



FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

LOS RETINOIDES, EL ETANOL Y EL HÍGADO.

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2.019

Autor: Paula Orts León
Modalidad: Revisión bibliográfica
Tutor/es: María de la Cruz Pellín Mira
Javier Esteban Mozo

Agradecimientos

Este Trabajo Fin de Grado lo he podido realizar gracias a la ayuda del Departamento de Biología Aplicada, Área de Toxicología de la Universidad Miguel Hernández de Elche, en especial darles gracias a mis dos tutores, María de la Cruz Pellín Mira y Javier Esteban Mozo, ya que siempre que he tenido dudas, me han ayudado en todo.

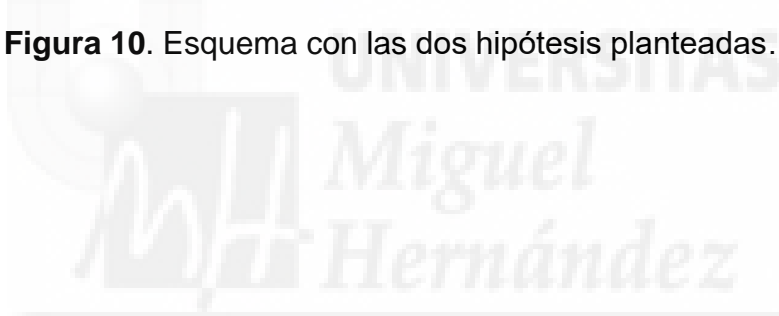


ÍNDICE DE CONTENIDOS

Índice de contenidos.....	1
Índice de figuras.....	2
Resumen y palabras clave (español e inglés).....	3
Abreviaturas.....	4
1. Antecedentes.....	5
1.1. Generalidades de los retinoides, el etanol y el hígado.....	5
1.2. Receptores retinoicos y vías realizadas por el retinol de la dieta....	9
Receptor farnesoide X (FXR).....	11
1.3. Dieta y alteración de los niveles normales de vitamina A. Toxicidad.....	11
1.4. Retinoides y cáncer.....	14
1.5. Enfermedades hepáticas.....	16
2. Justificación del trabajo y objetivos.....	17
3. Material y métodos.....	18
3.1. Diseño.....	18
3.2. Estrategia de búsqueda.....	18
3.3. Criterios de inclusión y exclusión.....	18
3.4. Extracción de datos.....	19
3.5. Análisis de datos.....	19
4. Resultados y discusión.....	20
4.1. Retinoides y su relación con el etanol y el hígado.....	20
4.2. Vías de señalización.....	22
4.3. Mecanismos por los que el etanol influye en el metabolismo de los retinoides.....	23
4.4. Alteración de la homeostasis retinoide debido a la exposición prenatal al alcohol.....	27
4.5. HSC y fibrogénesis.....	28
4.6. ¿Efecto directo o indirecto?.....	32
5. Conclusiones.....	34
6. Referencias.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

- **Figura 1.** Derivados de retinoides.....5
- **Figura 2.** Niveles de palmitato de retinilo y CRBP.....14
- **Figura 3.** Fases de la enfermedad hepática.....16
- **Figura 4.** Diagrama de flujo para la búsqueda sistemática de estudio.....19
- **Figura 5.** Niveles de vitamina A.....20
- **Figura 6.** Vías de señalización.....22
- **Figura 7.** Sistema citosólico y microsomal en el metabolismo hepático del retinol.....24
- **Figura 8.** Ruta metabólica oxidativa.....25
- **Figura 9.** Inhibidores de la ADH citosólica.....30
- **Figura 10.** Esquema con las dos hipótesis planteadas.....32



- **Resumen**

El sistema retinoide desempeña funciones vitales en el organismo por lo que su alteración por la exposición a sustancias químicas podría causar graves consecuencias para la salud. Por ese motivo se está evaluando la utilidad del sistema retinoide para identificar alteradores endocrinos. En este trabajo, se realizó una revisión bibliográfica de la literatura disponible hasta ahora, acerca de los retinoides y su relación con el etanol y el desarrollo del hígado graso. El alcohol produjo diferentes efectos sobre el metabolismo de los retinoides; se sabe que actuó como inhibidor competitivo de la oxidación del retinol del hígado, lo cual redujo el ácido retinoico, debido a la saturación de las ADHs. Además, el etanol indujo a CYP2E1, de forma que dicha inducción produjo mayor catabolismo del retinol, generando metabolitos oxidados inactivos a partir de los precursores activos, de modo que los niveles de ácido retinoico se vieron disminuidos. El déficit de ácido retinoico provocó una menor activación del heterodímero RAR-RXR, y, por tanto, una disminución en la transducción de la señal a nivel de RNA_m conforme se desarrolló la enfermedad hepática.

❖ **Palabras clave:** Vitamina A, retinoides, hígado, HSC, etanol.

- **Abstract**

The retinoid system performs vital functions in the body so that its alteration by exposure to chemicals could cause serious health consequences. For this reason, the usefulness of the retinoid system to identify endocrine disruptors is being evaluated. In this work, a literature review was made of the literature available up to now, about retinoids and their relationship with ethanol and the development of fatty liver. Alcohol produced different effects on the metabolism of retinoids; it is known that it acted as a competitive inhibitor of the retinol oxidation of the liver, which reduced the retinoic acid, due to the saturation of the ADHs. In addition, ethanol induced CYP2E1, so that induction produced greater retinol catabolism, generating inactive oxidized metabolites from the active precursors, so that the levels of retinoic acid were diminished. The

retinoic acid deficit caused a lower activation of the RAR-RXR heterodimer, and, therefore, a decrease in the signal transduction at the mRNA level as the liver disease developed.

❖ **Key words:** Vitamin A, retinoids, liver, HSC, ethanol.

Abreviaturas

ACR: Retinoide acíclico	LRAT: Lecitin-retinol aciltransferasa
ADH: Alcohol deshidrogenasa	MAPK: Proteína quinasa activada por mitógenos
ALDH: Aldehído deshidrogenasa	PPAR: Proliferador de peroxisomas activados
ALD: Enfermedad hepática alcohólica	RAR: Receptor de ácido retinoico
ARB: Bloqueador de los receptores de angiotensina II	RA: Ácido retinoico
AtRA: Ácido todo- <i>trans</i> retinoico	RAE: Equivalentes de actividad de retinol
CHC: Carcinoma hepatocelular	RBP4: Proteína transportadora de retinol
CRBP: Proteína de unión al retinol celular	RE: Equivalentes de retinol
CYP2E1: Citocromo P-450 2E1	REH: Retinil éster hidrolasa
ERK: Cinasa regulada por señal extracelular	ROS: Especies reactivas de oxígeno
FAS: Síndrome alcohólico fetal	RXR: Receptor de retinoides X
HPA: Hepatopatía alcohólica	SNC: Sistema nervioso central
HSC: Células estrelladas hepáticas	
JNK: Cinasa N-terminal c-Jun	

1. Antecedentes

1.1. GENERALIDADES DE LOS RETINOIDES, EL ETANOL Y EL HÍGADO.

Retinoides

El término vitamina A clásicamente se utilizó para referirse al retinol. Actualmente, la vitamina A (vitamina liposoluble que se almacena en el hígado⁽¹⁾) engloba una serie de compuestos biológicamente activos conocidos como retinoides, los cuales, incluyen todos los compuestos químicos que consisten en cuatro unidades isoprenoides unidas de manera integral, tanto naturales como sintéticos, y están presentes en los tejidos de todos los animales⁽²⁾. Se trata de un nutriente esencial responsable de mantener y regular la visión, del proceso de embriogénesis, de la inmunidad, de la proliferación y la diferenciación de mamíferos⁽³⁾. También, se puede requerir en la lactancia⁽¹⁾.

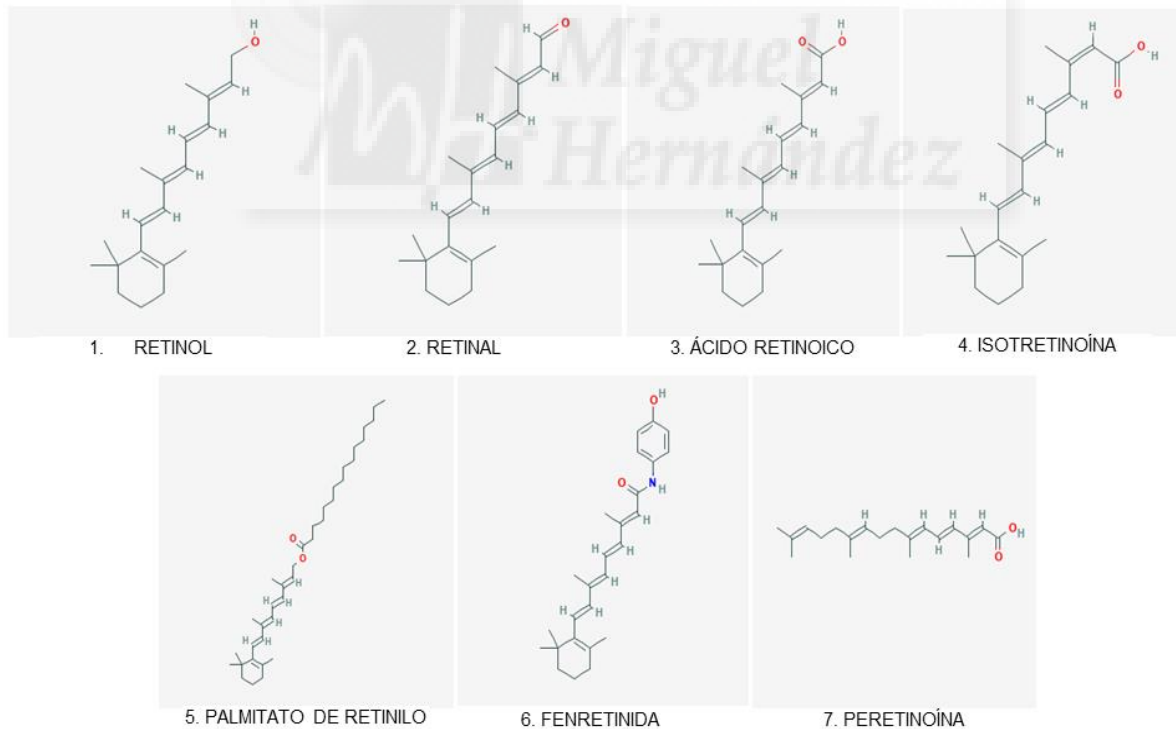


Figura 1. Derivados de retinoides: naturales (del 1 al 5) y sintéticos (6 y 7). Imágenes extraídas de PubChem⁽⁴⁾.

Como vemos en la Figura 1, la molécula retinoide se puede dividir en tres partes: un anillo de ciclohexeno trimetilado, una cadena lateral de tetraeno conjugado y un grupo funcional polar carbono-oxígeno⁽⁵⁾.

La actividad de estos compuestos se expresa en equivalentes de actividad de retinol (RAEs). Un RAE equivale a 1 µg de retinol o 3,33 UI de actividad de vitamina A como retinol. Un RAE también corresponde a 12 µg de β-caroteno “dietético” y a 24 de otros carotenos como alfa y gamma.

La vitamina A hace referencia a una serie de compuestos solubles en grasa, es abundante en pescados grasos, en aceites de hígado de pescado, en aves de corral y en carnes de res (carnes de vacuno). Además, también se encuentra en la grasa de leche, huevos e hígado. En todos los alimentos de origen animal la vitamina A aparece preformada^(1, 6).

Existen otros compuestos que presentan actividad biológica de retinoides; son los carotenoides, los cuales, son sintetizados por microorganismos fotosintéticos y por plantas. Los carotenoides, pigmentos de color oscuro que se encuentran en alimentos de origen vegetal, también se conocen como provitamina A, ya que deben sufrir un cambio para adquirir la actividad de la vitamina A. Se conocen más de 500 carotenoides y uno de ellos es el betacaroteno. Se encuentra en muchas frutas (como el melón y el mango) y verduras (como el brócoli, la zanahoria y el calabacín) y en hortalizas de hoja verde^(1, 6).

Todos los vertebrados requieren en su organismo retinol, el cual, actúa a través de su metabolito ácido *todo-trans* retinoico (atRA), para poder reproducirse, crecer y mantenerse saludables⁽⁷⁾.

El ácido retinoico forma parte del grupo de los retinoides y junto al retinol, son las formas activas de la vitamina A⁽⁸⁾. Son necesarios para mantener la salud normal del hígado, son promotores antitumorales y su suplementación puede inhibir el desarrollo de cánceres⁽⁹⁾.

Alcohol

En cuanto al alcohol etílico, se trata de un producto tóxico para los humanos cuando se ingiere en cantidades excesivas y durante largos períodos de tiempo. El consumo de alcohol y su relación con lesiones hepáticas es un hecho que se conoce desde hace muchos siglos. Hoy en día se considera al etanol como una de las causas más frecuentes de carcinoma hepatocelular (CHC) y la segunda en transplante hepático. El conjunto de lesiones provocadas en el hígado por el etanol recibe el nombre de hepatopatía alcohólica (HPA)⁽¹⁰⁾. El etanol también causa daño sobre el sistema nervioso central (SNC)⁽¹¹⁾, además de relacionarse con defectos a nivel craneofacial (síndrome del alcoholismo fetal)⁽¹²⁾ y esterilidad en hombres⁽¹³⁾. Por todo ello, representa un grave problema de salud pública.

Centrándonos en la enfermedad hepática alcohólica (ALD), cabe destacar que en general, se desarrolla después de años consumiendo cantidades excesivas de alcohol⁽¹⁴⁾. Según datos publicados en Abril de 2.018 sobre casi 600.000 bebedores, el umbral de riesgo más bajo se situó en 100 gramos de alcohol a la semana, en los bebedores de países de altos ingresos⁽¹⁵⁾.

Es importante resaltar que desde 1.970, las muertes por ALD habían disminuido gradualmente en muchos países, pero en la actualidad, se tiende a un aumento en la incidencia de ALD y las muertes subsiguientes⁽¹⁴⁾.

La enfermedad alcohólica depende de: cantidad de alcohol, etnia hispana y afroamericana (tienen mayor riesgo de alcoholismo), adolescencia, sexo femenino, consumo de múltiples variedades de alcohol, consumo de alcohol entre comidas, mala nutrición, obesidad y polimorfismo en los genes del citocromo P-450 2E1 (CYP2E1). Puede haber una predisposición genética a padecer estas enfermedades. El gen de la alcohol deshidrogenasa (ADH) y la aldehído deshidrogenasa (ALDH) se relacionaron con la vulnerabilidad del alcoholismo y al posible riesgo de enfermedad hepática⁽¹⁴⁾. De la misma manera, polimorfismos en la ADH 1 (ADH1C*1), los cuales aumentaron la actividad de enzimas y producción de acetaldehído en caucásicos, se

relacionaron con un mayor riesgo de cáncer de hígado en personas que consumieron grandes cantidades de etanol⁽¹⁶⁾.

Hígado

El hígado es la víscera más grande del organismo (1-1,5 kg). Se encuentra en el cuadrante superior derecho de la cavidad abdominal (hipocondrio derecho) debajo de la caja torácica contra el diafragma y se divide en dos lóbulos (derecho e izquierdo) a partir del ligamento falciforme. El lóbulo derecho está compuesto a su vez por el lóbulo caudado y el lóbulo cuadrado. En la cara inferior derecha a él se encuentra la vesícula biliar, la cual recibe y almacena la bilis fabricada por el hígado para facilitar la digestión de los alimentos y eliminar sustancias con elevado peso molecular, que no se eliminan por la orina⁽¹⁷⁾.

La unidad funcional hepática puede ser el lóbulo o el acino. Los sinusoides hepáticos son los conductos que se encuentran entre los cordones de hepatocitos, por donde circula y avanza la sangre que se dirige hacia la vena hepática terminal. Los sinusoides se conforman por tres tipos de células: las células endoteliales, las células de Kupffer y las células de Ito. Las células Kupffer son los macrófagos propios del hígado, presentando una importante función inmunológica. Por su parte, las células de Ito son sintetizadoras de colágeno⁽¹⁸⁾.

El hígado es el órgano primordial encargado del metabolismo del etanol, mediante tres mecanismos principalmente: por la ADH, por el citocromo P-450 2E1, y por la catalasa. Actúa un mecanismo enzimático u otro dependiendo de la concentración de etanol; cuando las concentraciones son bajas actúa ADH; cuando las concentraciones de etanol son más altas (>10Mm) interviene el citocromo P450. Ambos sistemas enzimáticos convierten el etanol en acetaldehído, que por último pasa a acetato por medio de la ALDH⁽¹⁹⁾.

Otras funciones del hígado son^(17, 18):

- Formador y secretor de la bilis. La bilis ayuda a descomponer las grasas en el intestino delgado durante la digestión.

- Sintetizador de proteínas para el plasma sanguíneo (factores de coagulación, albúmina y proteínas de transporte).
- Convertidor de glucosa en glucógeno para su almacenamiento.
- Convertidor del amoníaco tóxico en urea, la cual, se eliminará por la orina.
- Depurador de fármacos y sustancias tóxicas de la sangre (desintoxicador). Depurador de bilirrubina, la cual, se puede acumular dando lugar a que ojos y piel se pongan amarillos (ictericia).
- Regulador de los niveles de aminoácidos en sangre.

Cuando el hígado ha descompuesto las sustancias nocivas, los subproductos se excretarán en bilis o a la sangre. En caso de que se hayan excretado por la bilis, ingresarán en el intestino delgado y se expulsarán por las heces. Los productos que hayan pasado a la sangre, se filtrarán en los riñones y se expulsarán por la orina⁽¹⁷⁾.

1.2. RECEPTORES RETINOICOS Y VÍAS REALIZADAS POR EL RETINOL DE LA DIETA.

Los retinoides son potentes reguladores transcripcionales que modulan la expresión de más de 500 genes⁽²⁰⁾. El ácido retinoico tiene funciones tales como control del crecimiento y proliferación celular, diferenciación y apoptosis de las células, controlando así la carcinogénesis. Además, tiene especial interés clínico como agente terapéutico, en la quimioprevención, en pacientes con leucemia promielocítica aguda⁽²¹⁾, y en el tratamiento del cáncer⁽¹⁶⁾.

Los retinoides regulan estos procesos a partir de receptores nucleares, más conocidos como RARs, los cuales son miembros de la superfamilia de receptores de hormonas esteroideas-tiroideas⁽²⁾. Encontramos dos tipos:

- Receptor de ácido retinoico (RAR): RAR α , RAR β , RAR γ . El ligando natural para RAR es atRA⁽¹¹⁾.
- Receptor de retinoides X (RXR): RXR α , RXR β , RXR γ ⁽¹¹⁾. Poseen alta especificidad para un isómero del ácido retinóico: el 9-cis-retinoico⁽²⁾.

RAR funciona como factor de transcripción dependiente de ligandos. Se estudió que ratones con mutaciones en estos receptores (y también RXR) presentaron deficiencia en los niveles de vitamina A, lo que mostró que estos receptores controlan la señalización de los retinoides⁽²²⁾.

Además, se vio que, en ratones transgénicos, que expresaban una forma dominante negativa de RAR α , se eliminaba la señalización entre el ácido retinoico y RAR, y estaban predispuestos a desarrollar carcinoma hepatocelular de forma espontánea⁽²¹⁾.

En humanos, el ácido retinoico no se ingiere como tal. Mediante la dieta lo que obtenemos es retinol, ésteres de retinilo o carotenoides provitamina A (beta-caroteno), y para llegar a la forma de ácido retinoico tiene que sufrir una serie de cambios en nuestro organismo. En el citoplasma, el retinol se encuentra unido a proteínas de unión al retinol celular (CRBP), las cuales, podrían ayudar a la transferencia del retinol de los hepatocitos a las células estrelladas hepáticas (HSC)⁽²¹⁾. Está bien establecido que las HSC poseen altos niveles de CRBP y lecitin-retinol aciltransferasa (LRAT).

El retinol obtenido de la dieta puede seguir tres vías:

1. Puede ser transferido a la proteína transportadora de retinol (RBP4) que está unida a su vez a transtiretina, y posteriormente, secretarse a la circulación. En animales con retinoides suficientes, RBP4 aparece constante, de modo que se provee de retinoides suficientes a los tejidos diana, en cambio, en momentos de deficiencia extrema de los mismos, la concentración de RBP4 disminuye hasta niveles indetectables⁽²¹⁾.
2. Transformarse en ésteres de retinilo, principalmente palmitato de retinilo, para su almacenamiento en las células estrelladas del hígado⁽¹³⁾.
3. Realizar la vía oxidativa para formar el ácido retinoico, el cual, podrá unirse a RAR o RXR, o bien, transformarse en metabolitos polares por catabolismo con la ayuda del citocromo P-450⁽¹³⁾.

RECEPTOR FARNESOIDE X (FXR).

El receptor farnesoide X (FXR) forma un heterodímero con RXR y se trata de un receptor altamente expresado en hígado e intestinos y ejerce una función reguladora sobre la homeostasis de ácidos biliares. Se observó que los pacientes que presentaban ALD manifestaban también colestasis (disminución o interrupción del flujo biliar), lo que resultaba en la acumulación de ácidos biliares en el hígado⁽²³⁾.

Los ácidos biliares actúan como moléculas de señalización de nutrientes a través de la activación del receptor farnesoide X. Son las formas no conjugadas de los ácidos biliares las que sirven como ligandos endógenos para FXR⁽²³⁾.

La deficiencia de FXR en el cuerpo de ratones dio como resultado que se aumentaran los niveles de ácidos biliares hepáticos, promoviendo así la lesión del hígado con esteatosis, inflamación y fibrosis⁽²³⁾.

FXR puede actuar como factor protector en el hígado frente a la hepatotoxicidad mediante la regulación de determinadas vías moleculares tales como la regulación del metabolismo de los lípidos, la sensibilidad a la inflamación y el estrés oxidativo mediado por CYP2E1, ya que se observó que la activación farmacológica de FXR por WAY y 6ECDCA (potentes agonistas farmacológicos de FXR²⁵) atenuó la lesión hepática crónica inducida por el alcohol y la esteatosis⁽²³⁾.

Se planteó que FXR podría ser un posible objetivo farmacológico para aliviar la colestasis inducida por el alcohol y la lesión del hígado⁽²³⁾.

1.3. DIETA Y ALTERACIÓN DE LOS NIVELES NORMALES DE VITAMINA A. TOXICIDAD.

La toxicidad por vitamina A generalmente es consecuencia de una exposición crónica, porque los ésteres de retinilo suelen acumularse, puede ser por una suplementación excesiva de esta vitamina, o bien, consecuencia de patrones

dietéticos poco comunes tales como la ingesta excesiva de hígado de pollo y vaca⁽²⁾.

En cuanto a la ingesta dietética, las principales fuentes de vitamina A son los carotenoides proteínoides. Los encontramos en vegetales y retinoides preformados, obtenidos de fuentes animales como éster retinílico⁽²¹⁾.

Para evitar los efectos del alcohol en cuanto a disminución de los niveles de vitamina A se propusieron las dietas suplementadas con retinol o caroteno. Sin embargo, el exceso durante varios meses de vitamina A también es conocido por ser altamente tóxico para el hígado, pudiendo producir cirrosis hepática. Por otro lado, se vio que animales alimentados con dosis altas de vitamina A o sus derivados, protegió a los mismos frente al desarrollo de tumores en el tracto respiratorio⁽²⁴⁾.

La vitamina A, además, es la base de algunos tratamientos para: inmunodeficiencia, aumento de peso de recién nacidos prematuros, leucemia⁽²⁵⁾, hipogonadismo, xeroftalmía, cirrosis biliar, ileitis crónica y afecciones dermatológicas como el acné quístico. El ácido 13-cis-retinoico es teratógeno por lo que se ha de evitar en el embarazo⁽²⁴⁾.

Es habitual el consumo de polivitamínicos que contienen retinoides sin supervisión médica, y esta circunstancia supone un riesgo, especialmente porque las preparaciones que contienen 7.500 equivalentes de retinol (RE) (lo que es igual a 25.000 UI) se venden en tiendas de alimentación natural. Se estudió que el suplemento diario de 7.500 RE durante 6 años se relacionaba con cirrosis hepática, mientras que 2 cápsulas de vitamina A diarias (15.000 RE) durante dos años se asoció con toxicidad grave de vitamina A⁽²⁴⁾.

Sin embargo, en productos de venta en farmacias, las cantidades contenidas de vitamina A en complejos multivitamínicos tales como Multicentrum® o Supradyn® son de 800 µg (800 RE) por cápsula⁽²⁶⁾.

La cantidad diaria recomendada de vitamina A es de 1.000 RE en hombres, mientras que en mujeres es de 800 RE según la Sociedad Española de Nutrición⁽²⁴⁾. En cambio, para la Organización Mundial de la Salud las

cantidades recomendadas serían de 600 RE en hombres y entre 500-600 RE en mujeres, dependiendo del rango de edad⁽²⁷⁾. Por tanto, en una ingesta de 1 cápsula diaria (7.500 RE) se está ingiriendo mucho más de la ingesta diaria recomendable, siendo esta una situación que se está dando ampliamente. La toxicidad puede variar de una persona a otra (influyen género, edad, calidad nutricional...)⁽²⁵⁾ y esta variabilidad interindividual condiciona el establecer exactamente las cantidades óptimas⁽²⁴⁾.

Algunos síntomas derivados de ingestas excesivas (intoxicaciones) de vitamina A son: síntomas agudos como náuseas, vómitos, diarrea, cefalea, protuberancia de la fontanela en lactantes, fiebre, visión borrosa y disminución de la coordinación muscular; relacionados con funciones nerviosas encontramos confusión, irritabilidad, ansiedad, depresión e ideas suicidas. En individuos que habían consumido hígado de oso, el cual posee altas concentraciones de vitamina A, se observó deterioro conductual agudo (dicho trastorno se conoce como "Histeria Polar")⁽²⁵⁾.

Respecto a los componentes de la dieta, se estudió la influencia de la cantidad de grasa y el consumo de alcohol. Se observaron ratas alimentadas con etanol y altos niveles de grasas y otras con etanol y niveles bajos en grasa, se vio que la alimentación conjunta de alcohol y un 25% de grasas respecto a las calorías totales, producía la acumulación de niveles altos de triglicéridos en hígado (además de fibrosis hepática), mientras que con dietas bajas en grasas (5 % de las calorías) no se producía hígado graso, a menos que las cantidades consumidas de alcohol fueran muy altas⁽¹⁴⁾.

Tsukamoto y col. Concluyeron que una dieta rica en grasas poliinsaturadas sería clave para la inducción de fibrosis hepática alcohólica. El experimento demostró que dietas altas en etanol y grasas producirían la activación miofibroblástica de células Ito, el agotamiento de la vitamina A (disminución de palmitato de retinilo) y el nivel reducido de CRBP (ver Figura 2). Los animales alimentados durante diez semanas con altos contenidos de etanol y grasa desarrollaron esteatosis de moderada a grave, y en los que se extendió a 17

semanas se desarrolló patología hepática más avanzada. En cambio, los animales que habían consumido alto contenido en alcohol pero bajo contenido en grasas, mostraron esteatosis y necrosis, pero sin fibrosis a las diez semanas. Por último, en las dietas bajas en alcohol y grasas, las células Ito no sufrieron activación y el hígado tampoco desarrolló fibrosis⁽²⁸⁾.

En cuanto a precursores de la vitamina A encontramos beta caroteno, el cual se consideraba inocuo, pero se observó que también interactúa con el alcohol, llegando a producir hepatotoxicidad. Existen hallazgos que muestran una asociación entre las bajas concentraciones de beta caroteno sérico y el riesgo de carcinoma de células escamosas de pulmón⁽²⁴⁾.

En unos estudios realizados en babuinos alimentados con alcohol, se estudió si el metabolismo de la provitamina A carotenoide, beta caroteno, podía producir vitamina A biodisponible para satisfacer las necesidades de las personas. Se observó un aumento significativo de los niveles hepáticos de beta caroteno y un aumento de enzimas de escisión de carotenoides que catabolizan esta reacción (enzimas CMO1 Y CMO2)⁽¹³⁾.

1.4. RETINOIDES Y CÁNCER.

En un estudio se mostró que la administración de un retinoide acíclico sintético oral (ACR) denominado NIK-333 o peretinoína⁽²⁹⁾, durante 12 meses, redujo la incidencia de recurrencia postoperatoria de carcinoma hepatocelular y mejoró la supervivencia en los pacientes con este tipo de cáncer^(21, 30). ACR fue

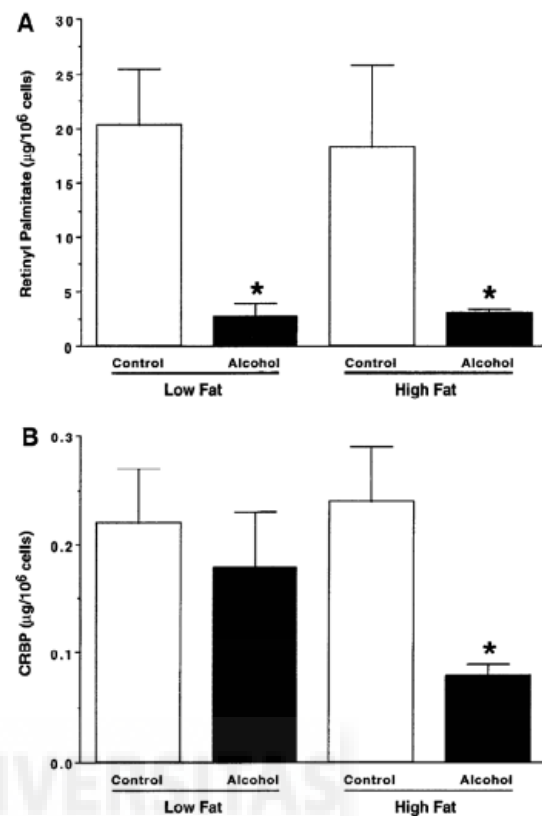


Figura 2. Niveles de palmitato de retinilo y CRBP. Disminución de palmitato de retinilo (A) y CRBP (B) en dietas ricas en etanol y grasas. Imagen extraída de Tsukamoto, et al, 1996.

utilizado por primera vez en 1.996, momento en el que se demostró que éste previene frente a la aparición de segundos tumores en pacientes con CHC, además de reducir el tamaño de las células hepáticas humanas⁽²⁹⁾. ACR conduce a la supresión del crecimiento de células al detener el ciclo celular en la fase G₀/G₁⁽²⁹⁾. Además, se vio que, a diferencia de otros retinoides, no presentó efectos tóxicos significativos. Por tanto, ACR es un agente anticancerígeno muy prometedor⁽³⁰⁾, si bien, no posee efectos inhibidores suficientemente fuertes como para utilizarlo en monoterapia en la quimioprevención de CHC⁽²⁹⁾. Por ello, se vio que la combinación de ACR con un bloqueador de los receptores de angiotensina II (ARB) ofrece un efecto inhibitor combinado frente a la carcinogénesis hepática basada en la resistencia a la insulina, inhibiendo el crecimiento celular, la angiogénesis intrahepática y el estrés oxidativo. Por tanto, se trata de un tratamiento quimiopreventivo contra el CHC⁽²⁹⁾. La peretinoína se dirige al receptor nuclear de retinoides. Sus funciones se basan en la inducción de la apoptosis e inhibición del crecimiento tumoral en las células con CHC⁽³¹⁾.

Recientemente, se informó de que los retinoides acíclicos aumentan la expresión de la transglutaminasa-2 intranuclear en células JHH-7 e inducen apoptosis en CHC⁽³¹⁾.

Por otra parte, se vio que la administración de aminoácidos de cadena ramificada (leucina, isoleucina y valina), los cuales son aminoácidos esenciales en los seres humanos, mantienen la función hepática residual después de haber tratado el CHC y previenen la recurrencia de CHC en pacientes con enfermedad hepática crónica. Se conoce que la administración oral de estos aminoácidos inhibe la hepatocarcinogénesis en pacientes obesos (IMC \geq 25 kg / m²) con cirrosis hepática relacionada con el virus de la hepatitis C (VHC), tal como Muto et al demostraron en un ensayo controlado aleatorizado y multicéntrico que incluyó 622 pacientes cirróticos hepáticos descompensados⁽³¹⁾.

1.5. ENFERMEDADES HEPÁTICAS.

Las lesiones que se producen en el hígado las podemos clasificar de menor a mayor gravedad:

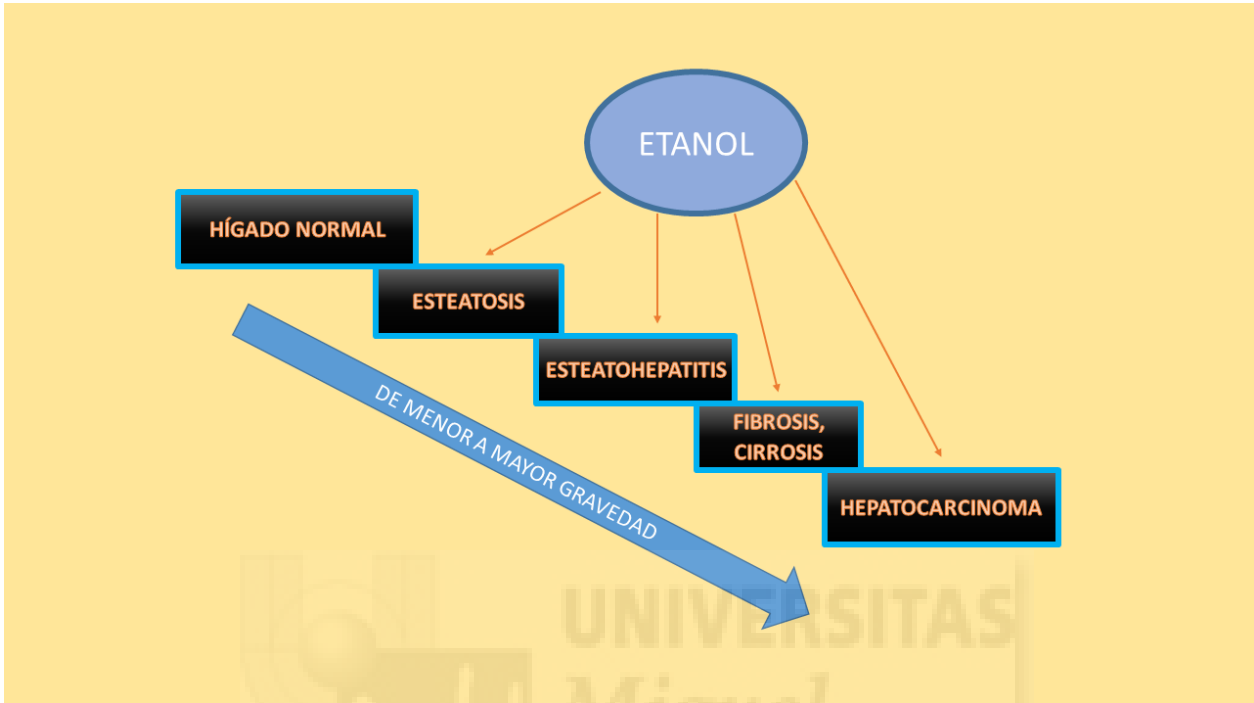


Figura 3. Fases de la enfermedad hepática.

■ Esteatosis hepática (hígado graso).

Es la forma más usual y benigna de HPA, y se caracteriza por la acumulación de triglicéridos en el citoplasma de los hepatocitos⁽¹⁰⁾. Puede deberse a trastornos del metabolismo de los lípidos. La esteatosis es una respuesta habitual al contacto con muchas hepatotoxinas⁽¹⁸⁾.

La esteatosis macrovacuolar es la más frecuente, la cual consiste en pequeñas vacuolas llenas de grasa que confluyen en grandes vacuolas y que pueden llegar a desplazar el núcleo y el resto de orgánulos celulares⁽¹⁰⁾.

Suele ser asintomática y manifestarse por una hepatomegalia blanda e indolora, donde el hígado aparece decolorado⁽¹⁰⁾.

■ Esteatohepatitis.

Es una enfermedad mucho más grave que la esteatosis hepática y aparece en alrededor del 20% de los alcohólicos. Para el diagnóstico de hepatitis alcohólica

se exige la existencia de degeneración, necrosis celular e infiltrado inflamatorio de leucocitos⁽¹⁰⁾.

Se trata de una enfermedad asintomática y cursa con una clínica inespecífica como náuseas, vómitos, anorexia, debilidad muscular, pérdida de peso y diarrea, aunque la forma más característica surge de la asociación de ictericia, dolor abdominal, hepatomegalia, fiebre y leucocitosis⁽¹⁰⁾.

■ Cirrosis hepática.

Es un proceso irreversible, se trata del estadio final de la HPA y se caracteriza por el depósito de gran cantidad de fibras colágenas consecutivamente a una lesión directa o a la inflamación. Debido al depósito constante de colágeno, las cicatrices fibrosas desorganizan la arquitectura hepática⁽¹⁸⁾. Se suele reconocer por la aparición de nódulos menores a 3 mm⁽¹⁰⁾.

Suele ser asintomática y durante la exploración física se puede observar eritema palmar, arañas vasculares, ginecomastia, falta de vello, ictericia o malnutrición⁽¹⁰⁾.

■ Carcinoma hepatocelular.

Aparece en el 5-15% de los pacientes con cirrosis hepática alcohólica. Se desconoce su mecanismo patogénico⁽¹⁰⁾. Se trata del quinto cáncer más común y es la tercera⁽²⁹⁾ causa de muerte por cáncer en el mundo.

2. Justificación del trabajo y objetivos

Tanto la UE como la OCDE están realizando un esfuerzo intenso para regular la evaluación de riesgos para la salud humana de los alteradores endocrinos. Dentro de sus líneas prioritarias se están mejorando y desarrollando biomarcadores para identificar alteradores endocrinos. En ese marco, se está evaluando la utilidad de introducir observaciones del sistema retinoide en los métodos de ensayo, teniendo en cuenta que hay una extensa exposición al etanol en las poblaciones humanas que se relaciona con alteraciones

metabólicas^(32, 33). En este trabajo, se realizó una revisión bibliográfica de la literatura disponible hasta ahora, acerca de los retinoides y su relación con el etanol y el desarrollo del hígado graso, distinguiendo dos objetivos:

1. Estudiar la relación existente entre la ingesta crónica de alcohol y la alteración en el sistema retinoide.
2. Conocer si la alteración del sistema retinoide está relacionada con la generación del hígado graso.

3. Material y métodos

3.1. DISEÑO

Se realizó una revisión sistemática de artículos científicos mediante la base de datos Web of Science (WOS), de modo que se buscó todo lo relacionado con el etanol, los retinoides y el hígado, publicado durante el período de 1.991 hasta 2.019. Se consultaron tanto revisiones como artículos y estudios científicos sobre el tema a tratar.

3.2. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

Se realizó una búsqueda de artículos en la Web of Science. Los criterios de búsqueda utilizados en WOS fueron: ethanol AND retinoid AND liver.

La búsqueda se hizo en inglés y limitando el año de publicación. Se analizaron además algunas referencias bibliográficas de artículos que parecían interesantes para incluir en la revisión. También, se buscó información con la ayuda de otras fuentes como BotPlus, PubChem, MedLinePlus...

3.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Como criterio fundamental a la hora de incluir o excluir artículos, a partir de los artículos disponibles, aquellos que por su título y resumen parecían interesantes, se procedieron a leer completamente. Otros parecían relevantes por el título, pero, sin embargo, al leer el resumen, se decidió excluirlos. Sólo se aceptaron artículos en castellano o en inglés. Además, se tuvo en cuenta

aquellos que más citas habían tenido en otros artículos a la hora de leer el trabajo completo, así como de incluir aquellos que fueron escritos de la década de los noventa en adelante. Se excluyeron, por tanto, aquellos que no podían aportar nada a la revisión ya que no parecían interesantes, o aquellos que, por su fecha de publicación, eran demasiado antiguos.

3.4. EXTRACCIÓN DE DATOS

Tras la búsqueda inicial con el criterio “Ethanol AND retinoid AND liver” en WOS, se encontraron 114 trabajos, de los cuales 80 fueron pertinentes por el título, de manera que se leyó el abstract de 80 y se leyeron completamente 38. Los artículos excluidos desde un principio por su título fueron 34, ya que no eran relevantes para el objetivo de la revisión. Posteriormente, el número de artículos excluidos totales tras leer el abstract fue de 76.

Finalmente se incluyeron 8 revisiones sistemáticas y 30 artículos.

3.5. ANÁLISIS DE DATOS

Una vez descartados todos los artículos irrelevantes, la información analizada se estructuró en tres grupos que fueron: etanol, retinoides e hígado. Por tanto, se fue extrayendo la información interesante en relación a estos tres subgrupos o bloques. El conjunto de trabajos leídos permitió tener una visión general del sistema retinoide en relación con el consumo de etanol y sus consecuencias sobre el hígado.

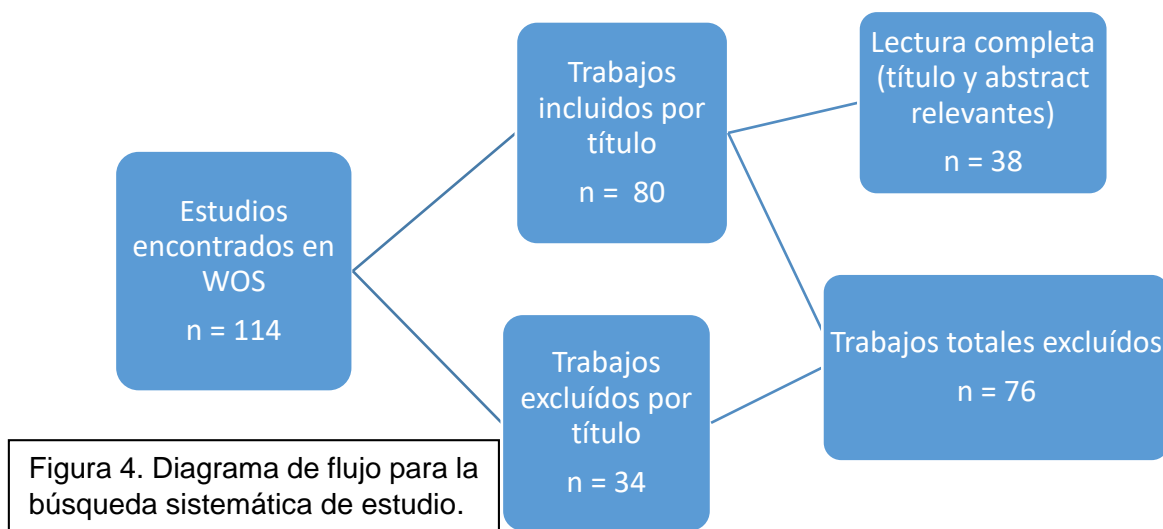


Figura 4. Diagrama de flujo para la búsqueda sistemática de estudio.

4. Resultados y discusión

4.1. RETINOIDES Y SU RELACIÓN CON EL ETANOL Y EL HÍGADO.

El alcohol afecta a enzimas, proteínas transportadoras y receptores nucleares que intervienen en la homeostasis de retinoides⁽⁷⁾. Asimismo, induce a un agotamiento progresivo de los retinoides hepáticos, lo que se relaciona con un empeoramiento de la enfermedad hepática. Esta afirmación fue reportada por primer vez por Leo y Lieber hace más de 3 décadas^(13, 24).

El consumo crónico de alcohol, sobre todo en países occidentales⁽²⁴⁾, es una de las causas más importantes de mortalidad y morbilidad en el mundo⁽¹¹⁾, y da lugar a deficiencia en los niveles de dicha vitamina en cualquiera de sus formas; ésteres de retinilo⁽¹⁶⁾, retinol⁽⁸⁾, retinal, ácido retinoico⁽⁸⁾ y palmitato de retinilo⁽⁸⁾. Existe una relación inversamente proporcional entre consumo de alcohol y los niveles de retinoides; observada tanto en animales de experimentación como en humanos⁽¹³⁾, y atribuida a una serie de alteraciones metabólicas, bioquímicas y moleculares⁽¹⁶⁾. A nivel del hígado, dichas alteraciones darán lugar a diferentes enfermedades hepáticas (de menor a mayor gravedad), tales como la esteatosis hepática, reversible si se suspende el consumo de alcohol, la hepatitis alcohólica, que se caracteriza por una inflamación persistente, la cirrosis (fibrosis)⁽¹¹⁾, así como un aumento espontáneo de tumores y cánceres, como el CHC⁽²⁴⁾.

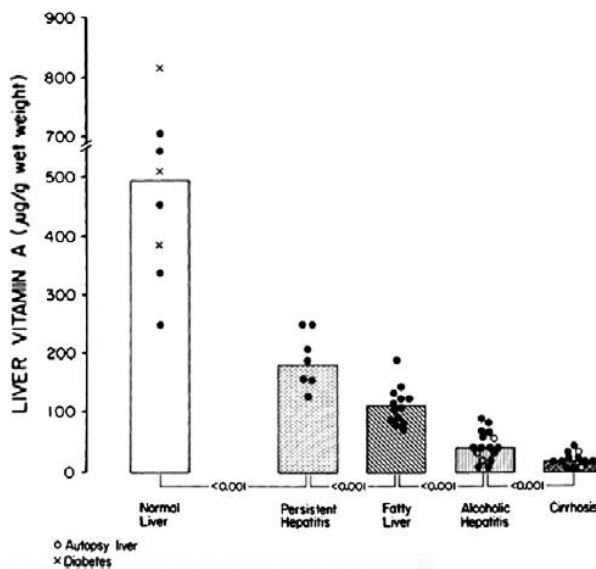


Figura 5. Niveles de Vitamina A. En el caso de cirrosis, los niveles están disminuidos 30 veces respecto a la situación normal; en hepatitis alcohólica 10 veces o más; en hígado graso existe una disminución del 20%. (Leo, Lieber 1.999).

Otra de las consecuencias asociada a la deficiencia de vitamina A inducida por el alcoholismo, es la pérdida de la visión nocturna (nictalopía)⁽¹³⁾, así como la xeroftalmía (problema importante en el Sudeste de Asia) y la ceguera⁽²⁴⁾.

En la esteatosis alcohólica, además de los niveles de retinoides disminuidos, también, los niveles de adiponectina, sus receptores y su señalización, aparecen disminuidos. La adiponectina es una hormona que interviene en el metabolismo de los ácidos grasos y la glucosa, favorece la oxidación de ácidos grasos y la entrada de glucosa a los tejidos. Sabiendo que el receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR γ) regula la adiponectina, se hizo un estudio con un agonista de PPAR, la rosiglitazona, para ver si era capaz de revertir los efectos inhibitorios del etanol sobre la adiponectina, con la finalidad de estudiar la posibilidad de reducir la esteatosis. La rosiglitazona presenta acción protectora contra el hígado graso en ratones que consumen alcohol, y está mediada a través del eje adiponectina-SIRT1-AMPK. La inducción de adiponectina en animales alimentados con etanol, a través de suplementos dietéticos, alivió la esteatosis hepática y las lesiones, ya que PPAR γ tiene la capacidad de activarse por las tiazolidindionas. También la pioglitazona previno la lesión hepática inducida por alcohol en ratas⁽³⁴⁾. El metabolismo del retinol está inhibido por el alcohol, de manera que el déficit de ácido retinoico producido lleva a que muy poca cantidad de éste se pueda unir con RXR. El receptor RXR pierde activación, de forma que no habrá suficiente transcripción de los genes regulados por el heterodimero RXR-PPAR (por ejemplo, regula la adiponectina, y ésta se verá disminuida). En cambio, la unión de rosiglitazona, un activador de PPAR (factor protector), induce la adiponectina, de forma que se podría reducir la esteatosis.

En un estudio reciente de 2017, se vio que los retinoides y el alcohol se pueden relacionar con la función de termorregulación. De forma que en bebedores de alcohol, se produjo una alteración en la homeostasis de retinoides y ello, produjo una disminución en el contenido de triglicéridos en el tejido adiposo pardo, el cual tiene importantes efectos sobre la termorregulación ⁽³⁵⁾.

4.2. VÍAS DE SEÑALIZACIÓN.

En cuanto a las vías de señalización, la ingesta crónica de alcohol produce:

- Alteración de la vía de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK)⁽¹⁶⁾. La activación de la cinasa N-terminal c-Jun (JNK) y la cinasa regulada por señal extracelular (ERK) aumentan la expresión y actividad de c-Jun y c-Fos (la combinación c-Jun y c-Fos conforma el factor de transcripción AP-1)⁽²¹⁾, produciendo así, aumento en la transformación maligna de células y su inflamación. La inhibición de la actividad de AP-1 conllevaría efectos antioncogénicos y antiproliferativos⁽¹⁶⁾.
- Inducción de CYP2E1, produce la activación de procarcinógenos⁽¹⁶⁾. Dicha enzima transforma el etanol en acetaldehído y la acumulación de acetaldehído con hidrógenos, provenientes de la reducción de NAD⁺ a NADH + H⁺⁽¹⁴⁾. Además, dicha inducción favorece la degradación del ácido retinoico. Se inhibe la síntesis de ácido retinoico, por lo que disminuyen RXR y RAR, lo cual conlleva una disminución en la apoptosis y la función inmune. Cuando RXR y RAR pierden expresión debido a la disminución de retinoides, se ve reducida la transducción de la señal, ya que se ve alterada la homeostasis, por tanto, puede haber mayor proliferación de células y transformación maligna⁽¹⁶⁾.

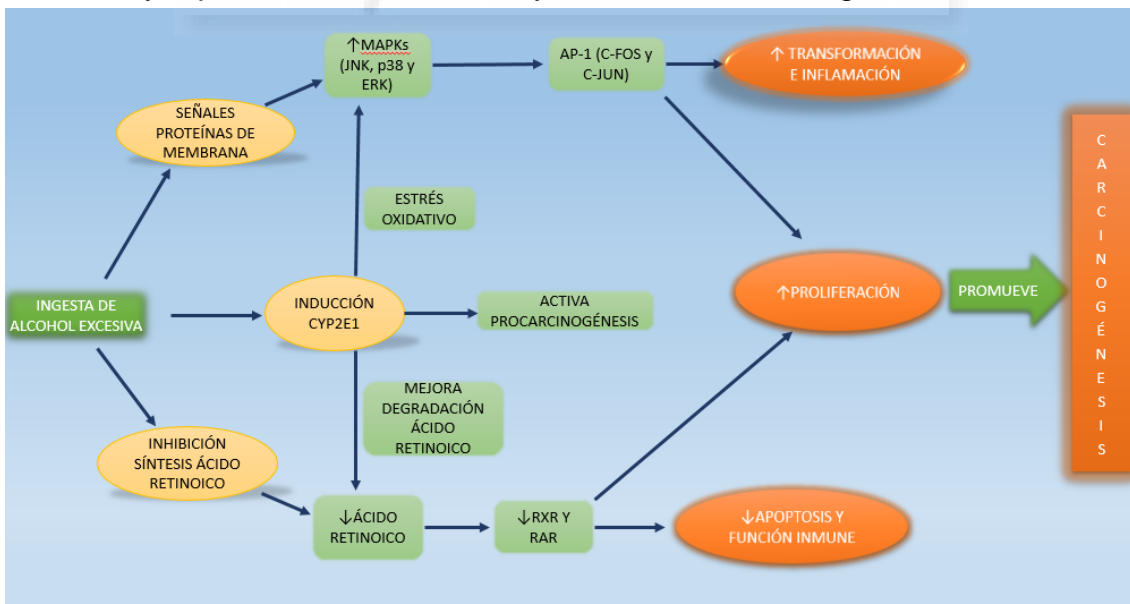


Figura 6. Vías de señalización que conllevan el desarrollo de carcinogénesis. Modificado de Wang 2005. MAPK: Proteína quinasa activada por mitógenos; JNK: Cinasa N-terminal c-Jun; ERK: Cinasa regulada por señal extracelular; AP-1: Formado

por c-Jun y c-Fos; RXR: Receptor de retinoides X; RAR: Receptor de ácido retinoico; CYP2E1: Citocromo P-450 2E1.

Por lo tanto, el incremento en la expresión de AP-1 y la disminución de receptores de retinoides conllevan a un aumento en la proliferación celular y a carcinogénesis en el hígado.

En presencia de *todo-trans* retinoico, RAR actúa como regulador negativo de AP-1 (RAR y AP-1 pueden inhibir cada uno de ellos la actividad del otro⁽²²⁾), el cual está formado por dos subunidades, c-Fos y c-Jun. AP-1 se une a su correspondiente elemento de respuesta (AP-1 RE). Normalmente, esa unión media señales de factores de crecimiento, oncogenes, promotores de tumores y péptidos inflamatorios. Como resultado de esto, se promoverá la proliferación celular⁽⁸⁾.

4.3. MECANISMOS POR LOS QUE EL ETANOL INFLUYE EN EL METABOLISMO DE LOS RETINOIDES.

El metabolismo de los retinoides se indica en la Figura 7, aunque más adelante se verá de forma más detallada. El retinol puede metabolizarse a metabolitos polares, RA-OH y OXO-RA, (a través de CYP2E1, al igual que el ácido retinoico, mediante reacciones de biotransformación de fase I), o bien, puede pasar de retinaldehído (retinal) a ácido retinoico. Esas reacciones de biotransformación (desde formas precursoras hasta formas oxidadas inactivas) pueden verse acentuadas y aceleradas cuando RXR forma los correspondientes heterodímeros con CAR y PXR. El ácido retinoico y los metabolitos pueden conjugarse, mediante reacciones de fase II, con aminoácidos o glucurónico (aumentando así su solubilidad acuosa) y los glucurónidos formados se eliminarán mediante la bilis y la orina.

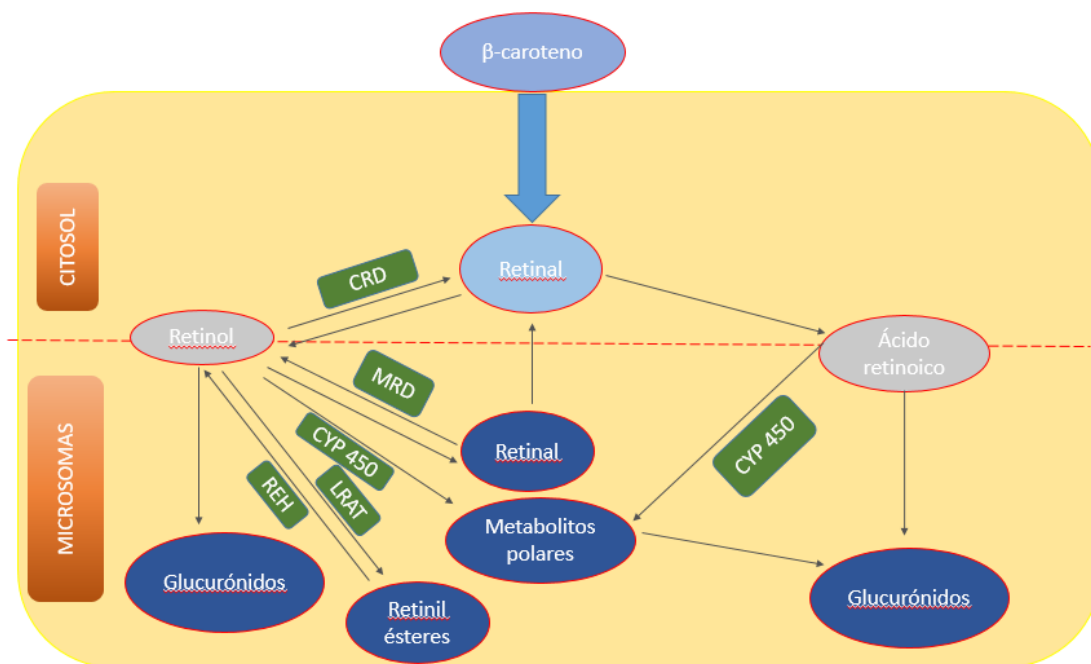


Figura 7. Sistema citosólico y microsomal en el metabolismo hepático del retinol. Modificada de⁽³⁶⁾. CRD: Retinol deshidrogenasa citosólica; MRD: Retinol deshidrogenasa microsomal; LRAT: Lecitin-retinol aciltransferasa; REH: Retinil éster hidrolasa.

Se sabe que el retinol y el etanol se metabolizan en el hígado (en hepatocitos y HSC), en vías paralelas muy parecidas y son metabolizados por enzimas comunes (ADH Y ALDH) ya que comparten el resto hidroxilo⁽¹⁴⁾. El etanol actúa como inhibidor competitivo en la oxidación del retinol por competición de sustratos, ya que altas concentraciones de etanol, inhiben la ADH (tipo I, II y IV presentes en hígado)⁽³⁷⁾ y por tanto la síntesis de ácido retinoico⁽²²⁾.

Por tanto, es posible que el consumo de alcohol induzca el metabolismo del ácido retinoico, y por ello, los niveles de vitamina A se vean disminuidos⁽³⁶⁾.

El retinol se metabolizará por la ADH a retinaldehído, y posteriormente, a partir de ALDH hasta ácido retinoico.

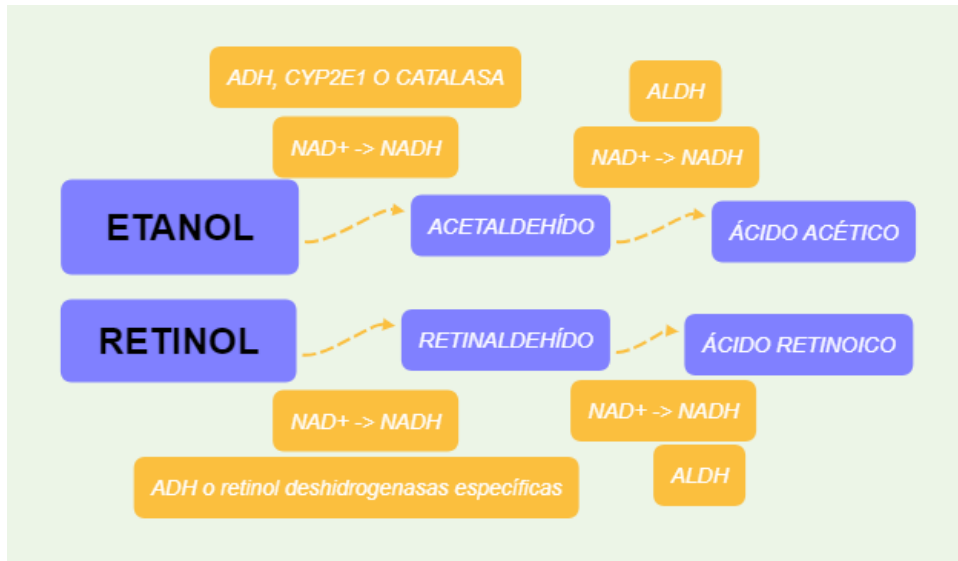


Figura 8. Ruta metabólica oxidativa. ADH: Alcohol deshidrogenasa; ALDH: Aldehído deshidrogenasa.

Teniendo en cuenta esto, se han propuesto una serie de mecanismos por los cuales los niveles de ácido retinoico pueden estar disminuidos en las personas alcohólicas:

- El alcohol altera la homeostasis de los retinoides y aumenta el metabolismo y movilización de la vitamina A del hígado a tejidos extrahepáticos. De esta forma los retinoides hepáticos se verán disminuidos, mientras que los extrahepáticos (cerebro, colon, esófago, riñón, pulmón, testículos y tráquea) se verán aumentados^(13, 38). Se observó que en ratas alimentadas con etanol, los contenidos de vitamina A aumentaron de dos a tres veces en el riñón y en el testículo y cinco veces en la mucosa esofágica, de forma que las reservas hepáticas se agotaron. Cabe destacar que también se encontraron aumentos en los niveles de retinoides en pulmones y tráquea⁽³⁶⁾.

El consumo crónico de alcohol tiene un efecto bifásico sobre la pérdida de retinoides hepáticos. En la primera fase, un 15% de los retinoides se movilizan al tejido extrahepático, participando CRBP y el cluster de diferenciación 36 (CD36), lo que produce la acumulación en estos tejidos. En una segunda fase, se produce la disminución precipitada (mayor al 60%) de retinoides en hígado, sin su posterior acumulación en

la periferia. En esta segunda fase de profundo catabolismo del hígado tiene un papel importante CYP2E1⁽²⁰⁾.

Los estudios en animales de experimentación observaron resultados similares a los humanos. Wang y colaboradores estudiaron dos grupos de ratas, control y con consumo de alcohol, y mediante HPLC midieron el ácido retinoico, el retinol y el palmitato de retinilo, y las ratas que habían recibido en su dieta dosis de etanol, tenían disminuida la concentración de ácido retinoico en hígado y plasma (también disminuyó el retinol y el palmitato de retinilo en hígado), en comparación con las ratas control. Ambos grupos partieron de la misma cantidad de Vitamina A. En cuanto a la expresión de RAR, no hubo diferencias en ambos grupos⁽¹²⁾.

- El etanol, por medio de los microsomas hepáticos, produce la inducción del citocromo P-450 2E1, de manera que dicha inducción supone que el ácido retinoico (activo) se transforme en mayor medida hasta metabolitos oxidados inactivos (RA-OH y OXO-RA)⁽³⁸⁾. Habrá mayor degradación de la vitamina A del hígado, debido al aumento del metabolismo del retinol desencadenado por el alcohol.

Asimismo, en dietas ricas en grasas poliinsaturadas junto con alcohol se propició también la inducción de citocromo P450, lo que causó mayor producción de radicales en los retículos endoplásmicos y lesión de hepatocitos inducida por etanol, de manera que esto pudo favorecer la inducción de fibrogénesis hepática⁽²⁷⁾.

El sistema microsomal, además de por etanol, también puede ser inducido por fármacos como el fenobarbital (inducción de CYP2E1). Se estudió que, en animales tratados con etanol o fenobarbital, se producía una cantidad muy grande de metabolitos polares a partir del retinol, de manera que ese catabolismo aumentado pudo ser el responsable del agotamiento hepático de vitamina A. La asociación de etanol y fenobarbital intensificó y potenció dicho agotamiento⁽³⁶⁾.

Además, el papel de CYP2E1 en el catabolismo del retinol se estudió en ratas alimentadas con etanol, donde CYP2E1 podía ser inhibido con

clormetiazol. Por tanto, se observó que el tratamiento con este tipo de inhibidores pudo proteger contra la lesión hepática^(16, 21).

- Competencia por la ADH. El consumo de etanol hace que éste junto con el retinol, compitan por la ADH para producir formas oxidadas. El etanol en grandes cantidades de alguna forma satura las ADH, actuando como inhibidor competitivo del retinol (quitándole su capacidad oxidante), de forma que se bloquea e inhibe la biosíntesis de ácido retinoico⁽²²⁾. Aun así, cabe destacar que existe mayor competencia por ALDH que por ADH.

La ADH tiene una función relevante en la formación del ácido retinoico. En el estudio de Wang (2.005), se administró una dosis de retinol a ratones mutantes nulos de ADH, y se vio que la síntesis de ácido retinoico se veía disminuida en un 82%, siendo similar a la inhibición en ratones silvestres (que si tienen ADH) tratados con etanol, donde se produjo una disminución del 87%⁽¹⁶⁾.

Se estudió también que la deficiencia en la ADH conllevaba la disminución en la utilización del retinol. Asimismo, ADH-1 es factor protector frente a la toxicidad de vitamina A, debido a la capacidad de la ADH para producir oxidación y aclaramiento de dosis agudas de retinol⁽³⁹⁾.

- Disminución de la captación de Vitamina A⁽³⁸⁾, ya que el etanol y sus metabolitos producen especies reactivas de oxígeno (ROS) debido a la inducción de CYP2E1⁽⁴⁰⁾, y causan daños en la barrera de la mucosa intestinal⁽¹¹⁾.

4.4. ALTERACIÓN DE LA HOMEOSTASIS RETINOIDE DEBIDO A LA EXPOSICIÓN PRENATAL AL ALCOHOL.

Se demostró que, en madres que habían consumido alcohol durante su embarazo, el metabolismo de varios macro y micronutrientes estaba alterado, en este caso, de vitamina A y sus derivados⁽³⁾.

Como cabe esperar, los retinoides son esenciales para el desarrollo embrionario normal de los mamíferos⁽³⁾. En la actualidad, se cree que atRA apoya la reproducción tanto en hombres, con el mantenimiento de la espermatogénesis; como en mujeres, mediante el desarrollo y el mantenimiento de la placenta; así como el desarrollo embrionario⁽⁴¹⁾. De forma que, un exceso o una deficiencia de Vitamina A durante la gestación puede llevar a defectos congénitos, que se han asociado al desarrollo del síndrome alcohólico fetal (FAS), e incluso, a la muerte del feto⁽³⁾. Se sugirió la hipótesis, según Ballard et al., que el FAS puede deberse de forma predominante a niveles deficientes de vitamina A (en zonas de pobreza como Asia y África), y nutrientes como colina y folatos que son exacerbados con etanol, y de forma secundaria a la toxicidad directa del alcohol⁽⁴²⁾. El FAS se caracteriza por disfunciones en el SNC, deterioro del crecimiento y deterioro fetal deficiente, anomalías faciales, defectos cardíacos, y deficiencia ocular y cerebral⁽³⁾.

Pero además de FAS, la exposición intrauterina al alcohol se vincula a enfermedades en la vida adulta como el cáncer, las alteraciones circadianas o a las enfermedades metabólicas como la obesidad, la diabetes y la dislipemia⁽³⁾.

Por tanto, es muy importante la correcta suplementación de nutrientes como la Vitamina A durante el embarazo, ya que esto podría reducir la severidad y prevalencia del FAS⁽⁴²⁾.

A pesar de todos los mecanismos anteriormente vistos por los que los niveles de retinoides se veían disminuidos o aumentados en función del tejido, se ha demostrado que el alcohol influye en la transcripción de genes al inducir diversos tipos de variaciones epigenéticas, de manera que pudiera ser que la transcripción de LRAT estuviera atenuada, de forma que los niveles de éster de retinilo se vieran disminuidos⁽³⁾.

4.5. HSC Y FIBROGÉNESIS.

La vitamina A se acumula entre el 70 al 90% en las HSC, las cuales, representan alrededor del 5-8% de las células hepáticas totales y son conocidas también como células de Ito, células que almacenan grasa o

lipocitos. Se almacena en forma de éster de retinilo en gotitas de lípidos citoplasmáticos en adultos sanos. Es el lugar más importante de almacenamiento de retinoides, cuantitativamente hablando⁽²¹⁾. Cuando existe insuficiencia de Vitamina A en la dieta, el éster de retinilo almacenado se hidroliza por la retinil éster hidrolasa (REH) en retinol, que se transfiere a los hepatocitos, se empaqueta con RBP4, y posteriormente, se secretará a la circulación para suplir las demandas del cuerpo⁽¹³⁾.

Estas células estrelladas tienen una importante función en la fibrogénesis hepática en personas consumidoras de alcohol, producen factor de transformación del crecimiento beta para formar matriz extracelular como el colágeno tipo I. La depleción de vitamina A en pacientes enfermos de hígado se asocia con un fracaso de las HSC⁽⁴³⁾.

En muchos estudios⁽³⁶⁾, se demostró que tanto el etanol como sus metabolitos, activan las células estrelladas hepáticas, las cuales son células de tipo fibroblástico no parenquimatosas ubicadas perisinusoidalmente en el espacio de Disse en recesos entre las células parenquimatosas⁽²¹⁾, y que justamente esa activación conlleva la posterior pérdida de retinoides⁽¹¹⁾. La disminución de los mismos se da tanto en los hepatocitos como en las HSC, es decir, tanto en células parenquimatosas como en no parenquimatosas⁽³⁶⁾.

Cuando las concentraciones de vitamina A son bajas, se pueden ver ciertas anomalías en el hígado, tales como orgánulos multivesiculares parecidos a los lisosomas, que se incrementan cuando, además de una dieta baja en vitamina A, se asocia alcohol. En principio, también se creyó que bajas concentraciones de esta vitamina hacían que apareciesen cuerpos de Mallory, pero más tarde se vio que en pacientes con niveles normales también aparecían estas estructuras, de manera que no se pudo establecer una relación causal entre las concentraciones bajas de vitamina A y la aparición de cuerpos de Mallory⁽²⁴⁾.

El acetaldehído se va acumulando ya que su paso hasta ácido acético es muy lento, de manera que sus altos niveles pueden producir mutaciones en el ADN⁽¹⁶⁾. El acetaldehído es cancerígeno y mutagénico. La formación de

aductos estables sería el mecanismo por el que el acetaldehído podría desencadenar errores en la replicación de oncogenes o genes supresores de tumores⁽³⁷⁾. Se relacionó que la ADH estaba presente en mayor número en tejidos cancerosos que en sanos, lo que conlleva que las células cancerosas tengan mayor capacidad para la oxidación del etanol pero menor capacidad para eliminar el acetaldehído.

El metabolismo de los retinoides se estudió en una línea de células estrelladas hepáticas de rata de fenotipo inmortalizado, en las que su crecimiento y características fenotípicas permanecieron inalteradas (esta línea es conocida como PAV-1)⁽³⁸⁾.

Se estudió la formación de ácido retinoico a partir del retinol, se utilizaron 3 inhibidores de la ADH citosólica: 4-metilpirazol, citral y etanol. Se detectó una disminución del 64% en células PAV-1 tratadas con retinol y 4-metilpirazol. También se detectó una disminución del 58% de

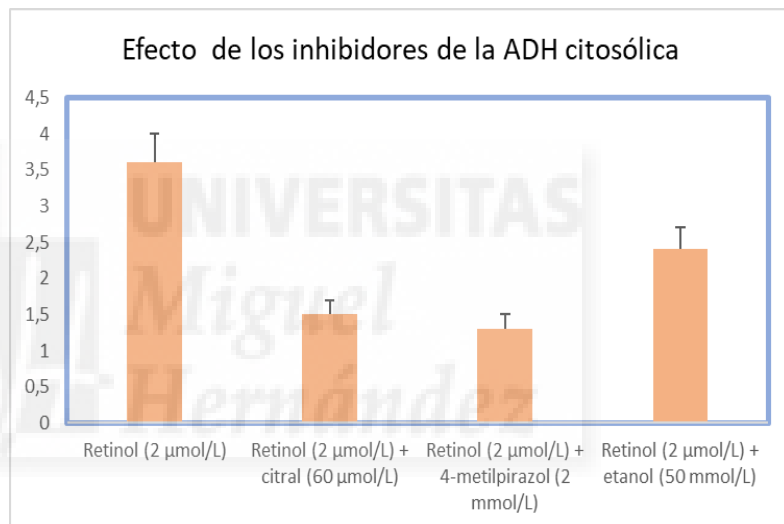


Figura 9. Inhibidores de la ADH citosólica. Citral, 4-metilpirazol y etanol alteran la producción endógena de RA a partir de retinol por las células PAV-1. Modificada de Sauvant, et al, 2.002.

ácido retinoico en células PAV-1 tratadas con citral y retinol. Las tratadas con etanol, disminuyeron sus niveles de ácido retinoico en un 33%⁽³⁸⁾.

La utilización de las células PAV-1 permitió estudiar el metabolismo de los retinoides y solventar el problema de los cultivos de células hepáticas de rata, que a pesar de ser muy reproducibles y cercanos a su fisiología, tenían bajo rendimiento y falta de heterogeneidad entre los preparados⁽³⁸⁾.

Tras la lesión hepática, se produce la activación de las HSC. Dicha activación es estimulada por la activación de las células de Kupffer que secretan

numerosas citoquinas⁽³⁸⁾, y también indirectamente por parte de los hepatocitos, además, éstas células pueden estimularse a su vez por las grasas poliinsaturadas. La estimulación de la fibrogénesis puede conducir a la síntesis de matriz extracelular aberrante y con ello a la fibrosis del hígado. Las HSC harán transición desde células quiescentes que almacenan vitamina A, hasta un fenotipo activado llamado miofibroblasto, perderán sus reservas de retinoides y aumentarán la proliferación de proteínas de la matriz extracelular⁽²¹⁾.

Pero además de la relación de las HSC con los retinoides, también están implicadas las células del parénquima (hepatocitos), mientras que los hepatocitos representan un 67% de las células del hígado, las HSC representan en torno a un 8%. Y tienen diferentes funciones: los hepatocitos participan en la captación y el procesamiento del retinol de la dieta, así como en la secreción con RBP4, y las HSC desempeñan su papel como almacén de retinoides en forma de ésteres de retinilo⁽²¹⁾.

Se postula que hay dos hipótesis principales para relacionar la disminución de retinoides en las HSC debido al consumo de alcohol y el desarrollo de la enfermedad hepática⁽¹³⁾.

- La insuficiencia de retinoides. El hígado es más susceptible a lesiones hepáticas, siendo más fácil desarrollar enfermedades del hígado cuando las reservas de retinoides están disminuidas o son ausentes. Por tanto, unos niveles de retinoides normales apuntarían a un posible factor protector respecto a la enfermedad⁽¹³⁾.

Asimismo, se pudo ver ese factor protector por parte de los retinoides en un estudio en el cual, el tratamiento (pre y post cirugía) con atRA junto con la extirpación del tumor primario, daba lugar a la disminución de la capacidad de producción de rhabdomyosarcomas en ratas. De manera que los retinoides mostraron capacidad de control de tumores sólidos, evitando su diseminación y también evitando recidivas⁽⁴⁴⁾.

- Explosión tóxica. Los ésteres de retinilo presentes en las células de Ito se hidrolizan, lo que supone una reducción drástica de las reservas en

dichas células. Como consecuencia, se moviliza el retinol desde el hígado hasta tejidos extrahepáticos, donde dicha acumulación podría llegar a ser tóxica. Sin embargo, los consumos crónicos de alcohol suponen la reducción de los niveles de retinoides en la circulación y en el hígado⁽¹³⁾.

4.6. ¿EFECTO DIRECTO O INDIRECTO?

Se ha descrito una alteración en el metabolismo de los retinoides y la presencia de ciertas enfermedades del hígado, debidas al consumo de alcohol, la cuestión sin resolver es si las alteraciones en el sistema retinoide contribuyen directa y principalmente a la lesión hepática, es decir, a la patogénesis del hígado, o si son otras las modificaciones (genéticas, enzimáticas...) principalmente las que llevan al deterioro del sistema retinoide (secundario) y con ello a la lesión del hígado (Figura 10). Por tanto, ¿se trata de un efecto directo, donde la alteración en los retinoides lleva a la lesión (Hipótesis 1) o son otras alteraciones las que llevan a la enfermedad hepática (Hipótesis 2)?

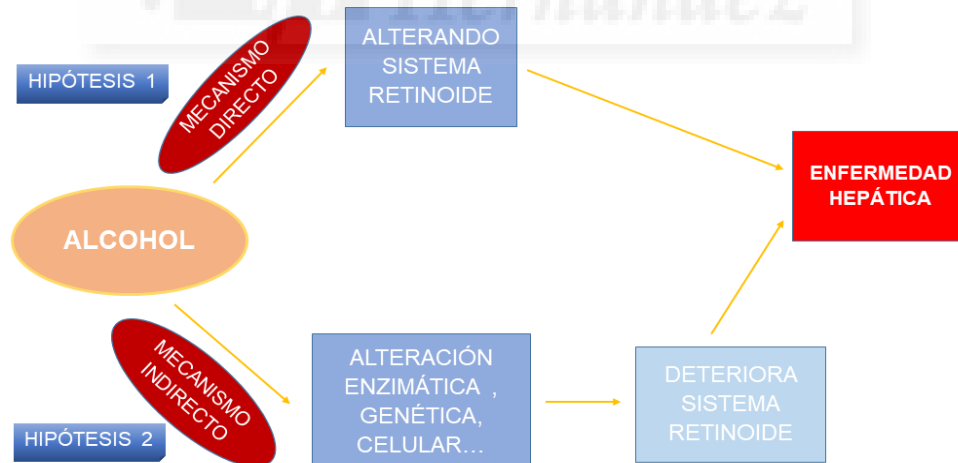


Figura 10. Esquema con las dos principales hipótesis planteadas.

- A favor de la Hipótesis 1.

La administración de etanol en dietas con ingesta de vitamina A normal o incluso enriquecida resultó en una depresión de la vitamina A en el hígado, cosa que no podría atribuirse a una ingesta insuficiente de vitamina A o malabsorción⁽³⁶⁾.

También algunas investigaciones demostraron que hay cambios significativos en la homeostasis del retinoide hepático que se producen antes del inicio de la lesión hepática inducida por el alcohol y son consistentes con la hipótesis de que el impacto del alcohol en la homeostasis y la señalización del retinoide (RXR y RAR pierden expresión debido a la disminución de retinoides, y se ve reducida la transducción de la señal) contribuyen al desarrollo de enfermedades⁽²⁰⁾.

Según Napoli (2011), concentraciones anormales de atRA pudieron contribuir a la toxicidad del alcohol⁽⁷⁾.

Además, el ácido retinoico tiene un papel importante en el control y la regulación de la inmunidad innata antiviral intracelular en los hepatocitos. La vía ADH-ALDH actúa como potente factor antiviral y regula la expresión de genes estimulados por interferón, de forma que los niveles intracelulares de ácido retinoico influyen sobre la expresión de los genes estimulados por interferón. El consumo de alcohol atenúa la vía ADH-ALDH, de modo que la competencia entre etanol y retinol puede ser uno de los mecanismos en la progresión de enfermedades del hígado⁽⁴⁵⁾.

- A favor de la Hipótesis 2.

La ingesta de alcohol de forma crónica, producirá ciertos cambios a nivel celular, molecular, enzimático, genético... estas modificaciones van a ser la primera causa de lesión hepática y secundariamente y de forma paralela, conforme progresa la lesión hepática, se producirá la alteración del sistema retinoide.

La activación de las HSC, inducidas por una lesión en el hígado (fibrosis, cirrosis, carcinogénesis hepatocelular), condujo a una descomposición de

gotitas de lípidos que contenían retinoides. Dicha descomposición llevó a una redistribución y formación de especies de lípidos bioactivos que sirvieron como mediadores lipídicos de señalización dentro del hígado en la enfermedad hepática⁽⁴⁶⁾.

Es posible que los retinoides presenten un papel protector, y su disminución o ausencia facilite el desarrollo de la enfermedad hepática, o que la disregulación del sistema retinoide induzca a daño.

5. Conclusiones

1. El etanol causa una disminución de la biosíntesis de ácido retinoico por la saturación de las ADHs.
2. El etanol induce el CYP2E1 lo que causa un aumento del catabolismo de los precursores del ácido retinoico generando metabolitos oxidados inactivos.
3. Como consecuencia, la disminución de ácido retinoico conducirá a una menor activación del heterodímero RAR-RXR, y, por tanto, a una disminución en la transducción de la señal a nivel de RNAm conforme se desarrolle la enfermedad hepática.

6. Referencias

1. Medline Plus: Vitamina A [Internet]. 03/04/2019 [cited 03/04/2019]. Available from: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/002400.htm>.
2. Hendriks HFJ, Bosma A, Brouwer A. Fat-storing cells - hypervitaminosis-A and hypovitaminosis-A and the relationships with liver fibrosis. *Seminars in liver disease*. 1993;13(1):72-80.
3. Kim YK, Zuccaro MV, Zhang CQ, Sarkar D, Quadro L. Alcohol exposure in utero perturbs retinoid homeostasis in adult rats. *Hepatobiliary surgery and nutrition*. 2015;4(4):268-77.

4. PubChem [Internet]. 2004 [cited 16/05/2019]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
5. Barua AB, Furr HC. Properties of retinoids - Structure, handling, and preparation. *Molecular biotechnology*. 1998;10(2):167-82.
6. Britannica E. Vitamin A: Chemical compound [Available from: <https://www.britannica.com/science/vitamin-A>].
7. Napoli JL. Effects of ethanol on physiological retinoic acid levels. *Iubmb Life*. 2011;63(9):701-6.
8. Seitz HK. Alcohol and retinoid metabolism. *Gut*. 2000;47(6):748-50.
9. Adachi S, Moriwaki H, Muto Y, Yamada Y, Fukutomi Y, Shimazaki M, et al. Reduced retinoid content in hepatocellular-carcinoma with special reference to alcohol-consumption. *Hepatology*. 1991;14(5):776-80.
10. Pérez Carreras M, Castellano G. Hígado y alcohol. Servicio de aparato digestivo. Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.
11. Wang JH, Batey RG, George J. Role of ethanol in the regulation of hepatic stellate cell function. *World Journal of Gastroenterology*. 2006;12(43):6926-32.
12. Wang XD, Liu C, Chung JY, Stickel F, Seitz HK, Russell RM. Chronic alcohol intake reduces retinoic acid concentration and enhances AP-1 (c-Jun and c-Fos) expression in rat liver. *Hepatology*. 1998;28(3):744-50.
13. Clugston RD, Blaner WS. The adverse effects of alcohol on vitamin A metabolism. *Nutrients*. 2012;4(5):356-71.
14. Gyamfi MA, Wan Y-JY. Pathogenesis of alcoholic liver disease: the role of nuclear receptors. *Experimental Biology and Medicine*. 2010;235(5):547-60.
15. Wood AM, Kaptoge S, Butterworth AS, Willeit P, Warnakula S, Bolton T, et al. Risk thresholds for alcohol consumption: combined analysis of individual-participant data for 599 912 current drinkers in 83 prospective studies. *Lancet*. 2018;391(10129):1513-23.
16. Wang XD. Alcohol, vitamin A, and cancer. *Alcohol*. 2005;35(3):251-8.
17. Al Mahtab M. Liver: A complete book on hepato-pancreato-biliary diseases. E-Book: Elsevier; 2009.
18. Klaassen CD, Watkins III JB. Casarett y Doull. Fundamentos de toxicología. 2005.

19. Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ. Sleisenger y Fordtran. Enfermedades digestivas y hepáticas. Fisiopatología, diagnóstico y tratamiento.: Elsevier; 2016. Available from: books.google.es.
20. Clugston RD, Huang L-S, Blaner WS. Chronic alcohol consumption has a biphasic effect on hepatic retinoid loss. *Faseb Journal*. 2015;29(9):3654-67.
21. Shirakami Y, Lee S-A, Clugston RD, Blaner WS. Hepatic metabolism of retinoids and disease associations. *Biochimica et biophysica acta-molecular and cell biology of lipids*. 2012;1821(1):124-36.
22. Wang XD. Chronic alcohol intake interferes with retinoid metabolism and signaling. *Nutrition reviews*. 1999;57(2):51-9.
23. Manley S, Ding W. Role of farnesoid X receptor and bile acids in alcoholic liver disease. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2015;5(2):158-67.
24. Leo MA, Lieber CS. Alcohol, vitamin A, and beta-carotene: adverse interactions, including hepatotoxicity and carcinogenicity. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1999;69(6):1071-85.
25. The neurotoxic effects of vitamin A and retinoids [Internet]. 2015 [cited 03/04/2019]. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652015000301361.
26. Consejo general de colegios oficiales de farmacéuticos. Bot Plus Web. Portalfarma [Available from: <https://botplusweb.portalfarma.com/botplus.aspx>].
27. Cuervo M, Corbalan M, Baladia E, Cabrerizo L, Formiguera X, Iglesias C, et al. Comparison of dietary reference intakes (dri) between different countries of the European Union, the United States and the World Health Organization. *Nutricion hospitalaria*. 2009;24(4):384-414.
28. Tsukamoto H, Cheng S, Blaner WS. Effects of dietary polyunsaturated fat on ethanol-induced Ito cell activation. *American journal of physiology-gastrointestinal and liver physiology*. 1996;270(4):G581-G6.
29. Nishimura N, Kaji K, Kitade M, Aihara Y, Sato S, Seki K, et al. Acyclic retinoid and angiotensin-II receptor blocker exert a combined protective effect against diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in diabetic OLETF rats. *Bmc Cancer*. 2018;18.

30. Shao RX, Otsuka M, Kato N, Taniguchi H, Hoshida Y, Moriyama M, et al. Acyclic retinoid inhibits human hepatoma cell growth by suppressing fibroblast growth factor-mediated signaling pathways. *Gastroenterology*. 2005;128(1):86-95.
31. Takami T, Yamasaki T, Saeki I, Matsumoto T, Suehiro Y, Sakaida I. Supportive therapies for prevention of hepatocellular carcinoma recurrence and preservation of liver function. *World Journal of Gastroenterology*. 2016;22(32):7252-63.
32. OCDE. Detailed review paper on the state of the science on novel in vitro and in vivo screening and testing methods and endpoints for evaluating endocrine disruptors [Internet]. 2012. Available from: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/cote=en/nv/jm/mono\(2012\)23&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/cote=en/nv/jm/mono(2012)23&doclanguage=en)
33. OCDE. Revised guidance document 150 on standardised test guidelines for evaluating chemicals for endocrine disruption [Internet]. 2018. Available from: https://www.oecd-ilibrary.org/fr/environment/guidance-document-on-standardised-test-guidelines-for-evaluating-chemicals-for-endocrine-disruption-2nd-edition_9789264304741-en.
34. Shen Z, Liang X, Rogers CQ, Rideout D, You M. Involvement of adiponectin-SIRT1-AMPK signaling in the protective action of rosiglitazone against alcoholic fatty liver in mice. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2010;298(3):G364-G74.
35. Blaner WS, Gao MA, Jiang H, Dalmer TRA, Hu XJ, Ginsberg HN, et al. Chronic alcohol consumption decreases brown adipose tissue mass and disrupts thermoregulation: a possible role for altered retinoid signaling. *Scientific Reports*. 2017;7.
36. Lieber CS. Alcohol, liver, and nutrition. *Journal of the American College of Nutrition*. 1991;10(6):602-32.
37. Jelski W, Szmitkowski M. Alcohol dehydrogenase (ADH) and aldehyde dehydrogenase (ALDH) in the cancer diseases. *Clinica Chimica Acta*. 2008;395(1-2):1-5.

38. Sauvant P, Sapin V, Abergel A, Schmidt CK, Blanchon L, Alexandre-Gouabau MC, et al. PAV-1, a new rat hepatic stellate cell line converts retinol into retinoic acid, a process altered by ethanol. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2002;34(8):1017-29.
39. Molotkov A, Fan XH, Duester G. Excessive vitamin A toxicity in mice genetically deficient in either alcohol dehydrogenase Adh1 or Adh3. *European Journal of Biochemistry*. 2002;269(10):2607-12.
40. Sidharthan S, Kottilil S. Mechanisms of alcohol-induced hepatocellular carcinoma. *Hepatology International*. 2014;8:S452-S7.
41. Clagett-Dame M, Knutson D. Vitamin A in reproduction and development. *Nutrients*. 2011;3(4):385-428.
42. Ballard MS, Sun MX, Ko JN. Vitamin A, folate, and choline as a possible preventive intervention to fetal alcohol syndrome. *Medical Hypotheses*. 2012;78(4):489-93.
43. Crabb DW, Pinairs J, Hasanadka R, Fang M, Leo MA, Lieber CS, et al. Alcohol and retinoids. *Alcoholism-clinical and experimental research*. 2001;25(5):207S-17S.
44. Garcia-Alonso I, Palomares T, Alonso-Varona A, Castro B, del Olmo M, Portugal V, et al. Effects of all-trans retinoic acid on tumor recurrence and metastasis. *Revista española de enfermedades digestivas*. 2005;97(4):240-4.
45. Cho NE, Bang B-R, Gurung P, Li M, Clemens DL, Underhill TM, et al. Retinoid regulation of antiviral innate immunity in hepatocytes. *Hepatology*. 2016;63(6):1783-95.
46. Shmarakov IO, Jiang H, Liu J, Fernandez EJ, Blaner WS. Hepatic stellate cell activation: A source for bioactive lipids. *Biochimica et biophysica acta Molecular and cell biology of lipids*. 2019;1864(5):629-42.