



Flores Herrera O, Riveros Rosas H, Sosa Peinado A, Vázquez Contreras E (eds). **Mensaje Bioquímico, Vol XXVII**. Depto Bioquímica, Fac Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Cd Universitaria, México, DF, MÉXICO. (2003).

(<http://bq.unam.mx/mensajebioquimico>)

(ISSN-0188-137X)

¿ES TÓXICO EL ALCOHOL?

Enrique Piña¹, José Gutiérrez-Salinas², José Antonio Morales-González³ y Martha Zentella de Piña¹

¹ Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. A. Postal 70159, México 04530, México, D.F. México.

² Laboratorio de Bioquímica y Medicina Experimental, Unidad de Investigación Biomédica, Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", Instituto de Seguridad Social al Servicio de los Trabajadores del Estado. México, D.F., México.

³ Laboratorio de Bioquímica Médica, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, y Profesor de Fisiología, Facultad de Odontología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., México.

epgarza@servidor.unam.mx

¿Qué es la vida a quien le falta el vino que ha sido creado para contento de los hombres?

Regocijo del corazón y contento del alma es el vino bebido a tiempo y con medida.

Eclesiástico 31:27 y 28
Biblia de Jerusalem

Introducción

Pocas sustancias resultan tan atractivas para el hombre como el alcohol. Para el común de los hombres, alcohol es equivalente en particular al alcohol etílico o etanol; este trabajo se refiere al etanol. La vida social humana está marcada por el etanol, su consumo moderado,

aceptado por la mayoría de las culturas y religiones, es parte de la convivencia cotidiana; su consumo exagerado, reprobado por esas mismas culturas y religiones es parte de la patología humana.

El título de este trabajo es una pregunta, y tal como está enunciada, la respuesta perfectamente válida puede ser desde un no, hasta un sí condicionado. Entre las moléculas que se utilizan o se producen en la industria en general el etanol es muy poco tóxica, incluso llama la atención su pequeña acción tóxica, aun cuando alcance elevadas concentraciones en las células y los tejidos, tal como se ilustra más adelante. En el otro extremo es válido asegurar que el 10% de las muertes ocurridas en este país están asociadas al etanol (97). En los dos casos mencionados se sobreentiende que es el **consumo** de etanol lo que realmente define su toxicidad. Así, se ha insistido desde época inmemorial: el consumo moderado de etanol no es tóxico y ofrece ventajas al individuo, mientras que el consumo exagerado resulta tóxico para el bebedor. Entonces, la pregunta inmediata es ¿qué es consumo moderado? La respuesta precisa es para cada individuo (edad, peso corporal, género, polimorfismo genético*, medicamentos y factores hormonales), en cada situación particular (ayuno, tipo de comida, cantidad de comida, estado de salud, etc.); sin embargo, una regla general es la siguiente: no más de dos bebidas (copa, cocktail, cerveza) por día. Si la actividad social es prolongada, dos bebidas las primeras 3 horas y una bebida cada una de las 2 horas subsiguientes; no más de una reunión de este tipo a la semana. En mujeres embarazadas “cero” bebidas a todo lo largo del embarazo. Cualquier cantidad que exceda a las anotadas se considera exceso, muy especialmente en mujeres, quienes manifiestan mayor susceptibilidad a las posibles acciones tóxicas por la ingestión de etanol.

Para responder a la pregunta que le da origen, se incluye enseguida información suficiente para sustentar la respuesta. Relativo al consumo moderado, se menciona su significado social, las calorías que se obtienen al ser metabolizado por el individuo y algunos de los principales beneficios que se han documentado. En relación al consumo exagerado de etanol y a las alteraciones que puede producir en los organismos de los mamíferos, el trabajo se enfoca casi exclusivamente a tratar de entender la “bioquímico-patología” de las lesiones hepáticas. A pesar de su enorme interés e importancia no se incluyen en este trabajo los impresionantes cambios promovidos por el etanol en el comportamiento de los individuos. El trabajo tampoco alude a la demostrada toxicidad del etanol, muy aparente en los fetos de madres, las cuales lo ingieren en pequeñas cantidades dando origen a los devastadores síndromes de alcoholismo fetal.

Consumo moderado de etanol. Con la frase: “y el vino que recrea el corazón del hombre” inicia el versículo 15 del Salmo 104 de la Biblia, fue escrito hace cerca de 3 000 años, y resume poética y magistralmente el beneficio fundamental por la ingestión moderada de etanol. Son numerosas las consecuencias de ese recrear el corazón del hombre, entre ellas, el desarrollo de la importante industria de vinos y licores, el comercio de los mismos y los altísimos precios a los que llegan a cotizarse las viejas botellas del buen vino tinto; la certeza de que en una reunión social el etanol es el invitado que nunca falta. Después de la ingestión del primer trago, el efecto ansiolítico y la sensación de bienestar y desinhibición animan la reunión y facilitan la comunicación. Desde el punto de vista químico y energético ¿qué significa la ingestión de 2

* La variabilidad de las poblaciones humanas para degradar el etanol constituye un ejemplo de polimorfismo genético, esto es, el número de veces que en condiciones normales se repite la presencia de un gene, en este caso, los genes de las distintas deshidrogenasas alcohólicas.

bebidas con etanol? Para fines prácticos es muy similar el contenido de etanol en 1 litro de pulque, 2 cervezas de 300 ml cada una, 2 copas de vino de 100 ml cada una ó 2 copas de tequila, ron, coñac, whisky o vodka de 1 onza (28 ml) cada una. El contenido de etanol en esas dos copas es de aproximadamente 20 g, equivalente a 0.43 moles de etanol, los cuales llegan a alcanzar una concentración sanguínea de 10 mM y su oxidación completa, hasta H₂O y CO₂, libera 150 kcalorías ó 627.6 kjoules (ya que 1 kcal = 4.184 kJ). Para apreciar el significado de las cifras anteriores compárense con la ingestión de carbohidratos, lípidos y proteínas en 24 horas de un individuo de 70 kg de peso corporal que realiza actividad física moderada (Tabla 1).

Tabla I. Ingestión cotidiana de los principales nutrimentos en comparación con la ingestión de 2 copas de una bebida con etanol

Nutrimento	Peso (g)	Peso molecular	Moles	Energía liberada (en kcal)	Concentración sanguínea (mM) normal
H ₂ O	2000	18	110	0	42,000 ^d
Carbohidratos	250	180 ^a	1.4	1000	5
Lípidos	720	275 ^b	0.26	720	0.9-2.0 ^b
Proteínas	70	100 ^c	0.75	280	—
Etanol	20	46	0.43	150	10

a) glucosa, b) triacilglicérido promedio c) aminoácidos promedio d) calculando que la sangre contiene un 75% de agua.

Otro de los beneficios registrados por el cotidiano consumo moderado de etanol incluye el registro de valores de colesterol sanguíneo más bajo, mayor cantidad de colesterol en las lipoproteínas de alta densidad (HDL, el colesterol “bueno”) en comparación con las lipoproteínas de baja densidad (LDL, el colesterol “malo”) y una menor incidencia de problemas de salud consecutivos al depósito de colesterol en las arterias, véase por ejemplo la referencia (122).

En suma, el consumo moderado de etanol no es tóxico, en un sentido más amplio de como se escribió originalmente, el “vino recrea el corazón del hombre” y lo recrea en el sentido espiritual, afectivo, físico y biológico.

Consumo exagerado de etanol. El resto del trabajo se refiere al consumo exagerado de etanol y sus repercusiones hepáticas. Nótese que al referirse al consumo exagerado se hace referencia a dos ejes: cantidad de etanol ingerido por día y período de tiempo con ese consumo.

Enfermedad hepática por etanol

Cuando la ingestión exagerada de etanol ocurre esporádicamente, y por un sólo día, la lesión hepática más común es la de esteatosis. Si la ingestión exagerada es frecuente y sucede por semanas o meses, la lesión predominante es de inflamación. Se requieren varios años de ingestión exagerada y frecuente del etanol, así como de cierta predisposición, para que la lesión predominante en el hígado sea la de fibrosis. Dependiendo de varios factores y del patrón de bebida pueden coexistir dos, o los tres tipos de lesiones en el hígado. Actualmente se define la

cirrosis como la etapa final de la fibrosis del parénquima hepático, con formación de nódulos y una función hepática alterada (37). En el 2003 se insiste en que las tres etapas de la enfermedad son reversibles, sí la cirrosis hepática se considera reversible (49,50). Aunque se dispone de escasa y fragmentaria información sobre la reversibilidad de la cirrosis, existe amplia evidencia de que con frecuencia es posible. Otro ángulo de interés es que la fibrosis y la cirrosis representan las consecuencias de una respuesta sostenida a una lesión crónica del hígado por varias causas que incluyen etanol, virus, drogas, autoinmunidad, colestasis y enfermedades metabólicas. No deja de ser una incógnita el que, en relación con el etanol, sólo un 20% de los bebedores crónicos llegan a presentar cirrosis.

Existe abundantísima información sobre un sinnúmero de procesos metabólicos y reguladores que son alterados por la presencia de concentraciones altas de etanol en sangre y que afectan un buen número de células. No obstante lo anterior, aún son fragmentarios los conocimientos sobre los mecanismos responsables de la hepatotoxicidad del etanol. Los esquemas más exitosos sobre dichos mecanismos de toxicidad incluyen la lesión del etanol sobre alguna o algunas de las células presentes en el órgano hepático, y cómo dicha lesión repercute en el funcionamiento de otras células de diferente estirpe localizadas en el hígado, se compromete más el funcionamiento normal del órgano y se puede hablar de toxicidad. Varios autores han señalado la participación de los macrófagos hepáticos o células de Kupffer en la fisiopatología del daño con etanol, que repercute en las células estelares o de Ito, con un aumento en la síntesis de colágena hepática. En este trabajo se amplía la idea previa y se hace notar que desde el inicio de la hepatopatía sucede la intervención de células muy diferentes a las presentes en el hígado, hepatocitos, células de Kupffer y células estelares, las cuales al responder a las concentraciones elevadas de etanol en sangre contribuyen a las manifestaciones hepáticas de toxicidad del propio etanol: esteatosis, inflamación y fibrosis.

Límites, concentraciones y tiempos. Uno de los mayores motivos de confusión al referirse a los estudios sobre el etanol es la ligereza con las que se revisan las condiciones experimentales al efectuar comparaciones entre diferentes trabajos. En el resto de este escrito, y a menos de que se establezca específicamente lo contrario, se considerarán exclusivamente los efectos obtenidos por la ingestión de cantidades elevadas de etanol. Cantidades en el rango de 5 g/kg de peso para la rata; al comparar con el ser humano y basado en el peso corporal correspondería a ingerir 350 g etanol (los cuales están contenidos en una botella, 750 ml, y media de brandy, ron, tequila, vodka o whisky) en 24 h, en un individuo de 70 kg, con los que se logran concentraciones de etanol en plasma alrededor de 50 mM, en comparación con valores de 0.5 mM (88) que se registran en la vena porta debido a la absorción del etanol sintetizado por la actividad metabólica de las bacterias contenidas normalmente en el intestino.

Las extrapolaciones que se intentan establecer entre los resultados de experimentos en humanos y los experimentos con animales de laboratorio a menudo son absurdas y en otras ocasiones muy difíciles de sustentar. Así por ejemplo, en la mayoría de las ocasiones los humanos determinan voluntariamente la cantidad de etanol y el tiempo en que lo ingieren, lo que no sucede así con los animales de laboratorio. ¿A qué equivale experimentalmente en un grupo de ratas el que dos individuos beban en condiciones similares de vida 1 botella de ron, cada uno por 5 días a la semana, por 25 años, al cabo de los cuales uno manifiesta una típica cirrosis y el otro evidencia datos moderados de lesión hepática? Uno de los modelos preferidos para estudiar el efecto del etanol en el hígado de la rata consiste en una dieta líquida en que se fuerza la ingestión de etanol a una velocidad constante a lo largo de las 24 h, y en la cual, 1/3 de las

calorías de la dieta lo constituye el etanol, 1/3 está representado por grasas y el otro tercio satisface todos los demás requerimientos de carbohidratos y proteínas, además de vitaminas y minerales del animal (113). Una dieta semejante en el sujeto alcohólico que se bebe una botella y media (o sea 350 g de etanol, esto es, 5 g etanol/kg de peso al día) diaria de ron equivaldría a recibir cerca de 7,875 kcal al día: al etanol corresponderían 2,625 kcal, 290 g de grasa proveería de otras 2,625 kcal y consumiría 656 g de carbohidratos y proteínas más, que liberarían 2,625 kcal. Pero la comparación se complica cuando en estos tipos de experimentos a las ratas se les fuerza a recibir hasta 14.5 g de etanol por kg de peso y por día, en un hombre de 70 kg de peso sería similar a beber casi 2 botellas de ron (750 ml).

Kilogramos vs m². Hace casi 100 años, cuando se realizaron las primeras determinaciones del metabolismo basal en diferentes especies, se encontró que dicho metabolismo basal, o sea la producción de calor durante 24 h en condiciones de reposo, al ser calculada por kg de peso corporal, resultó mayor mientras menor fuera el peso corporal. El metabolismo basal en el ratón (20 g de peso corporal) tiene un valor de 212 kcal x kg⁻¹ x día⁻¹, mientras que para el caballo (441 kg de peso corporal) da una cifra de 11.3 kcal x kg⁻¹ x día⁻¹, para un hombre de 64 kilos el dato es de 32.1 kcal x kg⁻¹ x día⁻¹, y para una rata de laboratorio (200 g de peso corporal) el valor es aproximadamente 4 veces mayor que para el hombre. Si el metabolismo basal se calcula por m² de superficie corporal se registran cifras cercanas a las 1 000 kcal x día⁻¹/m² para la inmensa mayoría de especies estudiadas, y desde luego, para las 4 anotadas.

Al repetir las comparaciones anteriores de la ingestión de alcohol entre el hombre y la rata, pero ahora con base en la superficie corporal, se obtienen datos que parecen más realistas. Así el valor de 5 g de etanol/kg de peso en la rata, comparado con base en la superficie corporal, equivale en el hombre a ingerir 1.25 g/kg de peso, lo cual en un individuo de 70 kg de peso se logra al beber 275 ml de ron, poco más de 1/3 de la botella (o una bebida similar), o bien 1 botella y 1 copa de vino tinto. Si se repiten los cálculos para dietas destinadas para ratas con 1/3 de etanol, 1/3 de grasa y 1/3 de otros requerimientos, con la ingestión de 1.25 g/kg de peso (275 ml de ron en un individuo de 70 kg), entonces el cálculo para el hombre equivale a recibir 656 kcal por 275 ml de ron, 656 kcal debidas a la ingestión de 73 g de grasa y 656 kcal por recibir 164 g de proteínas y carbohidratos, en resumen una dieta de casi 2,000 kcal por día. Para finalizar las comparaciones con base en la superficie corporal, los 14.5 g/kg de peso y por día con el que se fuerza a las ratas a recibir etanol representa para el hombre el administrarle 3.6 g de etanol/kg de peso y por día. En un sujeto de 70 kg representaría 252 g, esto es 5/6 de 1 botella de ron al día. En conclusión, tal como era de esperarse al comparar los resultados de los experimentos en el hombre y la rata, dicha comparación es más objetiva al correlacionarlos con la energía liberada en función de la superficie corporal y no del peso corporal. Quedan pendientes y sin una aceptable explicación, por ejemplo, la acción del tiempo, tal vez pudieran asociarse al período de vida. Así los experimentos en los que se aprecian lesiones iniciales de fibrosis en ratas requieren semanas, mientras que en los humanos se observan después de años.

Otro aspecto obvio que se ha mencionado repetidamente es la diferente susceptibilidad al etanol en las distintas especies ensayadas. Para eliminar esas enormes diferencias entre humanos y roedores se han realizado experimentos con monos.

Propuesta del modelo: el efecto dominó

A pesar de las dificultades inherentes en cada uno de los modelos experimentales delineados, en este trabajo se amplía la información sobre las células, las señales intercelulares y las vías regulables que llevan a la conclusión de que las típicas lesiones hepáticas (esteatosis, inflamación y fibrosis) ocasionadas por el etanol suceden por un “efecto dominó”: el etanol produce una respuesta en una estirpe celular y las moléculas liberadas por ese tipo de célula; junto con el etanol y/o sus productos de oxidación, producen una respuesta en una segunda estirpe celular, las moléculas producidas por el segundo tipo de célula, más las previamente liberadas por las primeras células, más el etanol y/o sus productos de oxidación afectan una tercer estirpe celular, que a su vez, libera moléculas que se suman a las formadas previamente y al etanol y/o sus cada vez más abundantes productos de oxidación, para afectar una cuarta estirpe celular y así sucesivamente. Este “efecto dominó” incluye, conservadoramente, tal como se revisa a continuación, una docena de estirpes celulares, al menos diez entidades químicas producidas por la oxidación del etanol, y un número aún mayor de mensajeros químicos. La interacción de todos los participantes ocasiona una complejísima red de respuestas que puede llevar a la enfermedad hepática y en la que brillan con luz propia dos aspectos: la extraordinaria capacidad “homeostática” del organismo humano y la baja toxicidad del etanol *per se*: se requiere ingerir una molécula (que no es alimento natural) para alcanzar concentraciones sanguíneas 10 veces más altas que las fisiológicas de glucosa en sangre, por períodos de 25 años o mayores, para que sólo un 20% de los adictos presenten cirrosis, a los que habrán de sumarse los enfermos en los que el alcohol afectó otros órganos: cerebro, corazón, glándulas endocrinas y sangre.

Análisis de las variables. Conviene establecer un esquema mínimo que facilite el análisis de una respuesta compleja. Se efectuarán distintas consideraciones sobre las diferentes células que se han identificado como importantes en la respuesta a elevadas concentraciones de etanol en sangre. De la docena de células revisadas en este trabajo, las que de ninguna manera son el total de todas las que intervienen en el proceso que nos ocupa, existen nueve cuyo análisis de su participación será breve y hay tres que tienen especial importancia y que se revisan con mayor detalle: los hepatocitos, las células de Kupffer y las células estelares o células de Ito. Idealmente para cada una de estas tres células se revisarán los aspectos sobresalientes en las que intervienen para integrar la secuencia hacia la enfermedad hepática. Aquí se revisará su capacidad para oxidar el etanol, el efecto deletéreo de los productos de oxidación del etanol sobre las diferentes células, los mensajeros liberados y sus acciones así como las principales respuestas a los mensajeros recibidos y a los productos generados por la acción del etanol.

El análisis de la bibliografía no es exhaustivo, la cantidad de información disponible rebasa con mucho la presentada. La bibliografía escogida es compatible con un esquema congruente de las acciones del etanol para integrar una patología hepática aguda (esteatosis), subaguda (inflamación) y crónica (fibrosis). Si bien existe información opuesta a la del esquema propuesto, cada pequeño segmento de la información, en contra y a favor, ameritaría un análisis detallado que ocuparía una extensión similar a la de todo el trabajo aquí presentado. Por lo tanto, más que ofrecer investigaciones particulares en favor o en contra de algún punto de controversia, se prefirieron artículos de revisión coincidentes con los puntos expresados. Queda para el futuro, en caso requerido, una exhaustiva confrontación en apoyo o en contra de los puntos sobresalientes de la hipótesis aquí resumida.

El hepatocito

El hepatocito es la principal unidad funcional del hígado; calculado por volumen representa el 78% del parénquima hepático de la rata (14), si bien para la misma rata equivale del 60 al 68% de la población celular total, mientras que para el hombre los hepatocitos son el 80% de la población celular total del hígado (76). En los mamíferos es la célula que oxida la mayor parte del etanol consumido. Los hepatocitos han sido históricamente el foco central de atención de la mayoría de los estudios que investigan los efectos del etanol en la función hepática; además, la muerte progresiva de los hepatocitos es una de las consecuencias graves de la cirrosis.

Papel del hepatocito sobre el etanol y sus metabolitos. Tal como se mencionó, el hepatocito es la principal célula que oxida al etanol, dicha oxidación eleva el consumo de oxígeno (112) y produce acetaldehído y acetato (66), además se incrementa la producción de NADH y disminuye la de NAD^+ en el citosol del hepatocito, con lo que la relación NADH/NAD^+ se llega a elevar por un factor de 100 (61). Simultáneamente se consume NADPH y se eleva la poza de NADP. Por otra parte se eleva la presencia de especies de oxígeno reactivas (EOR) (26) y disminuye la concentración de glutatión total (GT) y de glutatión reducido (GSH) (28).

Al subir la relación NADH/NAD se afecta todo el metabolismo del hepatocito, tal como lo describió Krebs hace 40 años, con lo que se eleva la poza de sustratos que demandan de NAD para su oxidación, por ejemplo el lactato (62). Actualmente se sabe que la ingestión aguda de etanol y su oxidación promueve la formación de EOR en el hepatocito, y la toxicidad del etanol se ha asociado, cada vez con mayor frecuencia, desde 1966 (26), a la formación de esas EOR. En el momento presente existen tres hipótesis sobre el origen de las EOR generados después de la administración elevada de etanol. En este sitio del trabajo se revisan las dos series de experimentos que ubican la formación de EOR en dos fracciones subcelulares diferentes del hepatocito y a través de mecanismos moleculares distintos. Otra hipótesis se resume en la sección correspondiente de las células de Kupffer.

En el hepatocito, la inducción del citocromo P450 2E1 (CYP2E1) por el etanol es para unos investigadores el camino metabólico central por el cual el etanol genera un estado de estrés oxidativo (20), ya que la actividad *in vitro* del CYPE21 genera el anión superóxido (65,25). El enfoque usado fue el de establecer una línea celular, la HepG2, que constitutivamente sobre-expresa el CYP2E1. La adición de etanol, o un ácido graso insaturado, o fierro, o la eliminación de GSH, fue tóxico para las células que sobre-expresan el CYP2E1, pero no para las células controles. La toxicidad se asoció con una elevada peroxidación de lípidos y puede ser prevenida con antioxidantes e inhibidores del CYP2E1. Concluyen que la asociación entre el estrés oxidativo promovido por la actividad del CYP2E1, algunas lesiones mitocondriales y la homeostasis particular del GSH pueden contribuir a la acción tóxica del etanol sobre el hígado (20). Lo anterior no es concluyente ya que en experimentos hechos en ratones a los cuales se les eliminó (knockout) el gene codificador para el CYP2E1 se encontró que la intoxicación con etanol en este tipo de ratones genera EOR y cambios patológicos muy similares a los observados en los animales controles (57).

Los experimentos de otros autores localizan en la mitocondria la formación de un exceso de EOR por la administración de etanol. En situación normal la mitocondria utiliza cerca del 90% del oxígeno consumido por la célula (103) preferentemente a nivel de complejo de la citocromo

oxidasa. En la cadena mitocondrial de transporte de electrones las EOR se forman principalmente en el sitio de la ubiquinona en el complejo III en el cual se activa el O_2 y como subproducto se forma el radical superóxido (21). La mitocondria posee una superóxido dismutasa (SOD) dependiente de Mn, que convierte los iones superóxido en H_2O_2 , que es convertido en H_2O y O_2 por una peroxidasa dependiente de GSH. Por lo tanto la función del GSH de la matriz mitocondrial en la célula hepática es eliminar el H_2O_2 generado por el transporte de electrones (30). Cualquier condición que eleve el estrés oxidativo mitocondrial (por ejemplo isquemia, ingestión de etanol, citotoxicidad inducida por el $TNF-\alpha$) hace de la poza mitocondrial de GSH el factor crítico para definir la pérdida de la función mitocondrial y la viabilidad celular. La administración crónica de etanol provoca en las mitocondrias del hepatocito un defecto selectivo en el transporte del GSH desde el citosol a la mitocondria (29), como además el GSH se sintetiza exclusivamente en el citosol del hepatocito, lo que se observa es una disminución en los niveles de GSH mitocondrial, así se facilita la elevación de EOR en la mitocondria y se compromete la función del organelo y la viabilidad celular. Otros trabajos apoyan la hipótesis de que la producción de EOR son un factor crítico en la lesión hepática causada por etanol (118): en comparación con las ratas normales, aquellas en las que se sobre-expresa por tres veces el gene de la SOD dependiente de Mn (empleando la técnica de vectores adenovirales) no presenta las siguientes lesiones que normalmente son observadas por intoxicación crónica con etanol, tales como disminución en los niveles mitocondriales de GSH, elevación en los niveles séricos de la alanina aminotransferasa, aparición de lesiones histopatológicas, aparición de radicales libres derivados del etanol y apoptosis. En conclusión el estrés oxidativo mitocondrial en los hepatocitos participa en la lesión hepática producida por el etanol (118). Por otro lado, queda pendiente de averiguar un mecanismo por el cual las EOR formadas en una célula pueden afectar las células vecinas.

Una vez formadas las EOR el hepatocito contribuye importantísimamente a promover la génesis de más EOR, cuando menos por 4 mecanismos que aquí se mencionan pero se analizarán posteriormente: acción de la epinefrina (19), elevación en los triacilglicéridos hepáticos, (24) un estado hipermetabólico que puede llevar a la hipoxia (116) y eliminación del glutatión oxidado (GSSG) (108). Y recuérdese que la aparición de EOR sólo se observa si el etanol se oxida (78).

Productos metabólicos liberados y sus consecuencias. Aquí se revisan 4 productos liberados por el hepatocitos y algunas de sus consecuencias. El acetaldehído, el acetato, el GSSG y un conjunto de enzimas del hepatocito llamadas de escape. Un 80% del etanol se convierte en acetato (107), que se oxida preferentemente en el tejido muscular. El acetaldehído es sumamente reactivo, puede oxidarse en otras células además del hepatocito, por ejemplo en las células de Kupffer y en las células estelares, en estas últimas activa la formación de colágena. El acetaldehído se une químicamente a proteínas de suero, y de muchas células (93), con lo que se forman proteínas con funciones alteradas y proteínas inmunológicamente reactivas (18,44,89) que cuando la ingestión de etanol se hace crónica, ayuda a explicar los problemas inmunológicos observados en los alcohólicos.

Las proteínas alteradas resultan de la producción de aductos estables que se forman por la reacción química del acetaldehído con los aminoácidos de las proteínas; así como otros aldehídos provenientes de la oxidación del etanol administrado en cantidades importantes, también estimulan la fibrogénesis hepática y llegan a formar auto-anticuerpos. Además, la demostración de la presencia de tales aductos en ciertas zonas de los hepatocitos de los

alcohólicos en las fases tempranas de lesión histológica hepática, indica que tales aductos pueden ser importantes en la secuencia de eventos que conducen a la enfermedad alcohólica hepática (para una revisión ver referencia 91). La formación experimental de aductos es potenciada de manera notable si los animales experimentales, además del etanol, reciben dietas con alto contenido de grasa y con hierro; en tales condiciones también se registra estrés oxidativo, aumento en las citocinas pro-inflamatorias e imágenes de lesiones histopatológicas progresivas (114).

La eliminación de GSSG es promovida por la epinefrina (106) y puede abatir en el hepatocito la posible defensa para eliminar a las EOR. La presencia de enzimas de escape en suero se usa como índice de "lesión" del hepatocito, sin embargo, disminuye su utilidad mientras más crónico se torna el problema de alcoholismo.

Productos metabólicos recibidos. Tal vez los más importantes sean los ácidos grasos provenientes del tejido adiposo, con los que se llega a configurar el cuadro de esteatosis hepática, que consiste el característico y mal llamado hígado graso (24). Si bien a la esteatosis hepática se le han identificado otros orígenes existe suficiente evidencia experimental para justificar que el principal aporte de grasa para la esteatosis del alcohólico proviene de los ácidos grasos liberados por el tejido adiposo y captados y acumulados en el hígado (96). La formación de altos niveles de EOR requiere de ácidos grasos poli-insaturados presentes en la dieta y que lleguen al hígado (32), además de precisar de la oxidación de etanol tal como se mencionó anteriormente, y de más factores, los cuales se incluirán al revisar el efecto del etanol en otras estirpes celulares.

Una serie de experimentos de nuestro laboratorio resaltan la importancia de los ácidos grasos, provenientes del tejido adiposo, en el desarrollo de la enfermedad hepática por etanol. He aquí los hechos y las interpretaciones sobresalientes:

a) Cuatro anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs), la aspirina, el naproxén, el nimesulide y el piroxicam, previenen parcialmente 3 de los cambios moleculares registrados en el hígado por la administración aguda de 5 g de etanol por kilo de peso en la rata, a saber, el aumento en la lipoperoxidación (medida por poza de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, TBARS); el aumento en la poza de triacilglicéridos, TAG; y la disminución de glutation total, GT (123,124,125).

b) Los mismos 4 AINEs inhiben la lipólisis promovida por las catecolaminas como una respuesta a la intoxicación aguda con etanol. El efecto de los AINEs se observa también *in vitro* cuando la lipólisis se estimula por medio del dibutiril AMPcíclico en adipocitos aislados (126). El mediador de los efectos antilipolíticos de los AINEs es el peróxido de hidrógeno (127).

c) La interpretación de los datos anteriores es que los AINEs, al impedir la lipólisis estimulada por el etanol, abaten el arribo de ácidos grasos al hígado, con lo que disminuye el acúmulo de triacilglicéridos en el hepatocito, existen menos sustratos susceptibles de ser atacados por las EOR, aparece menguada la lipoperoxidación (recuérdese que se trata de una reacción en cadena, un radical libre al incidir sobre un doble enlace $C = C$ genera 2 radicales libres, y cada uno de esos 2 genera, a su vez, otros dos radicales libres y así sucesivamente) y se "gasta" menos GT en abatir la poza de radicales libres, ya que hubo menos generación de los mismos.

Este ejemplo, al igual que muchos otros, ilustra como el efecto dominó a nivel molecular acaba dañando la estructura celular hepática por el etanol, así como el hecho de que al eliminar una ficha del dominó, la lipólisis, la falta de respuesta aparece en otra célula, la hepática, y en 3 indicadores diferentes, la poza de TAG, los niveles de TBARS, y la de GT.

Mensajeros recibidos y respuestas. Entre varios mensajes que recibe el hepatocito después de la ingestión de etanol, el que se revisa aquí con detalle se refiere a la epinefrina y los glucocorticoides. La selección obedeció a la demostración de que beber etanol en cantidades grandes produce un estrés con la liberación de epinefrina y glucocorticoides. Es más, la eliminación del eje pituitario adrenal en la rata que bebe etanol impide la aparición de la enfermedad alcohólica aguda en el hígado, esto es, no se observa esteatosis (17,67).

Cuando menos para el caso de la epinefrina, después de ingerir etanol en cantidades grandes, aumenta la concentración de la hormona en sangre (60) y aumentan los productos de su catabolismo en el orina (6). Es bien sabido que la epinefrina tiene una amplísima gama de efectos en diferentes tejidos. Por brevedad aquí se comentan únicamente cinco. La epinefrina estimula el consumo de oxígeno en el hígado (51). La epinefrina estimula el consumo hepático del propio etanol (75). La epinefrina potencia la toxicidad de otros hepatotóxicos distintos al etanol, por ejemplo el acetaminofén (98). La epinefrina disminuye los valores hepáticos de glutatión, principalmente del GSSG el cual activa su transferencia a los conductos biliares (106). Además la epinefrina promueve la formación de radicales OH^{*} en el hígado (19). Todo lo anterior puede interpretarse como que la epinefrina estimula la formación de EOR, mismas que son pobremente neutralizadas debido a los bajos niveles de glutatión hepático, lo que se traduce en una potenciación de tóxicos hepáticos, cuyo mecanismo de toxicidad es a través de la formación de radicales libres. Lo anterior podría aplicarse al etanol, los radicales libres generados por la intoxicación alcohólica potencian su acción tóxica debido a la presencia de la epinefrina (19). Si además, el hígado está recibiendo un aporte elevado de ácidos grasos saturados y poli-insaturados provenientes de los depósitos, es evidente que la reacción en cadena de la lipoperoxidación hepática ocurre en su máxima expresión a costa de los ácidos grasos poli-insaturados.

Suspensión del efecto dominó. El quitar una sola ficha suspende el efecto dominó. La idea es aplicable a la situación que nos ocupa y equivaldría al tratamiento de la enfermedad hepática causada por el etanol. Vale la pena escribir una línea de prevención. Desde el punto de vista médico, siempre será mejor la no ingestión de grandes cantidades de etanol al empleo de cualquier tratamiento que suspenda el efecto dominó.

Células de médula suprarrenal

Son las responsables de la síntesis de epinefrina y norepinefrina sistémica. Aquí no se analizan las acciones de las dos hormonas, ni la diversidad de tipos de receptores que poseen las diversas células del organismo para desencadenar un sinnúmero de respuestas específicas. De aplicación práctica para este trabajo es que el exceso de la ingestión de etanol a dosis elevadas (> 4 g/kg pc) promueve la liberación de epinefrina como parte de un cuadro más general de estrés (60).

A más de actuar en varios tejidos aquí sólo se mencionan las acciones de la epinefrina sobre los tejidos adiposo y hepático. En el tejido adiposo estimula la lipólisis y ocasiona una importante liberación de ácidos grasos no esterificados y de glicerol (63). Son bien conocidas las acciones de la epinefrina en el hepatocito, en este trabajo sólo se hizo énfasis en que estimulan el consumo de oxígeno, abaten los niveles de glutatión y favorecen la generación de EOR (ver párrafos anteriores), todo lo cual, en presencia del etanol y de los ácidos grasos recibidos por el hepatocito, potencian la acción nociva de ese etanol.

Adipocitos

La participación de los adipocitos en la enfermedad hepática por etanol ya quedó establecida: por acción de la epinefrina liberan ácidos grasos no esterificados y glicerol. Ambos sustratos son consumidos por otras células del organismo y los ácidos grasos en particular se concentran en el hepatocito. Evidencias experimentales adicionales resaltan la importancia de los ácidos grasos, y en particular de los ácidos grasos poli-insaturados, en la enfermedad alcohólica hepática por etanol (32).

En prácticamente todos los modelos experimentales subagudos donde se explora la acción del etanol sobre el hígado, se incluye la aplicación de dietas con un altísimo contenido de grasa, más de 30% de las calorías consumidas diariamente por el animal (113). Si disminuye el contenido de grasa en la dieta, no se obtienen las lesiones adjudicadas al etanol, en estricta realidad las acciones tóxicas detectadas en el hígado sólo se observan, y por lo tanto se deben, al efecto combinado del etanol y la dieta rica en grasa.

Por su parte, el grupo de Nanji ha demostrado que si la grasa de la dieta está constituida por ácidos grasos saturados disminuye en el hígado la expresión del RNAm del factor de necrosis tumoral- α (84) y no aparecen las lesiones que produce el exceso de etanol sobre el hígado, lesiones que si se observan cuando la grasa de la dieta contiene ácidos grasos poli-insaturados. Es más, con dietas enriquecidas en ácidos grasos saturados se revierte la necrosis, inflamación y necrosis que se producen por la administración de etanol, y se revierten aún cuando se continúen administrando altas concentraciones de etanol (86).

Un dato complementario de interés se incluye en la Fig. 1 en donde se demuestra que la lipoperoxidación hepática depende linealmente del contenido hepático de TAG (109). Finalmente vale la pena recordar que el sobrepeso por más de 10 años es uno de los 3 factores independientes de riesgo para desarrollar hepatitis y cirrosis (87). Obviamente el sobrepeso representa abundancia de sustrato para la lipólisis.

Células intestinales

La mucosa del tubo digestivo, en condiciones normales, permite el paso de pequeñas cantidades de macromoléculas (15). El beber etanol, ya sea en forma crónica como aguda, aumenta la permeabilidad del tubo digestivo al paso de macromoléculas; en una serie de experimentos en particular se demostró en intestino delgado aislado que el paso de endotoxinas por la mucosa aumenta en función de la dosis de etanol administrada (7). Por otra parte la ingestión crónica de etanol puede alterar la flora bacteriana del intestino y causar un mayor crecimiento de las bacterias gram-negativas (16). En consecuencia, la mayor cantidad de

endotoxinas en el tubo digestivo y la permeabilidad ampliada del mismo, asegura una elevación de las endotoxinas en la sangre de la vena porta, lo que ampliamente favorece una activación de las células de Kupffer (111).

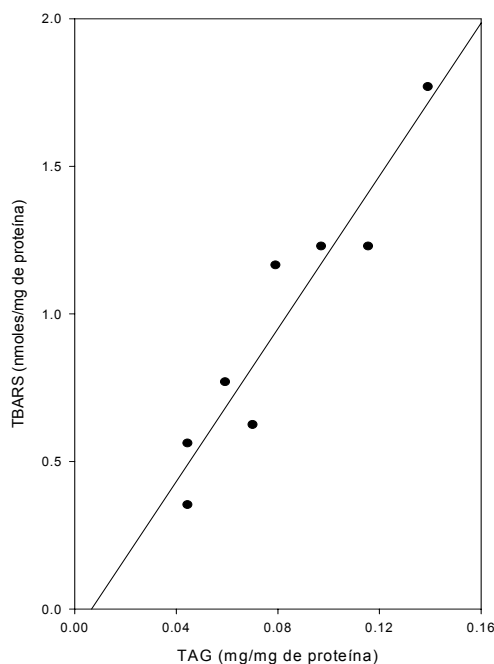


Fig. 1. En esta figura se ilustra cómo el grado de lipoperoxidación hepática depende la cantidad de TAG disponible en el propio hígado (Terrazos-Luch y *col*, referencia 109).

Cuando la flora intestinal es disminuida con administración de lactobacilos, que suspenden el crecimiento de bacterias gram-negativas, (79) o por medio de antibióticos (2), las lesiones hepáticas producidas en la rata por la administración oral de etanol son menores. Mientras que las lesiones hepáticas por alcohol se exacerbaban en la rata por la administración enteral de endotoxinas (72). La información disponible indica que la presencia de altas dosis de etanol facilitan el desarrollo de la flora de bacterias gram-negativas y el aumento en la permeabilidad de las células epiteliales del tracto digestivo, lo cual interviene positivamente en la aparición de la enfermedad hepática por alcoholismo.

Células endoteliales

Los sinusoides hepáticos forman una rica red vascular revestida de células endoteliales directamente adosadas a los hepatocitos, lo que facilita el intercambio entre la sangre y los hepatocitos. Las células endoteliales son células planas, muy porosas, fenestradas que responden a hormonas e inhibidores (76). Desde el punto de vista volumétrico representan el 2.8% del total del parénquima hepático en la rata (14). Es sabido que las células endoteliales expresan un conjunto de moléculas de adhesión al ser inducidas por citocinas inflamatorias tales como el factor de necrosis tumoral (TNF- α) y la interleucina (IL)-1 (74). Como consecuencia de la ingestión de etanol en el hígado hay una inflamación que en los modelos experimentales de rata se manifiesta por la presencia de neutrófilos infiltrados en el hígado, esto es, típicas células inflamatorias (45). Entre las moléculas de adhesión liberadas por las células endoteliales se sabe

que para una de ellas, la llamada ICAM-1 (por sus siglas en inglés intracellular adhesion molecule, ICAM) aumenta la expresión de su RNA mensajero (81). El ensayo de que una molécula como el ICAM-1 participara o no en la historia molecular de la enfermedad hepática por etanol se realizó con ratones a los cuales se les eliminó (knockout) del gene del ICAM-1 (59). Los resultados mostraron que en comparación con los ratones normales, los ratones sin gene (knockout) del ICAM-1 tratados con la misma dieta alta en lípidos y en etanol, hubo una disminución significativa en la aparición y gravedad de la enfermedad hepática causada por el etanol, esto es, menor esteatosis e inflamación, menor número de leucocitos infiltrantes y la expresión del RNAm del TNF- α no se observó en los ratones sin el gene ICAM-1 y sí se observó en los ratones normales. La conclusión de los investigadores (59) es que los datos demuestran que el ICAM-1 de las células endoteliales participa de manera importante en la enfermedad hepática por etanol, muy probablemente en un mecanismo en el que participa el TNF- α formado en el hígado a partir de las células Kupffer.

Leucocitos

En respuesta a una inflamación los leucocitos de la sangre se concentran en los sitios de la inflamación. Esta situación general es aplicable a la enfermedad hepática por ingestión de etanol. Es muy probable que moléculas de adhesión formadas en las células endoteliales hepáticas, del tipo ICAM-1, recluten leucocitos circulantes y favorezcan su acumulación en la glándula hepática. La activación de dichos leucocitos por la presencia de endotoxinas circulantes, tal como se comenta en el párrafo anterior, y por algunos otros factores locales, podrán promover en los leucocitos reclutados los mensajeros químicos ampliamente estudiados en otros procesos inflamatorios, los que al actuar en las células residentes en la glándula hepática, contribuirán a la patogénesis de la enfermedad hepática por etanol (59). Existe una breve revisión sobre las lesiones hepatocelulares mediadas por las células inflamatorias en general, y presente en la hepatitis alcohólica (33).

Eje hipotálamo suprarrenal

La administración de cantidades altas de etanol provoca estrés, y en el estrés existe una estimulación del eje hipotálamo suprarrenal, en el que un estímulo nervioso llega al hipotálamo del que salen factores liberadores, en este caso, sería el factor liberador de la hormona adrenocórtico trófica (ACTH) que al llegar a la hipófisis activa la salida del ACTH, misma que, vía sanguínea en la corteza suprarrenal acelera la síntesis de la hormona cortisol. En resumen, altas dosis de etanol estimulan la síntesis de cortisol. A su vez el cortisol, entre una de sus acciones, se encuentra la de activar la lipólisis de los tejidos periféricos. En la vieja literatura sobre el etanol y la movilización de ácidos grasos de los depósitos (para una revisión véase referencia 96), se señala que la hipofisectomía o la adrenalectomía (17,67) previenen la acumulación de lípidos en el hígado después de beber dosis agudas y elevadas de etanol. En bebedores humanos, adolescentes, los efectos son contundentes: la intoxicación alcohólica eleva los niveles plasmáticos de ACTH, 6 veces para los hombres y 10 veces para las mujeres, mientras que el cortisol se eleva 50% en hombres o mujeres (34). Esa elevación del cortisol activará la lipólisis en los tejidos periféricos con lo que contribuirá a elevar los ácidos grasos libres en suero y, sobre todo, a promover la formación del hígado graso.

De esta manera, la ingestión exagerada de etanol estimula la liberación de productos de las células del eje hipotálamo –hipófisis– suprarrenal, o sean células del sistema nervioso y de dos tipos de glándulas endocrinas, para contribuir a la enfermedad hepática por etanol.

Hormonas sexuales

En general las mujeres muestran mayor susceptibilidad a las lesiones hepáticas causadas por el etanol. En una muestra de 1,600 alcohólicos se identificaron los tres principales factores independientes de riesgo para desarrollar hepatitis y cirrosis: cantidad de etanol consumido, sobrepeso por al menos 10 años y ser mujer (87). En experimentos con ratas y dietas con alto contenido de grasas y etanol, la sensibilidad a este último es 2 veces mayor en ratas de sexo femenino en comparación con las del masculino (45). Los indicadores de toxicidad fueron escape de enzimas al suero, patología celular con indicadores numéricos, infiltración de neutrófilos, niveles circulantes de endotoxinas y expresión de ICAM-1. Además, el tratamiento con estrógenos eleva, en las células de Kupffer, la presencia del receptor DC-14 a la endotoxina (48). De alguna manera los estrógenos elevan la susceptibilidad de las células de Kupffer a algunos productos generados por la administración de etanol y coadyuvan a la manifestación de la enfermedad hepática por etanol.

Por otro lado, en adolescentes de género masculino intoxicados con etanol disminuyen los niveles plasmáticos de testosterona (34). Por último, la cantidad más alta de aductos de distintos aldehídos, provenientes de la intoxicación alcohólica, con diversas proteínas hepáticas se observó en pequeños cerdos castrados, el hígado de los cuales además mostró esteatosis, necrosis, inflamación e inducción de las enzimas del citocromo P450 (90).

Células de Kupffer

Las células de Kupffer constituyen el 80 al 90% de los macrófagos fijos al endotelio de los sinusoides hepáticos (13). Su principal función es fagocitar material de la sangre que circula por los sinusoides, las toxinas que arriban al hígado son particularmente fagocitadas por las células de Kupffer. En volumen las células de Kupffer ocupan el 21% del parénquima hepático (14), pero en cuanto al número de células puede llegar a ser el 10% del total de las células en el hígado (13). La hipótesis del efecto dominó, para mejor entender la enfermedad hepática por etanol, surgió en gran parte de los experimentos en los que se demuestra la participación central de las células de Kupffer, recibiendo mensajes de unas células y respondiendo con la liberación de otros mensajeros y con la generación de EOR (111). Una muestra evidente de la enorme importancia de las células de Kupffer en la patología de la enfermedad alcohólica es que su destrucción con cloruro de gadolinio ($GdCl_3$) impide los aumentos de enzimas séricas, la acumulación de grasa, la inflamación y la necrosis provocadas por la administración crónica de etanol a las ratas (1).

Mensajeros recibidos. El avance de los conocimientos alrededor del factor nuclear κB (NF- κB) en la fisiopatología de las respuestas a procesos inflamatorios crónicos (11) condujo a investigar su posible participación en la enfermedad hepática por etanol. A continuación se revisa la posible activación del NF κB por etanol, los genes cuya transcripción regula y que están

estrechamente vinculados con la enfermedad hepática por etanol, y los tres tipos de mensajeros identificados que requieren las células de Kupffer para activar el NF- κ B.

Se consideró que una inhibición en la activación del NF- κ B evitaría la aparición de la enfermedad hepática por etanol (115). Con el uso de un vector adenoviral se logró la super-represión de la proteína I κ B, indispensable para activar y translocar el NF- κ B, y con ello regular la transcripción de un grupo de genes blanco (11). Efectivamente, se previnieron las lesiones hepáticas experimentales observadas después de la intoxicación con etanol; en conclusión, se requiere de la activación y translocación del NF- κ B, regulando activamente un grupo de genes, para la aparición de las lesiones iniciales de la enfermedad hepática por etanol (115).

Se sabe de varios genes cuya transcripción regula el NF- κ B y que dan origen a proteínas de especial relevancia para el tema que nos ocupa: participan en el proceso inflamatorio, funcionan como mensajeros, algunas de ellas sintetizan pequeñas moléculas que a su vez actúan como moduladores de la función celular y están implicadas en la bioquímica patológica de la enfermedad alcohólica hepática. Entre tales genes es conveniente anotar los de: el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), la interleucina-12 (IL-12), la proteína quimiotáctica 1 de los monocitos (MCP-1), la proteína inflamatoria 2 de los macrófagos (MIP-2), la sintetasa inducible del óxido nítrico (iNOS), y la ciclooxigenasa-2 (COX-2) (73;80,82,83,85).

La activación del NF- κ B se ha estudiado con detalle (10); para el caso de las células de Kupffer la activación del NF- κ B es una de las respuestas fundamentales en la instalación de la enfermedad hepática por etanol. Para que se dé esa activación es indispensable el arribo de mensajeros generados por el etanol fuera de las células de Kupffer, junto con otros moduladores formados por el etanol en el seno de dichas células de Kupffer. Hasta el momento se sabe que los mensajeros que vienen de fuera son las endotoxinas del intestino, el Ca²⁺ y el acetaldehído, a los que se unen las EOR (64), ya sean las formadas interior de las células de Kupffer o las provenientes de los hepatocitos, y todo ello en un medio con concentraciones elevadas de etanol. La participación de cada uno de ellos se revisa en seguida.

Las endotoxinas, producidas por las bacterias en el intestino al ingerir cantidades elevadas de etanol, están constituidas por lipopolisacáridos y llegan a las células de Kupffer debido a un aumento en la permeabilidad de las células intestinales por el etanol (7), donde en combinación con una elevada poza de etanol producen una sensibilización y activación de las mismas células que se manifiesta, entre otras cosas, por un aumento en la expresión del receptor de la endotoxina conocido como CD14 (119), un aumento en la expresión y actividad de la quinasa asociada al receptor de la interleucina-1 (120) y probablemente un aumento en la actividad de la NADPH oxidasa (58).

La “mula” de seis, indispensable para integrar el efecto dominó aquí esbozado, lo constituyen las EOR presentes en el hígado de los sujetos intoxicados con etanol. En la presentación del hepatocito se revisó una de las hipótesis para generar EOR por la ingestión de etanol. Otra hipótesis se revisa en seguida. En los macrófagos activados, el principal sistema enzimático generador de oxidantes para dar origen a las EOR es la NADPH oxidasa (9). Como las células de Kupffer son macrófagos, se ensayó la participación de la NADPH oxidasa en el desarrollo de la enfermedad hepática por etanol, por medio de la tecnología de eliminar (knockout) el gene de la enzima. Así se probó la hipótesis de que los oxidantes provenientes de

la NADPH oxidasa participarán en las etapas tempranas de la lesión hepática producida por etanol. En ratones deficientes de NADPH oxidasa, de manera opuesta a como ocurre en el animal normal, el etanol no determinó un aumento en la producción de EOR, no hubo activación del NF- κ B, no hubo aumento del RNA mensajero para el TNF- α y no se detectó patología hepática. En conclusión, las EOR provenientes de la actividad de la NADPH oxidasa en las células de Kupffer tienen una participación predominante en la patogénesis de la hepatitis inducida por etanol (58).

Un indicador de la importancia de las EOR en el progreso de la enfermedad hepática por etanol lo constituye un experimento en el que se provocó la sobre-expresión del gene de la superóxido dismutasa (SOD) hepática en ratones y esos ratones se expusieron a altas dosis de etanol. Una sobre-expresión de la SOD impide esa inducción del receptor CD14, de NF- κ B y de algunas citocinas, aun cuando se administre el etanol (119).

Por otra parte, el Ca²⁺ interviene en la fisiología de las células de Kupffer y en la fisiología de todas las células de los organismos. Al estudiar los canales para el Ca²⁺ en las células de Kupffer se encontró que esos canales son dependientes de voltaje (43) y que la concentración intracelular del catión aumenta al doble a las 2 h de haberlas colocado en presencia de etanol (111). Además se ha demostrado que el Ca²⁺ es esencial para la activación de las células de Kupffer; en particular la síntesis de prostaglandinas estimulada por lipopolisacáridos es dependiente de Ca²⁺ (53). Es interesante que un bloqueador de los canales de Ca²⁺, la nimodipina, disminuya las lesiones inducidas por el etanol, lo cual apoya el papel crucial del Ca²⁺ en la activación de las células de Kupffer (46). Por último, existe información de que el acetaldehído activa la transcripción del NF- κ B, al menos en una línea de hepatocitos (100).

En resumen, el mensaje de las endotoxinas intestinales, las EOR, el Ca²⁺, el acetaldehído y el etanol activan el NF- κ B que regula la transcripción de genes cuyas proteínas son moduladoras de la inflamación.

Mensajeros liberados. Los genes activados por el NF- κ B en las células de Kupffer dan origen a un grupo de proteínas típicas de la respuesta inflamatoria que inciden en células vecinas (70) en este caso hepatocitos, células endoteliales, neutrófilos, células estelares y otras células. En tales células provocan sendas respuestas, las cuales dan apoyo a la hipótesis del efecto dominó en la enfermedad hepática aguda. Previamente se incluyeron algunas de las proteínas cuya inducción promueve el NF κ B, por brevedad sólo se comentará uno que manifiesta especial importancia: el TNF- α . Los experimentos que originaron la hipótesis del papel central de las células de Kupffer y los factores por ellas liberados aparecieron en 1989 (23). Más adelante se encontró una atenuación de las lesiones hepáticas al aplicar anticuerpos contra el TNF- α en ratas sometidas a la administración crónica con etanol (47). La demostración concluyente del papel esencial del TNF- α en la lesión hepática promovida por el etanol se obtuvo con el uso de ratones a los cuales se les eliminó el gene (knockout) del receptor 1 para el TNF- α (121): en estos ratones la administración crónica de una dieta alta en lípidos y etanol, por 4 semanas consecutivas, no produjo en el hígado severa esteatosis macrovesicular, inflamación focal, ni necrosis, a diferencia de lo observado en ratones poseedores del gene del receptor. El TNF- α , como prototipo de una molécula pro-inflamatoria, produce una abigarrada respuesta, de la que se menciona algunos aspectos aplicables a la enfermedad hepática por etanol. El TNF- α : inhibe la síntesis de proteínas en hepatocitos cultivados de rata (77), estimula la migración y

activación de neutrófilos e induce a proteasas así como la liberación de EOR (110), produce estrés oxidativo mitocondrial consecuente a muerte celular (38) y es importante en la génesis de EOR en las mitocondrias de los hepatocitos (4,30,40), estimula a las células endoteliales de los sinusoides para sintetizar moléculas de adhesión tipo ICAM-1 (12), interviene en el desarrollo de la esteatosis hepática causada por etanol (27), evoca la apoptosis (104), activa una esfingomielinasa que opera a pH neutro (3), aumenta la poza de ceramida, mensajero común para la transducción de señales para varios factores (3).

En suma, el TNF- α produce una vasta gama de efectos que dependen en parte de la concentración a la que se encuentre y del tiempo durante el cual actúa. De lo que no hay duda es de que es indispensable para establecer la enfermedad hepática por etanol, y de que en esa situación las células de Kupffer son sus principales productores y de que modula la función de muchas otras células.

Células estelares

Originalmente se identificaron como células de Ito, su descubridor; también se llaman lipocitos, células almacenadoras de grasa o células estrelladas o células perisinusoidales. Se trata de células no parenquimatosas y fibrogénicas que se localizan en oquedades entre los hepatocitos y las células de Kupffer, dispersas en el espacio perisinusoidal de Disse (76). En la rata y calculado por volumen las células de Ito representan el 1.4% del total del hígado (14); sin embargo, otros datos indican que constituyen el 15% del total de células residentes en el hígado (36). Forman un grupo heterogéneo de células anatómica y funcionalmente similares pero diferentes en su expresión de filamentos del citoesqueleto, sus contenidos de retinoides y sus potenciales para producir matriz extracelular (55). Son las células del organismo de los mamíferos con mayor contenido de vitamina A (42). La respuesta de las células estelares a la administración crónica de etanol está estrechamente ligada a la matriz extracelular del hígado, por lo que es adecuado mencionar algunos aspectos básicos de dicha matriz. En el hígado humano normal el 4% de la proteína es colágena (101), mientras que en la rata sólo lo es el 0.55% (102). En el hígado humano normal, los estudios bioquímicos han identificado a la colágena intersticial y el 53% es de tipo I y el 47% es de tipo III (101); mientras que en la rata normal el 60% es del tipo I y el 40% es de tipo III (102). La colágena tipo I se localiza predominantemente en la superficie del hígado en la cápsula de Glisson y en el tejido conectivo portal; la colágena tipo III predomina en el área perisinusoidal (71). A diferencia de otros tejidos, en el hígado no existe una membrana basal que se interponga entre el plasma y la célula parenquimatosa, el hepatocito, con lo que se facilita el intercambio de metabolitos entre ambos compartimentos, no obstante en algunos sitios se encuentra una membrana basal descontinuada (71). Un componente constante en el espacio perisinusoidal es la fibronectina, cuya función puede ser similar a la que se le observa a esa proteína en los estadios tempranos del desarrollo, ser una matriz extracelular primaria, menos limitante en términos de filtración que la membrana basal de otros tejidos (71), pero que si es un soporte para las células. Esa matriz extracelular provee, además, de señales que mantienen las funciones diferenciadas de las células vecinas. Durante la lesión celular la matriz extracelular se asemeja a una cicatriz y deteriora la función hepatocelular.

Activación de las células estelares. Es el evento dominante en la fibrogénesis y se lleva a cabo con cambios progresivos en la función celular. Como consecuencia de una lesión hepática

de cualquier etiología las células estelares se activan, esto es, ocurre una transición de células quiescentes a células proliferativas, fibrogénicas y miofibroblastos contráctiles. Se trata de una respuesta pleiotrópica, estrechamente programada y reproducible. Para su estudio se ha dividido en dos estadios: iniciación y perpetuación. La iniciación incluye un conjunto de cambios rápidos a la expresión de genes y en el fenotipo que hacen a las células capaces de responder a citocinas y otros estímulos locales. La perpetuación se refiere a los cambios celulares que conducen a una implicación del fenotipo activado, que se logra a través de una mayor capacidad de respuesta a las citocinas.

Los estímulos iniciadores de la activación de las células estelares provienen de los hepatocitos, las células endoteliales y las células de Kupffer. Entre ellas se tienen las EOR cuya génesis se ha mencionado con anterioridad, la cual como también se relató cursa con una disminución de antioxidantes, en particular el GSH. La sobre-expresión del citocromo P450 2E1 en las células estelares aumenta la poza de EOR y estimula la expresión del gene de la colágena I, el efecto es menor si se aplican antioxidantes (92). La lesión de las células endoteliales hepáticas estimula la producción de una variante de la fibronectina que activa las células estelares (52) y que por otra parte convierten al factor transformante de crecimiento β -1 latente (TGF- β 1) en una forma activa fibrogénica, a través de la activación de plasmina (35). Al menos media docena de genes se encienden en las células estelares, aquí se anotan sólo unos ejemplos, uno es el formador de moléculas de adhesión (ICAM-1) (41), que favorece la presencia de células pro-inflamatorias *in situ*, el gene llamado KLF6 (95) que activa genes reguladores de acumulación de la matriz extracelular (54), y genes que aumentan la expresión del gene de la colágena, a través de la participación de proteínas y factores de transcripción (22).

Perpetuación de las células estelares. En el estadio de perpetuación de las células estelares ocurre un aumento de respuestas a las citocinas a través de múltiples mecanismos (35), entre ellos, el aumento en la expresión de los receptores situados en la membrana celular y una mayor señalización (para una revisión ver Pinzani y *col* referencia 94). Se ha hecho notar que en especial el receptor de tirosina cinasas está sobre-regulado en la lesión hepática (5), se conoce que dicho receptor en las células estelares es el mediador de las respuestas a las citocinas.

Simultáneo a la fase de perpetuación de las células estelares se observa una remodelación de la matriz extracelular (35), la matriz subendotelial de baja densidad es remplazada de manera progresiva por una matriz formadora de fibras de colágena que repercute en la fisiología de las células como los hepatocitos, las células endoteliales y las propias células estelares, en las cuales acelera su activación (37). En este sentido se caracterizó un receptor de tirosina cinasa que responde a la colágena (105,117) cuyo RNAm está presente en las células estelares (5) que explica por qué la colágena tipo I ocasiona la perpetuación en la activación de las células estelares (5,105).

Se han descrito un conjunto de respuestas fenotípicas en las células estelares activadas por cualquier tipo de lesión que sufra el hígado. Si se mantiene la lesión hepática se perpetúa la activación de las células estelares y progresa la enfermedad hepática. Excelentes resúmenes sobre estas respuestas fenotípicas se encuentran en los trabajos de Friedman (35,37). Aquí sólo se enlistan los cambios y se anotan la o las moléculas que de manera especial favorecen el cambio anotado. Como podrá constatarse, el efecto dominó aquí introducido para darle unidad a

la enfermedad hepática por alcohol, en el caso de las células estelares alcanza su máxima expresión.

Respuestas fenotípicas de las células estelares a la lesión hepática (por etanol). Se han identificado:

Proliferación. Aumento en el número de células estelares cuyos receptores de tirosina cinasas responden al principal factor proliferativo identificado, el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, cuya acción requiere de captura de Ca^{2+} extracelular (94).

Contractilidad. La mayor contractilidad de más células estelares es un mecanismo importante de elevación en la resistencia de la vena Porta durante la lesión hepática. El principal estímulo para hacer las células contráctiles es la endotelina 1, parcialmente de origen autócrino y que contribuye a la proliferación de las células estelares (99).

Fibrogénesis. Las células estelares son las productoras de la matriz extracelular en el hígado, y aunque existe un buen número de citocinas que las estimulan para formar colágena (37), la principal de todas ellas es el factor transformante de crecimiento $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$ por sus siglas en inglés) (35) de distintos orígenes, el más importante el autócrino (39). A la acción del TGF- $\beta 1$ se suma la acción de la colágena autoprotetuyendo su formación, tal como se mencionó líneas arriba.

Degradación de la matriz. Las células estelares tienen la capacidad de sintetizar el total de moléculas con actividad proteolítica responsables de degradar y remodelar los distintos componentes de la matriz extracelular presente en el hígado. Dichas moléculas aceleran la activación de las células estelares y aparecen al haber una lesión del hígado (8,56). Las proteínas que degradan el endotelio normal de la matriz extracelular son la metalo-proteínasa 2 de la matriz y la estromelisin/MMP-3 (8). Con la degradación del subendotelio normal se acelera el remplazo de la matriz extracelular por fibras formadoras de colágena con lo que se activa el crecimiento de las células estelares y la producción de la metaloproteínasa-2 (31).

Quimiotaxis de las células estelares. La migración de las células estelares activadas aumenta su acumulación en áreas de lesión. Los agentes quimiotácticos identificados son el factor de crecimiento derivado de las plaquetas y la proteína quimiotáctica 1 de monocitos (69).

Pérdida de retinoides. La activación de las células estelares conlleva la pérdida de vitamina A almacenada intracelularmente. Se ignora si la pérdida de retinoides se requiere para iniciar la activación celular o si es la activación de las células la que provoca la pérdida de esos retinoides. Se estudian la causa y las consecuencias (37).

Liberación de citocinas y quimioatracción de leucocitos. La mayor producción y actividad de las citocinas son críticas para mantener la perpetua activación de las células estelares. Al respecto es conveniente considerar dos aspectos: todos los factores requeridos para la activación de las células estelares provienen de citocinas de origen autócrino (35) y la matriz extracelular hepática es un reservorio importante de factores de crecimiento los cuales se unen a la matriz referida (35).

La relevancia de las células estelares en la enfermedad hepática por etanol se amplifica al considerar que además de todo lo mencionado dichas células pueden amplificar la inflamación

por medio de moléculas con actividad quimioattractante de neutrófilos y monocitos, por ejemplo con la proteína quimioattractante-1 de monocitos (68).

Conclusión

Tomando al etanol como ejemplo de agente agresor se ofrece en este trabajo un resumen de la complejísima respuesta del hígado al ser lesionado. Para que avance la enfermedad hepática, el agente agresor afectará las células del organismo no sólo las hepáticas, y el agente agresor (en este caso el etanol) más la respuesta de muchas otras células provoca la participación de varios cientos de moléculas que de manera secuencial organizada y jerarquizada definen la situación de la lesión hepática, su gravedad, velocidad de afectación y sobre todo su reversibilidad. En algunos experimentos es notable la limitación en el progreso de la enfermedad al eliminar una etapa importante, al quitar una ficha del dominó que evita la aparición o activación del suceso consecutivo en el avance de la enfermedad hepática. Un aspecto estimulante en el estudio de la enfermedad hepática crónica es que ahora se considera reversible. Si bien existen muchas dudas sobre el mecanismo que facilita la reversibilidad, dada la tremenda complejidad del proceso, cada vez existen más situaciones, moléculas, estilos de vida y medicamentos que permiten vislumbrar un panorama más promisorio.

Los bioquímicos trabajan intensamente para que los médicos encuentren los mejores procedimientos terapéuticos para eliminar las fichas del dominó que con certeza eviten el progreso de la enfermedad hepática.

Agradecimientos

- a) Proyecto IN211402/3 PAPIIT, DGAPA, UNAM
- b) PAPCA-FES Iztacala, UNAM.

De manera especial a la señora Alejandra Palomares por escribir una y otra y otra y otra vez el manuscrito original.

Referencias

1. Adachi Y, Bradford BU, Gao W, Bojes HK y Thurman RG (1994). Inactivation of Kupffer cells prevents early alcohol-induced liver injury. *Hepatology* 20:453-460.
2. Adachi Y, Moore LE, Bradford BU, Gav W, Thurman RG (1995). Antibiotics prevent liver injury in rats following long term exposure to ethanol. *Gastroenterology* 108:218-224.
3. Adam-Klages S, Adam D, Wiegman K, Struve S, Kolanus W, Schenider-Mengener J y Kronke M (1996). FAN, a novel WD-repeat protein, couples the p55 TNF-receptor to neutral sphingomyelinase. *Cell* 86:937-947.
4. Adamson GM y Billings RE (1992). Tumor necrosis factor induced oxidative stress in isolated mouse hepatocytes. *Arch Biochem Biophys* 294:223-229.
5. Ankoma-Sey V, Matli M, Chang KB, Lalazar A, Donner DB, Wong L, Warren RS y Friedman SL (1998). Coordinated induction of VEGF receptors in mesenchymal cell types during rat hepatic wound healing. *Oncogene* 17: 115-121.
6. Anton AH (1965). Ethanol and urinary catecholamines in man. *Clin Pharmacol Therap* 6: 462-469.
7. Arai M (1986). Effect of ethanol on the intestinal uptake of endotoxin (Abstract). *Nippon Shokakibyō Grakkai Zasshi* 83:1060.

8. Arthur MJ (1995). Collagenases and liver fibrosis. *J Hepatol* 22; Suppl 2, 43-48.
9. Badwey JA y Karnovsky ML (1980). Active oxygen species and the function of phagocytic leukocytes. *Ann Rev Biochem* 49: 695-726.
10. Baeuerle PA y Baltimore D (1996). NF- κ B: ten years after. *Cell* 87:13-20.
11. Barnes PJ y Karin M (1997). Nuclear factor κ B- a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Eng J Med* 336:1066-1071.
12. Bevilacqua MP, Pober JS, Mendrick DL, Cotran RS y Gimbrone MA (1987). Identification of an inducible endothelial-leukocyte adhesion molecule. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:9238-9242.
13. Biozzi G y Stiffel C (1965). The physiopathology of the reticuloendothelial cells of the liver and spleen. *Progr Liver Dis* 2:166-191.
14. Blouin A, Bolender RP y Weibel ER (1977). Distribution of organelles and membranes between hepatocytes and non-hepatocytes in the rat liver parenchyma. *J Cell Biol* 72: 441-445.
15. Bode JC (1980). Alcohol and the gastrointestinal tract. En: *Advances in Internal Medicine and Pediatrics*, editado por Frinck HP, Harnack GA, Martini GA y Prader A. Springer-Verlag. Heilderberg pp. 1-75.
16. Bode JC, Bode C, Heidelbach R, Durr H-K y Martini GA (1984). Jejunal microflora in patients with chronic alcohol abuse. *Hepatogastroenterology* 31:30-34.
17. Brodie BB, Buther WN Jr, Honing MG, Maickel RP y Maling HM (1961). Alcohol-induced triglyceride deposition in liver through derangement of fat transport. *Am J Clin Nutr* 9:432-435.
18. Bueneka Im Klajner F, Orrego H, Vidins E, Blandis L y Israel Y (1987). Antibodies against acetaldehyde-modified protein epitopes in human alcoholics. *Hepatology* 7:1210-1214.
19. Castrejón-Sosa M, Villalobos-Molina R, Guinzberg R y Piña E (2002). Adrenaline (via α_{1B} -adrenoceptors) and ethanol stimulate OH \cdot radical production in isolated rat hepatocytes. *Life Sci* 71: 2469-2474.
20. Cederbaum AI, Wu D, Mari M y Bai J (2001). CYP2E1-dependent toxicity and oxidative stress in HEP G2 cells. *Free Rad Biol Med* 31:1539-1543.
21. Chance B, Sies H y Boveris A (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 59:527-605.
22. Chen A y Davis BH (1999). UV irradiation activates JNK and increases alpha I (I) collagen gene expression in rat hepatic stellate cells. *J Biol Chem* 274: 158-164.
23. Decker T, Lohmann-Matthes ML, Krack U, Peters T y Decker K (1989). Comparative study of cytotoxicity, tumor necrosis factor, and prostaglandin release after stimulation of rat Kupffer cells, murine Kupffer cells, and murine inflammatory liver macrophages. *J Leukoc Biol* 45:139-146.
24. Dianzani MU (1991). Biochemical aspects of fatty liver. En *Hepatotoxicology*. Meeks RG, Harrison SD y Bull RJ. CRC Pres. Boca Raton pp. 327-399.
25. Dicker E y Cederbaum AI (1988). Increased oxygen radical-dependent inactivation of metabolic enzymes by liver microsomes after chronic ethanol consumption. *FASEB J* 2:2901-2906.
26. DiLuzio NR y Kalish GH (1966). Enhanced peroxidation of lipid in the pathogenesis of acute ethanol-induced liver injury. *Gastroenterology* 50: 392-396.
27. Feingold KR, Hardardottir I y Grunfeld C (1994). Cytokine-induced alterations in hepatic lipid metabolism. En: *Cytokines and the liver* Eds Gerok W, Decker K, Andus T y Gross V. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht pp. 172-181.
28. Fernández V y Videla LA (1981). Effect of acute and chronic ethanol ingestion on the content of reduced glutathione of various tissues of the rat. *Experientia* 37:398-394.
29. Fernández-Checa JC, García-Ruiz C, Ookhlens M y Kaplowitz N (1991). Impaired uptake of glutathione by hepatic mitochondrial from ethanol-fed rats. *J Clin Invest* 87:397-405.
30. Fernández-Checa JC, Kaplowitz N, García-Ruiz C, Colell A, Miranda M, Mari M, Ardite M y Morales A (1997). GSH transport in mitochondria: defense against TNF-induced oxidative stress and alcohol induced defect. *Am J Physiol* 273:G7-G17.
31. Fibbi G, Pucci M, Grappone C, Pellegrini G, Salzano R, Casini A, Miliani S y Del Rosso M (1999). Functions of the fibrinolytic system in human Ito cells and its control by basic fibroblast and platelet-derived growth factor. *Hepatology* 29:868-878.

32. French SW (1993). Nutrition in the pathogenesis of alcoholic liver disease. *Alcohol Alcohol* 28:97-109.
33. French SW (2002). Alcoholic hepatitis, inflammatory cell-mediated hepatocellular injury. *Alcohol* 27:43-46.
34. Frias J, Rodriguez R, Torres JM, Ruiz E y Ortega E (2000). Effects of acute alcohol intoxication on pituitary-gonadal axis hormones, pituitary-adrenal axis hormones β -endorphin and prolactin in human adolescents of both sexes. *Life Sci* 67: 1081-1086.
35. Friedman SL (1999). Cytokines and fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 19: 129-140.
36. Friedman SL (2000). Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 275:2247-2250.
37. Friedman SL (2003). Liver fibrosis-from bench to bedside. *J Hepatol* 38:s38-s53.
38. García-Ruiz C, Colell A, Morales A, Kaplowitz N y Fernández-Checa JC (1995). Role of oxidative stress generated from the mitochondrial electron transport chain and mitochondrial glutathione status in loss of mitochondrial function and activation of transcription factor nuclear factor-kappa B: studies with isolated mitochondria and rat hepatocytes. *Mol Pharmacol* 48:825-834.
39. Gressner AM (1995). Cytokines and cellular crosstalk involved in the activation of fat-storing cells. *J Hepatol* 22; Suppl 2, 28-36.
40. Goossens V, Grooten J, Vos KD y Fiers W (1995). Direct evidence for tumor necrosis factor-induced mitochondrial reactive oxygen intermediates and their involvement in cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:8115-8119.
41. Hellerbrand C, Wang SC, Tsukamoto H, Brenner DA y Rippe RA (1996). Expression of intracellular adhesion molecule 1 by activated stellate cells. *Hepatology* 24:670-676.
42. Hendriks HFJ, Verhoofstad WAMM, Boruwer A, DeLeeuw AM y Knook DL (1985). Perisinusoidal fat-storing cells are the main vitamin A storage sites in rat liver. *Exp Cell Res* 160:138-149.
43. Hijjota R, Rosenberg RL, Lemasters JJ y Thurman RG (1991). Kupffer cells contain voltage-dependent calcium channels. *Mol Pharmacol* 41:435-440.
44. Hoerner N, Behrens UJ, Worner T y Lieber CS (1986). Humoral immune response to acetaldehyde adducts in alcoholic patients. *Res Comm Chem Path Pharmacol* 54:3-12.
45. Iimuro Y, Frankenberg MV, Artee GE, Bradford BU, Wall CA y Thurman RG (1997a). Female rats inhibit greater susceptibility to early alcohol-induced injury than males. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 272:G1186-G1194.
46. Iimuro Y, Ikejima K, Rose ML, Bradford BU y Thurman RG (1997b). Nimodipine, a dehydropyridine-type calcium channel blocker, prevents alcoholic hepatitis due to chronic intragastric ethanol exposure in the rat. *Hepatology* 24:391-397.
47. Iimuro Y, Gallucci RM, Luster MI, Kono H y Thurman RG (1997c). Antibodies to tumor necrosis factor- α attenuate hepatic necrosis and inflammation due to chronic exposure to ethanol in the rat. *Hepatology* 26:1530-1537.
48. Ikejima K, Enomoto N, Iimuro J, Ikejima D, Fang D, Xu J, Forman DT, Brenner DA y Thurman RG (1998). Estrogen increases sensitivity of hepatic Kupffer cells to endotoxin. *Am J Physiol* 274 (*Gastrointest Liver Physiol* 37): G669-G676.
49. Iredale JP, Benyon RC, Pickering J, McCullen M, Northrop M, Pawley S y col (1998). Mechanism of spontaneous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors. *J Clin Invest* 102:538-549.
50. Iredale JP (2001). Stellate cell behavior during resolution of liver injury. *Semin Liver Dis* 21:427-436.
51. Israel Y, Videla L y Bernstein J (1975). Liver hypermetabolic state after chronic ethanol consumption: hormonal interrelations and pathogenic implications. *Federation Proc* 34:2052-2059.
52. Jarnagin WR, Rockey DC, Koteliansky VE, Wang SS y Bissell DM (1994). Expression of variant fibronectins in wound healing: cellular source and biological activity of the EIIIA segment in rat hepatic fibrogenesis. *J Cell Biol* 127:2037-2048.
53. Kawada M, Mizoguchi Y, Kobayashi T, Monna T y Morisawa S (1992). Calcium-dependent prostaglandin biosynthesis by lipopolysaccharide-stimulated rat Kupffer cells. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 47:209-214.

54. Kim Y, Ratziu V, Choi SG, Lalazar A, Theiss G, Dang O, Kim SJ y Friedman SL (1998). Transcriptional activation of transforming growth factor beta 1 and its receptors by the Kruppel-like factor Zf9/score promoter-binding protein and Sp1. Potential mechanism for autocrine fibrogenesis in response to injury. *J Biol Chem* 273:33750-33758.
55. Knittel, Kobold D, Saile B, Grundmann A, Neubawer K, Piscaglia F y Ramadori G (1999a). Rat liver myofibroblasts and hepatic stellate cells: differential cell populations of the fibroblasts lineage with fibrogenic potential. *Gastroenterology* 117: 1205-1221.
56. Knittel T, Dinter C, Kobold D, Neubawer K, Mehde M, Eichhorst S y Ramadori G (1999b). Expression and regulation of cell adhesion molecules by hepatic stellate cells (HSC) of rat liver: involvement of HSC in recruitment of inflammatory cells during hepatic tissue repair. *Am J Pathol* 154: 153-167.
57. Kono H, Bradford BU, Yin M, Sulik KK, Koop DR, Peters JM, Gonzalez FJ, McDonald T, Dikalova A, Kadiiska MB, Mason RP y Thurman RG (1999). CYP2E1 is not involved in early alcohol-induced liver injury. *Am J Physiol* 277:G1259-G1267.
58. Kono H, Rusyn M, Yin M, Gäbele E, Yamashina S, Dikalova A, Kadiiska MB, Connor HD, Mason RP, Segal BH, Bradford BU, Holland SM y Thurman RG (2000). NADPH oxidase-derived free radicals are key oxidants in alcohol-induced liver disease. *J Clin Invest* 106:867-872.
59. Kono H, Uesugi T, Froh M, Rusyn I, Bradford BU y Thurman RG (2001). ICAM-1 is involved in the mechanism of alcohol-induced liver injury: studies with knockout mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 280: G1289-G1295.
60. Kovács GL, Soronez M y Tegyes I (2002). Plasma catecholamines in ethanol tolerance and withdrawal in mice. *Eur J Pharmacol* 448:151-156.
61. Krebs HA (1968). The effects of ethanol on the metabolic activities. *Adv Enzym Regul* 6: 467-480.
62. Krebs HA (1973). Piridyn nucleotides and rate control. *Symp Soc Exp Biol* 27: 299-318.
63. Lafontan M y Berlan M (1993). Fat cell adrenergic receptors and the control of white and brown fat cell function. *J Lipid Res* 34:1057-1091.
64. Li N y Karin M (1999). Is NF-kappa β the sensor of oxidative stress? *FASEB J* 13:1137-1143.
65. Lieber CS (1988). Biochemical and molecular basis of alcohol-induced injury to liver and other tissues. *N Engl J Med* 319:1639-1650.
66. Lundquist F, Tygstrup N, Winkler K, Mellempgaard K y Munch-Petersen S (1962). Ethanol metabolism and production of free acetate in the human liver. *Clin Invest* 41:954-961.
67. Mallov S (1957). Effect of adrenalectomy on ethanol and fat metabolism in the rat. *Am J Physiol* 189:428-432.
68. Marra F, DeFranco R, Grappone C, Milani S, Pastacaldi S, Pinzani M, Romanelli RG, Laffi G y Gentilini P (1998). Increased expression of monocyte chemoattractant protein-1 during active hepatic fibrogenesis: correlation with monocyte infiltration. *Am J Pathol* 152:423-430.
69. Marra F, Romanelli RG, Geannini C, Failli P, Pastacaldi S, Arrighi MC, Pinzani M, Laffi G, Montalto P y Gentilini P (1999). Monocyte chemoattractant protein-1 as a chemoattractant for human hepatic stellate cells. *Hepatology* 29:140-148.
70. Martínez F, Abril ER, Earnest DL y Watson RR (1992). Ethanol and cytokine secretion. *Alcohol* 9:455-458.
71. Martínez-Hernández A. (1984). The hepatic extracellular matrix. I. Electron immunohistochemical studies in normal rat liver. *Lab Invest* 51:57-74.
72. Mathurin P, Deng QG, Kerhavarzian A, Choudhary S, Holmes EW y Tsukamoto H (2000). Exacerbation of alcoholic liver injury by enteral endotoxin in rats. *Hepatology* 32:1008-1017.
73. McClain CJ, Hill D, Schmidt J y Diehl AM (1993). Cytokines and alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis* 13: 170-182.
74. Menger MD, Richter S, Yamauchi J y Vollmar B (1999). Role of microcirculation in hepatic ischemia/reperfusion. *Hepatogastroenterology* 46, Suppl 2:1452-1457.
75. Mezey E, Potter JJ, Sharma S y Akinshola E (1990). Effect of epinephrine on ethanol metabolism by isolated rat hepatocytes. *Biochem Pharmacol* 40: 2473-2478.
76. Miyai K (1991). Structural organization of the liver. En: *Hepatotoxicology*. Meeks RG, Harrison SD y Bull RJ. CRC Press Boca Raton pp. 1-65.

77. Monden K, Arai S, Itai S, Sasaoki T, Adachi Y, Funaki N, Higashitsuji y Tobe T (1991). Enhancement and hepatocyte-modulating effect of chemical mediators and monokines produced by hepatic macrophages in rats with induced sepsis. *Res Exp Med (Berl)* 191:177-187.
78. Müller A y Sies H (1982). Role of alcohol dehydrogenase activity and of acetaldehyde in ethanol-induced ethane and pentane production by isolated perfuse rat liver. *Biochem J* 206: 153-156.
79. Nanji AA, Khettry U y Sadrzadeh SMH (1994a). Lactobacillus feeding reduces endotoxemia and severity of experimental alcoholic liver disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 205:243-247.
80. Nanji AA, Zhao S, Sadrzadeh SMH y Waxman DJ (1994b). Use of reverse transcriptase-polymerase chain reaction to evaluate in vivo cytokine gene expression in rats fed ethanol for long periods. *Hepatology* 19:1483-1487.
81. Nanji AA, Griniuviene B, Jacoub LK, Fogt F y Tahan SR (1995a). Intracellular adhesion molecule-1 expression in experimental alcoholic liver disease: relationship to endotoxemia and TNF α messenger RNA. *Exp Mol Pathol* 62:42-51.
82. Nanji AA, Greenberg SS, Tahan SR, Fogt F, Loscalzo J, Sadrzadeh SMH, Xie J y Stamler JS (1995b). Nitric oxide production in experimental alcoholic liver disease in the rat: role in protection from injury. *Gastroenterology* 109: 899-907.
83. Nanji AA, Miao L, Thomas P, Rahemtulla A, Khwaja S, Zhao S, Peters D, Tahan SR y Dannenberg AJ (1997a). Enhanced cyclooxygenase-2 gene expression in alcoholic liver disease in the rat. *Gastroenterology* 112:943-951.
84. Nanji AA, Zakin D, Rahemtulla A, Daly T, Mias L, Zhao S, Khwaja S, Than SR y Dannenberg AJ (1997b). 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* 26: 1538-1545.
85. Nanji AA, Jokelainen K, Rahemtulla A, Miao L, Fogt F, Matsumoto H, Tahan SR y Su GL (1999). Activation of nuclear factor kappa B and cytokine imbalance in experimental alcoholic liver disease in the rat. *Hepatology* 30:934-943.
86. Nanji AA, Jokelainen K, Tipoe GL, Rahemtulla A y Dannenberg AJ (2001). Dietary saturated fatty acids reverse inflammatory and fibrotic changes in rat liver despite continued ethanol administration. *J Pharmacol Exp Ther* 299:638-644.
87. Neveau S, Giraud V, Borotto E, Aubert F, Capron F y Chaput JC (1997). Excess weight factor for alcoholic liver disease. *Hepatology* 25:108-111.
88. Newsholme EA y Leech AR (1983). Biochemistry for the Medical Sciences. John Wiley & Sons Ltd. Chichester. pp 472-480.
89. Niemelä O, Klajner F, Orrego H, Vidins E, Blendis L e Israel Y (1987). Antibodies against acetaldehyde-modified protein epitopes in human alcoholics. *Hepatology* 7:1210-1214.
90. Niemelä O, Parkkila S, Pasanen M, Viitala K, Villanueva JA y Halsted CH (1999). Induction of cytochrome P450 enzymes and generation of protein-aldehyde adducts are associated with sex-dependent sensitivity to alcohol-induced liver disease in micropigs. *Hepatology* 30:1011-10117.
91. Niemelä O (2001). Distribution of ethanol-induced protein adducts in vivo: relationship to tissue injury. *Free Radical Biol Med* 31:1533-1538.
92. Nieto N, Friedman SL, Greenwel P y Cederbaum AI (1999). CYP2E1-mediated oxidative stress induces collagen type I expression in rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 30:987-996.
93. Nomura F y Lieber CS (1981). Binding of acetaldehyde to rat liver microcosms: enhancement after chronic consumption. *Biochem Biophys Res Comm* 100: 131-137.
94. Pinzani M, Marra F y Carloni V (1998). Signal transduction in hepatic stellate cells. *Liver* 18:2-13.
95. Ratziu V, Lalazar A, Wong L, Dang Q, Collins C, Shaulian E, Jensen S y Friedman SL (1998). Zf9, A Kruppel-like transcription factor up-regulated in vivo during early hepatic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:9500-9505.
96. Reitz RC (1979). The effect of ethanol ingestion on lipid metabolism. *Progr Lipid Res* 18:87-115.
97. Riveros RJ, Julián-Sánchez A y Piña E (2003). Mortalidad atribuible al alcoholismo en México. No publicado.
98. Roberts SM, DeMott RP y James RC (1997). Adrenergic modulation of hepatotoxicity. *Drug Metabolism Rev* 29:329-353.

99. Rockey DC, Fouassier L, Chung JJ, Crayon A, Vallee P, Rey C y Housset C (1998). Cellular localization of endothelin-1 and increased production in liver injury in the rat: potential for autocrine and paracrine effect in stellate cells. *Hepatology* 27: 472-480.
100. Roman J, Colell A, Blasco C, Caballería J, Pares A, Rodes J y Fernández-Checa JC (1999). Differential role of ethanol and acetaldehyde in the induction of oxidative stress in HEP G2 cells: effect on transcription factors AP-1 and NF- κ B. *Hepatology* 30:1473-1480.
101. Seyer JM, Hutcheson ET y Kang AH (1977). Collagen polymorphism in normal and cirrhotic human liver. *J Clin Invest* 59:241-248.
102. Seyer JM (1980). Interstitial collagen polymorphism in rat liver with CCl₄-induced cirrhosis. *Biochem Biophys Acta* 629:490-498.
103. Shigenaga MK, Hagen TM y Ames BN (1990). Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:10771-10778.
104. Shinagawa T, Joshioka K, Kakumu S, Wakita T, Ishikawa T, Itoh Y y Takayanagi M (1991). Apoptosis in cultured rat hepatocytes: the effects of TNF and interferon- γ . *J Pathol* 165:247-253.
105. Shrivastava A, Radziejewski C, Campbell E, Kovac L, McGlynn M, Ryan TE, Davis S, Goldfarb M, Glass DJ, Lemke G y Yancopoulos GD (1997). An orphan receptor tyrosine kinase family whose members serve as nonintegrin collagen receptors. *Mol Cell* 1:25-34.
106. Sies H y Graf P (1985). Hepatic thiol and glutathione efflux under the influence of vasopressin, phenylephrine and adrenaline. *Biochem J* 226: 545-549.
107. Siler SQ, Neese RA y Hellerstein MK (1999). De novo lipogenesis, lipid kinetics, and whole body lipid balances in human after acute alcohol consumption. *Am J Clin Nutr* 70: 928-936.
108. Speisky H, MacDonald A, Giles G, Orrego H e Israel Y (1985). Increased loss and decreased synthesis of hepatic glutathione after acute ethanol administration. *Biochem J* 225:565-572.
109. Terrazos-Luch J, Corona-García S, Zentella-de Piña M, Ramírez-González D y Piña-Garza E (1997). Butylated hydroxytoluene prevents hepatic damage induced by food oil. *Proc West Pharmacol Soc* 40:97-99.
110. Thiele DL (1989). Tumor necrosis factor, the acute phase response and the pathogenesis of alcoholic liver disease. *Hepatology* 9: 497-499.
111. Thurman RG (1998). Mechanism of hepatic toxicity II. Alcoholic liver injury involves activation of Kupffer cells by endotoxin. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 275:G605-G611.
112. Trémolières J y Carré L (1961). Etudes sur les modalités d'oxidation de l'alcool chez l'homme normal et alcoolique. *Rev l'Alcool* 7:202-227.
113. Tsukamoto H, Gaal K y French SW (1990). Insights into the pathogenesis of alcoholic liver necrosis and fibrosis: status report. *Hepatology* 12:599-608.
114. Tsukamoto H, Horne W, Kamimura S, Niemelä O, Parkkila S, Ylä-Herttuala S y Brittenham GM (1995). Experimental liver disease induced by alcohol and iron. *J Clin Invest* 96:620-630.
115. Uesugi T, Froh M, Arteel GE, Bradford BU, Gabele E, Wheeler MD y Thurman RG (2001). Delivery of I kappa B supressor gene with adenovirus reduces early alcohol-induced liver injury in rats. *Hepatology* 36:1149-1157.
116. Videla L, Bernstein J e Israel Y (1973). Metabolic alteration produced in the liver by chronic alcohol administration. Increased oxidative capacity. *Biochem J* 134:507-514.
117. Vogel W (1999). Discoidin domain receptor: structural relations and functional implications. *FASEB J* 13: (suppl.) 77-82.
118. Wheeler MD, Nakagami M, Bradford BU, Uesugi T, Mason R, Connor HD, Dikalova A, Kadiiska M y Thurman RG (2001). Overexpression of manganese superoxide dismutase prevents alcohol-induced liver injury in the rat. *J Biol Chem* 276:36664-36672.
119. Wheeler MD y Thurman RG (2003). Up-regulation of CD14 in liver caused by acute ethanol involves oxidant-dependent AP-1 pathway. *J Biol Chem* 278:8435-8441.
120. Yamashina S, Wheeler MD, Rusyn I, Ikejima K, Sato N y Thurman RG (2000). Tolerance and sensitization to endotoxin in Kupffer cells caused by acute ethanol involve interleukin-1 receptor-associated kinase. *Biochem Biophys Res Commun* 277:686-690.
121. Yin M., Wheeler MD, Kono H, Bradford BU, Gallucci RM, Luster MI y Thurman RG (1999). Essential role of tumor necrosis factor α in alcohol-induced liver injury. *Gastroenterology* 117:942-952.

122. Zentella de Piña M, Diaz Belmont A, Rodriguez Lizárraga L y Piña E (1991). Importance of age upon the increase in DHL₂-cholesterol in the alcoholic. *Arch Invest Med Mex* 22:223-227.
123. Zentella de Piña M, Hernández-Tobías A, Saldaña-Balmori Y, Díaz-Belmont A. y Piña E (1992). Biochemical ethanol effects affected by a non-steroidal anti-inflammatory drug. *FEBS Lett* 298:123-125.
124. Zentella de Piña M, Saldaña-Balmori Y, Hernández-Tobías A y Piña E (1993). Non-steroidal anti-inflammatory drugs lower ethanol mediated liver increase in lipids and thiobarbituric acid reactive substances. *Alcoholism Clin Exp Res* 17:1228-1232.
125. Zentella de Piña M, Corona S, Rocha-Hernández AE, Saldaña-Balmori Y, Cabrera G y Piña E (1994). Restoration by piroxicam of liver glutathione levels decreased by acute ethanol intoxication, *Life Sciences* 54:1433-1439.
126. Zentella de Piña M, Vázquez-Meza H, Piña-Zentella G, Pimentel L y Piña E (2002). Non-steroidal anti-inflammatory drugs inhibit epinephrine-and cAMP-mediated lipolysis in isolated rat adipocytes. *J Pharmacy Pharmacol* 54:577-582.
127. Zentella de Piña y col (2003). Datos no publicados.

Semblanza del Dr. Enrique Piña Garza.



Es médico cirujano por la Facultad de Medicina de la UNAM. Obtuvo en 1969 el grado de Doctor en Bioquímica en la Facultad de Química de la misma UNAM. Realizó estudios sobre Bioquímica genética con el Dr. Edward L. Tatum (Premio Nobel, 1958), del Instituto Rockefeller en New York. Ha colaborado en los Laboratorios de los Drs. Gordon Sato, Antony J. Andreoli y Otto H. Weiland de la Universidad de California en San Diego, la Universidad del Estado de California en los Ángeles y el Hospital del Estado de Baviera en Munich, respectivamente. En la Facultad de Medicina UNAM es profesor desde hace 46 años. También ha ocupado los cargos de Jefe del Departamento de Bioquímica, Coordinador de Investigación y Secretario General. Ha sido Profesor Titular en 64 cursos de licenciatura y posgrado. Ha dirigido 34 tesis, la mitad de ellas en el posgrado. Algunas actividades académico-administrativas desempeñadas por el doctor Piña en la UNAM: fungir como Secretario Académico de la Coordinación del Sistema de Universidad Abierta (SUA), Director General de Estudios de Posgrado y Encargado de la Dirección de la Unidad Académica de los Ciclos Profesionales y de Posgrado (UACPyP). En la Secretaría de Salud estuvo a cargo del Laboratorio de Investigación del Hospital General de la Ciudad de México y de la Dirección General de los Efectos del Ambiente en la Salud; además fue Director General de Investigación en Salud. Es autor de 3 libros de texto y 136 trabajos de investigación, la mayoría publicados en revistas extranjeras; así como editor de 6 libros especializados. Ha colaborado escribiendo en 30 libros, varios internacionales; ha presentado cerca de 270 trabajos en congresos nacionales e internacionales. Pertenece a numerosas sociedades científicas, entre ellas la Academia Nacional de Medicina y la Academia Mexicana de Ciencias. Fungió como Presidente de la Sociedad Mexicana de Bioquímica y de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C. de la cual además es Socio Fundador. Forma parte del Sistema Nacional de Investigadores con el Nivel III. Le fue otorgado el reconocimiento como Profesor Emérito de la Facultad de Medicina y el Premio Universidad Nacional 1993 de Docencia en Ciencias Naturales por parte de la UNAM. Además, se le ha distinguido con los premios "Dr. Eduardo Liceaga" y "Dr. Miguel Otero" del Consejo de Salubridad General de la SSA.