Clin Exp Res*, 1999;23:1419-1424.
- McClain CJ, Barve S, Deaciuc I, Kugelmas M, Hill D. Cytokines in alcoholic liver disease. *Sem Liv Dis*, 1999;19:205-219.
- Thurman RG. Alcoholic liver injury involves activation of Kupffer cells by endotoxin. *Am J Physiol*, 1998;275:G605-611.
- Lieber CS. Microsomal ethanol-oxidizing system (MEOS): the first 30 years (1968-1998) - a review. *Alcoholism: Clin Exp Res*, 1999;23:991-1007.
- Donaldson P, Agarwal K, Craggs A, Craig W, James O, Jones D. HLA and interleukin 1 gene polymorphism in primary biliary cirrhosis: association with disease progression and disease susceptibility. *Gut*, 2001;48:397-402.
- Monzoni A, Masutti F, Saccoccio G, Bellentani S, Tiribelli C, Giacca M. Genetic determinants of ethanol-induced liver damage. *Mol Med*, 2001;7:255-262.
- Okamoto K, Murawaki Y, Yuasa AI, Kawasaki H. Effect of ALDH2 and CYP2E1 gene polymorphisms on drinking behavior and alcoholic liver disease in Japanese male workers. *Alcohol: Clin Exp Res*, 2001;25(Suppl):19S-23S.
- Lee HC, Lee HS, Jung SH. Association between polymorphisms of ethanol-metabolizing enzymes and susceptibility to alcoholic cirrhosis in a Korean male population. *J Korean Med Sci*, 2001;16:745-750.
- Grove J, Daly AK, Bassendine MF, Day CP. Association of a tumor necrosis factor promoter polymorphism with susceptibility to alcoholic steatohepatitis. *Hepatol*, 1997;26:143-146.
- Jarvelainen HA, Orpana A, Perola M, Savolainen VT, Karhunen PJ, Lindros KO. Promoter polymorphism of the CD14 endotoxin receptor gene as a risk factor for alcoholic liver disease. *Hepatol*, 2001;33:1148-1153.
- Stewart S, Jones D, Day CP. Alcoholic liver disease: new insights into mechanisms and preventative strategies. *Trends Mol Med*, 2001;7:408-413.
- Degoul F, Sutton A, Mansouri A. Homozygosity for alanine in the mitochondrial targeting sequence of superoxide dismutase and risk for severe alcoholic liver disease. *Gastroenterol*, 2001;120:1468-1474.
- Deuteronomio, capítulo 30, v.19. En: *La Biblia al día*, 1979.

TABLA 1

POLIMORFISMOS DE GENES REPORTADOS EN LA LITERATURA INTERNACIONAL.

SE HACE NOTAR LA FUNCIÓN DE LA PROTEÍNA CODIFICADA, LOS ALELOS POLIMÓRFICOS, Y EL EFECTO SOBRE LA PROTEÍNA QUE EXPLICA EL ESTADO DE FIBROGÉNESIS EN EL PACIENTE CON EHA.

gen candidato	función protéica	alelos	efecto sobre la proteína	fibrogénesis
IL-1_	Proinflamatoria	-511 C/T, -3953 T/C	Secreción ↑	Aumenta
R-IL-1	Proinflamatoria	VNTR intrón 2	Transcripción ↑	Aumenta
ADH	Metab. etanol	c1, c2, c3	Actividad ↑	Controversia
ALDH	Metab. etanol	c1, c2	Actividad ↓	Controversia
CYP2E1	Metab. etanol, ROS	c1, c2	Transcripción ↑	Controversia
TNF-_	Proinflamatoria	-308 G/A	Transcripción ↑	Aumenta
CD14	Receptor de LPS	-159 C/T	Transcripción ↑	Aumenta
CTLA-4	Respuesta inmune	-66 A/G	Transcripción ↑	Aumenta
MnSOD	antioxidante	1183 C/T	Actividad ↓	Aumenta

BLANCA ESTELA BASTIDAS RAMÍREZ¹**UIDAL DELGADO RIZO²****JOSÉ FRANCISCO MUÑOZ VALLE³****MERCEDES GONZÁLEZ HITA⁴****MARTHA ELOÍSA RAMOS MÁRQUEZ⁵****MR. DEL CARMEN CARRILLO PÉREZ⁶**

¹ Profesor Investigador Titular C. Instituto de Enfermedades Crónico-Degenerativas. Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Universidad de Guadalajara.

² Laboratorio de Inmunología, Depto. de Fisiología. Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Universidad de Guadalajara.

³ Laboratorio de Inmunología, Depto. de Fisiología. Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Universidad de Guadalajara.

⁴ Profesor Investigador Titular B. Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde".

⁵ Profesor Investigador Titular A. Instituto de Enfermedades Crónico-Degenerativas. Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Universidad de Guadalajara.

⁶ Profesor Investigador Asociado C. Instituto de Enfermedades Crónico-Degenerativas. Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Universidad de Guadalajara.

CORRESPONDENCIA

Blanca Estela Bastidas Ramírez.

Instituto de Enfermedades Crónico-Degenerativas. Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Universidad de Guadalajara.

Sierra Mojada 950. Edif. Q, 2do. Nivel. Col. Independencia, C.P. 44340. Guadalajara, Jal.

Tel/fax: (33) 36-17-7076

Correo electrónico: bastidas@cencar.udg.mx

Conflicto de interés no declarado