

Papel de los mediadores lipídicos derivados del ácido araquidónico en la inflamación y la fibrogénesis hepática

J. Clària, N. Ferré, A. González-Pérez, R. Horrillo y M. López-Parra

Servicio de Bioquímica y Genética Molecular. Hospital Clínic. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS).
Universitat de Barcelona. Barcelona. España.

INTRODUCCIÓN

Los mediadores lipídicos de inflamación son compuestos de naturaleza lipídica con bajo peso molecular y una gran actividad proinflamatoria. En la presente revisión se describen los principales mediadores lipídicos de inflamación, las principales vías de su biosíntesis en el sinusoide hepático y su implicación en el desarrollo de inflamación hepática y en la progresión a fibrosis. También se enumeran de forma resumida las principales estrategias farmacológicas que tienen como diana estos mediadores lipídicos y su potencial aplicación a la prevención de la inflamación y la fibrogénesis hepática.

BIOSÍNTESIS DE MEDIADORES LIPÍDICOS DE INFLAMACIÓN

En respuesta a un estímulo inflamatorio, las células activadas son capaces de utilizar los lípidos de su membrana celular para generar mediadores lipídicos que actúan como señales intracelulares o extracelulares. Un ejemplo paradigmático de esta clase de mediadores son los metabolitos del ácido araquidónico, un ácido graso poliinsaturado que se libera de los fosfolípidos de la membrana celular plasmática mediante la acción de la enzima fosfolipasa A₂¹. Alternativamente, el pool de fosfolípidos de membrana puede ser metabolizado a 1-alkil-2-acetil-lisofosfatidilcolina, o factor activador de las plaquetas (PAF), otro potente mediador lipídico de inflamación². Las concentraciones intracelulares de ácido araquidónico libre en células de mamíferos son normalmente muy bajas, ya que este ácido graso es rápidamente metabolizado a un grupo de compuestos que se denominan de forma

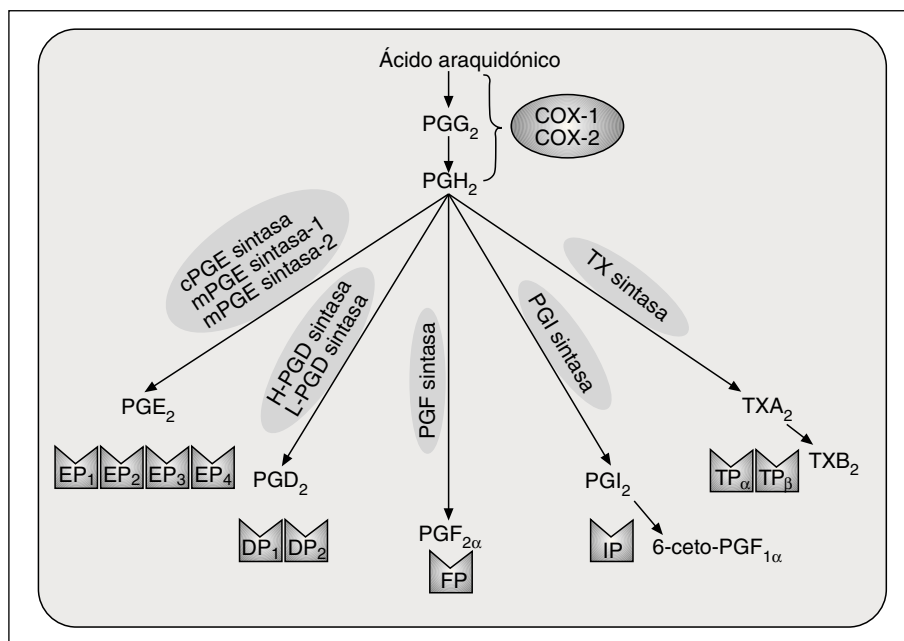
genérica eicosanoides. El término eicosanoides (del griego *eicosa*, «veinte») hace referencia al origen común de estos mediadores a partir del ácido araquidónico, un ácido graso de 20 átomos de carbono. En los mamíferos hay dos principales vías de metabolismo del ácido araquidónico: la vía de la ciclooxigenasa (COX) y la vía de las lipooxigenasas (LO), mediante las cuales se sintetizan la mayor parte de los eicosanoides biológicamente activos, como los prostanooides (prostaglandinas [PG] y tromboxano [TX]), los leucotrienos (LT), los ácidos hidroxi-eicosatetraenoicos (HETE) y las lipoxinas (LX)²⁻⁴.

La vía de la COX

Desde hace tiempo se conoce la vía de la COX, mediante la cual el ácido araquidónico se convierte a las distintas PG y TX (fig. 1)⁵. La COX es una hemoproteína de membrana formada por dos polipéptidos idénticos de 70 kD, que funciona como una enzima bifuncional, y lleva a cabo las 2 primeras etapas de la biosíntesis de prostanooides: a) la oxidación del ácido araquidónico para formar la estructura cíclica PGG₂ (actividad ciclooxigenasa propiamente dicha), y b) la peroxidación de la PGG₂ para originar el PGH₂ (actividad peroxidasa) (fig. 1)⁵. El endoperoxido PGH₂ es el metabolito intermediario de la biosíntesis de las distintas PG: PGE₂, PGI₂ o prostaciclina, PGF_{2α} y PGD₂ por sintasas terminales específicas. Así, por ejemplo, la PGH₂ se transforma por la PGD sintasa a PGD₂, por la PGE sintasa a PGE₂, por la PGF sintasa a PGF_{2α} y por la PGI sintasa a PGI₂ o prostaciclina. Se han descrito 3 PGE sintasas distintas (cPGE, mPGE-1 y mPGE-2) y 2 isoformas de la PGD sintasa (H-PGD y L-PGD). Sobre la PGH₂ actúa también la TX sintasa que origina el TXA₂. Tanto PGI₂ como TXA₂ son compuestos muy inestables (vida media de 30 s para el TXA₂ y de 3 min para la PGI₂) y se hidrolizan espontáneamente a 6-ceto-PGF_{1α} y TXB₂, respectivamente, los cuales no poseen actividad biológica (fig. 1). Aunque la presencia de COX se ha descrito en todas las células del organismo excepto en los

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

Fig. 1. La vía de la ciclooxigenasa (COX). El ácido araquidónico es transformado por las 2 isoformas de la COX (COX-1 y COX-2) en prostaglandina (PG) G_2 , la cual es posteriormente reducida a PGH_2 . La PGH_2 es un endoperóxido altamente inestable que es rápidamente convertido por sintasas terminales específicas a PG de las series E_2 , D_2 , F_2 e I_2 y a tromboxano (TX) A_2 . La PGI_2 (prostaciclina) y el TXA_2 son rápidamente hidrolizados a los compuestos inactivos 6-ceto- $PGF_{1\alpha}$ y TXB_2 , respectivamente. En el momento actual, se han descrito tres isoformas de la PGE sintasa y dos para la PGD sintasa. Una vez formados, cada uno de los prostanoides interacciona con uno o varios receptores específicos.



eritrocitos, la biosíntesis de prostanoides es específica de cada tipo celular y está estrechamente relacionada con su función biológica^{3,6}. Por ejemplo, la célula endotelial vascular sintetiza principalmente PGI_2 , un potente relajante del músculo liso vascular e inhibidor de la agregación plaquetaria, mientras que la plaqueta sintetiza predominantemente TXA_2 , un potente vasoconstrictor y un poderoso agente proagregante. Hasta el momento, se han descrito 10 diferentes tipos y subtipos de receptores de prostanoides, los cuales, al igual que las sintasas responsables de su síntesis, se expresan de forma específica en cada uno de los tejidos y tipos celulares⁶⁻⁸. Cuatro de estos receptores reconocen a la PGE_2 (EP_1 , EP_2 , EP_3 y EP_4), 2 unen PGD_2 (DP_1 y DP_2), 2 unen TXA_2 ($TP\alpha$ y $TP\beta$) y los 2 restantes son receptores únicos para $PGF_{2\alpha}$ y PGI_2 (FP y IP , respectivamente) (fig. 1)⁶⁻⁸. La mayoría de estos receptores están acoplados a la activación de la proteína G, aunque el mecanismo de transducción de señal es característico de cada uno de ellos. Así, por ejemplo, la unión de la PGI_2 a sus receptores produce la activación de la adenilato ciclasa, el incremento de los valores intracelulares de AMPc y la activación de proteínas cinasas específicas, las cuales a su vez fosforilizan las bombas de calcio, lo que conlleva un descenso de la concentración intracelular de este ión⁷. En cambio, la unión del TXA_2 a sus receptores específicos conlleva la formación de inositol-1,4,5-trifosfato, la movilización de las reservas intracelulares de calcio y el aumento de los valores intracelulares de este ión⁷. Por último, es importante mencionar que ciertas PG actúan también como ligandos de receptores nucleares, como los receptores activadores de la proliferación de los peroxisomas (PPAR)⁹.

Un capítulo aparte lo constituyen las PG ciclopentenonas (cyPG). Las cyPG son productos no enzimáticos de la deshidratación de determinadas PG. Las cyPG se caracte-

rizan estructuralmente por la presencia de un grupo carbonil no saturado altamente reactivo en el anillo ciclopentenona¹⁰. Las cyPG más relevantes desde el punto de vista biológico son las PG de la serie J_2 (PGJ_2 , Δ^{12} - PGJ_2 y $15d$ - PGJ_2), todas ellas derivadas de la PGD_2 . No se ha descrito hasta el momento ningún receptor que reconozca las cyPG, pero sí que se ha demostrado que la $15d$ - PGJ_2 es un ligando natural del $PPAR\gamma$ ¹¹. De los efectos biológicos de las CyPG cabe destacar sus propiedades antiinflamatorias que se manifiestan mediante el bloqueo de NF κ B, la inhibición de la producción de citocinas en monocitos^{12,13} y la inhibición directa de enzimas clave de la cascada del ácido araquidónico, como la fosfolipasa A_2 , la COX-2 y la PGE sintasa^{14,15}. En modelos experimentales, se ha descrito que las CyPG suprimen los marcadores de inflamación asociados a la artritis y atenúan y aceleran la resolución de la enfermedad inflamatoria intestinal^{16,17}.

Durante muchos años se consideró que la COX era una única enzima que se expresaba constitutivamente en la mayoría de tejidos. En 1992 se aportaron las primeras evidencias de la existencia de 2 isoformas de la COX (COX-1 y COX-2), al identificarse y clonarse una nueva isoforma de la COX inducida por el forbol éster y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) en fibroblastos procedentes de embrión de pollo y de ratón, respectivamente¹⁸⁻²⁰. Posteriormente, se demostró la capacidad de estímulos proinflamatorios, como la endotoxina, el interferón (IFN) γ , la interleucina (IL)- 1β y el factor de necrosis tumoral (TNF) α , de inducir la expresión de COX-2 en monocitos, macrófagos, sinoviocitos, condrocitos, mastocitos, células endoteliales, células mesoteliales, células mesangiales y células musculares lisas vasculares^{21,22}. Aunque tanto COX-1 como COX-2 metabolizan el ácido araquidónico a PG y TX, y son sensibles en mayor o menor grado a la inhibición por parte de los antiin-

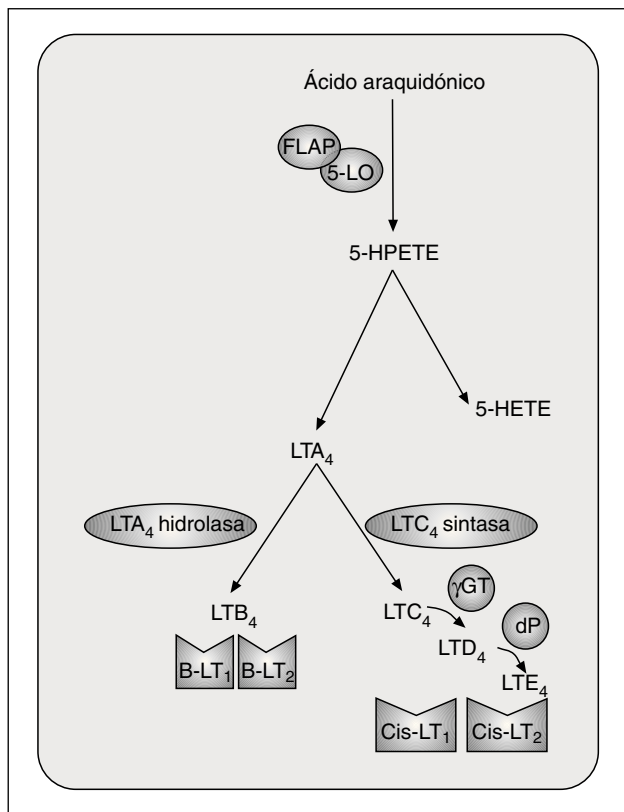


Fig. 2. La vía de la 5-lipooxigenasa (5-LO). Tras su activación, la 5-LO transloca desde el citosol a la membrana nuclear donde interacciona con la proteína activadora de la 5-LO (FLAP), que facilita la transformación del ácido araquidónico en ácido 5-hidroperoxieicosatetraenoico (5-HPETE). Este intermediario puede ser convertido a 5-HETE o a LTA₄. El LTA₄ es un epóxido inestable que es convertido por la LTA₄ hidrolasa a LTB₄ o bien por la LTC₄ sintasa a LTC₄. El LTC₄ es posteriormente metabolizado de forma secuencial por la γ -glutamyl transferasa (γ GT) y la dipeptidasa (dP) a LTD₄ y LTE₄, respectivamente. LTC₄, LTD₄ y LTE₄ se denominan colectivamente como cisteinil-LT. En el momento actual, se han clonado e identificado dos receptores distintos para el LTB₄ y dos para los cisteinil-LT.

flamatorios no esteroides (AINE), estas isoformas se distinguen esencialmente por su función fisiológica. En este sentido, se considera que la COX-1 es una isoforma constitutiva que desempeñaría un papel clave en el mantenimiento de las funciones homeostáticas básicas, promovería la producción de PG básicamente protectoras y sería la forma predominante en la mucosa gástrica y las plaquetas^{22,23}. Por el contrario, y con notables excepciones (p. ej., el riñón y el sistema nervioso), la COX-2 es una isoforma inducible que no se expresa en condiciones normales y su expresión se induce en procesos inflamatorios y de proliferación y diferenciación celular^{22,23}.

La vía de las lipooxigenasas

La segunda vía de metabolismo del ácido araquidónico es la vía de las LO, la cual agrupa a una familia de dioxigenasas que transforman el ácido araquidónico en HETE,

LT y LX^{4,6}. En los seres humanos hay 3 LO distintas, que se denominan 5-LO, 12-LO y 15-LO, las cuales incorporan una molécula de oxígeno en los carbonos 5, 12 o 15, respectivamente, del ácido araquidónico^{2,8,24}. La 5-LO convierte el ácido araquidónico en 5-HETE y LT, mientras que la 12-LO y la 15-LO generan los correspondientes 12 y 15-HETE^{2,8,24}. Alternativamente, la interacción entre varias LO (p. ej., entre la 5 y la 12, o bien entre la 15 y la 5) da lugar a la síntesis de LX, un grupo de eicosanoides con particulares propiedades antiinflamatorias^{2,25}.

La vía de la 5-LO es la más relevante desde el punto de vista fisiológico y farmacológico, ya que es la responsable de la síntesis de LT^{4,6,26}. Para metabolizar el ácido araquidónico a través de la vía de la 5-LO es necesaria la translocación de esta enzima desde el citosol a la membrana nuclear, donde interacciona con la proteína activadora de la 5-LO (FLAP). La proteína FLAP facilita la presentación del sustrato (ácido araquidónico) al centro activo de la 5-LO y la transformación de éste en 5-HPETE, el cual se convierte posteriormente por la misma 5-LO a 5-HETE y a LTA₄²⁷⁻²⁹ (fig. 2). El LTA₄ es un compuesto inestable y altamente reactivo, que es rápidamente transformado por la LTA₄ hidrolasa a LTB₄, o bien conjugado con el glutatión mediante la actividad de la enzima LTC₄ sintasa para dar lugar al LTC₄. Mediante la pérdida sucesiva de residuos aminoácidos, el LTC₄ es transformado en LTD₄ y LTE₄, los cuales reciben el nombre genérico de péptido-LT o cisteinil-LT (fig. 2).

Una vez sintetizados y liberados, los productos derivados de la 5-LO ejercen sus efectos biológicos mediante la activación de receptores acoplados a proteína G. Hasta el momento, se han clonado 2 receptores distintos para el LTB₄ y 2 para los cisteinil-LT (fig. 2). Los receptores B-LT1 y B-LT2 reconocen al LTB₄ con alta y baja afinidad, respectivamente. El receptor B-LT1 se localiza sobre todo en los leucocitos, y su activación induce una clara respuesta quimiotáctica, mientras que el receptor B-LT2 se expresa en la mayoría de los tejidos, aunque su función es actualmente desconocida^{30,31}. Los 2 receptores para los cisteinil-LT, Cis-LT1 y Cis-LT2 reconocen LTC₄ y LTD₄. El receptor Cis-LT1 se localiza abundantemente en el músculo liso pulmonar y su activación se asocia a la vasoconstricción y la adhesión celular³². El receptor Cis-LT2 se distribuye de forma uniforme entre las venas pulmonares, el bazo, las fibras de Purkinje, el corazón y la glándula adrenal, aunque su función es todavía desconocida³³. Recientemente, se ha descrito un receptor putativo asociado a la proteína G sensible a la toxina pertusis, que reconoce 5-oxo-EETE, un producto de la oxidación del 5-HETE³⁴.

PRINCIPALES EFECTOS BIOLÓGICOS DE LOS EICOSANOIDES

Los eicosanoides son mediadores lipídicos que ejercen un asombroso rango de efectos biológicos. A excepción del fluido seminal, los eicosanoides no se almacenan en el interior de las células sino que se liberan y/o transportan al

espacio extracelular. Debido a su poca estabilidad y vida media corta, los eicosanoides actúan como hormonas autocrinas o paracrin, ejerciendo sus efectos biológicos en el lugar de síntesis o en células próximas.

Los eicosanoides derivados de la COX, los prostanoïdes, desempeñan un papel muy importante en diversas facetas de la fisiología humana. Los prostanoïdes ejercen efectos directos sobre el músculo liso, las plaquetas, el sistema nervioso central y los órganos endocrinos, donde desarrollan funciones biológicas tan importantes como el mantenimiento de la homeostasis cardiovascular, de la función gástrica y renal, la agregación plaquetaria, la reproducción (ovulación, fertilización y parto) y la respuesta inmunitaria³⁵. Sin embargo, el papel más destacado de los prostanoïdes, especialmente las PG, y entre ellas la PGE₂, es en la inflamación. La PGE₂ es un potente relajante del músculo liso vascular e incrementa el flujo sanguíneo a través de los tejidos, lo que explicaría la vasodilatación y el eritema característicos de la inflamación³⁵. Asimismo, y con la colaboración de otros factores circulantes, como la bradicinina, la histamina y los LT, la PGE₂ aumenta la extravasación de fluidos y contribuye a la aparición de edema³⁵. Además, de forma aun no totalmente establecida, la PGE₂ sensibiliza las terminaciones nerviosas aferentes y participa de forma sinérgica con otros mediadores de inflamación en la generación de dolor, y es un poderoso agente que contribuye a la aparición de fiebre³⁵. El papel de las PG en la inflamación es tan evidente que la inhibición de su síntesis representa el mecanismo de acción establecido de los AINE³⁶.

La COX-2 y la síntesis de PG desempeñan también un papel relevante en la proliferación celular y el desarrollo de cáncer. Se ha demostrado que un gran número de promotores tumorales son capaces de inducir la COX-2 en células epiteliales de origen intestinal y pulmonar³⁷. De hecho, la COX-2 se halla sobreexpresada en el 90% de los tumores colorrectales y en el 40% de los adenomas³⁸. Se han descrito resultados similares en tumores de colon procedentes de ratas tratadas con azoximetano y en ratones *Min* con neoplasia intestinal múltiple^{39,40}. Estas observaciones contribuirían a entender el efecto antineoplásico asociado con el consumo regular de AINE⁴¹.

Por otra parte, los eicosanoides derivados de la 5-LO son también potentes mediadores de inflamación⁴². El LTB₄, en concreto, es un potente agente quimioatrayente, un potente inductor de adhesión celular y el principal estímulo para la producción de ión superóxido y la liberación de enzimas hidrolíticas por el neutrófilo^{2-4,6,42}. Asimismo, los cisteinil-LT, que originalmente se identificaron como las sustancias de reacción lenta liberadas en el curso de las reacciones anafiláticas (*slow reacting substance of anaphylaxis*), además de su actividad vasoconstrictora, son potentes agentes quimioatrayentes para los eosinófilos, incrementan la permeabilidad vascular en las vénulas poscapilares e inducen la síntesis y la liberación de otros mediadores de inflamación, como la IL-8 y el PAF^{2-4,6,42}. Es importante señalar que la vía de la 5-LO es exclusiva de las células inflamatorias y se halla presente en neutrófilos, eosinófilos, monocitos-macrófagos, mastocitos, cé-

lulas dendríticas y linfocitos⁴². La participación de la vía de la 5-LO en numerosos procesos patológicos humanos está bien documentada, entre los que destacan las enfermedades inflamatorias, como la artritis reumatoide, la osteoartritis, la colitis ulcerosa y la dermatitis atópica^{2-4,6,42}. En la mayoría de estas enfermedades se ha detectado un aumento de los valores de LTB₄ en el tejido inflamado y un aumento de la excreción urinaria de LT^{2-4,6,42}. Los cisteinil-LT, a su vez, desempeñan un papel clave en el asma y la alergia^{2-4,6,42}. En los últimos años se han desarrollado un gran número de fármacos que tienen como diana específica la vía de la 5-LO. Entre ellos destacan los inhibidores directos de la 5-LO (Zileuton [Zyflo®]) y los antagonistas de los receptores de los cisteinil-LT (montelukast [Singulair®], pranlukast [Ultair®] y zafirlukast [Accolate®]). Mención especial merecen los inhibidores de la FLAP, que son motivo de gran interés en la actualidad a partir de estudios de ligamiento genético, que han demostrado que el gen que codifica para la FLAP confiere un mayor riesgo de infarto de miocardio y accidente cerebrovascular⁴³. Recientemente, un estudio clínico en fase III ha demostrado que el inhibidor de la FLAP, DG-031 (Veliflapon®), es un fármaco muy eficaz en la prevención de ataques al corazón y accidentes vasculares en pacientes de alto riesgo⁴⁴.

BIOSÍNTESIS DE EICOSANOIDES EN EL SINUSOIDE HEPÁTICO

El sinusoide hepático es la unidad estructural funcional del hígado. El sinusoide hepático está formado por un sistema microvascular donde coexisten distintos tipos de células no parenquimales altamente especializadas, entre las que se hallan las células de Kupffer, las células hepáticas estrelladas (denominadas también células de Ito, células perisinusoidales o lipocitos), las células endoteliales sinusoidales y las células citotóxicas *natural killer* (NK) o *pit cells*. En comparación con las células parenquimales (hepatocitos y células biliares), las células no parenquimales representan alrededor del 20% del volumen celular hepático^{45,46}. Las células de Kupffer son macrófagos presentes en el hígado y representan el 29% del total de células no parenquimales⁴⁵⁻⁴⁸. Estas células representan el mayor *pool* de macrófagos tisulares del organismo y, debido a su localización en el lumen sinusoidal, son las primeras células del sistema fagocítico mononuclear que entran en contacto con el material particulado e inmunorreactivo procedente del tracto gastrointestinal, por lo que desempeñan un importante papel en los mecanismos de defensa del organismo⁴⁵⁻⁴⁸. Las células endoteliales constituyen el 48% del total de células no parenquimales y forman la pared fenestrada de los sinusoides^{45,46}. Las células hepáticas estrelladas, que representan el 20% del total de células no parenquimales, se localizan entre los hepatocitos y las células endoteliales, en la zona conocida como espacio de Disse^{45,46}. En condiciones normales, estas células sirven como almacén de vitaminas liposolubles, pero una vez activadas desempeñan un papel clave en el desarrollo

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

Citocinas	IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , IFN α , IFN γ
Quimiocinas	MIP-1, MCP-1
Factores de crecimiento	TGF β
Mediadores lipídicos	PGI $_2$, PGE $_2$, PGD $_2$, PGF $_{2\alpha}$, TXA $_2$, LTB $_4$, LTC $_4$ /LTD $_4$ /LTE $_4$, PAF
Especies reactivas del oxígeno	Anión superóxido, peróxido de hidrógeno
Especies reactivas del nitrógeno	Óxido nítrico
Enzimas lisosomales y proteasas	Catepsina, betaglucononidasa, β -acetil glucosaminasa
Otros	Activador del plasminógeno, fibronectina, factores de complemento (C3 y C5a), aminas (histamina, serotonina)

IL: interleucina; TNF: factor de necrosis tumoral; IFN: interferón; MIP-1: proteína inflamatoria de macrófagos-1; MCP-1: proteína quimioatrayente de monocitos-1; TGF: factor de crecimiento transformante; PG: prostaglandina; TX: tromboxano; LT: leucotrieno; PAF: factor de activación plaquetaria.

de la fibrogénesis hepática⁴⁹. Por último, las NK o *pit cells* (el 3% del total de las células no parenquimales) son linfocitos granulares de gran tamaño con actividad citotóxica, que se localizan, al igual que las células de Kupffer, en el lumen sinusoidal^{45,46}.

Dado que la síntesis de eicosanoides se produce normalmente en células inflamatorias, como neutrófilos, eosinófilos, macrófagos y mastocitos, la célula de interés en el caso de la inflamación hepática sería la célula de Kupffer. De hecho, en el sinusoides hepático la célula de Kupffer es, en términos absolutos, la principal productora de mediadores de inflamación⁵⁰. Una vez activadas, las células de Kupffer liberan cantidades considerables de radicales libres derivados del oxígeno, como el ión superóxido, citocinas (IL-1, IL-6, IL-10 y TNF α), quimiocinas, factores de crecimiento (TGF β) y, cómo no, metabolitos del ácido araquidónico (tabla I)^{47,50-53}. En este sentido, las células de Kupffer activadas expresan COX-1 y COX-2, y sintetizan la mayoría de productos de esta vía: PGE $_2$, PGD $_2$, PGF $_{2\alpha}$, PGI $_2$ y TXA $_2$ ⁵⁰⁻⁵³. El principal prostanoides liberado por las células de Kupffer activadas es la PGD $_2$, aunque en respuesta a determinados estímulos, como el TNF α , el IFN γ o algunos virus, el principal producto sintetizado es la PGE $_2$ ^{50,53}. Además, se ha descrito que la liberación de PGE $_2$ por la célula de Kupffer en respuesta al alcohol induce la síntesis de triglicéridos en los hepatocitos y contribuye a la aparición de esteatosis⁵⁴. Respecto a la vía de la 5-LO, clásicamente se ha considerado a las células de Kupffer como las responsables de la síntesis de LT en el hígado⁵⁵. De hecho, en el tejido hepático, las células de Kupffer son el único tipo celular que posee la maquinaria enzimática necesaria (5-LO, FLAP, LTA $_4$ hidrolasa y LTC $_4$ sintasa) para la síntesis de estos eicosanoides^{52,56,57}. La producción de LTB $_4$ en el hígado parece depender casi exclusivamente de las células de Kupffer⁵⁵, aunque se han realizado estudios en hepatocitos en cultivo que indican que el alcohol puede estimular la liberación al medio de una sustancia con propiedades quimioatrayentes de estructura semejante al LTB $_4$ ⁵⁸. Sin embargo, algunos estudios recientes demuestran que la producción de LTB $_4$ por

los hepatocitos es irrelevante, ya que no hay ninguna evidencia directa de la presencia de LTA $_4$ hidrolasa en estas células⁵⁹. Lo que no se puede descartar es que parte de los cisteinil-LT producidos en el hígado puedan originarse por metabolismo transcelular, puesto que la LTC $_4$ sintasa se expresa también en los hepatocitos y en las células endoteliales^{56,57}. De hecho, en nuestro laboratorio hemos demostrado que el LTA $_4$ producido por las células de Kupffer se transforma por los hepatocitos a cisteinil-LT⁵⁶.

La información disponible sobre la síntesis de eicosanoides en el resto de células hepáticas es más bien escasa. Se ha descrito que en presencia de ciertos estímulos, como el TNF α o el LPS, las células endoteliales sinusoidales en cultivo sintetizan PGD $_2$, PGE $_2$, PGI $_2$ y TXA $_2$ ^{60,61}. También se ha descrito que las células hepáticas estrelladas producen PGF $_{2\alpha}$ y PGD $_2$ después de ser estimuladas con noradrenalina o ATP⁶². Asimismo, la anafilatoxina C5a, un potente estímulo de la síntesis de prostanoides en las células de Kupffer, es capaz de inducir la síntesis de PGE $_2$, PGD $_2$, PGF $_{2\alpha}$ y TXA $_2$ en células hepáticas estrelladas^{51,63}. Es importante señalar que las células hepáticas estrelladas no expresan COX-2, excepto cuando se activan en cultivo y se han transformado en miofibroblastos, circunstancia en la que expresan ambas isoformas (COX-1 y COX-2)^{64,65}. En los hepatocitos, la presencia de COX-2 está estrechamente relacionada con el estado de diferenciación celular. Mientras que en los hepatocitos fetales el LPS, PGF $_{2\alpha}$ y diferentes citocinas inducen la expresión de COX-2, en los hepatocitos adultos se pierde totalmente la capacidad para inducir esta enzima⁶⁶. También se ha observado que durante las fases iniciales del hepatocarcinoma, los hepatocitos adyacentes al tumor empiezan a sobreexpresar COX-2, efecto que también se observa en el hepatocarcinoma diferenciado^{67,68}. Al igual que ocurre con la vía de la COX, hay pocos datos sobre la vía de la 5-LO y la biosíntesis de LT en células endoteliales y células hepáticas estrelladas. Aunque los estudios iniciales apuntaron la posibilidad de que las células hepáticas estrelladas sintetizaban LT^{69,70}, los estudios posteriores indicaron lo contrario^{56,71}. En cambio, se ha descrito que las células hepáticas estrelladas, al igual que los hepatocitos, participan en la degradación del LTB $_4$ ⁷².

PAPEL FISIOPATOLÓGICO DE LOS EICOSANOIDES EN LA ENFERMEDAD HEPÁTICA

La participación de los mediadores lipídicos derivados del ácido araquidónico en la enfermedad hepática es un tema de interés creciente. Actualmente, se sabe que determinados estímulos, como la obesidad, el consumo crónico de alcohol, la endotoxina o los compuestos procedentes de la degradación de fármacos y xenobióticos, inducen la producción de eicosanoides por las células de Kupffer. En la mayoría de casos, la activación de las células de Kupffer produce el reclutamiento de neutrófilos y monocitos circulantes, los cuales amplifican de forma significativa la respuesta inflamatoria. En cualquier caso,

la lesión tisular se produce cuando los mediadores de inflamación liberados por las células inflamatorias actúan de forma paracrina sobre las células adyacentes, ya sean hepatocitos o células hepáticas estrelladas^{73,74}. Un ejemplo del papel fisiopatológico de los eicosanoides en el daño hepático, es el daño inducido por xenobióticos. En condiciones normales, los fármacos son eliminados por la bilis primaria, hepatocelular o canalicular, elaborada por los hepatocitos mediante un proceso de filtración osmótica⁷⁵. Sin embargo, en determinadas circunstancias, por ejemplo tras el abuso de determinados fármacos, las células de Kupffer se activan y desencadenan un proceso de lesión hepática. Un ejemplo paradigmático del daño hepático inducido por fármacos es la intoxicación por sobredosis de acetaminofeno. La intoxicación por acetaminofeno se caracteriza por la rápida aparición de insuficiencia hepática, seguida por una intensa inflamación y, finalmente, una regeneración del tejido lesionado⁷⁶. La hepatotoxicidad está causada por un metabolito reactivo del acetaminofeno (la imina de N-acetil-p-benzoquinona), que se une a las macromoléculas del tejido hepático e inicia una reacción necrótica⁷⁷. Durante este proceso se produce la activación de las células de Kupffer y la liberación masiva de mediadores lipídicos de inflamación biológicamente activos, como las PG y los LT⁷⁸.

Otro ejemplo donde los eicosanoides desempeñan un papel fisiopatológico destacado es la hepatopatía alcohólica. En los pacientes y modelos experimentales de hepatitis alcohólica se produce un incremento del número de células de Kupffer y el grado de su activación, efectos que se asocian con fenómenos de inflamación y necrosis en el tejido hepático^{79,80}. Actualmente aún se desconoce el mecanismo por el cual las células de Kupffer se activan en respuesta al alcohol y producen eicosanoides y citocinas (principalmente TNF α) de forma descontrolada. Se ha sugerido que el mecanismo podría estar relacionado con la incapacidad de estos macrófagos de eliminar los valores elevados de endotoxina endógena causados por el aumento de la permeabilidad gastrointestinal secundaria a la ingesta abusiva de alcohol⁸¹. También se ha apuntado que la activación de las células de Kupffer se produciría en respuesta a factores liberados por los hepatocitos dañados por el alcohol⁸²⁻⁸⁵. Además de la hepatopatía alcohólica, también se ha demostrado la existencia de una liberación desmesurada de eicosanoides, principalmente de LTB₄, PGD₂, PGE₂ y TXB₂, junto con PAF, anión superóxido y TNF α , por las células de Kupffer y neutrófilos infiltrados, en el daño hepático por isquemia-reperfusión^{73,86,87}. Asimismo, se ha demostrado que los productos derivados de las vías de la COX y la 5-LO regulan el flujo sanguíneo en el sinusoides hepático y la presión portal en la cirrosis experimental^{86,88,89}.

Mención especial merece la participación de los eicosanoides en la progresión a fibrosis hepática, uno de los componentes fundamentales del daño hepático crónico y cuya fase final es la cirrosis. De forma muy esquemática, se puede afirmar que la línea de acontecimientos que desencadena la fibrosis hepática se inicia con una respuesta inflamatoria. En la mayoría de los casos, la respuesta in-

flamatoria consigue neutralizar y eliminar el agente agresor, pero en determinadas circunstancias, especialmente si la agresión al tejido se produce de forma crónica y continuada, o bien la respuesta inflamatoria es desproporcionada y se autoperpetúa en el tiempo, se inician procesos de secreción inadecuada de componentes de matriz extracelular (colágeno...), que dan lugar a un depósito exagerado de fibra que distorsiona la arquitectura del hígado y, con ello, la función del órgano^{90,91}. Puesto que de las distintas estirpes celulares las células hepáticas estrelladas son las principales responsables de la secreción de componentes de matriz extracelular, la activación y la proliferación de estos miofibroblastos constituye un factor regulador clave en la fibrogénesis hepática^{90,91}. Se ha demostrado que en respuesta a diversos estímulos producidos por las células de Kupffer, las células hepáticas estrelladas experimentan notables cambios anatómicos y funcionales: crecen y cambian su morfología, pierden los depósitos de retinoide, adquieren capacidad migratoria y proliferan⁹²⁻⁹⁴. En estudios iniciales, se demostró que el medio condicionado procedente de cultivos de células de Kupffer promovía la proliferación y la síntesis de colágeno, proteoglicanos y hialuronato en células hepáticas estrelladas⁹²⁻⁹⁶. La activación era más acentuada si las células de Kupffer procedían de hígados de ratas con lesión hepática inducida por tetracloruro de carbono (CCl₄)^{95,96}. En estudios posteriores se identificaron algunos de los compuestos liberados por las células de Kupffer con capacidad de inducir la proliferación y la activación de las células hepáticas estrelladas, como TGF β , PDGF, TNF α e IL-1^{90,91}.

En los últimos años se han aportado sólidas evidencias de la participación de las vías de la COX-2 y 5-LO en la fibrosis hepática. En la tabla II se resumen las principales evidencias que relacionan la síntesis y la liberación de eicosanoides derivados de estas vías con la fibrogénesis hepática. En primer lugar, se ha demostrado que la expresión de la COX-2 se halla aumentada en pacientes infectados crónicamente con el virus de la hepatitis B o C y en pacientes con cirrosis⁹⁷⁻¹⁰⁰. Además, en pacientes con hepatitis C crónica hay una estrecha correlación entre el grado de progresión a fibrosis hepática y la expresión de la COX-2⁹⁷. La inducción de la COX-2 y el aumento de los valores hepáticos de PG se han confirmado experimentalmente en ratas con una lesión hepática inducida mediante CCl₄¹⁰¹, en modelos de hepatopatía alcohólica^{102,103} y en ratones con esteatohepatitis no alcohólica inducida por dietas lipogénicas deficientes en colina y metionina¹⁰⁴⁻¹⁰⁶. Un elegante estudio publicado recientemente demuestra que los ratones transgénicos que sobreexpresan el gen de la COX-2 humana en el hígado presentan valores elevados de transaminasas y signos histológicos de hepatitis¹⁰⁷. En otro reciente estudio, se ha demostrado que el replicón del virus de la hepatitis C es capaz de estimular la expresión de la COX-2 y de aumentar los valores de PGE₂ en cultivos de líneas celulares de hepatocitos¹⁰⁸. En células hepáticas estrelladas en cultivo, la expresión de la COX-2 se induce en respuesta a sales biliares y mitógenos, como el PDGF, los cuales aumentan la proliferación y la resis-

Tabla II. Principales evidencias de la participación de las vías de la COX-2 y la 5-LO en la fibrogénesis hepática

Datos	Referencias
Vía de la COX-2	
Aumento expresión hepática en pacientes con hepatitis B o C y en pacientes con cirrosis	97-100
Aumento expresión hepática en modelos experimentales de fibrosis, hepatopatía alcohólica y esteatohepatitis no alcohólica	101-106
Aumento daño hepático en ratones transgénicos para la COX-2	107
Replicón virus C estimula la expresión de COX-2 en hepatocitos	108
El PDGF y las sales biliares inducen COX-2 en HSC	109,110
La PGE ₂ regula negativamente la activación de las HSC	64,65,112
La PGE ₂ regula positivamente la activación de las HSC	109,111
Los inhibidores de la COX-2 reducen la proliferación de las HSC y ejercen efectos antifibrogénicos <i>in vivo</i>	101,105,106,111,113
Vía de la 5-LO	
Aumento expresión hepática en modelos experimentales	56,88
Aumento de los niveles hepáticos de productos derivados de la 5-LO en modelos experimentales	56,88,117
Aumento excreción urinaria de productos derivados de la 5-LO en pacientes con enfermedad hepática crónica	118,119
Los productos derivados de la 5-LO activan las HSC y aumentan la síntesis de colágeno en fibroblastos	56,120-122
La inhibición de la 5-LO induce apoptosis en células de Kupffer	71
La inhibición de la vía de la 5-LO reduce la necroinflamación y la fibrogénesis hepática en modelos experimentales	71,123

5-LO: 5-lipooxigenasa; COX-2: ciclooxigenasa-2; HSC: células hepáticas estrelladas; PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas, PGE₂: prostaglandina E₂.

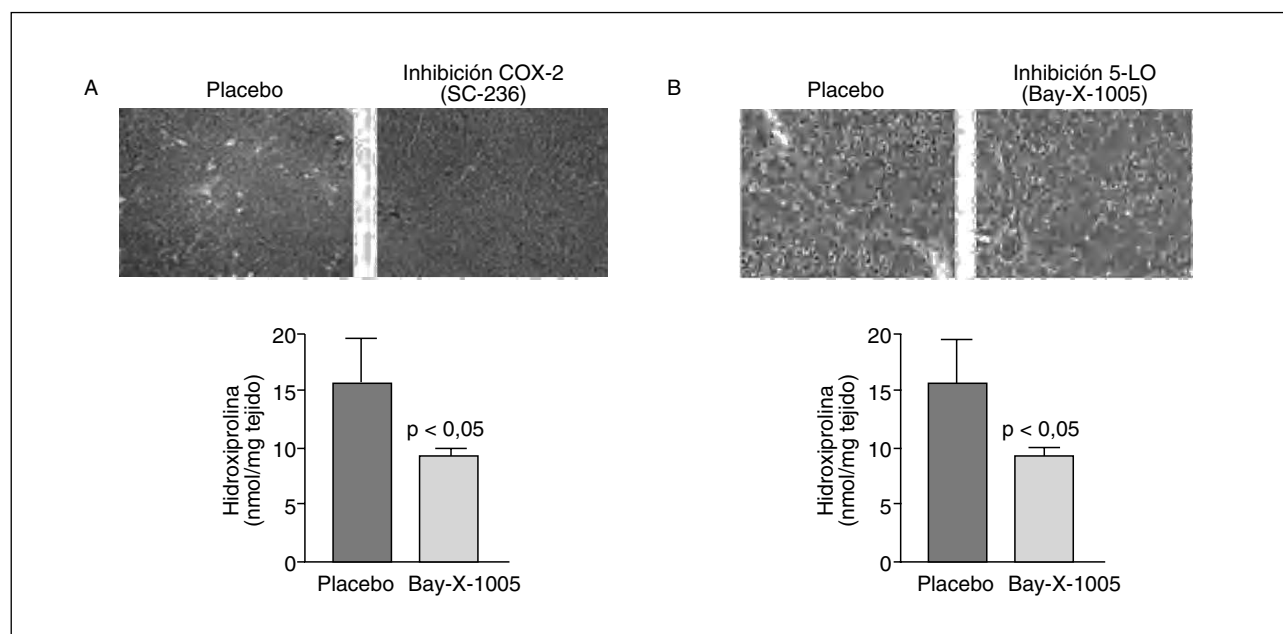


Fig. 3. Efectos antifibrogénicos de la inhibición de la ciclooxigenasa-2 (COX-2) y la 5-lipooxigenasa (5-LO). Secciones histológicas de tejido hepático teñidas con tricrómico de Masson procedentes de ratas tratadas con CCl₄ que recibieron un inhibidor selectivo de la COX-2 (SC-236, 6 mg/kg) (A) o un inhibidor de la vía de la 5-LO (Bay-X-1005, 100 mg/kg) (B). El contenido hepático en hidroxiprolina en estos animales se muestra en los paneles inferiores

cia a la apoptosis en estas células^{109,110}. Actualmente, hay una cierta controversia respecto a si el efecto fibrogénico de la COX-2 está mediado o no por PG, ya que se han observado efectos reguladores tanto positivos como negativos de la PGE₂ sobre la activación de las células hepáticas estrelladas en cultivo^{64,65,111,112}. Se han obtenido resultados más concluyentes mediante el uso de inhibidores selectivos de la COX-2. Estos compuestos reducen la proliferación de las células hepáticas estrelladas en cultivo y ejercen efectos antifibrogénicos en modelos animales de esteatohepatitis o con fibrosis hepática inducida por CCl₄ (fig. 3A)^{101,105,111,113}. Se han descrito efectos antifibrogéni-

cos similares en modelos animales de pancreatitis¹¹⁴. Resta por esclarecer si los efectos antifibrogénicos de los inhibidores de la COX-2 están mediados por la activación de PPAR γ y no por la propia inhibición de la síntesis de PG^{101,115,116}.

Se han descrito efectos similares a la vía de la COX-2 para los metabolitos de la vía de la 5-LO. En este sentido, se ha demostrado un incremento de la expresión de la 5-LO y un aumento de los valores hepáticos de los metabolitos de la 5-LO en ratas con fibrosis hepática inducida por CCl₄ o tioacetamida^{56,88,117}. En la línea de estos resultados, se ha demostrado un aumento de la excreción uri-

naria de productos derivados de la 5-LO en pacientes con una enfermedad hepática crónica^{118,119}. En estudios *in vitro*, se ha demostrado que los productos de la 5-LO, principalmente el LTD₄, son capaces de estimular la proliferación y la síntesis de colágeno en células hepáticas estrelladas y fibroblastos^{56,120-122}. En modelos experimentales, el bloqueo de la vía de la 5-LO mediante el compuesto Bay-X-1005, un inhibidor de la FLAP, reduce la necroinflamación y la fibrogénesis hepática (fig. 3B)^{71,123}. Se ha sugerido que el mecanismo por el cual la inhibición de la 5-LO se asocia a antifibrogénesis estaría relacionado no sólo con la inhibición de la síntesis de LT sino también con la inducción de apoptosis en las células inflamatorias del hígado⁷¹. De hecho, se ha demostrado que los inhibidores de la 5-LO inducen apoptosis en células de Kupffer en cultivo⁷¹, y que los efectos antifibrogénicos de estos compuestos se producen de forma paralela a un descenso significativo del número de macrófagos^{71,123}. Puesto que los inhibidores de la 5-LO inducen apoptosis de forma exclusiva en células que contienen una vía de la 5-LO metabólicamente activa, y dado que en el hígado esto sólo ocurre en las células de Kupffer y en las células inflamatorias infiltradas⁵⁶, la inhibición de la 5-LO representa una estrategia válida para la prevención de la inflamación y la fibrosis hepática. De hecho, la inhibición de la vía de la 5-LO y la modulación de la función de las células de Kupffer es el mecanismo de acción de los flavonoides naturales, como la silimarina, cuya eficacia se ha evaluado en pacientes con hepatitis alcohólica y esteatohepatitis no alcohólica^{124,125}. Estrategias similares basadas en la inhibición de la 5-LO se están considerando actualmente como estrategias antifibróticas en otros órganos y tejidos, como en la fibrosis pulmonar idiopática y la afección cutánea de la esclerosis sistémica^{126,127}. Por último, cabe mencionar una estrategia alternativa que cada vez adquiere más relevancia en la modulación de la inflamación: los ácidos grasos poliinsaturados omega-3. Al contrario de los ácidos grasos omega-6 (el ácido araquidónico, precursor común de PG y LT, es uno de ellos), los ácidos grasos omega-3 poseen propiedades antiinflamatorias. Los efectos beneficiosos de los omega-3 estarían mediados por, al menos, 4 mecanismos distintos: a) la inhibición de la disponibilidad de ácido araquidónico en la membrana celular plasmática para la síntesis de PG y LT; b) la inhibición directa de las vías de la COX-2 y la 5-LO; c) la síntesis a partir de los propios ácidos grasos omega-3 de PG de la serie 3 y LT de la serie 5 con menor capacidad inflamatoria que las PG de la serie 2 y LT de la serie 4, que son las que se producen a partir del ácido araquidónico, y d) la síntesis a partir de los propios ácidos grasos omega-3 de nuevos mediadores lipídicos con claras propiedades antiinflamatorias (p. ej., resolvinas y protectinas)¹²⁸⁻¹³¹. A partir de estos resultados, en nuestro laboratorio hemos demostrado que las dietas ricas en ácidos grasos omega-3, ácido docosahexaenoico y ácido eicosaenoico reducen de forma significativa la necroinflamación hepática en ratones con un daño hepático inducido por CCl₄¹³². Los efectos hepatoprotectores de los omega-3 serían, en este caso, secundarios a la inhibición

de la síntesis de mediadores lipídicos derivados de las vías de la 5-LO y la COX-2, al descenso del daño genotóxico y de los valores de estrés oxidativo en los hepatocitos, y a la disminución de la liberación de TNFα por los macrófagos¹³².

AGRADECIMIENTOS

Nuestro laboratorio está parcialmente financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (SAF 06/03191) y el Instituto de Salud Carlos III (C03/02).

BIBLIOGRAFÍA

- Balsinde J, Winstead MV, Dennis EA. Phospholipase A(2) regulation of arachidonic acid mobilization. *FEBS Lett.* 2002;531:2-6.
- Dudzinski DM, Serhan CN. Pharmacology of eicosanoids. En: Golan AH, Tashjian EJ, Amstrong M, editors. *Principles of pharmacology. The pathophysiologic basis of drug therapy.* Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 627-46.
- Romano M, Clària J. Cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase converging functions on cell proliferation and tumor angiogenesis: implications for cancer therapy. *FASEB J.* 2003;17:1986-95.
- Samuelsson B, Dahlen SE, Lindgren JA, Rouzer CA, Serhan CN. Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis, and biological effects. *Science.* 1987;237:1171-6.
- Smith WL, Song I. The enzymology of prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2002;68-69:115-28.
- Funk CD. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science.* 2001;294:1871-5.
- Breyer RM, Bagdassarian CK, Myers SA, Breyer MD. Prostanoid receptors: subtypes and signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2001;41:661-90.
- Clària J, López-Parra M. New perspectives in the modulation of the eicosanoid cascade in inflammation. *Letters Drug Design Discovery.* 2005;2:391-402.
- Evans RM, Barish GD, Wang YX. PPARs and the complex journey to obesity. *Nat Med.* 2004;10:355-61.
- Straus DS, Glass CK. Cyclopentenone prostaglandins: new insights on biological activities and cellular targets. *Med Res Rev.* 2001;21:185-210.
- Forman BM, Tontonoz P, Chen J, Brun RP, Spiegelman BM, Evans RM. 15-Deoxy-delta 12, 14-prostaglandin J2 is a ligand for the adipocyte determination factor PPAR gamma. *Cell.* 1995;83:803-12.
- Cernuda-Morollón E, Pineda-Molina E, Cañada FJ, Pérez-Sala D. 15-Deoxy-Delta 12,14-prostaglandin J2 inhibition of NF-kappaB-DNA binding through covalent modification of the p50 subunit. *J Biol Chem.* 2001;276:35530-6.
- Alleva DG, Johnson EB, Lio FM, Boehme SA, Conlon PJ, Crowe PD. Regulation of murine macrophage proinflammatory and anti-inflammatory cytokines by ligands for peroxisome proliferator-activated receptor-gamma: counter-regulatory activity by IFN-gamma. *J Leukoc Biol.* 2002;71:677-85.
- Tsubouchi Y, Kawahito Y, Kohno M, Inoue K, Hla T, Sano H. Feedback control of the arachidonate cascade in rheumatoid synoviocytes by 15-deoxy-Delta(12,14)-prostaglandin J2. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;283:750-5.
- Quraishi O, Mancini JA, Riendeau D. Inhibition of inducible prostaglandin E(2) synthase by 15-deoxy-Delta(12,14)-prostaglandin J(2) and polyunsaturated fatty acids. *Biochem Pharmacol.* 2002;63:1183-9.
- Kawahito Y, Kondo M, Tsubouchi Y, Hashiramoto A, Bishop-Bailey D, Inoue K et al. 15-deoxy-delta(12,14)-PGJ(2) induces synoviocyte apoptosis and suppresses adjuvant-induced arthritis in rats. *J Clin Invest.* 2000;106:189-97.

17. Cuzzocrea S, Ianaro A, Wayman NS, Mazzon E, Pisano B, Dugo L, et al. The cyclopentenone prostaglandin 15-deoxy-delta(12,14)-PGJ2 attenuates the development of colon injury caused by dinitrobenzene sulphonic acid in the rat. *Br J Pharmacol*. 2003;138:678-88.
18. Masferrer JL, Seibert K, Zweifel B, Needleman P. Endogenous glucocorticoids regulate an inducible cyclooxygenase enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89:3917-21.
19. Xie W, Chipman JG, Robertson DL, Erikson RL, Simmons DL. Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88:2692-6.
20. Kujubu DA, Fletcher BS, Varnum BC, Lim RW, Herschman HR. TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. *J Biol Chem*. 1991;266:12866-72.
21. Tanabe T, Tohnai N. Cyclooxygenase isozymes and their gene structures and expression. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2002;68-69:95-114.
22. Clària J. Cyclooxygenase-2 biology. *Curr Pharm Des*. 2003;9:2177-90.
23. Morita I. Distinct functions of COX-1 and COX-2. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2002;68-69:165-75.
24. Brash AR. Lipoygenases: occurrence, functions, catalysis, and acquisition of substrate. *J Biol Chem*. 1999;274:23679-82.
25. Serhan CN. Lipoxins and aspirin-triggered 15-epi-lipoxin biosynthesis: an update and role in anti-inflammation and pro-resolution. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2002;68-69:433-55.
26. Samuelsson B. Leukotrienes: mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. *Science*. 1983;220:568-75.
27. Dixon RA, Diehl RE, Opas E, Rands E, Vickers PJ, Evans JF, et al. Requirement of a 5-lipoxygenase-activating protein for leukotriene synthesis. *Nature*. 1990;343:282-4.
28. Shimizu T, Radmark O, Samuelsson B. Enzyme with dual lipoxygenase activities catalyzes leukotriene A4 synthesis from arachidonic acid. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1984;81:689-93.
29. Rouzer CA, Matsumoto T, Samuelsson B. Single protein from human leukocytes possesses 5-lipoxygenase and leukotriene A4 synthase activities. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1986;83:857-61.
30. Yokomizo T, Izumi T, Chang K, Takuwa Y, Shimizu T. A G-protein-coupled receptor for leukotriene B4 that mediates chemotaxis. *Nature*. 1997;387:620-4.
31. Yokomizo T, Kato K, Terawaki K, Izumi T, Shimizu T. A second leukotriene B(4) receptor, BLT2. A new therapeutic target in inflammation and immunological disorders. *J Exp Med*. 2000;192:421-32.
32. Lynch KR, O'Neill GP, Liu Q, Im DS, Sawyer N, Metters KM, et al. Characterization of the human cysteinyl leukotriene CysLT1 receptor. *Nature*. 1999;399:789-93.
33. Heise CE, O'Dowd BF, Figueroa DJ, Sawyer N, Nguyen T, Im DS, et al. Characterization of the human cysteinyl leukotriene 2 receptor. *J Biol Chem*. 2000;275:30531-6.
34. Powell WS, Rokach J. Biochemistry, biology and chemistry of the 5-lipoxygenase product 5-oxo-EET. *Prog Lipid Res*. 2005;44:154-83.
35. Miller SB. Prostaglandins in health and disease: an overview. *Semin Arthritis Rheumatism*. 2006;36:37-49.
36. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for the aspirin-like drugs. *Nature*. 1971;231:232-35.
37. DuBois RN, Awad J, Morrow J, Roberts LJ, Bishop PR. Regulation of eicosanoid production and mitogenesis in rat intestinal epithelial cells by transforming growth factor- α and phorbol ester. *J Clin Invest*. 1994;93:493-8.
38. Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, Giardello FM, Ferrenbach S, DuBois RN. Up-regulation of cyclooxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology*. 1994;107:1183-8.
39. Dubois RN, Radhika A, Reddy BS, Entingh AJ. Increased cyclooxygenase-2 levels in carcinogen-induced rat colonic tumors. *Gastroenterology*. 1996;110:1259-62.
40. Williams CS, Luongo C, Radhika A, Zhang T, Lamps LW, Nanney LB, et al. Elevated cyclooxygenase-2 levels in Min mouse adenomas. *Gastroenterology*. 1996;111:1134-40.
41. Thun MJ, Henley SJ, Patrono C. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as anticancer agents: mechanistic, pharmacologic, and clinical issues. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94:252-66.
42. Lewis RA, Austen KF, Soberman RJ. Leukotrienes and other products of the 5-lipoxygenase pathway. Biochemistry and relation to pathobiology in human diseases. *N Engl J Med*. 1990;323:645-55.
43. Helgadóttir A, Manolescu A, Thorleifsson G, Gretarsdóttir S, Jonsdóttir H, Thorsteinsdóttir U, et al. The gene encoding 5-lipoxygenase activating protein confers risk of myocardial infarction and stroke. *Nat Genet*. 2004;36:233-9.
44. Hakonarson H, Thorvaldsson S, Helgadóttir A, Gudbjartsson D, Zink F, Andresdóttir M, et al. Effects of a 5-lipoxygenase-activating protein inhibitor on biomarkers associated with risk of myocardial infarction: a randomized trial. *JAMA*. 2005;293:2245-56.
45. Laskin DL. Nonparenchymal cells and hepatotoxicity. *Semin Liver Dis*. 1990;10:293-304.
46. Wisse E. Ultrastructure and function of Kupffer cells and other sinusoidal cells in the liver. En: Wisse E, Knook DL, editors. *Kupffer cells and other sinusoidal cells*. Amsterdam: Elsevier; 1977. p. 33-60.
47. Clària J, Títos E. Kupffer cell. *Gastroenterol Hepatol*. 2004;27:264-73.
48. Burt AD, Le Bail B, Balabaud C, Bioulac-Sage P. Morphologic investigation of sinusoidal cells. *Semin Liver Dis*. 1993;13:21-38.
49. Bataller R, Brenner DA. Hepatic stellate cells as a target for the treatment of liver fibrosis. *Semin Liver Dis*. 2001;21:437-51.
50. Decker K. Eicosanoids, signal molecules of liver cells. *Semin Liver Dis*. 1985;5:175-190.
51. Pestel S, Jungermann K, Gotze O, Schieferdecker HL. Inhibition by prostaglandin E(2) of anaphylatoxin C5a- but not zymosan-induced prostanoic release from rat Kupffer cells. *Lab Invest*. 2002;82:463-71.
52. Planagumà A, Títos E, López-Parra M, Gaya J, Pueyo G, Arroyo V, et al. Aspirin (ASA) regulates 5-lipoxygenase activity and peroxisome proliferator-activated receptor α -mediated CINC-1 release in rat liver cells: novel actions of lipoxin A4 (LXA4) and ASA-triggered 15-epi-LXA4. *FASEB J*. 2002;16:1937-9.
53. Winwood PJ, Arthur MJ. Kupffer cells: their activation and role in animal models of liver injury and human liver disease. *Semin Liver Dis*. 1993;13:50-9.
54. Enomoto N, Ikejima K, Yamashina S, Enomoto A, Nishiura T, Nishimura T, et al. Kupffer cell-derived prostaglandin E(2) is involved in alcohol-induced fat accumulation in rat liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2000;279:100G-6G.
55. Keppler D, Huber M, Baumert T. Leukotrienes as mediators in diseases of the liver. *Semin Liver Dis*. 1988;8:357-66.
56. Títos E, Clària J, Bataller R, Bosch-Marcé M, Ginès P, Jiménez W, et al. Hepatocyte-derived cysteinyl leukotrienes modulate vascular tone in experimental cirrhosis. *Gastroenterology*. 2000;119:794-805.
57. Shimada K, Navarro J, Goeger DE, Mustafa SB, Weigel PH, Weinman SA. Expression and regulation of leukotriene-synthesis enzymes in rat liver cells. *Hepatology*. 1998;28:1275-81.
58. Perez HD, Roll FJ, Bissell DM, Shak S, Goldstein IM. Production of chemotactic activity for polymorphonuclear leukocytes by cultured rat hepatocytes exposed to ethanol. *J Clin Invest*. 1984;74:1350-7.
59. Habib GM, Cuevas AA, Barrios R, Lieberman MW. Mouse leukotriene A4 hydrolase is expressed at high levels in intestinal crypt cells and splenic lymphocytes. *Gene*. 1999;234:249-55.
60. Eyhorn S, Schlatter HJ, Henninger HP, Dieter P, Hermann R, Woort-Menker M, et al. Rat hepatic sinusoidal endothelial cells in monolayer culture. Biochemical and ultrastructural characteristics. *J Hepatol*. 1988;6:23-35.
61. Rieder H, Ramadori G, Allmann KH, Meyer zum Buschenfelde KH. Prostanoid release of cultured liver sinusoidal endothelial cells in response to endotoxin and tumor necrosis factor. Comparison with umbilical vein endothelial cells. *J Hepatol*. 1990;11:359-366.
62. Athari A, Hanecke K, Jungermann K. Prostaglandin F2 α and D2 release from primary Ito cell cultures after stimulation

- with noradrenaline and ATP but not adenosine. *Hepatology*. 1994;20:142-8.
63. Schieferdecker HL, Pestel S, Rothermel E, Puschel GP, Gotze O, Jungermann K. Stimulation by anaphylatoxin C5a of glycogen phosphorylase in rat hepatocytes via prostanoid release from hepatic stellate cells but not sinusoidal endothelial cells. *FEBS Lett*. 1998;434:245-50.
64. Efsen E, Bonacchi A, Pastacaldi S, Valente AJ, Wenzel UO, Tosti-Guerra C, et al. Agonist-specific regulation of monocyte chemoattractant protein-1 expression by cyclooxygenase metabolites in hepatic stellate cells. *Hepatology*. 2001;33:713-21.
65. Mallat A, Gallois C, Tao J, Habib A, Maclouf J, Mavrier P, et al. Platelet-derived growth factor-BB and thrombin generate positive and negative signals for human hepatic stellate cell proliferation. Role of a prostaglandin/cyclic AMP pathway and cross-talk with endothelin receptors. *J Biol Chem*. 1998;273:27300-5.
66. Martín-Sanz P, Callejas NA, Casado M, Díaz-Guerra MJ, Boscá L. Expression of cyclooxygenase-2 in foetal rat hepatocytes stimulated with lipopolysaccharide and pro-inflammatory cytokines. *Br J Pharmacol*. 1998;125:1313-9.
67. Koga H, Sakisaka S, Ohishi M, Kawaguchi T, Taniguchi E, Sasatomi K, et al. Expression of cyclooxygenase-2 in human hepatocellular carcinoma: relevance to tumor dedifferentiation. *Hepatology*. 1999;29:688-96.
68. Kondo M, Yamamoto H, Nagano H, Okami J, Ito Y, Shimizu J, et al. Increased expression of COX-2 in nontumor liver tissue is associated with shorter disease-free survival in patients with hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*. 1999;5:4005-12.
69. Shiratori Y, Moriwaki H, Muto Y, Onishi H, Kato M, Asano F. Production of leukotriene B4 in parenchymal and sinusoidal cells of the liver in rats treated simultaneously with D-galactosamine and endotoxin. *Gastroenterol Jpn*. 1989;24:640-5.
70. Beno DW, Mullen J, Davis BH. Lipoxygenase inhibitors block PDGF-induced mitogenesis: a MAPK-independent mechanism that blocks fos and egr. *Am J Physiol*. 1995;268:604C-10C.
71. Titos E, Clària J, Planagumà A, López-Parra M, Villamor N, Párrizas M, et al. Inhibition of 5-lipoxygenase induces cell growth arrest and apoptosis in rat kupffer cells. Implications in liver fibrosis. *FASEB J*. 2003;17:1745-7.
72. Wheelan P, Murphy RC, Simon FR. Gas chromatographic/mass spectrometric analysis of oxo and chain-shortened leukotriene B4 metabolites. Leukotriene B4 metabolism in Ito cells. *J Mass Spectrom*. 1996;31:236-46.
73. Jaeschke H, Bautista AP, Spolarics Z, Spitzer JJ. Superoxide generation by neutrophils and Kupffer cells during in vivo reperfusion after hepatic ischemia in rats. *J Leukoc Biol*. 1992;52:377-82.
74. Ferré N, Clària J. New insights into the regulation of liver inflammation and oxidative stress. *Mini Rev Med Chem*. 2006;6:1321-30.
75. Vessey DA: Metabolism of xenobiotics by the human liver. En: Zakim D, Boyer TD, editors. *Hepatology. A text book of liver disease*. 4th ed. Philadelphia, WB Saunders; 2002. p. 257-352.
76. Williams R. Classification, etiology, and considerations of outcome in acute liver failure. *Semin Liver Dis*. 1996;16:343-8.
77. Lee SS, Buters JT, Pineau T, Fernández-Salguero P, González FJ. Role of CYP2E1 in the hepatotoxicity of acetaminophen. *J Biol Chem*. 1996;271:12063-7.
78. Mathew J, Hines JE, James OF, Burt AD. Non-parenchymal cell responses in paracetamol (acetaminophen)-induced liver injury. *J Hepatol*. 1994;20:537-41.
79. Karakucuk I, Dilly SA, Maxwell JD. Portal tract macrophages are increased in alcoholic liver disease. *Histopathology*. 1989;14:245-53.
80. Eguchi H, McCuskey PA, McCuskey RS. Kupffer cell activity and hepatic microvascular events after acute ethanol ingestion in mice. *Hepatology*. 1991;13:751-7.
81. Adachi Y, Moore LE, Bradford BU, Gao W, Thurman RG. Antibiotics prevent liver injury in rats following long-term exposure to ethanol. *Gastroenterology*. 1995;108:218-24.
82. Arthur MJ, Bentley IS, Tanner AR, Saunders PK, Millward-Sadler GH, Wright R. Oxygen-derived free radicals promote hepatic injury in the rat. *Gastroenterology*. 1985;89:1114-22.
83. Maher JJ. Rat hepatocytes and Kupffer cells interact to produce interleukin-8 (CINC) in the setting of ethanol. *Am J Physiol*. 1995;269:518G-23G.
84. Thornton AJ, Ham J, Kunkel SL. Kupffer cell-derived cytokines induce the synthesis of a leukocyte chemotactic peptide, interleukin-8, in human hepatoma and primary hepatocyte cultures. *Hepatology*. 1991;14:1112-22.
85. Shiratori Y, Takada H, Hikiba Y, Nakata R, Okano K, Komatsu Y, et al. Production of chemotactic factor, interleukin-8, from hepatocytes exposed to ethanol. *Hepatology*. 1993;18:1477-82.
86. Jaeschke H. Pathophysiology of hepatic ischemia-reperfusion injury: the role of complement activation. *Gastroenterology*. 1994;107:583-6.
87. Navarro-Sabate A, Peralta C, Calvo MN, Manzano A, Masip-Salcedo M, Rosselló-Catafau J, et al. Mediators of rat ischemic hepatic preconditioning after cold preservation identified by microarray analysis. *Liver Transpl*. 2006;12:1615-25.
88. Graupera M, García-Pagan JC, Titos E, Clària J, Massaguer A, Bosch J, et al. 5-lipoxygenase inhibition reduces intrahepatic vascular resistance of cirrhotic rat livers: a possible role of cysteinyl-leukotrienes. *Gastroenterology*. 2002;122:387-93.
89. Graupera M, March S, Engel P, Rodes J, Bosch J, García-Pagan JC. Sinusoidal endothelial COX-1-derived prostanoids modulate the hepatic vascular tone of cirrhotic rat livers. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2005;288:763G-70G.
90. Battaller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest*. 2005;115:209-18.
91. Friedman SL. Mechanisms of disease: mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implications. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*. 2004;1:98-105.
92. Matsuoka M, Tsukamoto H. Stimulation of hepatic lipocyte collagen production by Kupffer cell-derived transforming growth factor beta: implication for a pathogenetic role in alcoholic liver fibrogenesis. *Hepatology*. 1990;11:599-605.
93. Shiratori Y, Geerts A, Ichida T, Kawase T, Wisse E. Kupffer cells from CCl4-induced fibrotic livers stimulate proliferation of fat-storing cells. *J Hepatol*. 1986;3:294-303.
94. Friedman SL, Arthur MJ. Activation of cultured rat hepatic lipocytes by Kupffer cell conditioned medium. Direct enhancement of matrix synthesis and stimulation of cell proliferation via induction of platelet-derived growth factor receptors. *J Clin Invest*. 1989;84:1780-5.
95. Gressner AM, Zerbe O. Kupffer cell-mediated induction of synthesis and secretion of proteoglycans by rat liver fat-storing cells in culture. *J Hepatol*. 1987;5:299-310.
96. Gressner AM, Haarmann R. Regulation of hyaluronate synthesis in rat liver fat storing cell cultures by Kupffer cells. *J Hepatol*. 1988;7:310-8.
97. Núñez O, Fernández-Martínez A, Majano PL, Apolinario A, Gómez-Gonzalo M, Benedicto I, et al. Increased intrahepatic cyclooxygenase 2, matrix metalloproteinase 2, and matrix metalloproteinase 9 expression is associated with progressive liver disease in chronic hepatitis C virus infection: role of viral core and NS5A proteins. *Gut*. 2004;53:1665-72.
98. Mohammed NA, El Aleem SA, El Hafiz HA, McMahon RF. Distribution of constitutive (COX-1) and inducible (COX-2) cyclooxygenase in postviral human liver cirrhosis: a possible role for COX-2 in the pathogenesis of liver cirrhosis. *J Clin Pathol*. 2004;57:350-4.
99. Cheng J, Imanishi H, Iijima H, Shimomura S, Yamamoto T, Amuro Y, et al. Expression of cyclooxygenase 2 and cytosolic phospholipase A(2) in the liver tissue of patients with chronic hepatitis and liver cirrhosis. *Hepatol Res*. 2002;23:185-95.
100. Cheng AS, Chan HL, Leung WK, To KF, Go MY, Chan JY, et al. Expression of HBx and COX-2 in chronic hepatitis B, cirrhosis and hepatocellular carcinoma: implication of HBx in upregulation of COX-2. *Mod Pathol*. 2004;17:1169-79.
101. Planagumà A, Clària J, Miquel R, López-Parra M, Titos E, Masferrer JL, et al. The selective cyclooxygenase-2 inhibitor SC-236 reduces liver fibrosis by mechanisms involving non-parenchymal cell apoptosis and PPARgamma activation. *FASEB J*. 2005;19:1120-2.
102. Nanji AA, Zakim D, Rahemtulla A, Daly T, Miao L, Zhao S, et al. Dietary saturated fatty acids down-regulate cyclooxygenase-2 and tumor necrosis factor alpha and reverse fibrosis in alcohol-induced liver disease in the rat. *Hepatology*. 1997;26:1538-45.

103. Nanji AA, Miao L, Thomas P, Rahemtulla A, Khwaja S, Zhao S, et al. Enhanced cyclooxygenase-2 gene expression in alcoholic liver disease in the rat. *Gastroenterology*. 1997;112:943-51.
104. Yu J, Ip E, Dela Pena A, Hou JY, Sesha J, Pera N, et al. COX-2 induction in mice with experimental nutritional steatohepatitis: role as pro-inflammatory mediator. *Hepatology*. 2006;43:826-36.
105. Yamamoto H, Kondo M, Shoji N, Nagano H, Wakasa KI, Sugita Y, et al. JTE-522, a cyclooxygenase-2 inhibitor, is an effective chemopreventive agent against rat experimental liver fibrosis. *Gastroenterology*. 2003;125:556-71.
106. Dela Pena A, Leclercq IA, Williams J, Farrell GC. NADPH oxidase is not an essential mediator of oxidative stress or liver injury in murine MCD diet-induced steatohepatitis. *J Hepatol*. 2006 [Epub ahead of print].
107. Yu J, Hui AY, Chu ES, Cheng AS, Go MY, Chan HL et al: Expression of a COX-2 Transgene in Murine Liver Causes Hepatitis. *Gut*. 2006 [doi: 10.1136/gut.2006.097923].
108. Waris G, Siddiqui A. Hepatitis C virus stimulates the expression of cyclooxygenase-2 via oxidative stress: role of prostaglandin E2 in RNA replication. *J Virol*. 2005;79:9725-34.
109. Hui AY, Cheng AS, Chan HL, Go MY, Chan FK, Sakata R, et al. Effect of prostaglandin E2 and prostaglandin I2 on PDGF-induced proliferation of LI90, a human hepatic stellate cell line. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2004;71:329-33.
110. Kim KM, Yoon JH, Gwak GY, Kim W, Lee SH, Jang JJ, et al. Bile acid-mediated induction of cyclooxygenase-2 and Mcl-1 in hepatic stellate cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;342:1108-13.
111. Cheng J, Imanishi H, Liu W, Iwasaki A, Ueki N, Nakamura H, et al. Inhibition of the expression of alpha-smooth muscle actin in human hepatic stellate cell line, LI90, by a selective cyclooxygenase 2 inhibitor, NS-398. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;297:1128-34.
112. Bataller R, Gines P, Nicolas JM, Gorbis MN, García-Ramallo E, Gasull X, et al. Angiotensin II induces contraction and proliferation of human hepatic stellate cells. *Gastroenterology*. 2000;118:1149-56.
113. Davies RA, Knight B, Tian YW, Yeoh GC, Olynyk JK. Hepatic oval cell response to the choline-deficient, ethionine supplemented model of murine liver injury is attenuated by the administration of a cyclo-oxygenase 2 inhibitor. *Carcinogenesis*. 2006;27:1607-16.
114. Reding T, Bimmler D, Perren A, Sun LK, Fortunato F, Storni F, et al. A selective COX-2 inhibitor suppresses chronic pancreatitis in an animal model (WBN/Kob rats): significant reduction of macrophage infiltration and fibrosis. *Gut*. 2006;55:1165A-73A.
115. López-Parra M, Clària J, Títos E, Planagumà A, Párrizas M, Masferrer JL, et al. The selective cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib modulates the formation of vasoconstrictor eicosanoids and activates PPARgamma. Influence of albumin. *J Hepatol*. 2005;42:75-81.
116. Eibl G, Takata Y, Boros LG, Liu J, Okada Y, Reber HA, et al. Growth stimulation of COX-2-negative pancreatic cancer by a selective COX-2 inhibitor. *Cancer Res*. 2005;65:982-90.
117. Uemura M, Buchholz U, Kojima H, Keppler A, Hafkemeyer P, Fukui H, et al. Cysteinyl leukotrienes in the urine of patients with liver diseases. *Hepatology*. 1994;20:804-12.
118. Clària J, Títos E, Jiménez W, Ros J, Ginés P, Arroyo V, et al. Altered biosynthesis of leukotrienes and lipoxins and host defense disorders in patients with cirrhosis and ascites. *Gastroenterology*. 1998;115:147-56.
119. Muller D, Enderle GJ, Low O, Dietze E, Krell H. Bile ductular proliferation and altered leukotriene elimination in thioacetamide-induced fibrosis of rat liver. *J Hepatol*. 1996;25:547-53.
120. Baud L, Pérez, J, Denis M, Ardaillou R. Modulation of fibroblast proliferation by sulfidopeptide leukotrienes: effect of indomethacin. *J Immunol*. 1987;138:1190-5.
121. Baud L, Sraer J, Pérez J, Nivez MP, Ardaillou R. Leukotriene C4 binds to human glomerular epithelial cells and promotes their proliferation in vitro. *J Clin Invest*. 1985;76:374-7.
122. Phan SH, McGarry BM, Loeffler KM, Kunkel SL. Binding of leukotriene C4 to rat lung fibroblasts and stimulation of collagen synthesis in vitro. *Biochemistry*. 1988;27:2846-53.
123. Títos E, Clària J, Planagumà A, López-Parra M, González-Pérez A, Gaya J, et al. Inhibition of 5-lipoxygenase-activating protein abrogates experimental liver injury: role of Kupffer cells. *J Leukoc Biol*. 2005;78:871-8.
124. Dehmow C, Erhard J, De Groot H. Inhibition of Kupffer cell functions as an explanation for the hepatoprotective properties of silibinin. *Hepatology*. 1996;23:749-54.
125. Federico A, Trappoliere M, Tuccillo C, De Sio I, Di Leva A, Del Vecchio Blanco C, et al. A new silybin-vitamin E-phospholipid complex improves insulin resistance and liver damage in patients with non-alcoholic fatty liver disease: preliminary observations. *Gut*. 2006;55:901-2.
126. Wilborn J, Bailie M, Coffey M, Burdick M, Strieter R, Peters-Golden M. Constitutive activation of 5-lipoxygenase in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Invest*. 1996;97:1827-36.
127. Gay S. Rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2001;13:191-2.
128. Calder PC. Dietary modification of inflammation with lipids. *Proc Nutr Soc*. 2002;61:345-58.
129. Bagga D, Wang L, Farias-Eisner R, Glaspy JA, Reddy ST. Differential effects of prostaglandin derived from omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids on COX-2 expression and IL-6 secretion. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:1751-6.
130. Serhan CN, Gotlinger K, Hong S, Lu Y, Siegelman J, Baer T, et al. Anti-inflammatory actions of neuroprotectin D1/protectin D1 and its natural stereoisomers: assignments of dihydroxy-containing docosatrienes. *J Immunol*. 2006;176:1848-59.
131. Arita M, Yoshida M, Hong S, Tjonahen E, Glickman J, Petasis NA, et al. Resolvin E1, an endogenous lipid mediator derived from omega-3 eicosapentaenoic acid, protects against 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102:7671-6.
132. González-Pérez A, Planagumà A, Gronert K, Miquel R, López-Parra M, Títos E, et al. Docosahexaenoic acid (DHA) blunts liver injury by conversion to protective lipid mediators: protectin D1 and 17S-hydroxy-DHA. *FASEB J*. 2006;20:2537-9.