

Mecanismos básicos de lesión hepatocelular. Papel de los mediadores lipídicos de inflamación

Juan Clària, Raquel Horrillo, Marcos Martínez-Clemente, Eva Morán-Salvador, Esther Titos, Ana González-Pérez y Natàlia Ferré

Servicio de Bioquímica y Genética Molecular. Hospital Clínic. Centro de Investigación Biomédica Esther Koplowitz (CIBEK) y CIBER de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD). IDIBAPS. Universitat de Barcelona. Barcelona. España.

RESUMEN

La presencia de lesión en el parénquima celular es común a un gran número de enfermedades crónicas del hígado, como por ejemplo las hepatitis virales, la hepatitis alcohólica, las colestasis crónicas o la esteatohepatitis. Aunque la patogenia puede variar según el agente etiológico, hay una serie de mecanismos comunes a todas ellas. Entre estos mecanismos destacan la activación de las células de Kupffer y el reclutamiento de células inflamatorias, la formación de radicales libres del oxígeno y la aparición de estrés oxidativo, la producción de citocinas, principalmente del factor de necrosis tumoral alfa y el factor de crecimiento transformante beta, y la liberación de mediadores de inflamación derivados de la oxidación del ácido araquidónico a través de la ciclooxigenasa 2 y la 5-lipooxigenasa.

BASIC MECHANISMS OF HEPATOCELLULAR INJURY. ROLE OF INFLAMMATORY LIPID MEDIATORS

The presence of a lesion in the cellular parenchyma is common to a large number of chronic liver diseases, such as viral hepatitis, alcoholic hepatitis, chronic cholestasis and steatohepatitis. Although the pathogenesis may vary according to the etiological agent, a series of mechanisms is common to all. Notable among these mechanisms are Kupffer cell activation and inflammatory cell recruitment, free oxygen radical formation and the development of oxidative stress, cytokine production, mainly TNF α and TGF β , and inflammatory mediator release due to arachidonic acid oxidation through the COX-2 and 5-LO pathways.

INTRODUCCIÓN

En todos los órganos y tejidos de nuestro organismo se producen episodios de lesión celular en respuesta a la acción de noxas físicas, químicas o biológicas (virus). En el caso concreto del hígado, la lesión celular se manifiesta principalmente con la muerte de las células parenquimatosas o hepatocitos. En el caso de que el daño hepático sea limitado, por ejemplo tras una hepatitis aguda, se produce una rápida respuesta regenerativa de los hepatocitos que reemplaza al tejido afectado y restablece la arquitectura hepática normal. Sin embargo, cuando el agente lesivo actúa de forma persistente y su acción sobrepasa la capacidad hepática de defensa y reparación, se produce una respuesta caracterizada por una regeneración celular desordenada y el desarrollo de inflamación y fibrosis^{1,2}. Durante este proceso, la capacidad de regeneración hepática disminuye, mientras que la producción de componentes de la matriz extracelular (colágeno fibrilar, fibronectina, glucosaminoglicanos...) aumenta considerablemente. En fases avanzadas, la población normal de hepatocitos es parcialmente sustituida por la deposición desorganizada de estos componentes de la matriz extracelular, lo que causa una paulatina disminución de la masa hepatocelular y una progresiva distorsión anatómica y funcional del lobulillo hepático^{1,2}. El resultado final es la cirrosis, desde el punto de vista anatómico, y la insuficiencia hepática crónica, desde el punto de vista funcional, una afección clínica que ocasiona la mayor parte de la morbimortalidad en las enfermedades hepáticas.

La aparición de daño hepatocelular es un hallazgo común a prácticamente todas las hepatopatías crónicas, como es el caso de la infección crónica por el virus de la hepatitis C, la hepatitis alcohólica, las colestasis crónicas o la esteatohepatitis no alcohólica^{1,2}. De todas formas, aunque el desarrollo de lesión hepatocelular es común a la mayoría de enfermedades crónicas del hígado, su patogenia varía según el agente etiológico. Así, el daño hepático de origen alcohólico se caracteriza por la presencia de valores elevados de lipopolisacárido (LPS) de origen bacteriano

Correspondencia: Dr. J. Clària.
Servicio de Bioquímica y Genética Molecular. Hospital Clínic.
Villarroel, 170. 08036 Barcelona. España.
Correo electrónico: jclaria@clinic.ub.es

Recibido el 13-3-2008; aceptado para su publicación el 14-3-2008.

con capacidad de promover la liberación de cantidades ingentes de agentes citotóxicos y de mediadores de inflamación (citocinas, eicosanoides...) por las células de Kupffer y de inducir la infiltración de leucocitos polimorfonucleares³. El daño hepático de origen alcohólico se produce también como consecuencia de la presencia de acetaldehído, que es el metabolito del alcohol con mayor capacidad para generar estrés oxidativo en los hepatocitos³. En el caso de las colestasis crónicas, el daño hepatocelular se debe a la acumulación de un exceso de ácidos biliares que estimulan la producción de radicales libres y desencadenan una intensa respuesta inflamatoria⁴. En el caso de las hepatopatías virales, la lesión hepatocelular está mediada por la respuesta inmune del huésped a los hepatocitos infectados que expresan en su membrana proteínas virales, lo que causa un alto grado de necrosis hepatocitaria y una reacción inflamatoria caracterizada por la infiltración de linfocitos⁵. Por último, en el caso de la esteatohepatitis no alcohólica, la manifestación hepática del síndrome metabólico, la acumulación de lípidos en el interior de los hepatocitos promueve el desarrollo de estrés oxidativo, inflamación, muerte celular y fibrosis⁶. Hasta el momento se han descrito diversos mecanismos moleculares que son comunes a una gran parte de estas hepatopatías. Aunque la mayoría de estos mecanismos se han identificado en estudios realizados en modelos experimentales, los datos aportados se pueden extrapolar, con ciertas limitaciones, a la patología humana. Entre los mecanismos implicados en el desarrollo de lesión hepática destacan las siguientes: la activación de las células de Kupffer y el reclutamiento de células inflamatorias (neutrófilos y monocitos); la aparición de estrés oxidativo debido a la formación de radicales libres, principalmente derivados del oxígeno; la producción de citocinas, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y el factor de crecimiento transformante beta (TGF β) y, por último, la liberación de mediadores lipídicos de inflamación derivados del ácido araquidónico, como las prostaglandinas (PG), los leucotrienos (LT) y el factor de activación de las plaquetas (PAF). A continuación se describen con mayor detalle cada uno de estos mecanismos, haciendo especial hincapié en el papel en la necroinflamación y la fibrosis hepática de los mediadores lipídicos derivados del ácido araquidónico.

PAPEL DE LAS CÉLULAS DE KUPFFER Y DEL INFILTRADO INFLAMATORIO

Hay evidencias sólidas que demuestran la participación directa de las células de Kupffer en la patogenia de la lesión hepatocelular. Las células de Kupffer son los macrófagos residentes en el hígado y se encuentran formando parte de la unidad estructural funcional de este órgano, el sinusoides hepático⁷. El principal papel fisiológico de las células de Kupffer es eliminar mediante fagocitosis todo tipo de partículas extrañas, innecesarias o alteradas de la circulación sanguínea⁸. Por ejemplo, estas células desempeñan un papel clave en el proceso de captación y detoxificación de la endotoxina que llega del flujo venoso

portal^{9,10}. Las células de Kupffer actúan también, al igual que otros fagocitos mononucleares, como células presentadoras de antígeno que activan la respuesta inmune derivada de los linfocitos T¹¹.

Se ha descrito que ciertos estímulos, como la obesidad, el consumo crónico de alcohol, la endotoxina o los compuestos procedentes de la degradación de fármacos o xenobióticos inducen la activación de las células de Kupffer¹². Una vez activadas, estas células liberan cantidades ingentes de citocinas (interleucina [IL] 1, IL-6, IL-10 y TNF α), radicales libres del oxígeno (anión superóxido) y metabolitos del ácido araquidónico (PGD₂, tromboxano [TX] A₂, PGE₂ y LT) (tabla I). En la mayoría de casos, la activación de las células de Kupffer se asocia al reclutamiento de neutrófilos y monocitos circulantes, los cuales amplifican de forma significativa la respuesta inflamatoria. En cualquier caso, la lesión tisular se produce cuando los mediadores de inflamación liberados por las células inflamatorias actúan de forma paracrina sobre las células adyacentes, ya sean hepatocitos o células hepáticas estrelladas¹²⁻¹⁵. La liberación desproporcionada de mediadores junto con la secreción de enzimas lisosomales por las células de Kupffer favorece la aparición de daño tisular, caracterizado principalmente por focos de necrosis y de inflamación. Las células de Kupffer activadas modifican también los procesos metabólicos clave en las células parenquimatosas, como la liberación de albúmina por los hepatocitos, lo que altera la función hepática y contribuye al desarrollo de la lesión en este órgano¹⁵. La prueba de concepto del papel que ejercen las células de Kupffer en la lesión hepática es que su inactivación y eliminación selectiva, mediante por ejemplo la administración de cloruro de gadolinio (GdCl₃), normaliza los valores séricos de aspartato aminotransferasa (AST) y previene la lesión hepática tras la administración de tetracloruro de carbono (CCl₄)¹⁶.

Quizá el ejemplo paradigmático de la participación de las células de Kupffer en el daño hepático sea la hepatitis alcohólica. Es bien sabido que la ingesta abusiva de alcohol es capaz de alterar la permeabilidad intestinal y aumentar de esta forma la entrada al hígado de endotoxina a través

TABLA I. Principales mediadores de inflamación y lesión hepatocelular liberados por las células de Kupffer

Citocinas Factor crecimiento	Quimiocinas	Mediadores lipídicos	Especies reactivas del oxígeno	Otros
IL-1	MIP-1	PGD ₂	O ₂ ⁻	PAI-1
IL-6	MCP-1	15d-PGJ ₂	ONOO ⁻	Fibronectina
IL-8		PGF2 α	H ₂ O ₂	C3 y C5a
IL-10		TXA ₂		
TNF α		LTB ₄		
TGF β		LTC4/LTD4/LTE ₄		
		PAF		
		Isoprostanos		

C3 y C5a: factores de complemento; H₂O₂: peróxido de hidrógeno; IL: interleucina; LT: leucotrieno; MIP-1: proteína inflamatoria de macrófagos-1; MCP-1: proteína quimioatrayente de monocitos-1; O₂⁻: anión superóxido; ONOO⁻: anión peroxinitrito; PAI-1: activador del plasminógeno; PAF: factor de activación plaquetaria; PG: prostaglandina; TGF: factor de crecimiento transformante; TNF: factor de necrosis tumoral; TX: tromboxano

de la vena porta. En condiciones normales, las células de Kupffer presentan un estado de tolerancia a la endotoxina, pero su exposición a cantidades elevadas de esta sustancia, o bien la presencia de células de Kupffer en estado parcialmente activado por otras causas, conduce a la liberación masiva de especies reactivas del oxígeno, citocinas (principalmente $\text{TNF}\alpha$) y eicosanoides (principalmente LT) con capacidad de dañar el parénquima hepático¹⁷⁻¹⁹. También se ha apuntado que las células de Kupffer se activarían por factores liberados por los hepatocitos en respuesta al alcohol. Por ejemplo, se ha descrito que las células de Kupffer en presencia de un medio condicionado procedente de cultivos de hepatocitos tratados con alcohol, secretan IL-8, un potente agente quimiotáctico inductor de la infiltración de neutrófilos²⁰. Otros autores, sin embargo, han demostrado que la liberación de IL-8 por los hepatocitos se produce en respuesta a factores derivados de las células de Kupffer activadas por el etanol, principalmente de IL-1 y $\text{TNF}\alpha$ ^{21,22}.

Otro ejemplo de la participación de las células de Kupffer en la lesión hepatocelular es el daño inducido por fármacos o xenobióticos. La vía hepatobiliar junto con el riñón constituyen la principal vía excretora de xenobióticos. Esto significa que las células hepáticas no sólo metabolizan los nutrientes procedentes del intestino y los productos metabólicos endógenos procedentes de otras partes del organismo, sino que también participan activamente en el metabolismo de los xenobióticos y fármacos. En condiciones normales, los fármacos son eliminados por la bilis primaria, hepatocelular o canalicular, elaborada por los hepatocitos mediante un proceso de filtración osmótica²³. Sin embargo, en determinadas circunstancias, por ejemplo tras una sobredosis de fármacos, las células de Kupffer se activan y desencadenan un proceso de lesión hepática. Un ejemplo paradigmático de daño hepático inducido por fármacos lo constituye la intoxicación por acetaminofeno, que se caracteriza por la rápida aparición de insuficiencia hepática seguida por una intensa inflamación y, finalmente, regeneración del tejido lesionado²⁴. La hepatotoxicidad al acetaminofeno se debe a la conversión por enzimas microsomales de este fármaco a un metabolito reactivo (la imina de N-acetil-p-benzoquinona), que se une a macromoléculas del tejido hepático e inicia una reacción necrótica y la activación de las células de Kupffer²⁵.

La activación de las células de Kupffer se asocia habitualmente a la infiltración de células inflamatorias en el parénquima hepático. Esto es muy evidente en el caso del daño hepático por isquemia-reperusión. Hay evidencias morfológicas de la activación de las células de Kupffer 1-3 h después de la reperusión del hígado²⁶. Como consecuencia de su activación se produce el reclutamiento de neutrófilos y la liberación por ambos tipos celulares de anión superóxido, $\text{TNF}\alpha$, factor activador de las plaquetas (PDGF), LTB_4 , PGD_2 , PGE_2 y TXA_2 , factores que desencadenarían la lesión tisular²⁷. La inactivación de las células de Kupffer mediante GdCl_3 es capaz de reducir la lesión hepatocelular en modelos experimentales de reperusión y trasplante²⁷.

CITOCINAS Y FACTORES DE CRECIMIENTO

Las citocinas y los factores de crecimiento son mediadores de comunicación celular de bajo peso molecular²⁸. Aunque con notables diferencias en cuanto a la cantidad, casi todas las células de nuestro organismo, entre las que se incluye la mayoría de células hepáticas, poseen la capacidad de producir y secretar citocinas. Una vez liberadas, las citocinas interactúan con receptores específicos en las células diana donde inducen múltiples respuestas, frecuentemente de una forma pleiotrópica²⁸. El grupo de citocinas más relevante son las IL (hay un total de 18 IL diferentes), el $\text{TNF}\alpha$, el interferón gamma ($\text{IFN}\gamma$) y el $\text{TGF}\beta$. En el contexto de la lesión hepática, el $\text{TNF}\alpha$ y el $\text{TGF}\beta$ desempeñan un destacado papel, ya que son importantes mediadores de inflamación y de remodelado de matriz extracelular y de fibrogénesis.

Hay amplias evidencias que indican la asociación entre la señalización del $\text{TNF}\alpha$ con la muerte hepatocelular²⁹. Los efectos biológicos del $\text{TNF}\alpha$ están mediados por su unión a dos receptores de membrana: TNF-R1 y TNF-R2 ²⁹. Los efectos biológicos del $\text{TNF}\alpha$ pueden estar también mediados por el factor de transcripción $\text{NF-}\kappa\text{B}$ ^{29,30}. En hepatocitos, la unión del ligando al receptor TNF-R1 se asocia a la inducción de apoptosis, aunque la participación del receptor TNF-R2 en la apoptosis mediada por células T no se puede descartar totalmente^{29,30}. Además, en la mayoría de circunstancias, el $\text{TNF}\alpha$ induce la liberación de otras citocinas inflamatorias, como la IL-1 y la IL-6, por los macrófagos hepáticos, lo que amplifica y cronifica el grado de lesión hepatocelular^{29,30}. En estudios realizados en humanos se ha descrito una estrecha asociación genética entre diversos polimorfismos del promotor del $\text{TNF}\alpha$ y el riesgo de desarrollar hepatopatía alcohólica³¹ y hepatitis fulminante³². En estudios experimentales se ha demostrado que el $\text{TNF}\alpha$ tiene un papel causal en la lesión hepática provocada por el alcohol y en la hepatotoxicidad inducida por D-galactosamina³³. En el modelo de D-galactosamina, por ejemplo, el $\text{TNF}\alpha$ induce la activación de la vía de las caspasas, lo que provoca la muerte de los hepatocitos por apoptosis, la infiltración de leucocitos y la muerte por fallo hepático³³. Estos efectos hepatotóxicos estarían mediados por el receptor TNF-R1 , puesto que los ratones deficientes para este receptor están protegidos frente al daño hepático inducido por la D-galactosamina³⁴. Además, el $\text{TNF}\alpha$ ejerce un papel importante en el modelo de CCl_4 , ya que los ratones deficientes para sus 2 receptores son resistentes al desarrollo de necroinflamación y fibrosis inducido por este hepatotóxico³⁵. Evitar los efectos dañinos del $\text{TNF}\alpha$ en los hepatocitos proporcionaría una vía terapéutica importante para el tratamiento de la hepatopatía alcohólica o tóxica. Una de las alternativas terapéuticas disponibles actualmente es el fármaco infliximab (Remicade®), un anticuerpo monoclonal quimérico dirigido contra $\text{TNF}\alpha$. Este anticuerpo se utiliza actualmente en el tratamiento de la enfermedad de Crohn y la artritis reumatoide, y está en fase de ensayo clínico para el tratamiento de la sarcoidosis.

dosis y la vasculitis³⁶⁻³⁸. En el caso del hígado, dos estudios clínicos preliminares apuntan hacia un efecto beneficioso del infliximab en pacientes con hepatitis alcohólica grave^{39,40}. Sin embargo, se han documentado la aparición de efectos adversos (p. ej., mayor incidencia de infecciones) y los ensayos con infliximab han sido suspendidos⁴¹. Además, la seguridad de este fármaco se halla en entredicho, sobre todo después de haberse detectado episodios de reactivación del virus de la hepatitis B o de la hepatitis autoinmune en pacientes con enfermedad de Crohn o con artritis bajo tratamiento con este fármaco^{42,43}.

El TGFβ es una citocina/factor de crecimiento involucrada en la progresión de la lesión hepática. El TGFβ es esencialmente un citocina profibrótica que desempeña un papel fundamental en la activación de las células hepáticas estrelladas (HSC) y en el desarrollo de fibrogénesis⁴⁴. En concreto, en respuesta al TGFβ liberado por las células de Kupffer, las HSC sufren un proceso de transdiferenciación desde un fenotipo quiescente almacenador de lípidos, a un fenotipo activado que se asemeja a un miofibroblasto. Una vez activadas, las HSC producen los principales componentes de la matriz extracelular, y secretan mediadores proinflamatorios (citocinas, quimiocinas...), los cuales activan las HSC circundantes y, por tanto, autoperpetúan el daño hepático. De hecho, algunos estudios experimentales demuestran que los ratones transgénicos que sobreexpresan TGFβ desarrollan fibrosis hepática de forma espontánea⁴⁵, mientras que el bloqueo de su síntesis o de su mecanismo de señalización da lugar a un efecto antifibrogénico neto⁴⁶.

ESTRÉS OXIDATIVO

La mayoría de procesos biológicos relacionados con la generación de energía por la mitocondria y las reacciones de detoxificación celular generan de forma inevitable radicales libres, moléculas altamente inestables que contienen un electrón desapareado y, por tanto, altamente reactivo⁴⁷. Hay factores externos que aumentan la producción de radicales libres en nuestro organismo, como el consumo de tabaco y alcohol o las radiaciones ionizantes⁴⁷. Los radicales libres más comunes son los productos derivados del metabolismo del oxígeno (espe-

cies reactivas del oxígeno [ROS]) (tabla II) y del nitrógeno (especies reactivas del nitrógeno [RNS]). ROS y RNS pueden combinarse entre ellos dando lugar a especies más tóxicas o dañinas, como el anión peroxinitrito (ONOO⁻), un producto resultante de la reacción del anión superóxido (O₂⁻) y el óxido nítrico (NO). En el organismo, las ROS reaccionan ávidamente con sustratos orgánicos, como los lípidos, las proteínas y el ADN, dañando las células y promoviendo el desarrollo de diversas enfermedades⁴⁷. Afortunadamente, nuestro organismo posee sistemas antioxidantes, como la superóxido dismutasa (SOD) o la glutatión peroxidasa, con capacidad de amortiguar los efectos de las ROS. En condiciones normales, el balance entre las ROS y los sistemas antioxidantes está equilibrado, pero en ciertas circunstancias puede haber una sobreproducción de ROS o un descenso de los sistemas antioxidantes, dando lugar a la aparición de estrés oxidativo y lesión celular⁴⁷.

El estrés oxidativo ejerce un papel preponderante en la patogenia de la lesión hepatoceleular. De hecho, se ha descrito una sobreproducción de ROS y un aumento de la peroxidación lipídica en pacientes con hepatitis alcohólica, esteatohepatitis y cirrosis⁴⁸. De forma experimental, hay estudios que apoyan un papel central para el estrés oxidativo en la patogenia de la lesión hepática. En concreto, en el modelo de CCl₄, en el cual la generación de radicales libres produce una lipoperoxidación hepática masiva, la administración de agentes antioxidantes, como el cinc, la vitamina E o el S-adenosil-metionina (SAME), es capaz de contrarrestar y atenuar el daño hepatoceleular¹².

MEDIADORES LIPÍDICOS DE INFLAMACIÓN

Los mediadores lipídicos de inflamación son compuestos de naturaleza lipídica con bajo peso molecular y una gran actividad biológica. Representan una de las redes de comunicación celular más complejas del organismo. La biosíntesis de mediadores lipídicos se inicia generalmente en respuesta a un estímulo que induce a las células a utilizar los lípidos de su membrana celular para generar mediadores lipídicos que actúan como señales intracelulares o extracelulares. Un ejemplo paradigmático de esta clase de mediadores son los metabolitos del ácido araquidónico, un ácido graso poliinsaturado que se libera de los fosfolípidos de la membrana celular plasmática mediante la acción de la enzima fosfolipasa A₂⁴⁹. Alternativamente, el *pool* de fosfolípidos de membrana puede ser metabolizado a 1-alkil-2-acetil-lisofosfatidilcolina o PAF, otro potente mediador lipídico⁵⁰. Las concentraciones intracelulares de ácido araquidónico libre en células de mamíferos son normalmente muy bajas, ya que este ácido graso es rápidamente metabolizado a un grupo de compuestos que se denominan de forma genérica eicosanoides. En los mamíferos hay dos principales vías de metabolismo del ácido araquidónico: la vía de la ciclooxigenasa (COX) y la vía de las lipooxigenasas (LO), mediante las cuales se sintetizan la mayor parte de los eicosanoides biológicamente activos, como los prostanooides

TABLA II. Lista de las especies reactivas del oxígeno más relevantes en la lesión hepática

Radicales	
Hidroxilo	OH
Anión superóxido	O ₂ ⁻
Óxido nítrico	NO
Radical peroxilo	RO ₂
Radical lípido peroxilo	LOO
No radicales	
Anión peroxinitrito	ONOO ⁻
Ácido hipocloroso	HClO
Peróxido de hidrógeno	H ₂ O ₂
Ozono	O ₃
Hidroperóxido lipídico	LOOH

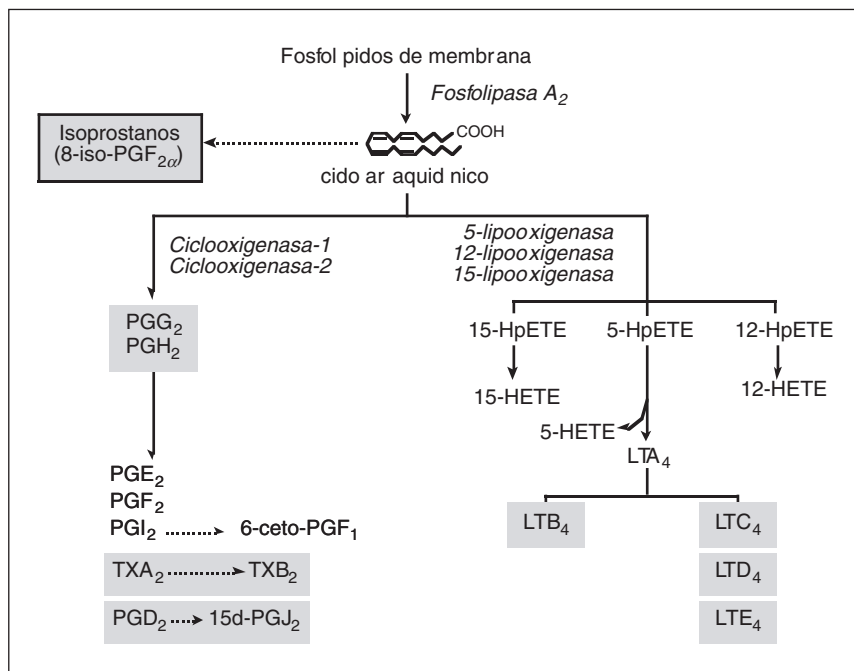


Fig. 1. Mediadores lipídicos de inflamación derivados del ácido araquidónico. Los fosfolípidos presentes en la membrana celular son transformados a un ácido graso de 20 átomos de carbono, el ácido araquidónico, el cual es oxidado de forma enzimática por las vías de la ciclooxigenasa (COX) y las lipooxigenasas (LO), o bien de forma no enzimática mediante la acción de los radicales libres a isoprostanos. Mediante la vía de la COX, de la cual hay dos isoformas (COX-1 y COX-2), el ácido araquidónico es transformado a las distintas prostaglandinas (PG) y tromboxano (TX) A₂. La PGD₂ es convertida de forma no enzimática a la 15-deoxi-PGJ₂ (15d-PGJ₂). Mediante la vía de las LO, la cual incluye la 5-, la 12- y la 15-LO, el ácido araquidónico da lugar a los ácidos hidroperoxicicosatetraénicos 5-, 12- y 15-HpETE, que son posteriormente reducidos a 5-, 12- y 15-HETE, respectivamente. El 5-HpETE también puede ser hidrolizado a LTB₄ o bien convertido en LTC₄/LTD₄/LTE₄, los cisteinil-LT. En este esquema se resaltan en un cuadro sombreado los mediadores derivados del ácido araquidónico con implicación directa en el daño hepatoceleular.

(PG y TX), los LT y los ácidos hidroxieicosatetraenoicos (HETE) (fig. 1)^{51,52}.

Ciclooxigenasa y lipooxigenasa

De forma clásica, se conoce la existencia de la vía de la COX, mediante la cual el ácido araquidónico es convertido a las distintas PG y TX^{50,51}. La COX es una hemoproteína de membrana formada por dos polipéptidos idénticos de 70 kD, que funciona como una enzima bifuncional llevando a cabo las dos primeras etapas de la biosíntesis de prostanooides: a) la oxidación del ácido araquidónico para formar la estructura cíclica PGG₂ (actividad ciclooxigenasa propiamente dicha), y b) la peroxidación de la PGG₂ para originar el PGH₂ (actividad peroxidasa)^{50,51}. Hasta el momento, se han clonado y caracterizado dos isoformas de la COX: COX-1 y COX-2. Aunque ambas isoformas son sensibles en mayor o menor grado a la inhibición por parte de los antiinflamatorios no esteroideos, estas isoformas se distinguen esencialmente por su función fisiológica. En este sentido, se considera que la COX-1 es una isoforma constitutiva que tendría un papel clave en el mantenimiento de las funciones homeostáticas básicas, promovería la producción de PG básicamente protectoras y sería la forma predominante en la mucosa gástrica y las plaquetas⁵³. Por el contrario, y con notables excepciones, como el riñón y el sistema nervioso, la COX-2 es una isoforma inducible que no se expresa en condiciones normales; su expresión se induce en procesos inflamatorios y de proliferación, y diferenciación celular⁵³. En cualquier caso, independientemente de su origen, el endoperóxido PGH₂ constituye el metabolito intermediario de la biosíntesis de las distintas PG: PGE₂, PGI₂ o

prostaciclina, PGF_{2α} y PGD₂ por sintasas terminales específicas. Así, por ejemplo, la PGH₂ es transformada por la PGD sintasa a PGD₂, por la PGE sintasa a PGE₂, por la PGF sintasa a PGF_{2α} y por la PGI sintasa a PGI₂ o prostaciclina. Se han descrito tres PGE sintasas distintas (cPGE, mPGE-1 y mPGE-2) y dos isoformas de la PGD sintasa (H-PGD y L-PGD). Sobre la PGH₂ actúa también la TX sintasa que origina el TXA₂. Tanto PGI₂ como TXA₂ son compuestos muy inestables (con una vida media de 3 min para la PGI₂ y de 30 s para el TXA₂) y se hidrolizan espontáneamente a 6-ceto-PGF_{1α} y TXB₂, respectivamente, los cuales no poseen actividad biológica. Asimismo, la PGD₂ es convertida de forma no enzimática a la 15-deoxi-PGJ₂ (15d-PGJ₂), que sí posee actividad biológica (ver más adelante). Hasta el momento se han descrito 10 diferentes tipos y subtipos de receptores de prostanooides, los cuales al igual que las sintasas responsables de su síntesis, se expresan de forma específica en cada uno de los tejidos y tipos celulares^{54,55}. Cuatro de estos receptores reconocen a la PGE₂ (EP1, EP2, EP3 y EP4), 2 unen PGD₂ (DP1 y DP2), 2 unen TXA₂ (TPα y TPβ) y los 2 restantes son receptores únicos para PGF_{2α} y PGI₂ (FP y IP, respectivamente)^{54,55}. Los prostanooides, especialmente las PG y, entre ellas, la PGE₂, desempeñan un papel fundamental en la inflamación, de forma que la inhibición de su síntesis representa el mecanismo de acción establecido de los fármacos antiinflamatorios actualmente disponibles⁵⁶.

La segunda vía de metabolismo del ácido araquidónico es la vía de las LO, la cual agrupa a una familia de dioxigenasas que transforman el ácido araquidónico en LT y HETE^{51,52}. En humanos hay tres distintas LO, que se denominan 5-LO, 12-LO y 15-LO, las cuales incorporan una molécula de oxígeno en los carbonos 5, 12 o 15, res-

pectivamente, del ácido araquidónico^{51,52}. La 5-LO convierte el ácido araquidónico en 5-HETE y LT, mientras que la 12-LO y la 15-LO generan los correspondientes 12- y 15-HETE, respectivamente^{51,52}. La vía de la 5-LO es la más relevante desde el punto de vista fisiológico y farmacológico, ya que es la responsable de la síntesis de LT. Para sintetizar LT es necesaria la translocación de la 5-LO desde el citosol a la membrana nuclear, donde interacciona con la proteína activadora de la 5-LO (FLAP), la cual facilita la presentación del ácido araquidónico al centro activo de la 5-LO y la transformación de este en 5-HPETE^{51,52}. El 5-HPETE es posteriormente convertido por la misma 5-LO a 5-HETE y a LTA₄^{51,52}. El LTA₄ es un compuesto inestable y altamente reactivo, que es rápidamente transformado por la LTA₄ hidrolasa a LTB₄, o bien conjugado con el glutatión mediante la actividad de la enzima LTC₄ sintasa para dar lugar a LTC₄. El LTC₄ es transformado mediante pérdida sucesiva de residuos aminoacídicos en LTD₄ y LTE₄, los cuales reciben el nombre genérico de cisteinil-LT. Una vez sintetizados y liberados, los productos derivados de la 5-LO ejercen sus efectos biológicos mediante la activación de receptores acoplados a proteína G. Hasta el momento, se han clonado 2 receptores distintos para el LTB₄ y 2 para los cisteinil-LT. Los receptores B-LT1 y B-LT2 reconocen al LTB₄ con alta y baja afinidad, respectivamente. El receptor B-LT1 se localiza principalmente en los leucocitos y su activación induce una notable respuesta quimiotáctica, mientras que el receptor B-LT2 se expresa en la mayoría de tejidos, aunque su función es actualmente desconocida⁵⁵. Los dos receptores para los cisteinil-LT, Cys-LT1 y Cys-LT2, reconocen LTC₄ y LTD₄. El receptor Cys-LT1 se localiza abundantemente en el músculo liso pulmonar y su activación se asocia a vasoconstricción y adhesión celular⁵⁵. El receptor Cys-LT2 se distribuye de forma uniforme entre las venas pulmonares, el bazo, las fibras de Purkinje, el corazón y la glándula adrenal, aunque su función es todavía desconocida⁵⁵. Los LT son potentes mediadores de inflamación y daño celular⁵⁷. El LTB₄, en concreto, es un potente agente quimioatractivo, un potente inductor de adhesión celular y el principal estímulo para la producción de ión superóxido y la liberación de enzimas hidrolíticos por el neutrófilo⁵⁷. Asimismo, los cisteinil-LT, que originalmente se identificaron como las sustancias de reacción lenta liberadas en el curso de las reacciones anafiláticas (*slow reacting substance of anaphylaxis*), además de su actividad vasoconstrictora, son potentes agentes quimioatractivos para los eosinófilos, incrementan la permeabilidad vascular en las vénulas postcapilares e inducen la síntesis y la liberación de otros mediadores de inflamación, como la IL-8 y el PAF⁵⁷.

Dado que la síntesis de eicosanoides se produce normalmente en células inflamatorias, como neutrófilos, eosinófilos, macrófagos y mastocitos, la célula de interés en el contexto del hígado sería la célula de Kupffer. De hecho, una vez activadas, las células de Kupffer, expresan COX-1 y COX-2 y sintetizan la mayoría de productos de esta vía, entre las que se incluyen PGE₂, PGD₂, PGF_{2α}, PGI₂ y

TXA₂^{15,58}. El principal prostanoides liberado por las células de Kupffer activadas es la PGD₂⁵⁸, el precursor de la 15d-PGJ₂ (ver más adelante). Además, se ha descrito que la liberación de PGE₂ por la célula de Kupffer en respuesta al alcohol induce la síntesis de triglicéridos en hepatocitos y contribuye a la aparición de esteatosis¹⁹. Respecto a la vía de la 5-LO, clásicamente se ha considerado a la célula de Kupffer como la responsable de la síntesis de LT en el hígado⁵⁹. De hecho, en el tejido hepático, las células de Kupffer son el único tipo celular que posee la maquinaria enzimática necesaria (5-LO, FLAP, LTA₄ hidrolasa y LTC₄ sintasa) para la síntesis de estos eicosanoides^{60,61}. La producción de LTB₄ en el hígado parece depender casi exclusivamente de las células de Kupffer, aunque hay estudios realizados en hepatocitos en cultivo que indican que el alcohol puede estimular la liberación al medio de una sustancia con propiedades quimioatractivas de estructura semejante al LTB₄⁶². Sin embargo, algunos estudios recientes demuestran que la producción de LTB₄ por los hepatocitos es irrelevante, ya que no hay ninguna evidencia directa de la presencia de LTA₄ hidrolasa en estas células⁶³. Lo que no se puede descartar es que parte de los cisteinil-LT producidos en el hígado puedan originarse por un metabolismo transcelular, puesto que la LTC₄ sintasa se expresa también en los hepatocitos y en las células endoteliales⁶¹. De hecho, en nuestro laboratorio hemos demostrado que el LTA₄ producido por las células de Kupffer es transformado por los hepatocitos a cisteinil-LT⁶¹.

La participación de los mediadores lipídicos derivados del ácido araquidónico en la lesión hepática es un tema de interés creciente. En primer lugar, se ha demostrado que la expresión de la COX-2 se halla aumentada en pacientes infectados crónicamente con el virus de la hepatitis B o C y en los pacientes con cirrosis⁶⁴⁻⁶⁷. Además, en los pacientes con hepatitis C crónica hay una estrecha correlación entre el grado de progresión a fibrosis hepática y la expresión de la COX-2⁶⁴. La inducción de la COX-2 y el aumento de los valores hepáticos de PG se han confirmado experimentalmente en ratas en que se ha inducido una lesión hepática con CCl₄⁶⁸, en modelos de hepatopatía alcohólica^{69,70} y en ratones con esteatohepatitis no alcohólica inducida por dietas lipogénicas deficientes en colina y metionina⁷¹⁻⁷³. Un brillante estudio publicado recientemente demuestra que los ratones transgénicos que sobreexpresan el gen de la COX-2 humana en el hígado presentan valores elevados de transaminasas y signos histológicos de hepatitis⁷⁴. En otro estudio reciente, se ha demostrado que el replicón del virus de la hepatitis C es capaz de estimular la expresión de la COX-2 y aumentar los valores de PGE₂ en cultivos de líneas celulares de hepatocitos⁷⁵. En células hepáticas estrelladas en cultivo, la expresión de la COX-2 se induce en respuesta a sales biliares y mitógenos, como el PDGF, los cuales aumentan la proliferación y la resistencia a la apoptosis en estas células^{76,77}. Actualmente hay una cierta controversia respecto a si el efecto fibrogénico de la COX-2 está mediado o no por PG, ya que se han observado efectos reguladores tanto positivos como negativos de la PGE₂ sobre la activa-

ción de las células hepáticas estrelladas en cultivo⁷⁸⁻⁸¹. Resultados más concluyentes se han obtenido mediante el uso de inhibidores selectivos de la COX-2. Estos compuestos reducen la proliferación de las células hepáticas estrelladas en cultivo y ejercen efectos antifibrogénicos en modelos animales de esteatohepatitis o con fibrosis hepática inducida por CCl₄^{68,72,82-84}. Resta por esclarecer si los efectos antifibrogénicos de los inhibidores de la COX-2 están más bien mediados por la activación de PPAR γ , que por la propia inhibición de la síntesis de PG⁸⁵.

Efectos similares a la vía de la COX-2 se han descrito para los metabolitos de la vía de la 5-LO. En este sentido, se ha demostrado un incremento de la expresión de la 5-LO y un aumento de los valores hepáticos de metabolitos de la 5-LO en ratas con fibrosis hepática inducida por CCl₄ o tioacetamida^{61,86,87}. En línea con estos resultados, se ha demostrado un aumento de la excreción urinaria de productos derivados de la 5-LO en pacientes con enfermedad hepática crónica^{88,89}. En estudios in vitro se ha demostrado que los productos de la 5-LO, principalmente el LTD₄, son capaces de estimular la proliferación y la síntesis de colágeno en células hepáticas estrelladas y fibroblastos⁹⁰⁻⁹². En modelos experimentales, el bloqueo de la vía de la 5-LO mediante el compuesto Bay-X-1005, un inhibidor de la FLAP, reduce la necroinflamación y la fibrogénesis hepática^{93,94}. Efectos similares se han obtenido mediante un inhibidor de la 5-LO, el compuesto CJ-13,610⁸⁴. Además, se ha demostrado que los ratones deficientes (*knockout*) para la 5-LO están protegidos ante el daño necroinflamatorio inducido por el CCl₄⁸⁴. Se ha sugerido que el mecanismo por el cual la inhibición de la 5-LO se asocia a un efecto antifibrogénico estaría relacionado no sólo con la inhibición de la síntesis de LT sino también a la inducción de apoptosis en las células inflamatorias del hígado⁹³. De hecho, se ha demostrado que los inhibidores de la 5-LO inducen apoptosis en células de Kupffer en cultivo⁹³ y que los efectos antifibrogénicos de estos compuestos se producen de forma paralela a un descenso significativo del número de macrófagos^{93,94}. Puesto que los inhibidores de la 5-LO inducen apoptosis de forma exclusiva en células que contienen una vía de la 5-LO metabólicamente activa, y dado que en el hígado esto sólo ocurre en las células de Kupffer y en las células inflamatorias infiltradas⁶¹, la inhibición de la 5-LO representa una estrategia válida para la prevención de la inflamación y la fibrosis hepática. De hecho, la inhibición de la vía de la 5-LO y la modulación de la función de las células de Kupffer constituye el mecanismo de acción de flavonoides naturales, como la silimarina, cuya eficacia ha sido evaluada en pacientes con hepatitis alcohólica y esteatohepatitis no alcohólica^{95,96}.

Prostaglandinas ciclopentenonas

Un capítulo aparte lo constituyen las PG ciclopentenonas (cyPG), que son los productos no enzimáticos de la deshidratación de las PG (fig. 2). Las cyPG se caracterizan estructuralmente por la presencia de un grupo carbonilo no

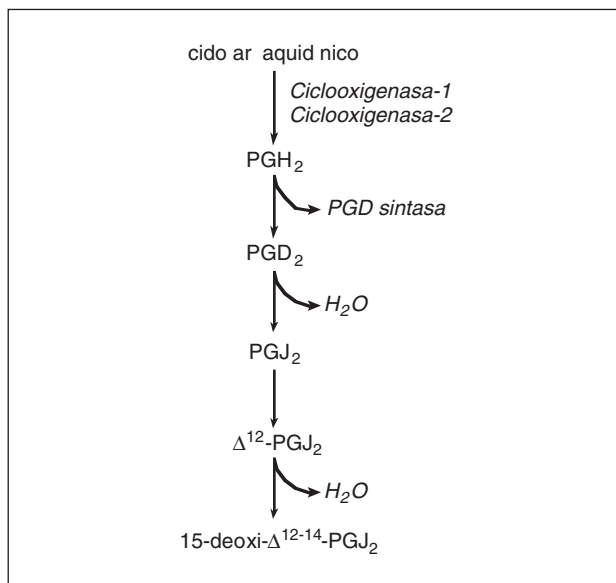


Fig. 2. Biosíntesis de prostaglandinas (PG) ciclopentenonas. La PGD₂ que se genera mediante la acción secuencial de la ciclooxigenasa y la PGD sintasa, da lugar mediante mecanismos no enzimáticos de deshidratación a la PGJ₂ ciclopentenona y sus derivados Δ^{12} -PGJ₂ y 15-deoxi- Δ^{12-14} -PGJ₂ (15d-PGJ₂).

saturado altamente reactivo en el anillo ciclopentenona⁹⁷. Las cyPG más relevantes desde el punto de vista biológico son las PG de la serie J₂ (PGJ₂, Δ^{12} -PGJ₂ y 15d-PGJ₂), todas ellas derivadas de la PGD₂. No se ha descrito hasta el momento ningún receptor que reconozca las cyPG, pero sí se ha demostrado que la 15d-PGJ₂ es un ligando natural del PPAR γ , cuya activación posiblemente medie las propiedades antiinflamatorias de esta CyPG⁹⁸. De los efectos biológicos de las CyPG destacan principalmente las propiedades antiproliferativas y proapoptóticas mediadas por la modulación de H-Ras, MAPK y Akt^{99,100}. Aparentemente, la fuente principal de 15d-PGJ₂ es la isoforma COX-2. Nuestro laboratorio ha demostrado un aumento de los valores hepáticos de 15d-PGJ₂ de forma paralela a la sobreexpresión de COX-2 durante la lesión hepática inducida por el CCl₄⁶⁸. En este estudio, la inhibición de la COX-2 disminuyó significativamente la formación hepática de 15d-PGJ₂ y confirió un estado de hepatoprotección. Estos resultados son consistentes con el hecho de que la 15d-PGJ₂ aumenta el daño hepatocelular inducido por el alcohol alílico¹⁰¹.

Generación de especies reactivas del oxígeno a través de la ciclooxigenasa y las lipooxigenasas

Se ha descrito la producción de ROS durante la oxidación del ácido araquidónico a través de la COX y las LO¹⁰². De hecho, los productos iniciales de la síntesis de eicosanoides generan metabolitos intermediarios que son también altamente peroxidativos. Además, algunos de estos intermediarios, como el LTA₄, es capaz de formar aductos en el tejido. Otras reacciones mediadas por las LO generan

peróxidos reactivos, como el ácido 13-hidroxiocetadecadienóico (13-HODE) a partir de la 15-LO¹⁰³. Por último, apuntar que algunas de las enzimas de la cascada del ácido araquidónico, como el glutatión S-transferasa o el epóxido hidrolasa, pertenecen a familias cuyas funciones están involucradas en la detoxificación celular. Esto sugiere que las vías de biosíntesis de eicosanoides podrían haber evolucionado originalmente a partir de los sistemas primitivos de detoxificación.

Isoprostanos

Las membranas lipídicas son altamente susceptibles al ataque de los radicales libres del oxígeno y a la peroxidación. Así, el ácido araquidónico presente en los fosfolípidos de membrana sufre un proceso de peroxidación in situ que da lugar a la síntesis de isoprostanos. A diferencia de la producción de PG catalizada por la COX, los isoprostanos formados in situ se esterificarían en los lípidos tisulares y se liberarían subsecuentemente preformados^{104,105}. Su biosíntesis incluye la formación de biciclo-endoperóxidos intermediarios del tipo PGH₂, que son reducidos a 4 regioisómeros del tipo PGF_{2α} y que se les conoce colectivamente como F2 isoprostanos. El 8-iso-PGF_{2α} es el isoprostano más abundante y constituye el estándar de referencia de la determinación in vivo del grado de estrés oxidativo¹⁰⁶.

Dado que los isoprostanos son isómeros de las PG, se ha postulado que estos compuestos no son simples marcadores de peroxidación lipídica, sino que también poseen actividad biológica específica. En este sentido, se ha demostrado que el 8-iso-PGF_{2α} es un potente vasoconstrictor, un potente activador de la proliferación de células musculares lisas y endoteliales, así como un potencial mediador de daño oxidativo¹⁰⁷. Respecto a este último punto, se ha descrito que la formación de isoprostanos per se causa una clara distorsión de la membrana plasmática, dando lugar a cambios en su fluidez e integridad¹⁰⁸. Además, se ha demostrado que la presencia de valores elevados de isoprostanos induce citotoxicidad en células en cultivo¹⁰⁹. Respecto al hígado, la primera evidencia de la formación in vivo de F2-isoprostanos se obtuvo en el modelo de lesión hepática inducido por CCl₄¹¹⁰. Posteriormente, se demostró la presencia de valores incrementados de F2-isoprostanos en la orina de pacientes con hepatitis alcohólica¹¹¹ y en modelos experimentales de esta enfermedad¹¹². Por último, se ha constatado que los pacientes con hepatitis C o cirrosis biliar primaria también presentan una excreción urinaria de F2-isoprostanos elevada^{113,114}.

Efectos protectores de los ácidos grasos omega-3

Al contrario de los ácidos grasos omega-6 (el ácido araquidónico, el precursor común de PG y LT, es uno de ellos), los ácidos grasos omega-3 poseen propiedades antiinflamatorias y hepatoprotectoras. Los efectos beneficiosos de los omega-3 estarían mediados por al menos

cuatro mecanismos distintos: *a)* la inhibición de la disponibilidad de ácido araquidónico en la membrana celular plasmática para la síntesis de PG y LT; *b)* la inhibición directa de las vías de la COX-2 y la 5-LO; *c)* la síntesis a partir de los propios ácidos grasos omega-3 de PG de la serie 3 y LT de la serie 5 con menor capacidad inflamatoria que las PG de la serie 2 y LT de la serie 4, que son las que se producen a partir del ácido araquidónico, y *d)* la síntesis a partir de los propios ácidos grasos omega-3 de nuevos mediadores lipídicos con claras propiedades antiinflamatorias (p. ej., resolvinas y protectinas)^{115,116}. En función de estos resultados, en nuestro laboratorio hemos demostrado que las dietas ricas en los ácidos grasos omega-3 ácido docosahexaenóico y ácido eicosapentaenóico reducen de forma significativa la necroinflamación hepática en ratones con daño hepático inducido por CCl₄¹¹⁷. Los efectos hepatoprotectores de los omega-3 serían en este caso secundarios a la inhibición de la síntesis de mediadores lipídicos derivados de las vías de la 5-LO y la COX-2, al descenso del daño genotóxico y de los valores de estrés oxidativo en los hepatocitos y a la disminución de la liberación de TNFα por los macrófagos¹¹⁷.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro laboratorio está financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (SAF 06/03191). CIBEREHD está financiado por el Instituto de Salud Carlos III.

BIBLIOGRAFÍA

- Rodés J, Benhamou J-P, Blei A, Reichen J, Rizzetto M, editors. The textbook of hepatology: from basic science to clinical practice. 3rd ed. Malden: Blackwell Publishing; 2007.
- Malhi H, Gores GJ, Lemasters JJ. Apoptosis and necrosis in the liver: a tale of two deaths? *Hepatology*. 2006;43:31-44.
- Mandrekar P. Signaling mechanisms in alcoholic liver injury: role of transcription factors, kinases and heat shock proteins. *World J Gastroenterol*. 2007;13:4979-85.
- Guicciardi ME, Gores GJ. Cholestatic hepatocellular injury: what do we know and how should we proceed. *J Hepatol*. 2005;42:297-300.
- Mengshol JA, Golden-Mason L, Rosen HR. Mechanisms of Disease: HCV-induced liver injury. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*. 2007;4:622-34.
- Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2002;346:1221-31.
- Clària J, Titos E. Kupffer cell. *Gastroenterol Hepatol*. 2004;27:264-73.
- Munthe-Kaas AC. Phagocytosis in rat Kupffer cells in vitro. *Exp Cell Res*. 1976;99:319-27.
- Fox ES, Broitman SA, Thomas P. Bacterial endotoxins and the liver. *Lab Invest*. 1990;63:733-41.
- Van Bossuyt H, Wisse E. Cultured Kupffer cells, isolated from human and rat liver biopsies, ingest endotoxin. *J Hepatol*. 1988;7:45-56.
- Rogoff TM, Lipsky PE. Role of the Kupffer cells in local and systemic immune responses. *Gastroenterology*. 1981;80:854-60.
- Ferré N, Clària J. New insights into the regulation of liver inflammation and oxidative stress. *Mini Rev Med Chem*. 2006;6:1321-30.
- Jaeschke H, Bautista AP, Spolarics Z, Spitzer JJ. Superoxide generation by neutrophils and Kupffer cells during in vivo reperfusion after hepatic ischemia in rats. *J Leukoc Biol*. 1992;52:377-82.

14. Johnson SJ, Hines JE, Burt AD. Macrophage and perisinusoidal cell kinetics in acute liver injury. *J Pathol.* 1992;166:351-358-72.
15. Winwood PJ, Arthur MJ. Kupffer cells: their activation and role in animal models of liver injury and human liver disease. *Semin Liver Dis.* 1993;13:50-9.
16. Edwards MJ, Keller BJ, Kauffman FC, Thurman RG. The involvement of Kupffer cells in carbon tetrachloride toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1993;119:275-9.
17. Arthur MJ, Bentley IS, Tanner AR, Saunders PK, Millward-Sadler GH, Wright R. Oxygen-derived free radicals promote hepatic injury in the rat. *Gastroenterology.* 1985;89:1114-22.
18. Knecht KT, Adachi Y, Bradford BU, Iimuro Y, Kadiiska M, Xuang QH, et al. Free radical adducts in the bile of rats treated chronically with intragastric alcohol: inhibition by destruction of Kupffer cells. *Mol Pharmacol.* 1995;47:1028-34.
19. Enomoto N, Ikejima K, Yamashina S, Enomoto A, Nishiura T, Nishimura T, et al. Kupffer cell-derived prostaglandin E(2) is involved in alcohol-induced fat accumulation in rat liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2000;279:100G-6G.
20. Maher JJ. Rat hepatocytes and Kupffer cells interact to produce interleukin-8 (CINC) in the setting of ethanol. *Am J Physiol.* 1995;269:518G-23G.
21. Thornton AJ, Ham J, Kunkel SL. Kupffer cell-derived cytokines induce the synthesis of a leukocyte chemotactic peptide, interleukin-8, in human hepatoma and primary hepatocyte cultures. *Hepatology.* 1991;14:1112-22.
22. Shiratori Y, Takada H, Hikiba Y, Nakata R, Okano K, Komatsu Y, et al. Production of chemotactic factor, interleukin-8, from hepatocytes exposed to ethanol. *Hepatology.* 1993;18:1477-82.
23. Vessey DA. Metabolism of xenobiotics by the human liver. En: Zakim D, Boyer TD, editors. *Hepatology. A text book of liver disease.* 4th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2002. p. 257-352.
24. Williams R. Classification, etiology, and considerations of outcome in acute liver failure. *Semin Liver Dis.* 1996;16:343-8.
25. Mathew J, Hines JE, James OF, Burt AD. Non-parenchymal cell responses in paracetamol (acetaminophen)-induced liver injury. *J Hepatol.* 1994;20:537-41.
26. Caldwell-Kenkel JC, Currin RT, Tanaka Y, Thurman RG, Lemasters JJ. Kupffer cell activation and endothelial cell damage after storage of rat livers: effects of reperfusion. *Hepatology.* 1991;13:83-95.
27. Jaeschke H. Pathophysiology of hepatic ischemia-reperfusion injury: the role of complement activation. *Gastroenterology.* 1994;107:583-6.
28. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest.* 2000;118:503.
29. Czaja MJ. TNF toxicity-death from caspase or cathepsin, that is the question. *Hepatology.* 2001;34:844-6.
30. Heynink K, Wullaert A, Beyaert R. Nuclear factor-kappa B plays a central role in tumour necrosis factor-mediated liver disease. *Biochem Pharmacol.* 2003;66:1409-15.
31. Ladero JM, Fernández-Arquero M, Tudela JJ, Agudez JA, Díaz-Rubio M, Benítez J, et al. Single nucleotide polymorphisms and microsatellite alleles of tumor necrosis factor alpha and interleukin-10 genes and the risk of advanced chronic alcoholic liver disease. *Liver.* 2002;22:245-51.
32. Tsuchiya N, Tokushige K, Yamaguchi N, Hasegawa K, Hashimoto E, Yamauchi K, et al. Influence of TNF gene polymorphism in patients with acute and fulminant hepatitis. *J Gastroenterol.* 2004;39:859-66.
33. Leist M, Ganter F, Böhlinger I, Tiegs G, Germann PG, Wendel A. Tumor necrosis factor-induced hepatocyte apoptosis precedes liver failure in experimental murine shock models. *Am J Pathol.* 1995;146:1220-34.
34. Leist M, Gantner F, Jilg S, Wendel A. Activation of the 55 kDa TNF receptor is necessary and sufficient for TNF-induced liver failure, hepatocyte apoptosis, and nitrite release. *J Immunol.* 1995;154:1307-16.
35. Simeonova P, Gallucci RM, Hulderman T, Wilson R, Kommineni C, Rao M, et al. The role of tumor necrosis factor-alpha in liver toxicity, inflammation, and fibrosis induced by carbon tetrachloride. *Tox Appl Pharm.* 2001;177:112-20.
36. Comerford LW, Bickston SJ. Treatment of luminal and fistulizing Crohn's disease with infliximab. *Gastroenterol Clin North Am.* 2004;33:387-406.
37. Maini R, St Clair EW, Breedveld F, Furst D, Kalden J, Weisman M, et al. Infliximab (chimeric anti-tumour necrosis factor alpha monoclonal antibody) versus placebo in rheumatoid arthritis patients receiving concomitant methotrexate: a randomised phase III trial. ATTRACT Study Group. *Lancet.* 1999;354:1932-9.
38. Atzeni F, Doria A, Carrabba M, Turiel M, Sarzi-Puttini P. Potential target of infliximab in autoimmune and inflammatory diseases. *Autoimmun Rev.* 2007;6:529-36.
39. Spahr L, Rubbia-Brandt L, Frossard J, Giostra E, Rougemont A, Pugin J, et al. Combination of steroids with infliximab or placebo in severe alcoholic hepatitis: a randomized controlled pilot study. *J Hepatol.* 2002;37:448-55.
40. Tilg H, Jalan R, Kaser A, Davies NA, Offner FA, Hodges SJ, et al. Anti-tumor necrosis factor-alpha monoclonal antibody therapy in severe alcoholic hepatitis. *J Hepatol.* 2003;38:419-25.
41. Naveau S, Collet-Martin S, Dharancy S, Mathurin P, Jouet P, Piquet MA, et al. A double-blind randomized controlled trial of infliximab associated with prednisolone in acute alcoholic hepatitis. *Hepatology.* 2004;39:1390-7.
42. Ueno Y, Tanaka S, Shimamoto M, Mikanaya Y, Himaya T, Ito M, et al. Infliximab therapy for Crohn's disease in a patient with chronic hepatitis B. *Digest Dis Sci.* 2005;50:163-6.
43. Magro F, Pereira P, Carneiro F, Veloso FT. Reactive hepatitis in a patient with Crohn's disease successfully treated with infliximab: does tumor necrosis factor alpha play a role in reactive hepatitis? *Inflamm Bowel Dis.* 2005;11:88-90.
44. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest.* 2005;115:209-18.
45. Sanderson N, Factor V, Nagy P, Kopp J, Kondaiah P, Wakefield L, et al. Hepatic expression of mature transforming growth factor beta 1 in transgenic mice results in multiple tissue lesions. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:2572-6.
46. Shek FW, Benyon RC. How can transforming growth factor beta be targeted usefully to combat liver fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2004;16:123-6.
47. Dryden GW Jr, Deaciuc I, Arteel G, McClain CJ. Clinical implications of oxidative stress and antioxidant therapy. *Curr Gastroenterol Rep.* 2005;7:308-16.
48. Rojkind M, Domínguez-Rosales JA, Nieto N, Greenwel P. Role of hydrogen peroxide and oxidative stress in healing responses. *Cell Mol Life Sci.* 2002;59:1872-91.
49. Balsinde J, Winstead MV, Dennis EA. Phospholipase A(2) regulation of arachidonic acid mobilization. *FEBS Lett.* 2002;531:2-6.
50. Dudzinski DM, Serhan CN. Pharmacology of eicosanoids. En: Golan AH, Tashjian EJ, Amstrong C, et al, editors. *Principles of pharmacology. The pathophysiologic basis of drug therapy.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 627-46.
51. Romano M, Clària J. Cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase converging functions on cell proliferation and tumor angiogenesis: implications for cancer therapy. *FASEB J.* 2003;17:1986-95.
52. Samuelsson B, Dahlen SE, Lindgren JA, Rouzer CA, Serhan CN. Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis, and biological effects. *Science.* 1987;237:1171-6.
53. Clària J. Cyclooxygenase-2 biology. *Curr Pharm Des.* 2003;9:2177-90.
54. Breyer RM, Bagdassarian CK, Myers SA, Breyer MD. Prostanoid receptors: subtypes and signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2001;41:661-90.
55. Clària J, López-Parra M. New perspectives in the modulation of the eicosanoid cascade in inflammation. *Letters in Drug Design and Discovery.* 2005;2:391-402.
56. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for the aspirin-like drugs. *Nature.* 1971;231:232-5.
57. Lewis RA, Austen KF, Soberman RJ. Leukotrienes and other products of the 5-lipoxygenase pathway. Biochemistry and relation to pathobiology in human diseases. *N Engl J Med.* 1990;323:645-55.
58. Decker K. Eicosanoids, signal molecules of liver cells. *Semin Liver Dis.* 1985;5:175-90.
59. Keppler D, Huber M, Baumert T. Leukotrienes as mediators in diseases of the liver. *Semin Liver Dis.* 1988;8:357-66.

60. Planagumà A, Titos E, López-Parra M, Gaya J, Pueyo G, Arroyo V, et al. Aspirin (ASA) regulates 5-lipoxygenase activity and peroxisome proliferator-activated receptor alpha-mediated CINC-1 release in rat liver cells: novel actions of lipoxin A4 (LXA4) and ASA-triggered 15-epi-LXA4. *FASEB J*. 2002;16:1937-9.
61. Titos E, Clària J, Bataller R, Bosch-Marcé M, Ginès P, Jiménez W, et al. Hepatocyte-derived cysteinyl leukotrienes modulate vascular tone in experimental cirrhosis. *Gastroenterology*. 2000;119:794-805.
62. Perez HD, Roll FJ, Bissell DM, Shak S, Goldstein IM. Production of chemotactic activity for polymorphonuclear leukocytes by cultured rat hepatocytes exposed to ethanol. *J Clin Invest*. 1984;74:1350-7.
63. Habib GM, Cuevas AA, Barrios R, Lieberman MW. Mouse leukotriene A4 hydrolase is expressed at high levels in intestinal crypt cells and splenic lymphocytes. *Gene*. 1999;234:249-55.
64. Núñez O, Fernández-Martínez A, Majano PL, Apolinario A, Gómez-Gonzalo M, Benedicto I, et al. Increased intrahepatic cyclooxygenase 2, matrix metalloproteinase 2, and matrix metalloproteinase 9 expression is associated with progressive liver disease in chronic hepatitis C virus infection: role of viral core and NS5A proteins. *Gut*. 2004;53:1665-72.
65. Mohammed NA, El Aleem SA, El Hafiz HA, McMahon RF. Distribution of constitutive (COX-1) and inducible (COX-2) cyclooxygenase in postviral human liver cirrhosis: a possible role for COX-2 in the pathogenesis of liver cirrhosis. *J Clin Pathol*. 2004;57:350-4.
66. Cheng J, Imanishi H, Iijima H, Shimomura S, Yamamoto T, Amuro Y, et al. Expression of cyclooxygenase 2 and cytosolic phospholipase A(2) in the liver tissue of patients with chronic hepatitis and liver cirrhosis. *Hepatol Res*. 2002;23:185-95.
67. Cheng AS, Chan HL, Leung WK, To KF, Go MY, Chan JY, et al. Expression of HBx and COX-2 in chronic hepatitis B, cirrhosis and hepatocellular carcinoma: implication of HBx in upregulation of COX-2. *Mod Pathol*. 2004;17:1169-79.
68. Planagumà A, Clària J, Miquel R, López-Parra M, Titos E, Masferrer JL, et al. The selective cyclooxygenase-2 inhibitor SC-236 reduces liver fibrosis by mechanisms involving non-parenchymal cell apoptosis and PPARgamma activation. *FASEB J*. 2005;19:1120-2.
69. Nanji AA, Zakim D, Rahemtulla A, Daly T, Miao L, Zhao S, et al. Dietary saturated fatty acids down-regulate cyclooxygenase-2 and tumor necrosis factor alpha and reverse fibrosis in alcohol-induced liver disease in the rat. *Hepatology*. 1997;26:1538-45.
70. Nanji AA, Miao L, Thomas P, Rahemtulla A, Khwaja S, Zhao S, et al. Enhanced cyclooxygenase-2 gene expression in alcoholic liver disease in the rat. *Gastroenterology*. 1997;112:943-51.
71. Yu J, Ip E, Dela Pena A, Hou JY, Sessa J, Pera N, et al. COX-2 induction in mice with experimental nutritional steatohepatitis: role as pro-inflammatory mediator. *Hepatology*. 2006;43:826-36.
72. Yamamoto H, Kondo M, Shoji N, Nagano H, Wakasa KI, Sugita Y, et al. JTE-522, a cyclooxygenase-2 inhibitor, is an effective chemopreventive agent against rat experimental liver fibrosis. *Gastroenterology*. 2003;125:556-71.
73. De la Pena A, Leclercq IA, Williams J, Farrell GC. NADPH oxidase is not an essential mediator of oxidative stress or liver injury in murine MCD diet-induced steatohepatitis. *J Hepatol*. 2007;46:304-13.
74. Yu J, Hui AY, Chu ES, Cheng AS, Go MY, Chan HL, et al. Expression of a COX-2 transgene in murine liver causes hepatitis. *Gut*. 2006;56:991-9.
75. Waris G, Siddiqui A. Hepatitis C virus stimulates the expression of cyclooxygenase-2 via oxidative stress: role of prostaglandin E2 in RNA replication. *J Virol*. 2005;79:9725-34.
76. Hui AY, Cheng AS, Chan HL, Go MY, Chan FK, Sakata R, et al. Effect of prostaglandin E2 and prostaglandin I2 on PDGF-induced proliferation of LI90, a human hepatic stellate cell line. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2004;71:329-33.
77. Kim KM, Yoon JH, Gwak GY, Kim W, Lee SH, Jang JJ, et al. Bile acid-mediated induction of cyclooxygenase-2 and Mcl-1 in hepatic stellate cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;342:1108-13.
78. Efsen E, Bonacchi A, Pastacaldi S, Valente AJ, Wenzel UO, Tosti-Guerra C, et al. Agonist-specific regulation of monocyte chemoattractant protein-1 expression by cyclooxygenase metabolites in hepatic stellate cells. *Hepatology*. 2001;33:713-21.
79. Mallat A, Gallois C, Tao J, Habib A, Maclouf J, Mavrier P, et al. Platelet-derived growth factor-BB and thrombin generate positive and negative signals for human hepatic stellate cell proliferation. Role of a prostaglandin/cyclic AMP pathway and cross-talk with endothelin receptors. *J Biol Chem*. 1998;273:27300-5.
80. Cheng J, Imanishi H, Liu W, Iwasaki A, Ueki N, Nakamura H, et al. Inhibition of the expression of alpha-smooth muscle actin in human hepatic stellate cell line, LI90, by a selective cyclooxygenase 2 inhibitor, NS-398. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;297:1128-34.
81. Bataller R, Gines P, Nicolas JM, Gorbig MN, García-Ramallo E, Gasull X, et al. Angiotensin II induces contraction and proliferation of human hepatic stellate cells. *Gastroenterology*. 2000;118:1149-56.
82. Davies RA, Knight B, Tian YW, Yeoh GC, Olynyk JK. Hepatic oval cell response to the choline-deficient, ethionine supplemented model of murine liver injury is attenuated by the administration of a cyclo-oxygenase 2 inhibitor. *Carcinogenesis*. 2006;27:1607-16.
83. Reding T, Bimmler D, Perren A, Sun LK, Fortunato F, Storni F, et al. A selective COX-2 inhibitor suppresses chronic pancreatitis in an animal model (WBN/Kob rats): significant reduction of macrophage infiltration and fibrosis. *Gut*. 2006;55:1165-73.
84. Horrillo R, Planagumà A, González-Pérez A, Ferré N, Titos E, Miquel R, et al. Comparative protection against liver inflammation and fibrosis by a selective COX-2 inhibitor and a non-redox-type 5-LO inhibitor. *J Pharmacol Exp Ther*. 2007;323:778-86.
85. López-Parra M, Clària J, Titos E, Planagumà A, Párrizas M, Masferrer JL, et al. The selective cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib modulates the formation of vasoconstrictor eicosanoids and activates PPAR gamma. Influence of albumin. *J Hepatol*. 2005;42:75-81.
86. Graupera M, Garcia-Pagan JC, Titos E, Clària J, Massagué A, Bosch J, et al. 5-lipoxygenase inhibition reduces intrahepatic vascular resistance of cirrhotic rat livers: a possible role of cysteinyl-leukotrienes. *Gastroenterology*. 2002;122:387-93.
87. Muller D, Enderle GJ, Low O, Dietze E, Krell H. Bile ductular proliferation and altered leukotriene elimination in thioacetamide-induced fibrosis of rat liver. *J Hepatol*. 1996;25:547-53.
88. Uemura M, Buchholz U, Kojima H, Keppler A, Hafkemeyer P, Fukui H, et al. Cysteinyl leukotrienes in the urine of patients with liver diseases. *Hepatology*. 1994;20:804-12.
89. Clària J, Titos E, Jiménez W, Ros J, Ginés P, Arroyo V, et al. Altered biosynthesis of leukotrienes and lipoxins and host defense disorders in patients with cirrhosis and ascites. *Gastroenterology*. 1998;115:147-56.
90. Baud L, Pérez J, Denis M, Ardaillou R. Modulation of fibroblast proliferation by sulfidopeptide leukotrienes: effect of indomethacin. *J Immunol*. 1987;138:1190-5.
91. Baud L, Sraer J, Pérez J, Nivez MP, Ardaillou R. Leukotriene C4 binds to human glomerular epithelial cells and promotes their proliferation in vitro. *J Clin Invest*. 1985;76:374-7.
92. Phan SH, McGarry BM, Loeffler KM, Kunkel SL. Binding of leukotriene C4 to rat lung fibroblasts and stimulation of collagen synthesis in vitro. *Biochemistry*. 1988;27:2846-53.
93. Titos E, Clària J, Planagumà A, López-Parra M, Villamor N, Párrizas M, et al. Inhibition of 5-Lipoxygenase Induces Cell Growth Arrest and Apoptosis in Rat Kupffer Cells. Implications in liver fibrosis. *FASEB J*. 2003;17:1745-7.
94. Titos E, Clària J, Planagumà A, López-Parra M, González-Pérez A, Gaya J, et al. Inhibition of 5-lipoxygenase-activating protein abrogates experimental liver injury: role of Kupffer cells. *J Leukoc Biol*. 2005;78:871-8.
95. Dehmlow C, Erhard J, de Groot H. Inhibition of Kupffer cell functions as an explanation for the hepatoprotective properties of silibinin. *Hepatology*. 1996;23:749-54.
96. Federico A, Trappoliere M, Tuccillo C, De Sio I, Di Leva A, Del Vecchio Blanco C, et al. A new silibinin-vitamin E-phospholipid complex improves insulin resistance and liver damage

- in patients with non-alcoholic fatty liver disease: preliminary observations. *Gut*. 2006;55:901-2.
97. Straus DS, Glass CK. Cyclopentenone prostaglandins: new insights on biological activities and cellular targets. *Med Res Rev*. 2001;21:185-210.
 98. Forman BM, Tontonoz P, Chen J, Brun RP, Spiegelman BM, Evans RM. 15-Deoxy-delta 12, 14-prostaglandin J2 is a ligand for the adipocyte determination factor PPAR gamma. *Cell*. 1995;83:803-12.
 99. Clay CE, Namen AM, Atsumi G, Willingham MC, High KP, Kute TE, et al. Influence of J series prostaglandins on apoptosis and tumorigenesis of breast cancer cells. *Carcinogenesis*. 1999;20:1905-11.
 100. Wilmer WA, Dixon C, Lu L, Hilbelink T, Rovin BH. A cyclopentenone prostaglandin activates mesangial MAP kinase independently of PPAR gamma. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;16:281:57-62.
 101. Maddox JF, Domsalski AC, Roth RA, Ganey PE. 15-deoxy prostaglandin J2 enhances allyl alcohol-induced toxicity in rat hepatocytes. *Toxicol Sci*. 2004;77:290-298.
 102. Smith WL, Marnett LJ, DeWitt DL. Prostaglandin and thromboxane biosynthesis. *Pharmacol Ther*. 1991;49:153-79.
 103. Sigal E, Laughton CW, Mulkins MA. Oxidation, lipoxygenase, and atherogenesis. *Ann N Y Acad Sci*. 1994;714:211-24.
 104. Morrow JD, Roberts LJ. The isoprostanes: unique bioactive products of lipid peroxidation. *Prog Lipid Res*. 1997;36:1-21.
 105. Morrow JD, Chen Y, Brame CJ, Yang J, Sánchez SC, Xu J, et al. The isoprostanes: unique prostaglandin-like products of free-radical-initiated lipid peroxidation. *Drug Metab Rev*. 1999;31:117-39.
 106. Moore K, Roberts LJ 2nd. Measurement of lipid peroxidation. *Free Radic Res*. 1998;28:659-71.
 107. Moore K. Isoprostanes and the liver. *Chem Phys Lipids*. 2004;128:125-33.
 108. Morrow JD, Awad JA, Boss HJ, Blair IA, Roberts LJ 2nd. Non-cyclooxygenase-derived prostanoids (F2-isoprostanes) are formed in situ on phospholipids. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89:10721-5.
 109. Brault S, Martínez-Bermúdez AK, Roberts J 2nd, Cui QL, Frago G, Hemdan S, et al. Cytotoxicity of the E(2)-isoprostane 15-E(2t)-IsoP on oligodendrocyte progenitors. *Free Radic Biol Med*. 2004;37:358-66.
 110. Morrow JD, Awad JA, Kato T, Takahashi K, Badr KF, Roberts LJ 2nd, et al. Formation of novel non-cyclooxygenase-derived prostanoids (F2-isoprostanes) in carbon tetrachloride hepatotoxicity. An animal model of lipid peroxidation. *J Clin Invest*. 1992;90:2502-7.
 111. Meagher EA, Barry OP, Burke A, Lucey MR, Lawson JA, Rokach J, et al. Alcohol-induced generation of lipid peroxidation products in humans. *J Clin Invest*. 1999;104:805-13.
 112. Nanji AA, Khwaja S, Tahan SR, Sadrzadeh SM. Plasma levels of a novel noncyclooxygenase-derived prostanoid (8-isoprostane) correlate with severity of liver injury in experimental alcoholic liver disease. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994;269:1280-5.
 113. Jain SK, Pemberton PW, Smith A, McMahon RF, Burrows PC, Aboutwerat A, et al. Oxidative stress in chronic hepatitis C: not just a feature of late stage disease. *J Hepatol*. 2002;36:805-11.
 114. Aboutwerat A, Pemberton PW, Smith A, Burrows PC, McMahon RF, Jain SK, et al. Oxidant stress is a significant feature of primary biliary cirrhosis. *Biochim Biophys Acta*. 2003;1637:142-50.
 115. Serhan CN, Gotlinger K, Hong S, Lu Y, Siegelman J, Baer T, et al. Anti-inflammatory actions of neuroprotectin D1/protectin D1 and its natural stereoisomers: assignments of dihydroxy-containing docosatrienes. *J Immunol*. 2006;176:1848-59.
 116. Arita M, Yoshida M, Hong S, Tjonahen E, Glickman J, Petasis NA, et al. Resolvin E1, an endogenous lipid mediator derived from omega-3 eicosapentaenoic acid, protects against 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102:7671-6.
 117. González-Pérez A, Planagumà A, Gronert K, Miquel R, López-Parra M, Titos E, et al. Docosahexaenoic acid (DHA) blunts liver injury by conversion to protective lipid mediators: protectin D1 and 17S-hydroxy-DHA. *FASEB J*. 2006;20:2537-9.