

Fibrogénesis hepática

Hepatic fibrogenesis

David B. Páramo Hernández, MD,¹ William Otero Regino, MD,² Luis F. Pineda Ovalle, MD.³

¹ Profesor Clínico Gastroenterología Hospital Santa Clara, Clínica Universitaria, Universidad de La Sabana, Bogotá, Colombia.

² Profesor Asociado de Medicina, Unidad de Gastroenterología, Universidad Nacional de Colombia, Gastroenterólogo Clínica Fundadores, Hospital El Tunal, Bogotá, Colombia.

³ Gastroenterólogo, Centro de Enfermedades Digestivas, Hospital de Engativá, Bogotá Colombia.

Fecha recibido: 04-03-10
Fecha aceptado: 26-05-10

Resumen

Los progresos alcanzados en el tratamiento de las enfermedades hepáticas crónicas han generado también un aumento del interés por aclarar los mecanismos que subyacen en el desarrollo de fibrosis hepática. Luego de una injuria hepática la activación de la células estrelladas hepáticas (CEH), y su conversión a células contráctiles, proliferativas y fibrogénicas responsables de la producción de las principales proteínas de la matriz extracelular (MEC), son el foco actual de la investigación pero es aún más atrayente la perspectiva de la reversión de la fibrosis hepática con la intención de encontrar nuevas terapias antifibróticas, el artículo revisa estos aspectos y finaliza con una mirada al estado actual de dichos ensayos clínicos en humanos.

Palabras clave

Cirrosis, célula estrellada, fibrosis, matriz.

Abstract

Progress achieved in chronic liver disease treatment has also generated increased interest in clarifying the mechanisms underlying the development of hepatic fibrosis. After a liver injury activation of hepatic stellate cells (HSC) and their conversion to contractile, proliferative and fibrogenic cells responsible for the production of major extracellular matrix proteins (MEC) are the current focuses of investigation. However, the prospect of reversing hepatic fibrosis through the discovery of new antifibrotic therapies is even more attractive to researchers. This paper reviews these developments and ends with a view of the current state of human clinical trials.

Keywords

Cirrhosis, stellate cells, fibrosis, matrix

En los últimos años se ha generado un gran interés por la posibilidad de obtener regresión de la fibrosis hepática, teniendo en cuenta los resultados logrados con el tratamiento de la hepatitis crónica por virus C (1). Sin embargo, en la actualidad hay controversia sobre el significado de los términos reversión y regresión de la fibrosis/cirrosis hepática (1, 2). Reversión de la cirrosis implica restauración completa de la arquitectura hepática hasta la normalidad, con desaparición de la misma; en cambio, la regresión consiste en “mejoría” de la fibrosis/cirrosis a grados menores que los encontrados inicialmente, lle-

gando en algunos casos a la normalidad (1). La posibilidad de detener o desaparecer la fibrosis/cirrosis, constituye un importante foco de investigación de las últimas décadas que desafía la concepción “antigua” sobre la irreversibilidad de la fibrosis hepática, considerada una alteración unidireccional sin posibilidades de devolverse (1, 2). Sin embargo, se ha demostrado regresión de la fibrosis y de la cirrosis en diversas enfermedades hepáticas crónicas (1-3), planteando que en hepatitis C, el objetivo del tratamiento debería ser la regresión de la cirrosis y no la respuesta viral sostenida.

PROCESO DE LA FIBROGÉNESIS HEPÁTICA

La fibrosis hepática es considerada una respuesta para la cicatrización, que tiene el propósito de limitar el daño tisular producido por lesiones hepáticas crónicas independientemente de la etiología (1, 4) pero cuando el insulto es persistente, este proceso de cicatrización puede producir alteración de la arquitectura hepática por la aparición de cirrosis, la cual se caracteriza por bandas de fibrosis, nódulos parenquimatosos de regeneración y distorsión vascular (3-5). La composición de la cicatriz fibrosa hepática es similar, independientemente de la causa de la lesión, bien sea de origen viral (virus de la hepatitis B (VHB) o C (VHC), drogas, alcohol, enfermedades autoinmunes o metabólicas (hemocromatosis, Wilson, etc.) (3-5). La fibrosis ocurre en los sitios de mayor lesión y usualmente requiere que el estímulo dañino persista durante muchos meses o años (7, 8). Si bien este proceso clásicamente se había considerado irreversible (6), la evidencia clínica y experimental sugiere todo lo contrario (4, 7, 8). La revisión de muestras histológicas de pacientes con enfermedades hepáticas crónicas de diversas etiologías tratadas exitosamente con sus respectivas terapias, y también muestras de modelos animales de fibrosis, indican que la fibrosis es un proceso dinámico bidireccional en el cual puede ocurrir recuperación y remodelación del tejido cicatricial, fundamentalmente en las etapas iniciales (7, 8). Sin embargo, todavía se desconoce el punto a partir del cual la cirrosis no regresa o es irreversible (1-3). Para que se inicie la fibrosis se requieren algunos elementos que se derivan de la lesión de los hepatocitos y no necesariamente de la presencia de células inflamatorias, como ha sido demostrado en la hemocromatosis por ejemplo, en la cual no hay células inflamatorias (8, 9).

Histológicamente el hígado está integrado por células parenquimatosas (hepatocitos) y células no parenquimatosas (2, 3). Los hepatocitos representan el 80% del volumen hepático y las células no parenquimatosas el 6,5% del total del hígado y el 40% de estas últimas se encuentra en los sinusoides hepáticos, en los cuales hay tres tipos de células: las células endoteliales, las células de Kupffer (CK) y las células estrelladas hepáticas (CEH) (3). En el hígado de rata, se ha calculado que hay 109 CEHs por cada 1.000 hepatocitos (10). Las CEHs son células perisinusoidales ubicadas en el espacio subendotelial del espacio de Disse, que en su estado quiescente tienen como función principal servir como depósito de retinoides (vitamina A y sus metabolitos) (8-10). Sin embargo, ante estímulos agresivos como virus, alcohol o cualquier xenobiótico, mediante el proceso de "activación", estas células se transforman en otras totalmente distintas, morfológicamente similares a los miofibroblastos pero con múltiples funciones adicionales como la producción de la matriz extracelular (MEC) (7, 8)

y de citoquinas proinflamatorias (9). Este miofibroblasto se caracteriza por su proliferación, la actividad contráctil y la fibrogénesis. Las CEHs inicialmente conocidas como lipocitos, arancocitos, células almacenadoras de lípidos o células de Ito, fueron identificadas en los 90 como una importante fuente de colágeno dentro del hígado y, a partir de ese conocimiento, la fibrosis hepática comenzó a recibir mayor atención (8, 13). Estas células están en contacto físico con los hepatocitos y con las células endoteliales de los sinusoides hepáticos con sus prolongaciones citoplasmáticas. Se estima que el 85% del contenido de vitamina A en el hígado está en las CEHs (13, 14).

Actualmente hay consenso en que la activación de las CEHs es el eje central de la fibrogénesis hepática, y además de su capacidad para producir fibrosis, estas células también se comportan como células presentadores de antígenos (APC) y células progenitoras capaces de diferenciarse en células endoteliales y en hepatocitos, lo cual destaca su gran funcionalidad y su importante papel en la regeneración del hígado (7). Y también hay consenso en que, además de las CEHs, hay otras fuentes celulares de miofibroblastos que contribuyen a la fibrogénesis hepática, entre las cuales, las más estudiadas son las células progenitoras de la médula ósea, fibroblastos portales y las células mesenquimales transicionales provenientes de hepatocitos y colangiocitos (7, 8, 12).

Los mecanismos de activación de las CEHs que producen la transformación de su estado quiescente a miofibroblastos son complejos y diversos, como también lo son las acciones de los diferentes tipos celulares que influyen sobre las CEHs (13, 14), las cuales se describirán a continuación.

PAPEL DE LOS DIFERENTES TIPOS CELULARES

La activación de las CEHs puede ser el resultado de la interacción de los diferentes tipos celulares hepáticos: los macrófagos activados (células de Kupffer), los hepatocitos dañados o lesionados, las plaquetas y las células endoteliales, con la consiguiente producción y liberación de diferentes citoquinas y radicales libres de oxígeno (RLO) que juntos van a estimular y activar a las CEHs (13, 14). Se ha propuesto, en la activación, un "mecanismo de cascada" que involucra en diferentes fases estas células: preinflamatoria, inflamatoria y postinflamatoria (7). La influencia de estos tipos de células en la fibrogénesis se describe a continuación (figura 1).

CÉLULAS DE KUPFFER

Estas células son macrófagos cuya actividad fundamental es eliminar y detoxificar agentes exógenos y endógenos particularmente endotoxinas bacterianas provenientes del intestino como el LPS, lipopolisacárido bacteriano,

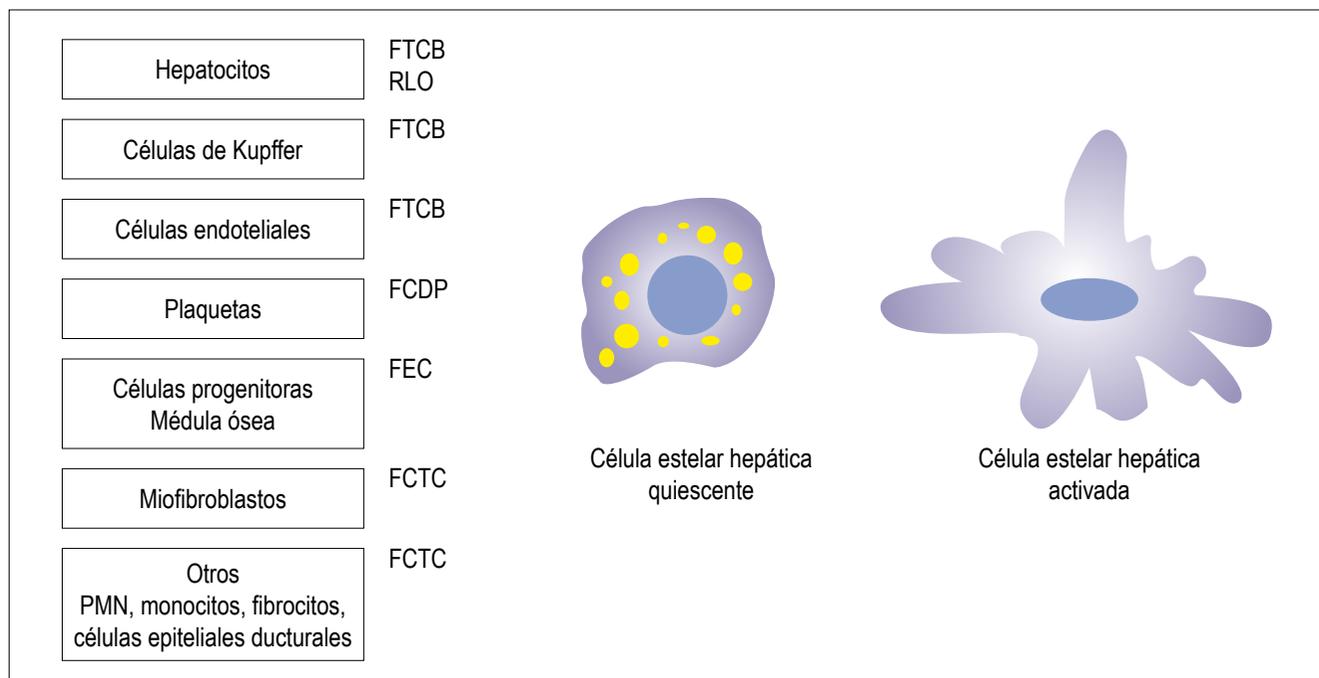


Figura 1. Diferentes tipos celulares que participan en la activación de la CEHs, y algunos mediadores: FCT B: Factor de crecimiento beta; RLO: Radicales libres de oxígeno; FCDP: Factor de crecimiento derivado de las plaquetas; FEC: Factor estimulante de colonias; FCTC: Factor de crecimiento del tejido conectivo.

potente inductor de inflamación (9). La respuesta de las células de Kupffer a un estímulo lesivo provoca al activación de las CEHs induciendo la actividad mitótica de las mismas e importantes efectos adicionales tales como: transformación fenotípica de la CEHs a miofibroblasto con incremento de la síntesis de proteínas, de elastina y del colágeno, estimulación de su proliferación, incremento de la respuesta al factor de crecimiento derivado de las plaquetas (FCDP) (9, 13-15).

MIOFIBROBLASTOS

Las CEHs activadas participan en la activación de otras CEHs, por mecanismos de tipo autocrino y paracrino, a través de citoquinas y de factores de crecimiento, los cuales van a generar la expresión diferencial de las proteínas de la MEC, siendo los mejor estudiados el factor de crecimiento transformante B (FTG. B1) y el factor de crecimiento transformante A (TGF-a), que son proteínas altamente fibrogénicas, al igual que el Factor del crecimiento del tejido conectivo (FCTC) (7).

HEPATOCITOS

Las CEHs y los hepatocitos se encuentran muy cercanos entre sí y por lo tanto tienen un permanente contacto,

tanto directamente a través de sus respectivas membranas celulares como por mediadores solubles que pueden generar la activación de las CEHs (7, 8). La exposición de los hepatocitos a agentes citotóxicos hace que liberen sustancias con actividad mitogénica similar al FCDP y también puede favorecer la inducción de colágeno tipo I, como en el caso del acetaldehído (7). La destrucción parcial de los hepatocitos y la apoptosis de los mismos, también son mecanismos que participan en la activación de las CEH (13, 14).

PLAQUETAS

Por su presencia en áreas de inflamación y de necrosis son una importante fuente de citoquinas proinflamatorias y profibrogénicas tales como el FCT B y el FCDP, los cuales promueven el crecimiento transformación y síntesis de la MEC (15).

CÉLULAS PROGENITORAS DE LA MÉDULA ÓSEA

Las células progenitoras de la médula ósea tienen la posibilidad de diferenciarse en hepatocitos, colangiocitos o células endoteliales sinusoidales o células de Kupffer y también a CEHs o miofibroblastos en un microambiente adecuado (7). Hay una subpoblación de leucocitos circulantes con

fenotipo CD45+ de origen hematopoyético CD34+ con capacidad de inducir síntesis de matriz (7, 9).

CÉLULAS SANGUÍNEAS PERIFÉRICAS

Hay evidencias que sugieren que una subpoblación de monocitos pueden diferenciarse a hepatocitos o a fibroci- tos bajo estímulos de interleuquinas específicas o de facto- res estimulantes de colonias (M-CSF) (7, 9).

TRANSICIÓN EPITELIAL - MESENQUIMAL (TEM) L

Las CEHs provienen del septum transversum del mesén- quima, del endodermo o de la cápsula mesotelial del hígado pero, frente a una reacción fibrótica por un daño hepático se ha propuesto también un mecanismo adicional para la generación de fibroblastos a través de la transdiferenciación de células epiteliales a fibroblastos (4, 8). Esto ocurre en el caso de hepatocitos que luego de la TEM pueden expresar síntesis de colágeno tipo I o los colangiocitos del epitelio que luego son capaces de expresar ESP1 y vimentina como marcadores tempranos de fibroblastos. De esta manera, la consecuencia directa es la ductopenia y la fibrosis portal, por aumento del pool de fibroblastos. Este parece ser uno de los más importantes mecanismos patogénicos de las enfermedades colestáticas crónicas como la cirrosis biliar primaria (7, 9, 19).

Los inductores moleculares de la TEM son: TGF- β , el factor de crecimiento epidermoide (FCE), el factor del crecimiento tipo insulina like (FCIL), el factor de creci- miento de los fibroblastos (FCF-2), los cuales promueven la programación fenotípica y genotípica de las células epi- teliales a células mesenquimales. Sin embargo, el prototipo del más poderoso de los inductores de TEM es el TGF- β el cual promueve EMT por activación de la fosforilación de la Smad 2/3, o inhibición del Smad 4 silenciándolo a través del si RNA (6, 8).

La actividad del TGF- β , se expresa también a través de la producción del Factor del crecimiento del tejido conectivo (FCTC), potente inductor de MEC y de proliferación de fibroblastos, siendo utilizado en la actualidad como mar- cador de fibrosis hepática (7). Solo los hepatocitos que resisten a la apoptosis inducida por la misma citoquina son inducidos a la TEM (4, 5). El mecanismo inverso de transi- ción mesenquimal a epitelial verificado en el hueso o en los vasos sanguíneos aún no ha sido establecido en el hígado (7).

FASES DE LA FIBROGÉNESIS

Friedman describe el proceso de fibrogénesis en 3 fases: iniciación, perpetuación y resolución (8).

Iniciación (7-9)

Se refiere a los cambios primarios fenotípicos de las CEHs los cuales brindan una mayor capacidad de respuesta a los factores de crecimiento y finalmente a un incremento de la síntesis de moléculas de MEC. Los cambios iniciales son de tipo paracrino, provenientes de los diferentes tipos celulares ya mencionados: hepatocito, células de Kupffer, leucocitos, células endoteliales sinusoidales, a través de las múltiples moléculas y citoquinas ya descritas.

Perpetuación

Involucra al menos siete cambios en el comportamiento celular que comprenden: proliferación, quimiotaxis, pér- dida de los retinoides, liberación de citocinas, contractili- dad, fibrogénesis y degradación de la matriz extracelular.

Proliferación

Es el resultado del efecto del incremento de la secreción de factores de crecimiento y citoquinas con poder mitogénico. El FCDP es el más potente mitogénico caracterizado para las CEH (11, 15). La inducción de los receptores ocurre de manera muy temprana, en la activación. Otros factores con actividad mitogénica sobre las CEHs son el factor de creci- miento vascular endotelial, la trombina y sus receptores, el FCT-A, etc. (8).

Quimiotaxis

La migración de las CEHs a los sitios de lesión hepatoce- lular se debe a la actividad de varias sustancias quimioatra- yentes, tales como el FCDP y otros conocidos el MCP-1, y CXCR3 (12).

Pérdida de los retinoides

La activación de las CEHs, se acompaña de pérdida de los acúmulos de retinoides perinucleares (7, 8). Las CEHs son el depósito del 80% del total de la vitamina A corporal en forma de ésteres de retinol y especialmente como retinol libre, en gotas lipídicas y han sido reconocidas como células de depósito de grasa. La composición de las gotas es afec- tada por la dieta y también contienen triglicéridos, fosfolí- pidos, colesterol y ácidos grasos libres. Su comportamiento con respecto a estos rasgos adipogénicos tiene múltiples evidencias y paralelos con los adipocitos, pues han sido caracterizados en ella los efectos de la leptina, adiponec- tina y el PPAR (γ) como también los efectos antia- dipogénicos del FNT alfa y el Wnt (8, 16-18). El cambio morfológico de la pérdida de los retinoides es una condi- ción necesaria para la modificación del citoesqueleto de las CEHs activadas y los eventos posteriores, pero aún no son claros los mecanismos intracelulares que lo permiten y los

efectos de los retinoides sobre las CEHs y la fibrogénesis son contradictorios (12, 14, 17).

Fibrogénesis (7, 8, 13)

Las CEHs generan fibrosis no solo por el incremento de células, sino también por el de la producción de la matriz extracelular. El colágeno tipo I es el prototipo constituyente de la matriz de tipo fibrilar en el hígado fibrótico, su expresión está regulada por mecanismos transcripcionales y post-transcripcionales. El más potente estímulo para aumentar la producción de colágeno tipo I es el TGF- β 1, derivado de fuentes paracrinas y autocrinas, que permanece como la citoquina fibrogénica clásica. Sus señales convergen sobre las proteínas Smad 2 y 3, mientras que la Smad 7 es inhibitoria. Otra vía mediante la cual el TGF- β 1 estimula la síntesis de colágeno es a través de un peróxido de hidrógeno y un mecanismo dependiente del C/EBP β (7, 8, 13).

Otra señal fibrogénica potente, ya mencionada para las CEH es el Factor del crecimiento del tejido conectivo FCTC/CCN2, el cual es regulado por condiciones como la hiperglicemia y el hiperinsulinismo, pero se ha apreciado que su regulación también es dependiente del TGF- β 1 hepatocitario (19).

En cuanto a los efectos fibrogénicos neurohumorales, recientemente los cannabinoides han emergido como mediadores de la esteatosis hepática y de la activación de las CEH, así como alteraciones de la hemodinamia hepática en enfermedad avanzada. Se han establecido 2 receptores CB1 y CB2 que ejercen efectos opuestos, el CB1 fibrogénico y el CB2 antifibrótico, las cuales son estrategias de carácter terapéutico actualmente promisorias en estudio (20).

La fibrosis es caracterizada por varios pasos que conducen al incremento de la matriz extracelular (MEC) e incluye diferentes proteínas como la elastina y colágenos de tipo fibrilar (I, III, V), no fibrilar (IV y VI), gliconjugados como los proteoglicanos sulfatados y las glicoproteínas estructurales y los glicosaminoglicanos como el hialuronato. La distribución inicial de estos depósitos de matriz ocurre en el área subendotelial del espacio de Disse lo cual constituye casi una membrana basal que genera una barrera adicional en la difusión entre los hepatocitos y los sinusoides; el aumento del depósito de matriz produce entonces la oclusión y desaparición de las fenestras de las células endoteliales, fenómeno que se ha conocido como la “capilarización de los sinusoides” (7, 8, 13). El proceso de cambios estructurales de la matriz, su depósito, y la formación final de septos fibrosos grandes es un proceso activo, que toma largo tiempo y está notablemente influenciado por la actividad de las CEH, fibroblastos periportales y peribiliares, múltiples factores de crecimiento y angiogénicos y, desde luego, de la injuria, el tipo y persistencia o no de la misma,

como también de la capacidad de degradación de la matriz, como se analizará adelante (4, 18, 20, 21).

Contractilidad

Esta característica de la CEH es un factor muy importante en los aumentos de la resistencia portal, tanto en fases tempranas como tardías de la fibrosis hepática, siendo presumiblemente reversible antes del engrosamiento de los septos (22, 23). En estadios tempranos de fibrosis, las CEH activadas rápidamente muestran un fenotipo parecido al de células musculares lisas, caracterizado por un incremento de filamentos contráctiles que incluyen la actina alfa del músculo liso y miosina, lo cual genera fuerzas dependientes o independientes de calcio (8, 13). La adquisición de este fenotipo contráctil de las CEH es mediada en parte por receptores que interactúan con la matriz extracelular y que conducen señales de calcio. La endotelina 1 es el principal agonista que controla la contractilidad en las CEH además de una larga lista de otros mediadores que incluyen angiotensina II, vasopresina, eicosanoides, trombina, agonistas alfa adrenérgicos, entre otros (21). De otra parte, la administración de antagonistas de los receptores de la endotelina 1 inducen reducción de presión portal en ratas con hipertensión portal, así como otros agentes como el óxido nítrico, el monóxido de carbono y las prostaglandinas (21).

Las CEH se han reconocido como pericitos específicos hepáticos que contribuyen al desarrollo, regeneración y respuesta a la injuria; después de hepatectomía parcial ellas migran junto con las células endoteliales para establecer conexiones vasculares y, junto a los hepatocitos, nuevas ramas de sinusoides (22).

En fibrosis avanzada, las bandas típicas de los estadios finales de la fibrosis contienen un gran número de CEH activadas. Ellas progresivamente impiden el flujo sanguíneo portal por constricción individual de los sinusoides y por contracción del hígado cirrótico. Al mismo tiempo, la densidad de las CEH y el cubrimiento del lumen se incrementa (22). El progresivo desarrollo de los *shunts* intrahepáticos también requiere de respuestas angiogénicas conducidas por las CEH, ya comentadas.

Liberación de citoquinas

Como ya se ha mencionado las CEH son moduladoras centrales de la inflamación hepática y de la inmunidad y no son precisamente sujetos pasivos de una enorme lista de citoquinas inflamatorias, pues tienen un papel regulador de la respuesta inflamatoria frente a la injuria y el posterior desarrollo de la fibrosis. (Ver atrás, papel de los distintos tipos celulares para la activación de las CEH) (13, 24).

Degradación de la matriz extracelular MEC (8, 13, 25-28)

Si bien la fibrosis refleja el balance entre la producción y degradación de la matriz, esta última constituye un evento clave en la fibrosis hepática. La disrupción de MEC en fase temprana de enfermedad hepática y su reemplazo por matriz cicatricial o la disrupción de la matriz normal hepática por invasión tumoral o displasia podría ser denominada como patológica; sin embargo, la reabsorción de exceso de matriz en paciente con enfermedad hepática crónica podría verse como la oportunidad de revertir la disfunción hepática y la hipertensión portal, por esto el conocimiento de la remodelación de la matriz se ha incrementado en los últimos años (25).

Un elemento primordial en la remodelación de la matriz es una familia de metaloproteinasas conocidas como matrixinas. Estas son enzimas calcio dependientes que degradan colágenos y substratos no colágenos. Como regla general las metaloproteinasas están clasificadas en 5 categorías de acuerdo a la especificidad del sustrato:

1. Colagenasas intersticiales: MMP-1, -8, -13
2. Gelatinasas: MMP-2, -9, proteína activadora de los fibroblastos
3. Estromelisininas: MMP-3, -7, -10, -11
4. Tipo membrana: MMP-14, -15, -16, -17, -24, -25
5. Metaloelastasas: MMP-12 (13, 26, 27).

Las CEHs son la principal fuente de las MMP-2, incrementadas en cirróticos, y también las MMP-9 y -13 y estromelisininas. El principal determinante de la progresión de la fibrosis es la falla en la degradación de la MEC producida en exceso o de la cicatriz de la matriz. El colágeno tipo I es el principal colágeno constitutivo del hígado fibrótico y este puede ser degradado a través de la familia MMP-1; las CEH producen pocas cantidades de esta enzima. La regulación de la actividad de la metaloproteinasas de matriz puede ocurrir a varios niveles pero su inactivación ocurre a través de la unión con inhibidores tisulares de metaloproteinasas conocidas como ITMPs (o TIMPs). Las CEH producen TIMPs -1 y -2 y su producción sostenida durante la injuria hepática puede conducir a acumulación de la matriz por inhibición de la actividad de las colagenasas intersticiales (13, 26-28).

RESOLUCIÓN

La atención de los investigadores se ha dirigido a este aspecto por su potencial terapéutico y se han establecido 2 vías mediante las cuales las CEH reducen o revierten su activación:

1. Reversión al fenotipo quiescente
2. Aclaramiento a través de apoptosis de las CEH activadas.

El primer mecanismo no se ha validado in vivo, entre tanto, existen cada vez más evidencias que soportan la apoptosis como un mecanismo importante en la regresión de la fibrosis. Las CEH presentan apoptosis mediada por CD95.1 y por apoptosis inducida por la expresión de el ligando del Factor de necrosis tumoral (TRAIL) y a través de las células naturales asesinas (CNA o NK) que también la inducen mediada por el mismo mecanismo de TRAIL (29).

El papel antifibrótico de las CNA o NK es consistente con algunos hallazgos clínicos donde se muestra que ante la inmunosupresión se incrementa la fibrosis hepática como por ejemplo en el uso de ciclosporina y corticosteroides, o también explicaría que cuando en el envejecimiento la función de las CNA o NK declina, se acelera la fibrosis (30).

DIAGNÓSTICO DE LA FIBROSIS

Teniendo en cuenta que el objetivo de la presente revisión no es discutir los métodos utilizados para el diagnóstico y la graduación de la fibrosis, solo se mencionarán algunos conceptos generales sobre estos.

Biopsia hepática

La carencia de un método diagnóstico no invasivo y exacto, que permita validar la progresión o regresión de la fibrosis hepática, es una gran limitante para la evaluación de los efectos antifibróticos de diversas intervenciones terapéuticas. Hasta el momento, la biopsia hepática (BH) sigue siendo el "mejor estándar" disponible para el diagnóstico de la fibrosis/cirrosis hepática, aunque está muy lejos de ser un gold estándar perfecto (31-33), y con base en sus hallazgos, existen al menos tres sistemas validados como son el puntaje de Ishak, Desmet /Scheuer y el sistema metavir Metavir (F0 = no fibrosis, F4: cirrosis) (33).

Entre los principales inconvenientes de la BH están los siguientes: es un método invasivo, no exento de riesgos, con mortalidad de 1 en 10.000 (34); la interpretación de sus hallazgos tiene importante variabilidad interobservador; en el 20% de los casos representa solo una pequeña parte del hígado (1/50.000) (29, 30); tiene la posibilidad de error de muestreo que puede oscilar entre el 33% y 50% en ambos lóbulos en un estudio de biopsia por laparoscopia (33) en el cual las muestras eran tomadas de ambos lóbulos encontrando en una tercera parte de los pacientes una diferencia de al menos un estado entre los 2 lóbulos (33, 35). Además, la biopsia hepática incrementa los costos económicos ya que los pacientes deben vigilarse por procedimiento por el riesgo de sangrado (34). Por todo lo anterior, cada día se intenta reemplazar la BH por métodos no invasivos entre los que se encuentran biomarcadores séricos y elastografía, entre otros.

Biomarcadores

Estos pretenden evaluar el estado de la fibrosis, a través de la medición de algunas proteínas como α_2 macroglobulina, apo-A1, haptoglobina, ácido hialurónico y otras enzimas hepáticas, y están disponibles estas baterías de laboratorios con los nombres de Fibrotest/ Fibromax, Fibrosure, FibroSpect, Hepascore, Fibrometer Fib 4, entre otros (36).

Los biomarcadores tienen dificultades por su alto costo, su disponibilidad, por el contenido de sus pruebas y la heterogeneidad de las mismas. En las técnicas bioestadísticas para validar los biomarcadores hay dificultad para encontrar estándares de exactitud diagnóstica en los ensayos clínicos controlados y al azar (36, 37). La prueba de área bajo la curva (AUROC) utilizada para valorar el desempeño de cualquier prueba sustituta, es un test de hipótesis binarias donde se encuentra significativa pérdida de información y dependencia de un determinado estado de fibrosis (28, 29). Además, la fibrosis es una categoría y no una variable continua (hay rangos en la exactitud de la biopsia y rangos en la prevalencia de fibrosis). No hay linealidad entre la extensión de la fibrosis y el estadio histológico. Así, la probabilidad de que el sustituto (biomarcador) prediga exactamente y correctamente la condición fibrótica de un paciente difícilmente se alcanzará (31, 32). Algunos metaanálisis (33, 35) muestran que estos son una alternativa eficiente, con excelente utilidad para la identificación de cirrosis, pero con menor exactitud en los estadios tempranos o intermedios de la fibrosis.

Finalmente, para extrapolar a la práctica clínica estos elementos y, dado el notable entusiasmo que despiertan aquellas pruebas clínicas que sustituyen pruebas invasivas, se intentan flujogramas que permitan realizar la biopsia hepática en aquellos escenarios clínicos donde las pruebas no invasivas no son lo suficientemente contundentes y se sospechan estadios (F2-F3), (las llamadas zonas grises) sin que aún se haya logrado establecer la indicación precisa de las mismas pero se insinúa ya la posibilidad que para establecer el grado de fibrosis en un paciente puede no ser necesaria la biopsia (31, 32, 38-40).

Elastografía

Es un método no invasivo de evaluación de la fibrosis que valora una de las características físicas del hígado como la elasticidad o rigidez del mismo (34). Una revisión profunda sobre este método está por fuera de los objetivos de esta revisión, pero se mencionarán características generales del mismo.

Con un equipo de ultrasonido (FIBROSCAN) que genera unas ondas de baja frecuencia y amplitud aplicadas en un espacio intercostal, se mide la velocidad de transmi-

sión de la onda a través del tejido hepático, y el resultado es informado en kilopascales (41). Técnicamente la elasticidad del hígado, E, es una medida de la fuerza con la cual los tejidos se oponen a cambios dimensionales y es cuantificada por la siguiente fórmula asumiendo que el hígado es un medio no viscoso, elástico e isotrópico:

$$E = 3p \times V^2$$

Donde p es la densidad de la masa y v es la velocidad (42).

Generalmente se deben obtener diez mediciones y el promedio de las mismas se considera representativa de la elasticidad hepática (34). Las mediciones incorrectas son debidas a obesidad, ascitis o espacio intercostal estrecho (34). El examen puede ser realizado por enfermeras y paramédicos después de un entrenamiento durante dos semanas con 25-50 exámenes (34). La elasticidad es medida a una profundidad de 25 a 65 mm por debajo de la superficie de la piel y el área medida tiene forma de cilindro con un diámetro de 1 cm y una longitud de 4 cm (34). El acuerdo intraobservador e interobservador son altos con un coeficiente de correlación de 0,96-0,98 y 0,89-0,98 respectivamente (34).

Los metaanálisis publicados sugieren que se trata de herramienta útil, fácil, no invasiva, reproducible; el área bajo al curva (AUROC) tiene valores altos para el diagnóstico de cirrosis 0,95 IC (0,87-0,99) (38), pero es menos adecuada para evaluar el grado de fibrosis entre un estado y otro mayor, y puede manejar un amplio rango de valores de elasticidad en estados de fibrosis avanzada (39, 42).

TERAPIA ANTIFIBRÓTICA

En los últimos años, cada vez se informa con más entusiasmo la reversibilidad de la fibrosis a partir de estudios de tratamiento en los cuales la enfermedad de base es removida o eliminada, por ejemplo, en los casos de erradicación o inhibición de los virus de las hepatitis B o C (1, 43-47), así como también en pacientes con hepatitis autoinmune que responden al tratamiento médico (prednisona o sus equivalentes), y en pacientes con hemocromatosis que reversion su fibrosis, después de la depleción de hierro mediante flebotomías (1, 48). Entre las diferentes estrategias terapéuticas antifibróticas potenciales, se encuentran las siguientes (1, 48):

1. Eliminar o tratar el proceso o enfermedad subyacente
2. Bloquear la inflamación si está presente y conduce a fibrosis
3. Actuar a diferentes niveles sobre los CEHs inhibiendo su activación, su proliferación, contractilidad, respuesta fibrogénica o bien promover su apoptosis. Asimismo

se puede intervenir promoviendo la degradación de la matriz extracelular.

Entre los diferentes medicamentos o estrategias utilizados en humanos, se encuentran los siguientes:

Colchicina

Es un alcaloide derivado de una planta que inhibe la polimerización de los microtúbulos, proceso requerido en la secreción de colágeno, pero al parecer en modelos animales experimentales también inhibe la síntesis, secreción y depósito de colágeno (45). Teniendo en cuenta sus diferentes acciones y su favorable perfil de seguridad ha sido ensayado en varias circunstancias clínicas con CBP, cirrosis alcohólica. Sin embargo, en una revisión reciente de Cochrane (45) se concluyó que no hay evidencia de que sea superior a un placebo con respecto a mortalidad relacionada con el hígado, mejoría bioquímica o mejoría histológica, pero sí se asoció con más efectos adversos (RR 8,38 IC95% 1,08-65,2). La conclusión de los autores fue que la colchicina no debe ser usada como tratamiento de fibrosis o cirrosis de origen alcohólico, viral o criptogénico por fuera de ensayos clínicos (45).

Pirfenidona

Es una pequeña molécula, disponible para vía oral, con efecto antifibrótico y antiinflamatorio que inhibe la síntesis de colágeno, por inhibición de los factores de crecimiento tisular (41). En un pequeño estudio en pacientes con hepatitis C y fibrosis hepática, con un tratamiento de 1.200 mg/día durante doce meses, la fibrosis se redujo en el 30% (evaluada por biopsia hepática) y los índices inflamatorios mejoraron 53% (46).

Agonistas de los receptores peroxisomales proliferador activado (RPPA)

Estos medicamentos se usan como antidiabéticos orales que mejoran la resistencia a la insulina, pertenecen al grupo de las Tiazolidindionas y en especial la segunda generación de ellos se ha utilizado específicamente en esteatohepatitis no alcohólica (47), produciendo efecto sobre la histología hepática en particular, sobre la esteatosis y la fibrosis. Estos medicamentos actúan sobre receptores nucleares hormonales, conocidos como la familia de los RPPA que tienen 3 grupos alfa-gamma y beta o delta (45, 46). Los RPPA gamma son expresados fuertemente en el tejido adiposo y en las CEHs (18, 48). En el primero regulan el metabolismo de los lípidos y la diferenciación de los adipositos y en las CEHs produce disminución de la actividad

transcripcional con reversión de su fenotipo activado a su estado quiescente (18). En un pequeño estudio piloto con rosiglitazona durante 48 semanas, en 30 sujetos que tenían evidencia histológica de esteatohepatitis no alcohólica, se encontró mejoría del balonamiento hepatocelular y de la fibrosis perinusoidal en la zona 3 (49). Sin embargo, en otro estudio con pioglitazona postratamiento no se mantuvo la mejoría de la histología ni de las pruebas hepáticas (50). Estos estudios pequeños sugieren la posibilidad de lograr mejoría histológica pero se necesitan más estudios con mayor número de pacientes para poder validar estos hallazgos (51).

Antagonistas de la angiotensina II

El sistema renina angiotensina es un mediador clave en la regulación de la presión arterial y la homeostasis de los líquidos corporales, como también en la regulación de la hemodinamia local de varios órganos (52). En el hígado este sistema se ha visto particularmente activado en pacientes con cirrosis hepática con aumento de los niveles de angiotensina II (ATII) y como se mencionó, mayor activación de las CEHs y de la fibrogénesis (7, 8, 48). Así, la ATII, es una citoquina vasoactiva que no solo induce hipertensión portal sino también activación, contracción y proliferación de las CEHs (7, 8, 48, 53). Sus efectos biológicos son resultado de la activación de diversos receptores, especialmente de los tipo 1 (AT1-R) (generalmente con actividades opuestas a los receptores tipo 2 (AT2-R) (52, 53). Las señales intracelulares son luego mediadas por una oxidasa NADPH que produce radicales libres de oxígeno (RLO) (52,53). Los eventos inflamatorios desencadenados inducen cambios conformacionales en el flavocitocromo B, que permiten completar la transferencias electrónicas desde el dinucleótido adenina flavina FAD al dinucleótido nicotinamida de adenina NADH y al anión superóxido, los cuales directamente tienen la función de producción y sobreexpresión de la expresión del gen del colágeno Alfa I (53). La ATII también incrementa la expresión del factor de crecimiento transformante Beta FCT Beta y la síntesis de proteínas de matriz extracelular (52, 53). Con base en estos conocimientos, experimentalmente se han estudiado agentes inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina o de los bloqueadores de los receptores AT-1R, como una estrategia antifibrótica y antihipertensión portal (53). Algunas evidencias clínicas sugieren que la utilización de los antagonistas de los receptores AT1-R mejoran significativamente fibrosis en pacientes con hepatitis crónica C y esteatohepatitis NASH (54). En un estudio comparativo de 30 pacientes con hepatitis, asignados para recibir losartán y ácido ursodeoxicólico o ácido ursodeoxicólico solamente (55), se encontró disminución leve de los niveles

de ALT en el grupo con losartán sin variación en las otras pruebas hepáticas ni en los niveles de RNA-HVC. El nivel de colágeno tipo IV y el FCGT B1 en el grupo de losartán fue significativamente menor que en el grupo control ($p < 0,05$). No hubo diferencias en el puntaje de METAVIR (55).

En otro estudio (56), se seleccionan 14 pacientes con hepatitis C crónica para administrarles losartán 50 mg día, frente a un grupo sin tratamiento ($n=9$) durante 6 meses. Los cambios en el estado de la fibrosis fueron significativamente diferentes para el grupo de losartán (disminución del $0,5 \pm 1,3$) y grupo control (incremento de $0,89 \pm 1,27$) $p < 0,03$. En el grupo tratado, se encontró disminución de estadio de la fibrosis en 7/14 vs. 1/9 del grupo control ($p < 0,04$). La valoración de la fibrosis subendotelial por análisis digital de imágenes también se encontró disminuida en el grupo losartán al final del tratamiento. Se apreció disminución de presión arterial sistólica, sin afectación de la presión media o de la función renal (56). Estas experiencias sugieren que los bloqueadores de los receptores de angiotensina II pueden tener efecto antifibrótico, aunque son necesarios más estudios con mayor número de pacientes.

Interferón

Los interferones consisten en una familia de 3 isoformas mayores alfa, beta y gamma (A, B, G). El A y B comparten el mismo receptor y pueden resultar con efectos antivirales más potentes que el G; sin embargo, este último ha demostrado una inhibición específica de la síntesis de MEC en fibroblastos, y en estudios preclínicos el G ha mostrado tener múltiples efectos sobre la activación de las CEHs (57). En el estudio más grande hasta el momento (51), multicéntrico doble ciego controlado con placebo, utilizando interferón gamma 1 B en 488 pacientes con puntaje de fibrosis Ishak 4-6, asignados a uno de 3 grupos de tratamientos: INF gama 1b 100 mg (grupo 1 $n=169$), INF gama 1b 200 mg (grupo 2 $n=157$) o placebo (grupo 3 $n=162$), no se encontró mejoría de la fibrosis en ninguno de los tres grupos (57). En cambio, en otro estudio con 99 pacientes con hepatitis B, los puntajes de fibrosis mejoraron en un 63% en el grupo tratado con INF gamma, frente a un 24% del grupo placebo (58). Estos resultados contradictorios ameritarán nuevos estudios para determinar la potencial eficacia de este medicamento.

Medicinas herbales

No hay evidencias sobre el efecto de estas sustancias sobre la fibrogénesis hepática en humanos. Entre las sustancias utilizadas, especialmente en el continente chino, están las que contienen salvia, el ácido salvianólico B, un ácido poli-

fenólico soluble en agua con efectos sobre la CEHs (48). Algunas otras sustancias propuestas como antifibróticas son el curcumin, glicirizina, celasterol, tetrandina, berberina, oximatrina, etc. (59). Sin embargo, por la significativa toxicidad, incluso hepática, su uso clínico requiere precauciones extremas (48, 59).

Otras estrategias

El abordaje de nuevas estrategias en la actualidad se dirige a varias áreas o sistemas, que se derivan de la comprensión de las distintas vías fibrogénicas comprometidas. Así, la más importante de ellas que involucra el FTC beta y varias aproximaciones, intentan inhibir la acción de esta citoquina, para interrumpir el proceso fibrótico. Se ve como prometedor el antagonismo de los receptores cannabinoides CB1 Y CB2, presumiblemente a través de la inhibición de la expresión del FTC beta 1 y la inhibición del crecimiento de los miofibroblastos hepáticos (60).

Resultan atractivos la inhibición de los mecanismos de angiogénesis, o la interrupción de las señales intracelulares o nucleares transcripcionales como mecanismos antifibróticos (1, 48). Particularmente reviste gran interés el obtener la apoptosis de CEHs activadas utilizando inhibidores de KB kinasa con sulfasalazina y también la interferencia de las pequeñas señales de RNA (micro-RNAs) que juegan un papel importante en la fibrogénesis (60-62).

Conflicto de intereses

Ninguno.

REFERENCIAS

1. Friedman SL, Bansal MB. Reversal of Hepatic Fibrosis –Fact or Fantasy. *Hepatology* 2006; 43: S82-S88.
2. Perez-Tamayo R. Cirrhosis of the liver: a reversible disease? *Pathol Annu* 1979; 14(2): 183-213.
3. Aghemo A, Colombo M. Cirrhosis regression in chronic hepatitis C: an old tale with a new ending. *Gastroenterology* 2009; 136: 1447-49.
4. Zois CD, Balltayiannis GH, Karayiannis P, Tsianos EV. Systematic review: hepatic fibrosis-regression with therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28: 1175-87.
5. McCuskey RS. The hepatic microvascular system in health and its response to toxicants. *The Anatomical Record* 2008; 291: 661-671.
6. Popper H, Elias H, Petty DE. Vascular patterns of the cirrhosis liver. *Am J Clin Pathol* 1952; 22: 717-2.
7. Gressner OA, Weiskirchen R, Gressner AM. Evolving concepts of liver fibrogenesis provide new diagnostic and therapeutic options. *Comparative Hepatology* 2007; 6: 1-13.
8. Friedman SL. Mechanisms of Hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1655-69.

9. Holt AP, Salmon M, Buckley CD, Adams DH. Immune interactions in hepatic fibrosis. *Clin Liver Dis* 2008; 12: 861-882.
10. Marcos R, Rocha E, Henrique RMF, Monteiro RAF. A new approach to an unbiased estimate of the hepatic stellate cell index in the rat liver: an example in healthy conditions. *J Histochem Cytochem* 2003; 51: 1101-4.
11. Schoemaker MH, Rots MG, Beljaars L, Ypma AY, Jansen PL, Poelstra K et al. PDGF-receptor beta-targeted adenovirus redirects gene transfer from hepatocytes to activated stellate cells. *Mol Pharm.* 2008; 5(3): 399-406.
12. Friedman SL, Roll FJ, Boyles J. Hepatic lipocytes: the principal collagen-producing cells of normal rat liver. *Proc Nat Acad Sci USA* 1985;82:8681-5.
13. Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean multifunctional and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev* 2008 88(1): 125-172.
14. Rippe RA, Brenner DA. From quiescence to activation gene regulation in hepatic stellate cells. *Gastroenterology* 2004; 27:1260-1262.
15. Borkham-Kamphorts E, van Roeyen CR, Ostendorf T, Floege J, Gressner AM, Weiskirchen R, Pro-fibrogenic potential of PDGF in liver fibrosis. *J Hepatol* 2007; 46:1064-107.
16. Ikeda K, Wakahara T, Wang YQ, Kadoya H, Kawada N, Kaneda K. In vitro migratory potential of rat quiescent hepatic stellate cells and its augmentation by cell activation. *Hepatology* 1999; 29: 1760-1767.
17. Mezaki Y, Yamaguchi N, Yoshikawa K, Miura M, Imai K, Itoh H, Senoo H. Insoluble, speckled cytosolic distribution of retinoic acid receptor alpha protein as a marker of hepatic stellate cell activation in vitro. *J Hystochem Cytochem* 2009; 57: 687-699.
18. Hazra S, Xiong S, Wang J, Rippe RA, Krishna V, Chatterjee K, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma induces a phenotypic switch from activated to quiescent hepatic stellate cells. *J Biol Chem* 2004; 279:392-401.
19. Gressner OA, Gressner AM. Connective tissue growth factor: a fibrogenic master switch in fibrotic liver diseases. *Liver international* 2008; 28:1065-79.
20. Muñoz-Luque J, Ros J, Fernandez-Varo G, Tugues S, Morales-Ruiz M, Álvarez CE, Friedman SL, Arroyo V, et al. Regression of fibrosis after chronic stimulation of cannabinoid CB2 receptor in cirrhotic rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 324: 475-483.
21. Soon RK, Feel HF. Stellate cell contraction: role, regulation, and potential therapeutic target. *Clin Liver Dis* 2008; 12: 791-803.
22. Lee JS, Semela D, Iredale J, Shah VH. Sinusoidal remodeling and angiogenesis: a new function for the liver-specific pericyte? *Hepatology* 2007; 45: 817-825.
23. Rockey DC. Vascular mediators in the injured liver. *Hepatology* 2003; 37: 4-12.
24. Jaeschke H. Mechanisms of liver injury. Mechanisms of neutrophil-induced liver cell injury during hepatic ischemia-reperfusion and other acute inflammatory conditions. *Am J Physiol* 2006; 290: G1083-G1088.
25. Iredale JP. Models of liver fibrosis: exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ. *J Clin Invest* 2007; 117: 539-548.
26. Benyon RC, Arthur MJ. Extracellular matrix degradation and the role of hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 373-384.
27. Han YP, Yan C, Zhou L, Qin L, Tsukamoto H. A matrix metalloproteinase 9 activation cascade by hepatic stellate cells in trans-differentiation in the three-dimensional extracellular matrix. *J Biol C* 2007; 282: 12.928-12.939.
28. Priya S, Sudhakaran P. Cell survival, activation and apoptosis of hepatic stellate cells: modulation by extracellular matrix proteins. *Hepatology research* 2008; 38: 1221-1232.
29. Kisseleva T, Brenner D. Stellate Cell Biology. Hepatic stellate cells and the reversal of fibrosis. *J Gastroenterol Hepat* 2006; 21: S84-S87.
30. Jeon WI, Park O, Gao B. Abrogation of the antifibrotic effects of natural killer cells/interferon-gamma contributes to alcohol acceleration of liver fibrosis. *Gastroenterology*.2008; 134: 248-258.
31. Bedossa P, Carrat F. The liver biopsy: the best, not the gold standard. *Journal of Hepatology* 2009; 50: 1-3.
32. Mehta SH, Lau B, Afdhal NH, Thomas DL, Exceeding the limits of liver histology markers. *J Hepatol* 2009; 50: 36-41.
33. Bedossa P. Liver biopsy. *Gastroenterol Clin Biol* 2008; 32: 4-7.
34. Andersen EA, Christensen PB, Weis N. Transient elastography for liver fibrosis diagnosis. *Eur J Intern Med* 2009; 20: 339-42.
35. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD; American Association for the Study of Liver Diseases. Liver biopsy. *Hepatology* 2009; 49: 1017-1044.
36. Myers RP. Noninvasive markers of liver fibrosis: playing probabilities. *Liver international* 2008; 28: 1328-31.
37. Cales P, de Ledinghen V, Halfon P, Bacq Y, Leroy V, Boursier J et al. Evaluating the accuracy and increasing the reliable diagnosis rate of blood tests for liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Liver Int* 2008; 28: 1352-62.
38. Poynard T, Morra R, Halfon P, Castera L, Ratzu V, Imbert-Bismut F, et al. Meta-analysis of Fibro Test diagnostic value in chronic liver disease. *BMC Gastroenterol* 2007; 7: 40-8.
39. Shaheen AA, Wan AF, Myers RP. FibroTest and FibroScan for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review of diagnostic test accuracy. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2589-2600.
40. Sebastiani G, Halfon P, Castera L, SAFE biopsy: a validated method for large-scale staging of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2009 49: 1821-7
41. Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, Sarrazin S, Bojunga J, Zeuzem S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology* 2008; 134: 960-74.
42. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenopoh J, Yon S, Fournier C, Mal F, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultra Med Bio* 2003; 29: 1705-13.

43. Dienstag JL, Goldin RD, Heathcote EJ, Hann HW, Woessner M, Stephenson SL, et al. Histological outcome during long-term lamivudine therapy. *Gastroenterology* 2003; 124: 105-117.
44. Poynard T, McHutchison J, Manns M, Trepo C, Lindsay K, Goodman Z, et al. Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2002; 122: 1303-1313.
45. Rambaldi A, Gluud C. Colchicine for alcoholic and non-alcoholic liver fibrosis and cirrhosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2001; (3): CD002148.
46. Armendáriz-Borunda J, Islas-Carbajal MC, Meza-García E. A pilot study in patients with established advanced liver fibrosis using pirfenidone. *Gut* 2006; 55: 1663-5.
47. Vuppalanchi R, Chalasani N. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: Selected practical issues in their evaluation and management *Hepatology* 2009; 49: 306-17.
48. Rockey DC. Current and future anti-fibrotic therapies for chronic liver disease. *Clin Liver Dis* 2008; 12: 939-62.
49. Neuschwander-Tetri BA, Brunt EM, Wehmeier KR, Oliver D, Bacon BR. Improved non-alcoholic steatohepatitis after 48 weeks of treatment with the PPAR-gamma ligand rosiglitazone. *Hepatology* 2003; 38: 1008-17.
50. Lutchman G, Modi A, Kleiner DE, Promrat K, Heller T, Ghany M et al. The effects of discontinuing pioglitazone in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2007; 46: 424-9.
51. Ratziu V, Giral P, Jacqueminet S, Charlotte F, Hatermann-Heurtier A, Serfaty L, et al. LIDO Study Group Rosiglitazone for nonalcoholic steatohepatitis: one-year results of the randomized placebo-controlled Fatty Liver Improvement with Rosiglitazone Therapy (FLIRT) Trial *Gastroenterology* 2008; 135: 100-10.
52. Kisseleva T, Brenner DA. Role of hepatic stellate cells in fibrogenesis and the reversal of fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007; 22 Suppl 1: S73-8.
53. Yoshiji H, Kuriyama S, Fukui H. Blockade of renin-angiotensin system in antifibrotic therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22(Suppl 1): S93-5.
54. Yokohama S, Yoneda M, Haneda M, Okamoto S, Okada M, Aso K, et al. Therapeutic efficacy of an angiotensin II receptor antagonist in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2004; 40: 1222-5.
55. Terui Y, Saito T, Watanabe H, Togashi H, Kawata S, Kamada Y, et al. Effect of angiotensin receptor antagonist on liver fibrosis in early stages of chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36(4 Pt 1): 1022.
56. Sookoian S, Fernández MA, Castaño G. Effects of six months losartan administration on liver fibrosis in chronic hepatitis C patients: a pilot study. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 7560-3.
57. Pockros PJ, Jeffers L, Afdhal N, Goodman ZD, Nelson D, Gish RG, et al. Final results of a double-blind, placebo-controlled trial of the antifibrotic efficacy of interferon-gamma1b in chronic hepatitis C patients with advanced fibrosis or cirrhosis. *Hepatology* 2007; 45: 569-78.
58. Weng HL, Wang BE, Jia JD, Wu WF, Xian JZ, Mertens PR, et al. Effect of interferon-gamma on hepatic fibrosis in chronic hepatitis B virus infection: a randomized controlled study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: 819-28.
59. Luk JM, Wang X, Liu P, Wong KF, Chan KI, Tong Y, et al. Traditional Chinese herbal medicines for treatment of liver fibrosis and cancer: from laboratory discovery to clinical evaluation. *Liver Int* 2007; 27: 879-90.
60. Siegmund SV, Schwabe RF. Endocannabinoids and liver disease. II. Endocannabinoids in the pathogenesis and treatment of liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G357-62.
61. Sato Y, Murase K, Kato J, Kobune M, Sato T, Kawano Y, et al. Resolution of liver cirrhosis using vitamin A-coupled liposomes to deliver siRNA against a collagen-specific chaperone. *Nat Biotechnology* 2008; 26: 431-42.
62. Oakley F, Meso, M Iredale JP. Inhibition of inhibitor of kappa B kinases stimulates hepatic stellate cell apoptosis and accelerated recovery from liver fibrosis. *Gastroenterology* 2005; 128: 108-120.