



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

**BMPs como diana terapéutica en la fibrosis
hepática.**

Autor: Victoria González Lizarraga

Tutor: Blanca Herrera González

Convocatoria: Junio 2018

ÍNDICE

1. Introducción.....	Pág 3
1.1. Estructura y funciones hepáticas	Pág 3
1.2. Fibrosis hepática.....	Pág 5
1.2.1. Progresión de la fibrosis. Procesos de señalización.....	Pág 6
1.2.2. Factores de la familia TGF- β . BMPs.....	Pág 7
1.3. Desenlace de la fibrosis. Cirrosis.....	Pág 9
1.4. Tratamiento de la fibrosis.....	Pág 10
2. Objetivos.....	Pág 12
3. Metodología.....	Pág 12
4. Resultados y discusión.....	Pág 13
4.1. Funciones de la BMP-7.....	Pág 13
4.1.1. Fármacos cuyo mecanismo se basa en aumentar los niveles de BMP-7...	Pág 13
4.2. Función de la BMP-9.....	Pág 15
4.2.1. Aplicación de la BMP-9 como marcador y diana en la fibrosis.....	Pág 16
5. Conclusiones.....	Pág 17
6. Bibliografía.....	Pág 18

RESUMEN.

La fibrosis hepática es una patología crónica que cursa de forma dinámica y se caracteriza por la acumulación de tejido cicatricial, como consecuencia de la inflamación y muerte de las células hepáticas. Es una patología derivada de la mayoría de las enfermedades crónicas que afectan al hígado, como hígado graso por consumo excesivo de alcohol o las hepatitis víricas, entre otras.

Es una enfermedad con una curación muy compleja y con unas tasas de incidencia y mortalidad elevadas, pero analizando y estableciendo bien los mecanismos de la regresión de la fibrosis hepática se puede conseguir identificar nuevas dianas terapéuticas.

Aunque las evidencias científicas aún son escasas, recientemente se ha involucrado a la proteína morfogenética ósea 7 (BMP-7) y a la proteína morfogenética ósea 9 (BMP-9) en el proceso de la fibrosis, ya que regulan vías de señalización que participan en el proceso.

Forman parte de una gran familia de proteínas morfogenéticas, las BMPs que a su vez pertenecen a la superfamilia del factor de crecimiento transformante β (TGF- β).

No se ha demostrado una clara relación entre la presencia o la falta de estas proteínas con la curación de la fibrosis, sin embargo, están en aumento las investigaciones sobre los distintos factores, receptores y moléculas que participan en sus vías de señalización a nivel hepático.

El objetivo de este trabajo es averiguar si existe una posible actuación sobre ellas como nuevas dianas terapéuticas, para poder parar la progresión de la fibrosis y facilitar su curación.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Estructura y funciones hepáticas

El hígado es uno de los principales órganos del cuerpo que forman parte del sistema digestivo y representa el 2% del peso corporal. Está situado en el cuadrante superior derecho del abdomen, por debajo del diafragma. Su unidad funcional principal es el lobulillo hepático, el cual se constituye alrededor de una vena central y se compone de placas celulares agrupadas en formaciones hexagonales, formando el espacio portal. Cada placa hepática se compone de dos células entre las que se encuentran los canalículos biliares.¹¹

Una característica importante del hígado es la perfusión sanguínea. Por medio de la circulación esplácnica del aparato digestivo, llega a través de la vena porta un 75% de la sangre, procedente del intestino, pobre en oxígeno y cargada de nutrientes. El otro 25% de la sangre llega a través de la arteria hepática procedente de la aorta, desde la cual la sangre viene cargada oxígeno. Al entrar en el sistema hepático, la sangre llega a los capilares hepáticos, ubicados entre las placas

hepáticas. Gracias a que estos capilares son porosos, la sangre va a ser filtrada por las células reticuloendoteliales, células que revisten los hepatocitos, para evitar que lleguen al organismo bacterias procedentes de la comida. Además, la mayoría de los elementos hidrosolubles que son absorbidos en el intestino, llegan también a través de la sangre a los capilares hepáticos, en donde tanto los macrófagos como los hepatocitos los absorben y los almacenan. Como se aprecia en la imagen, la sangre llega a los espacios portales y desagua en los sinusoides, desde donde se dirige a las venas centrales y sale por la vena hepática que conecta con la vena cava.¹¹

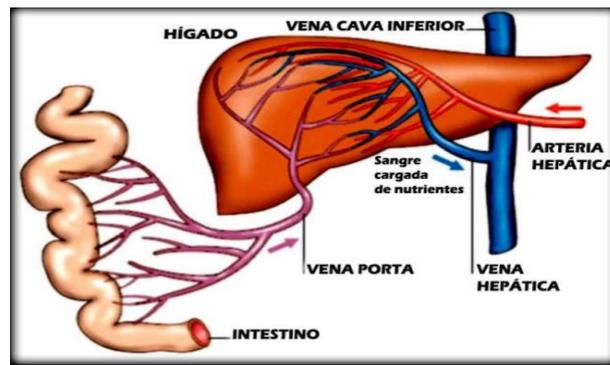


Figura 1: Fisiología de la irrigación del hígado. Imagen obtenida de la fuente: Anatomía del Hígado (Mejía, 2012)¹⁸

A parte de las células hepáticas, en los sinusoides nos encontramos con la presencia de otras células, las células endoteliales y las células Kupffer, macrófagos que se encargan de fagocitar cuerpos extraños de la sangre. Entre estas células endoteliales y las hepáticas es donde se localizan los espacios tisulares llamados espacios de Disse que se comunican entre ellos con vasos linfáticos.¹

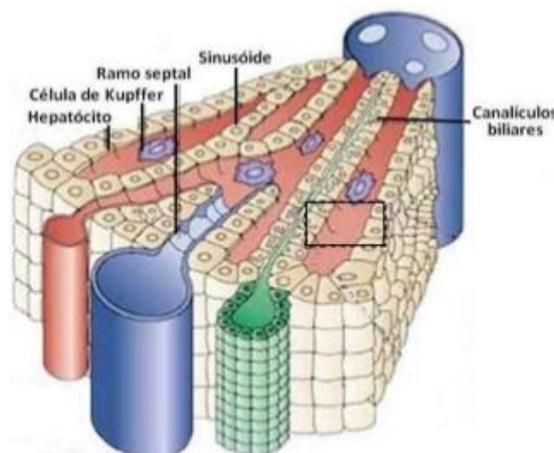


Figura 2: Estructura de los espacios de Disse. Imagen obtenida de la fuente Embriología hepática (Arellano 20016)¹

Entre las funciones más importantes de hígado, destaca la función metabólica, por la cual el hígado metaboliza parte de los productos absorbidos a nivel intestinal, así como la síntesis de numerosas sustancias como proteínas, factores de coagulación y aminoácidos.

Otra de las muchas funciones que desempeña consiste en la síntesis y secreción de bilis. La bilis ejerce dos funciones importantes. En primera instancia, facilita la digestión y la absorción de grasas, ya que los ácidos biliares por los que está formada emulsionan las partículas de grasa favoreciendo así la actuación de las enzimas lipasas. En segundo lugar la bilis sirve como medio de excreción de productos de deshecho de la sangre como son la bilirrubina y el colesterol.¹¹

Además el hígado desempeña un papel principal en el almacenamiento de vitaminas como la vitamina A, la vitamina D y la vitamina B12. Deposita el hierro en forma de ferritina formando almacenes de hierro en los hepatocitos hasta que este se necesita y es liberado. Por último, es importante citar también su función detoxificante, por la que actúa sobre los tóxicos exógenos como fármacos o endógenos modificando su solubilidad y favoreciendo así su excreción.¹¹

1.2. Fibrosis hepática

El hígado tiene una increíble capacidad de recuperación de masa después de una pérdida importante de tejido hepático, por una lesión aguda o por una hepatectomía. En estas situaciones, en 5-7 días el hígado es capaz de regenerar su masa celular y alcanzar su tamaño original. Esto ocurre porque las células hepáticas son capaces de dividirse hasta dos veces regenerando la masa hepática que se ha perdido durante la lesión. Una vez que ha terminado este proceso son capaces de volver a su estado quiescente habitual.⁵

¿Pero es este proceso regenerativo automático o hay algún factor que lo regula? No se conoce muy bien el mecanismo, pero parece ser que en este proceso, entre otros factores, participa y es esencial, el factor de crecimiento hepatocitario (HGF), producido por las células madre mesenquimales (MSCs) del hígado y de otros tejidos. Cuando se concluye la división celular, parece ser que el factor de crecimiento transformante β tiene un potente potencial inhibidor en la proliferación de los hepatocitos y por tanto podría ser el causante de la finalización del proceso.²⁴ Además de esto, determinados estudios confirman que el crecimiento del hígado está relacionado con el tamaño del organismo y así se mantiene una función metabólica óptima.¹⁷

En el caso de las enfermedades hepáticas crónicas, el desenlace es diferente, cuando las enfermedades asociadas a la inflamación hepática, como las infecciones víricas o la fibrosis cronifican, este proceso regenerativo se altera seriamente y por tanto la función hepática se ve notablemente afectada.

La fibrosis hepática representa una de las alteraciones crónicas más importantes del hígado, sin que sean viables los mecanismos de regeneración hepática, y se debe a la alteración del tejido hepático como consecuencia de una inflamación previa o la muerte de células hepáticas. Se

puede definir como un proceso dinámico que conlleva la deposición de matriz extracelular (EMC), orquestada por la intervención de distintos tipos de células y citoquinas. Esta fibrosis se puede desencadenar como resultado de numerosas alteraciones incluidas las hepatitis autoinmunes, obstrucción biliar, alteración por consumo excesivo de alcohol...⁵⁻²³

Según la OMS el consumo excesivo de alcohol es la causa principal de esta enfermedad y de la muerte por enfermedad hepática, aunque recientemente ha aumentado el número de casos por la prevalencia de la obesidad y el síndrome metabólico.

Esta alteración puede resultar en hepatocarcinoma, hipertensión portal, fallo orgánico del hígado y cirrosis donde el hígado es completamente afuncional, siendo las dos últimas causas importantes de morbimortalidad mundial.¹⁶

1.2.1. Progresión de la fibrosis. Procesos de señalización.

La fibrosis es un proceso dinámico asociado a una estructura anormal del hígado en donde participan citoquinas y células como hepatocitos, células Kupffer (macrófagos) y células endoteliales sinusoidales, cuya progresión se caracteriza por una excesiva deposición de matriz extracelular (EMC) formada por componentes como colágeno, mucopolisacáridos, glicoproteínas y proteoglicanos. Esta matriz se genera principalmente por células estrelladas (HSCs), cuya activación es esencial en el desarrollo de la fibrosis hepática.¹⁹⁻²⁴

En un hígado sano, las células estrelladas (HSCs) se encuentran en el espacio de Disse. Parece ser que al sufrir la apoptosis, los hepatocitos lideran la liberación de contenidos celulares y factores pro-fibróticos, factores que junto con macrófagos, células endoteliales y linfocitos provocan la activación de estas células¹⁸ y su migración a la zona dañada donde se diferencian en miofibroblastos, células con un elevado potencial de proliferación y migración y con capacidad para sintetizar gran cantidad de matriz extracelular (ECM) que resulta en la formación de septos que provocan una alteración hepática crónica.⁴

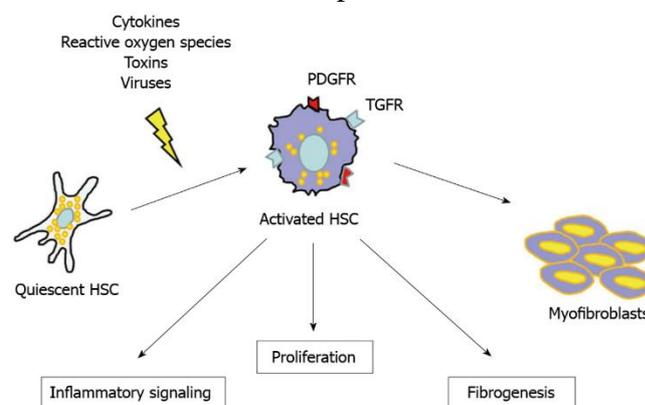


Figura 1: Activación de células estrelladas por diferentes tipos de estímulos (citoquinas, especies reactivas de oxígeno, toxinas, virus). Imagen obtenida del artículo Nanotechnology applications for the liver fibrosis (Lydia Giannitrapani, 2014)¹⁷

Estos miofibroblastos desempeñan un papel muy importante durante la inflamación, reparación, cicatrización y regeneración de los tejidos en los diferentes órganos,⁸ son células que poseen características intermedias entre fibroblasto y célula muscular lisa, ya que expresan la actina característica de las células del musculo liso, la α -SMA, además producen colágeno, metaloproteínas de la matriz (MMPs) y el inhibidor de la metaloproteasa 1 (TIMP1). Todos estos procesos provocan el aumento de la deposición de la matriz extracelular o ECM. Se sabe que hay varias poblaciones de estas células las cuales se diferencian en su morfología y localización y según el tipo de colágeno que sintetizan, de los cuales los más abundantes en la fibrosis son el colágeno de tipo I y colágeno de tipo III y cuyos niveles de expresión aumentan conforme va progresando la fibrosis.⁴

1.2.2. Factores de la familia TGF- β . BMPs.

Otro factor muy importante, a tener en cuenta en la progresión de esta patología es el factor crecimiento TGF- β 1, una molécula de naturaleza proteica que junto con las BMPs, pertenecen a la familia de los factores de crecimiento TGF- β , la cual consta de unas 30 citoquinas semejantes estructuralmente: TGF- β s (1,2 y3), inhibinas (A y B), activinas (A y B), miostrina, sustancia inhibidora de mulleriana (SIM) BMPs (1-20) y miostatina.¹³

El TGF- β 1 es una proteína multifuncional que participa en la regulación de la proliferación y diferenciación celular. Entre la cantidad de acciones que realiza, durante la fibrosis, es la citoquina más fibrogénica, ya que sus niveles aumentan con la activación de las células estrelladas, en las cuales induce un aumento de la expresión de genes de colágeno y otros componentes de la ECM. Además provoca la inhibición de la síntesis de enzimas de degradación de la matriz extracelular (EMC).¹⁰

Las BMPs, están formadas por dos cadenas polipeptídicas idénticas y se agrupan en 7 subfamilias según las similitudes en las secuencias de aminoácidos: BMP-2 y 4; BMP-5, 6, 7 y 8; GDF-5,6 y 7; GDF-8 y 11; BMP-9 y 10; GDF-1, 2 y 3 y GDF-10 y BMP-3.² Son secretadas como precursores de proteínas con una elongación hidrofóbica de entre 50 y 100 aminoácidos y comparten con el resto de moléculas que pertenecen a esta superfamilia una estructura conservada de nudo de cisteína con 7 cisteínas seis de las cuales forman un nudo de cisteína y el séptimo se usa para la dimerización con otro monómero.¹³

Se han aislado en más de 30 tejidos diferentes, donde están implicadas en una gran variedad de funciones. Como su nombre indica, las BMPs, participan en la formación de cartílago y huesos durante del desarrollo temprano del esqueleto, así como el desarrollo de los patrones

embrionarios. A parte de esto, participan en gran cantidad de procesos que han sido investigados, como la regulación de las propiedades de las células Stem, además estas funciones son diferentes según qué tipo de célula se trate.²⁶

Sus receptores, conocidos como *bone morphogenetic protein receptors* (BMPRs), son del tipo serina/treonina kinasa I y II, cuya interacción con las BMPs desencadena la transducción de una señal que provoca la fosforilación y traslocación al núcleo celular de proteínas de la familia de Smad, concretamente Smad1, Smad5 y Smad8, donde regulan la expresión de sus genes diana. Como se muestra en la siguiente figura, en primer lugar los ligandos se unen a los receptores I y II, a continuación, BMPR II se fosforila y activa al BMPR I, cuya fosforilación activa las proteínas Smad, que van a ser trasladadas al núcleo en donde regulan la actividad genética interactuando con co-activadores o co-represores transcripcionales.²⁶

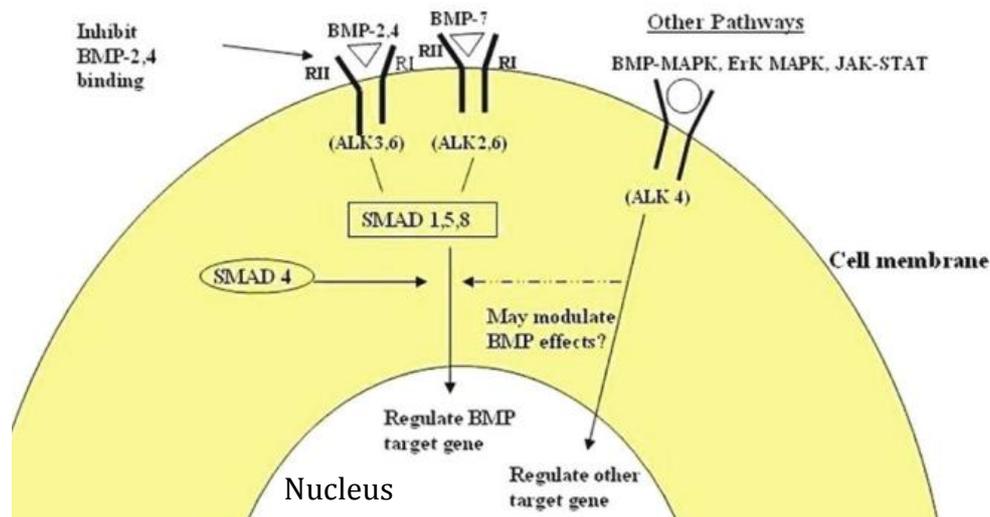


Figura 4: Mecanismo de señalización de las BMPs activando los receptores ALK tipo I y II. Imagen obtenida del artículo *Bone Morphogenetic Proteins: Periodontal Regeneration*²²

Las rutas de señalización en las que participan estas BMPs, BMPRs y Smads son importantes en el desarrollo del corazón, el sistema nervioso central, y el cartílago, además de participar en el desarrollo post-natal del hueso.²⁶ Cada una de estas proteínas activa un gen determinado, el cual tiene una función específica en estos procesos.²⁵

Según las últimas actualizaciones, la aplicación médica de estas proteínas tiene un potencial muy elevado, por lo que se podrían utilizar en humanos para tratar fusiones espinales, fracturas óseas, cirugías macrocefálicas... incluso al estar ampliamente distribuidas en tejidos no óseos, como en nervios, el tracto gastrointestinal, el hígado o el corazón, tienen acciones importantes que han llevado a desarrollar técnicas para tratar patologías en los mismos.²²

Entre todas las proteínas morfogenéticas que hay, podríamos centrarnos en dos importantes en nuestro estudio, la primera es la BMP-7, de la cual parece que tiene un papel importante en el desarrollo renal y hepático y su reparación y en la BMP-9 que promueve la diferenciación de células mesenquimales humanas multipotenciales,²⁶ además como luego veremos, es un importante potenciador de la fibrosis hepática.¹⁰

Por otro lado, se ha visto que el papel del factor de crecimiento TGF- α y el factor de elevada movilidad HMGB1 es importante en el proceso fibrótico³. Estudios recientes basados tanto en TGF- α ¹² como del HMGB1,²³ han demostrado que su inhibición frena el aumento de la expresión y la actividad del mRNA de colágeno y el aumento de la migración de las células HSCs.¹⁹

1.3. Desenlace de la fibrosis. Cirrosis.

Como ya hemos dicho, las HSCs son consideradas el tipo de células hepáticas principales en el exceso de la deposición de la ECM o matriz extracelular durante la fibrosis, esto radica en una balanza entre fibrogénesis y fibrolisis que desemboca en la producción de una costra. La progresión de esta costra provoca la formación de nódulos que van a alterar la estructura normal del hígado y al desarrollarse esta fibrosis puede desembocar en una cirrosis.² En muchos pacientes el resultado de esta cirrosis es el fallo hepático lo que provoca una elevada morbimortalidad a nivel mundial.²⁰

Cuando la fibrosis desemboca en cirrosis, se necesita pasar por una serie de fases histológicas que la caracterizan.

En primer lugar, una necrosis hepatocelular, como consecuencia de la hipoxia en el hígado y una disminución de las actividades enzimáticas de los hepatocitos por muerte celular. A continuación, este tejido necrosado es sustituido progresivamente por tejido conectivo, formado principalmente por colágeno, que se dispone formando septos fibrosos que envuelven al tejido hepático, todavía sano, dejándolo aislado.⁸

Por último, se va a activar la proliferación celular en un intento de regenerar el tejido. Esto ocurre porque el hígado es capaz de regenerarse a sí mismo. El problema de esto, es que una vez que han fracasado los mecanismos compensatorios de las funciones del hígado, porque la patología lleva mucho tiempo instaurada, se generan células que no son del todo viables y que no van a ser, ni si quiera, morfológicamente iguales a los hepatocitos sanos originales. Los hepatocitos así generados, son de mayor tamaño de lo normal, esto junto con la presencia de septos fibrosos, provoca que las células nuevas no se puedan disponer en los lobulillos hepáticos

y acaban ocupando zonas circulares sin presencia de la vena central que irrigaba y nutría a los hepatocitos. En definitiva, por la presencia de estos nódulos de regeneración se provoca una pérdida de la relación existente entre los vasos sanguíneos y los hepatocitos, lo que se traduce en una disfunción hepatocelular.⁸

Según los nódulos de regeneración formados, se distinguen tres tipos de cirrosis:

- Cirrosis micronodular, en la que predominan los nódulos de menos de 3 mm de tamaño, los cuales siguen una distribución difusa. Este tipo de cirrosis son provocadas por alcohol, fármaco y otros tóxicos.
- Cirrosis macronodular, en la que los nódulos tienen un tamaño de más de 3 mm y están separados por bandas fibróticas. Las causas más importantes de esta cirrosis son las hepatitis crónicas.
- Cirrosis mixtas, están formadas por ambos tipos de nódulos, tanto micronodulares como macronodulares.

En cuanto a las manifestaciones clínicas, se produce una reducción de la función hepatocelular y como consecuencia de la presencia de los nódulos de regeneración, aumenta la presión venosa, desarrollándose así una hipertensión. Estos dos mecanismos afectan a todo el metabolismo, ya que todos los sistemas se encuentran alterados, lo que bioquímicamente se traduce en un aumento de la bilirrubina, de los ácidos biliares y de las transaminasas y una disminución de la albúmina.⁸

El proceso se puede acompañar de fiebre, ictericia como fracaso de la función biliar y exceso de bilirrubina en los líquidos extracelulares, hepatomegalia, insuficiencia hepática, que trae consigo manifestaciones cutáneas como arañas vasculares que se observan sobretodo en la cara, el cuello, el tórax y los brazos. Todo esto puede incluso llegar a concluir en complicaciones tales como encefalopatías, ascitis o hemorragias digestivas.¹⁶⁻²²

1.4. Tratamiento de la fibrosis

Después de una lesión, el hígado es capaz de regenerar sus propias células. Sin embargo, cuando la patología es crónica, inducida por daños continuos en el tejido, se produce una alteración de la capacidad regenerativa del tejido dañado. Como hemos visto, esta respuesta a la alteración crónica engloba necrosis y apoptosis de las células y su sustitución por matriz extracelular.⁵

El tratamiento de esta patología varía según la causa, pero hasta ahora ha sido principalmente eliminar o disminuir el factor causante del daño crónico, ya que estudios recientes han

demostrado que al liberar el factor causal de la misma se revierte la fibrosis.²⁷ Además de esto se acompaña mediante un tratamiento no farmacológico como la variación de la dieta, hacer ejercicio y la disminución del peso, prescripción de medicamentos antiinflamatorios, eliminar el consumo de alcohol...⁹ Hoy por hoy el tratamiento farmacológico es meramente sintomático, ya que los fármacos que reducirían la fibrosis se encuentran en fase de investigación.

Otra opción a la que se puede recurrir es al trasplante hepático, que no en todos los casos es posible dadas las complicaciones existentes a nivel de disponibilidad y compatibilidad.

Actualmente diversos estudios han demostrado e identificado tanto dianas terapéuticas, como inhibidores farmacológicos, que podrían combatir la fibrosis hepática y así no tener que llegar al trasplante, sin embargo muchos de ellos se encuentran aún en etapas tempranas de ensayos clínicos.⁷

Hay publicados numerosos estudios sobre distintas posibilidades de tratamiento de la fibrosis que han dado buenos resultados en modelos *in vitro* e incluso algunos en modelos animales, sin embargo, al extrapolar los resultados en humanos, no se garantiza un resultado beneficioso del tratamiento puesto que en la mayoría de los casos, la información es monomecánica, es decir, se centra en una única célula, citoquina, receptor o molécula, cuando el proceso de la fibrosis como hemos dicho es dinámico y engloba numerosos factores influyentes, por lo tanto, la visión de estos estudios es muy limitada al tratarse de un tema tan complejo.⁵

Actualmente un tipo de terapia basada en la utilización de material génico (DNA y RNA) complementario a genes que se expresan en la fibrosis, ha dado resultados muy satisfactorios. La activación de las células estrelladas como consecuencia del aumento de citoquinas inflamatorias y la acumulación de matriz extracelular durante la fibrogénesis hepática, es el mayor obstáculo del tratamiento de la fibrosis. Esta investigación ha demostrado que utilizando estas moléculas, se puede modular la expresión de determinados genes para detener la progresión de la fibrosis, mediante un estudio realizado en Corea en modelos *in vitro* y modelos animales. El tratamiento de la fibrosis consistiría en evitar la activación de las HSC a base de oligodesoxinucleotidos complementarios de TGF- β que inhiben su expresión. Estos DNAs complementarios, o el uso de otras moléculas como siRNA (small interferin RNA) o miRNA (micro RNA) para inhibir la fibrogénesis hepática, abren una opción terapéutica alternativa al trasplante.¹⁴

Otros estudios postulan que la manipulación de señalizadores para modificar la expresión génica de los macrófagos hepáticos, reduce la progresión de la fibrosis y favorece la recuperación del órgano, sin embargo hay dificultades para que se confirme *in vivo*.⁵

Incluso se han encontrado ensayos realizados con nanopartículas en muchos modelos animales, basados en la conjugación de distintos ligandos antagonistas de receptores, expresados por la activación de las HSCs en la fibrosis, por lo que aumentar su estudio podría traer nuevos fármacos antifibróticos.¹⁷

2. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo consiste en demostrar mediante una revisión bibliográfica, el posible tratamiento de la fibrosis hepática, actuando sobre las proteínas morfogenéticas óseas o BMPs como diana terapéutica, modificando las distintas vías de señalización en las que participan.

3. METODOLOGÍA

La metodología de este trabajo consistió en la revisión bibliográfica de estudios publicados sobre el tratamiento de la fibrosis hepática mediante la modificación de las vías de señalización de los MBPs. En este proceso se ha contado con la información presente en libros, manuales de medicina y estudios, datos de la Organización Mundial de la Salud y artículos publicados sobre el hígado, la enfermedad hepática, el tratamiento de la fibrosis y los BMPs, para poder obtener de manera más precisa la información más relevante relacionada con nuestro estudio.

La principal fuente de información de la que se han obtenido la mayoría de los artículos y estudios ha sido la base de datos PUBMED, en donde se ha limitado la búsqueda utilizando como palabras clave “liver fibrosis”, “TGF- β ” (abreviatura de factor de crecimiento transformante β) y BMPs (abreviatura de proteína morfogenética ósea), centrando sobretudo la investigación en recopilar la información referente al BMP-7 y BMP-9, tratando de utilizar las fuentes de información más actuales.

La información se ha organizado por orden de relevancia, cuyas fuentes se referencian a lo largo del desarrollo del trabajo. Estas fuentes están recogidas en la bibliografía siguiendo las normas de Vancouver.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Funciones de la BMP-7

En cuanto a la BMP-7, hay evidencias de que es un factor muy importante en los riñones durante los procesos embrionarios en los que según evidencias científicas su falta provoca displasia renal, entre otras. En los procesos postnatales, en los que se han analizado los daños hepáticos, se ha comprobado que las BMPs juegan un papel importante a la hora de proteger al órgano frente a alteraciones y evitar la pérdida de función del riñón. Por ejemplo, la BMP-7 inhibe la desdiferenciación celular y la apoptosis de células dañadas, e incluso actúa como agente antiinflamatorio en fallo renal y daño isquémico. En concreto durante la fibrosis, prácticamente desaparece durante su progresión, situación que podría facilitar la progresión de la patología, puesto que su administración exógena o la inducción de su sobreexpresión, ha demostrado que reduce la fibrogénesis renal y la apoptosis celular.²¹ Así se ha podido respaldar la teoría de que es de gran importancia a la hora de preservar la función renal, así como la resistencia a su alteración estructural y funcional.

En cuanto a su papel en la fibrosis hepática, podría decirse que es similar, puesto que varias líneas de evidencia sugieren que posee propiedades antiinflamatorias y antifibróticas.⁶⁻²⁵⁻²⁸ Como se ha descrito, el TGF- β 1 es una citoquina muy importante en la promoción de la fibrosis hepática al estimular la activación de las HSCs.¹⁹ A su vez la BMP-7 en el hígado desempeña multitud de funciones, participa en la regulación de la proliferación, diferenciación y apoptosis de varios tipos celulares y tiene un papel importante en la formación del tejido hepático. Siendo estas dos proteínas miembros de la misma familia, recientemente se ha demostrado que la BMP-7 antagoniza de forma directa la trasducción de la señal del TGF- β 1, inhibiendo así la cadena de señalización TGF- β /Smad y aumentando la fosforilación de Smad1/5/8.⁶⁻²⁵ En este campo, hay que citar el antagonista de las BMP, Gremlin o Grem, una proteína cuya expresión fisiológica es muy pequeña, pero en un proceso patológico el TGF- β 1 la favorece y esto, promueve la fibrosis de tejidos como riñones o hígado.²

4.1.1. Fármacos cuyo mecanismo se basa en aumentar los niveles de BMP-7

Según diversos estudios en modelos animales, cuando se trata a un grupo de animales a los que se les ha inducido la fibrosis, con preparaciones herbáceas desarrolladas para este efecto, se consigue reducir la fibrosis. Una vez realizados los pertinentes análisis de proteicos, DNA, western-blood... se comprobó que los niveles de BMP-7 eran elevados, habiendo disminuido paralelamente tanto el TGF- β 1 como Gremlin.²⁵

La desregulación del TGF- β 1 ha sido la principal diana para el tratamiento de la fibrosis, sin embargo, según estos estudios,²⁵ podrían utilizarse sustancias, preparados o moléculas que aumentasen de alguna manera la cantidad de BMP-7 y así por medio de su vía de señalización disminuir la progresión de la fibrosis hepática antagonizando la actividad del TGF- β 1.

Otra línea de investigación corroboró esto sirviéndose de la experimentación con dos grupos de ratas a las que se les indujo la fibrosis hepática. El estudio consistía en la comparación de la progresión de la enfermedad fibrótica en el que a uno de los grupos se les trató con una combinación de hierbas llamado “Herbal compound 861” (Cpd 861), que incluía distintas especies como: *Salvia miltiorrhiza*, *Astragalus membranaceus*, *Radix Bupleuri*, *Spaholobus suberectus* y *Cyperus rotunds* entre otras.⁶

Una vez finalizado el estudio se sacrificaron las ratas y se recogieron los distintos parámetros necesarios para establecer, que aquellos individuos tratados con Cdp 861, poseían menos fibras de colágeno acumuladas en el hígado, es decir, la mezcla de hierbas mejoraba la fibrosis hepática y disminuía su progresión. Además de esto, mediante estudios genéticos demostraron que en el grupo de animales tratados, aumentada considerablemente la expresión genética de la proteína BMP7.⁶

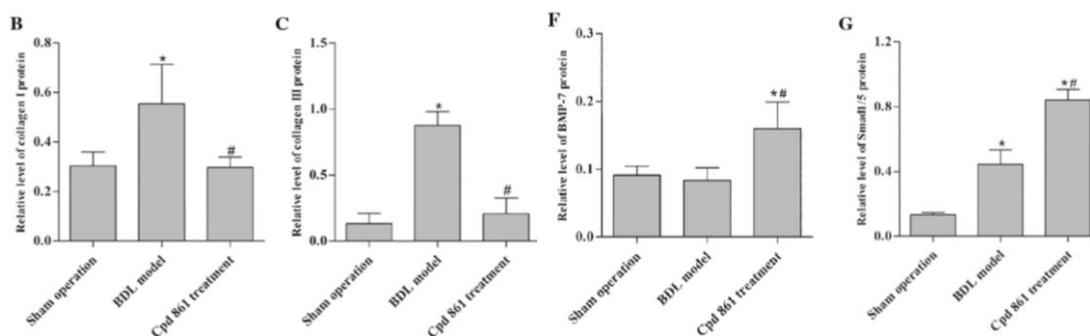


Figura 6: Cuantificación de los niveles de colágeno I, colágeno III, proteínas Smad 1/5 y BMP-7 mediante Western blot, en grupos de estudio comparando las variaciones que hay entre ambos grupos con fibrosis, uno de ellos tratado y el otro no. Obtenida del artículo Fei Hou, 1916⁶

Con estos resultados se concluyó que la presencia de la BMP-7 se ve enormemente favorecida con estas sustancias, Cpd 861, en un hígado fibrótico, y además se consiguió una regulación negativa de la señalización del TGF- β 1 y la consecuente disminución de la fibrosis, por lo que se podría decir, que una mejora de la fibrosis viene acompañada de un aumento de la BMP-7, sin embargo habría que establecer un mayor grado de evidencias y realizar más estudios para confirmar si es el aumento de la BMP-7 y su actividad, la responsable de la mejora de la fibrosis.⁶

4.2. Función de la BMP-9

La BMP-9 se expresa en el hígado como un precursor proteico compuesto por 429 aminoácidos (Pre-Pro-BMP9), que sufre dos cortes gracias a serina endoproteasas, que finalmente van a liberar la estructura madura de 110 aminoácidos cada cadena.¹⁰

Esta proteína, también conocida como GDF2 (factor de crecimiento 2) regula gran cantidad de funciones corporales como el balance iónico, formación de cartílago, angiogénesis y diferenciación de neuronas y el metabolismo de la glucosa y de los lípidos. En cuanto al hígado, es el órgano que más sintetiza BMP-9, sin embargo, se sabe muy poco sobre la regulación de su expresión en el mismo. A pesar de esto, se ha visto que ejerce numerosas acciones ya que la mayoría de las células hepáticas, como hepatocitos, células no parenquimales, células estrelladas y células Kupffer, responden a esta citoquina ya que expresan el receptor ALK1. En concreto en las HSCs, la interacción de la BMP-9 provoca la fosforilación de la proteína Smad-1.² Siguiendo la cascada de señalización, se fosforilan también Smad 5 y 8, que van a formar un complejo que es trasladado al núcleo donde activan distintos genes como Id1, Hecpídina y Snail.²⁻¹⁰

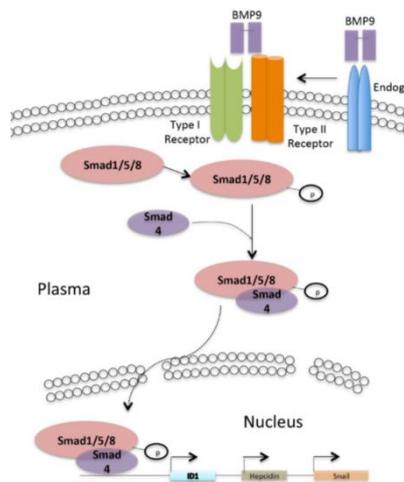


Figura 8: Vía de señalización Smad activada por la BMP-9. Imagen obtenida del artículo *Potential Roles of BMP9 in Liver Fibrosis*.¹⁰

De estos tres genes, el mejor relacionado con la BMP-9 es el gen de la hepcidina, un péptido producido por los hepatocitos que regula el metabolismo del hierro. En cuanto al gen Snail, se ha visto que su expresión es muy elevada en células patológicas presentes en hepatocarcinoma.² Por otra parte, al activar la expresión del gen Id1 en las células HSCs, mediante esta vía de las proteínas Smad, se induce la activación de estas células y su diferenciación en miofibroblastos.¹⁰ Como ya sabemos, el desarrollo de la fibrosis consta de la activación de células no parenquimales, principalmente las HSCs y la desestabilización de las funciones celulares. Por tanto está demostrado que la BMP-9 está involucrada en la fibrosis.

Varias líneas de evidencia en las que se estudia la progresión de la fibrosis induciéndola en animales con CCL4 demuestran con un posterior análisis sérico y celular que la BMP-9 aumenta.³ Además de esto, el Dr Katja Breitkopf, llevó a cabo un experimento in vitro en el que midió la expresión de mRNA que codifica para la BMP-9 y su secreción durante la activación de las HSCs en la fibrosis. Los resultados demostraron que el aumento de la citoquina era significativamente elevado y estos niveles se mantenían durante una semana.³ Por tanto, la actividad de esta citoquina en la fibrosis es un círculo vicioso, estimula la diferenciación de las HSCs en miofibroblastos y estas al activarse aumentan su síntesis y liberación, lo que va a provocar un aumento de la fibrosis.

4.2.2. Aplicación de la BMP-9 como marcador y diana en la fibrosis.

Como hemos visto, aunque las evidencias no sean abundantes, la BMP-9 participa como citoquina proinflamatoria en el desarrollo de la fibrosis hepática. Por ello se han estudiado distintas formas de intervenir a lo largo de su vía de señalización para evitar la final diferenciación de las HSCs. Además al ser una citoquina que aumenta con la progresión de la fibrosis,³ puede utilizarse como marcador para el diagnóstico de la enfermedad.

Ambos objetivos fueron conseguidos en un estudio realizado en el instituto de inmunología de Shanghái, con ensayos en modelos animales. En uno de estos consiguieron sintetizar un marcador de BMP-9 que inoculaban en los animales separados por grupos según el grado de fibrosis que presentaban. Con este marcador pudieron ver que la concentración de la proteína aumentaba en estadios avanzados de la enfermedad. Después se realizó el mismo ensayo con sueros humanos de pacientes que sufrían fibrosis y al cruzar ambos tipos de datos, los resultados corroboraban la hipótesis de que un aumento de la BMP-9 estimula el proceso de fibrosis hepática y viceversa.¹⁵

Para alcanzar el segundo objetivo, utilizar la BMP-9 como diana terapéutica, se realizaron dos tipos de ensayo. En primer lugar, se demostró que inactivando la expresión genética de la citoquina, mediante la inoculación de un adenovirus, que portaba un gen silenciador del gen codificante para la BMP-9, disminuía su síntesis. Al comparar este grupo de animales se comprobó que la fibrosis era mucho menor. Además al examinar la expresión de colágeno I y α -Smad en el mismo modelo comprobaron que ambos niveles eran menores que en el grupo de animales que no habían sido tratados.¹⁵

Otra parte del experimento consistió en neutralizar la BMP-9 con un anticuerpo monoclonal anti-BMP-9, los resultados reflejaron una disminución en la activación de las HSCs y la consiguiente inhibición de la fibrosis.¹⁵

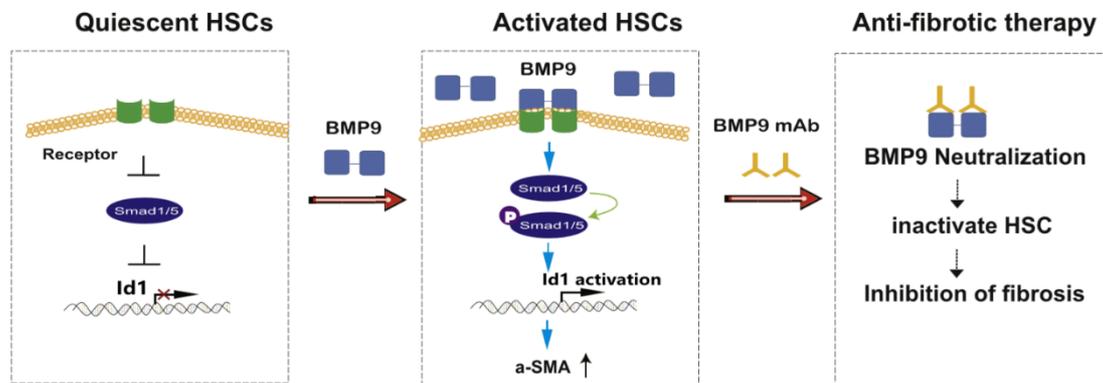


Figura 9: cadena de señales provocada por la BMP-9 en las células estrelladas activadas en la fibrosis y la posible estrategia de bloqueo de esta mediante anticuerpos anti-BMP-9. Imagen obtenida del artículo Targeting secreted cytokine BMP9 gates the attenuation of hepatic fibrosis.¹⁵

Todo esto lleva a concluir que se podría utilizar el BMP-9 como marcador para diagnosticar la fibrosis hepática al demostrar que los niveles séricos de la misma aumentan conforme progresa la enfermedad. Además podría incluso utilizarse como diana terapéutica en el tratamiento de la fibrosis utilizando anticuerpos para neutralizarla y así evitar la vía de señalización que produce el aumento de colágeno y de la proteína α -SMA.

5. CONCLUSIONES

La elevada difusión de las patologías hepáticas crónicas y la relativa ineficacia de las opciones terapéuticas que se utilizan actualmente, especialmente para procesos de fibrosis avanzada, hacen que se necesiten nuevos fármacos o nuevas estrategias terapéuticas para curar la fibrosis.

A pesar de que actualmente los estudios relacionados con los BMPs son escasos por su reciente relación con el proceso fibrótico, podrían utilizarse en un futuro como dianas terapéuticas para afrontar un tratamiento eficaz de la fibrosis hepática, evitando así su progresión hasta cirrosis y fracaso hepático.

Hemos encontrado una acción positiva y otra negativa de enfrentarnos a esta enfermedad haciendo uso de las BMPs.

En cuanto a la acción positiva, significaría potenciar la síntesis de la BMP-7 o estimular su acción. Se ha demostrado que la inhibición de la ruta de señalización del TGF- β , aumenta la regeneración y la recuperación de un hígado fibrótico y esto puede realizarse mediante la estimulación de la ruta de señalización celular que activa la BMP-7, por lo tanto un tratamiento

contra la fibrosis hepática podría consistir en estimular su síntesis y proteger su actividad, o incluso su administración exógena.

Para la acción negativa, bastaría con encontrar la manera de dirigir anticuerpos anti-BMP-9 hasta esta proteína en el hígado y así neutralizarla para evitar que active sus receptores y continúe estimulando la progresión de la fibrosis.

Todo esto se ha visto demostrado en modelos animales a los que se les ha inducido la enfermedad, sin embargo son muy escasos los estudios y apenas contamos con evidencias científicas en pacientes. Además hay que tener en cuenta que esta enfermedad es un proceso muy dinámico en el cual participan infinidad de factores, células y vías de señalización por lo que estas actuaciones podrían ser insuficientes para radicalizar su progresión maligna.

Esto nos lleva a preguntarnos, cuál sería el fármaco o la manera de acceder a la manipulación de estos procesos y rutas de señalización en una fibrosis hepática desarrollada de manera natural en un hígado humano. No se ha encontrado información referente a dicha cuestión, pero sí que se puede afirmar que se ha abierto una nueva opción terapéutica que podría llegar a ser muy eficaz en el tratamiento de la enfermedad hepática.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Arellano, J. (20 de Febrero de 2016). *Hígado-Páncreas-Embriología de Sistema Digestivo: SlideShare*. (Universidad de los Andes) Obtenido de SlideShare Web site: <https://www.slideshare.net/iramaparra14/hgadopncreasembriologa-del-sistema-digestivo>
2. Blanca Herrera, S. D.-H. (2014). Potential Roles of Bone Morphogenetic Protein (BMP)-9 in Human Liver Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 15, 5199-5220.
3. Breitkopf-Heinlein, K, Meyer, C, König, C, Gaitantzi, H, Addante, A, Thomas, M, Wiercinska, E., Cai, C., Li, Q., Wan, F., Hellerbrand, C., Valous, N., Hahnel, M, Ehling, C., Bode, J., Müller-Bohl, S., Klingmüller, U., Altenöder, J., Ilkavets, I., Goumans, M., Hawinkels, L., Lee, S., Wieland, M., Mogler, C., Ebert, M, Herrera, B., Augustin, H., Sánchez, A., Dooley, S. and ten Dijke, P. (2017). BMP-9 interferes with liver regeneration and promotes liver fibrosis. *Gut*, 66(5), pp.939-954
4. Carlos Ramos Abraham, C. B. (2004). El miofibroblasto, una célula en la patología pulmonar. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, 17(3), 215-231.
5. Christian Trautwein, S. L. (February de 24 de 2015). Hepatic fibrosis: Concept to treatment. *EASL. Journal of Hepatology*, 515-524.

6. Fei Hou, R. L. (April de 2016). Attenuation of liver fibrosis by herbal compound 861 via upregulation of BMP-7/Smad signaling in the bile duct ligation model rat. *Molecular Medicine Reports*(13), 4335-4342.
7. *Fibrosis hepática se podría revertir con tratamiento.* (20 de Febrero de 2017). Obtenido de Hepatitis 2000: <http://hepatitis2000.org/fibrosis-hepatica-se-podria-revertir-tratamiento/>
8. García-Conde, J.; Merino Sánchez J. & González Macías J. “Patología general: introducción a la medicina clínica” 3ªed., Ed. Marbán, 2015
9. *Hígado graso y fibrosis hepática.* (12 de Octubre de 2015). Obtenido de Radiologyinf.org: <https://www.radiologyinfo.org/sp/info.cfm?pg=fatty-liver-disease>
10. Jianjun Bi, and Shengfang Ge, (2014). Potential Roles of BMP9 in Liver Fibrosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11), pp.20656-20667
11. John E.Hall, P., & Guyton, A. C. (2011). *Tratado de fisiología médica.* Barcelona: Elsevier.
12. Kato, J., Sato, Y., Inui, N., Nakano, Y., Takimoto, R., Takada, K., Kobune, M., Kuroiwa, G., Miyake, S., Kohgo, Y. and Niitsu, Y. (2003). Ethanol Induces Transforming Growth Factor- β Expression in Hepatocytes, Leading to Stimulation of Collagen Synthesis by Hepatic Stellate Cells. *Alcoholism: Clinical & Experimental Research*, 27(Supplement), pp.58S-63S
13. Kelly J.Gordon, G. C. (April de 2008). Role of transforming growth factor- β superfamily signaling pathways in human disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1782(4), 197-228.
14. Kyung-Hyun Kim, K.-K. P. (28 de October de 2014). Small RNA- and DNA-based gene therapy for the treatment of liver cirrhosis, where we are? *World Journal of Gastroenterology*, 14696-14705. doi:10.3748/wjg.v20.i40.14696
15. Li, P., Li, Y., Zhu, L., Yang, Z., He, J., Wang, L., Shang, Q., Pan, H., Wang, H., Ma, X., Li, B., Fan, X., Ge, S., Jia, R. and Zhang, H. (2018). Targeting secreted cytokine BMP9 gates the attenuation of hepatic fibrosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1864(3), pp.709-720.
16. López Artímez, M. (2011). Aparato digestivo. Oviedo: Curso Intensivo Mir Asturias.
17. Lydia Giannitrapani, M. S. (21 de June de 2014). Nanotechnology applications for the therapy of liver fibrosis. *World Journal of Gastroenterology*, 20(23), 7242-7251.
18. Mejia, L. R. (21 de Septiembre de 2012). *Anatomía del Hígado* . Obtenido de SlideShare: <https://es.slideshare.net/maggie1105/anatoma-del-higado-14374713>
19. Mekala, S., Tullimilli, S., Geesala, R., Manupati, K., Dhoke, N. and Das, A. (2018). PDGF-BB and TGF β -mediated Cellular Crosstalk during Hepatic Injury Activates Hepatic Stellate Cells. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*.

20. ONAH. (2018). *Fibrosis hepática - Organización Nacional de Afectados por Hepatitis*. [online] Available at: <http://onahepatitis.org/fibrosis-hepatica/>
21. Petra Simic, S. V. (2005). Bone morphogenic proteins in development and homeostasis of kidney. *Elsevier*, 299-308.
22. Rao, S., Ugale, G. and Warad, S. (2013). Bone morphogenetic proteins: Periodontal regeneration. *North American Journal of Medical Sciences*, 5(3), p.161.
23. Seo, Y., Kwon, J., Yaqoob, U., Yang, L., De Assuncao, T., Simonetto, D., Verma, V. and Shah, V. (2013). HMGB1 recruits hepatic stellate cells and liver endothelial cells to sites of ethanol-induced parenchymal cell injury. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 305(11), pp.G838-G848.
24. Wilhelm, A., Aldridge, V., Haldar, D., Naylor, A., Weston, C., Hedegaard, D., Garg, A., Fear, J., Reynolds, G., Croft, A., Henderson, N., Buckley, C. and Newsome, P. (2015). CD248/endosialin critically regulates hepatic stellate cell proliferation during chronic liver injury via a PDGF-regulated mechanism. *Gut*, 65(7), pp.1175-1185.
25. Xue-Ke Zhao, M.-L. C.-M.-M.-J.-F.-Y. (2014). Effect of Danshao Huaxian capsule on Gremlin and bone morphogenetic protein-7 expression in hepatic fibrosis in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 14875-14883.
26. Yong-TaoXiao, L.-X. X.-Z. (19 de July de 2007). Bone morphogenic protein. *Biochemical and Biophysical Research Communicatios*, 550-553.
27. Mengxi Sun, T. K. (2015). Reveribility of liver fibrosis. *Clinics and Resarch in Hepatology and Gastroennterology*, 39, 560-563.
28. Wang SL, Yang CQ, Qi XL, Yuan M, Chang YZ, Yang L and Gao HJ: Inhibitory effect of bone morphogenetic protein-7 on hepatic fibrosis in rats, *Int J Clin ExpPathol* 6: 897-903, 2013.