

La microcirugía hepática experimental: un método para estudiar la patología utilizando mecanismos embrionarios

David Fernández Morales. Isabel M^a Peral Martínez. María Ramírez.

Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid.
davfer05@estumail.ucm.es

María Ángeles Aller Reyero. Jaime Arias Pérez.

Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid.
maaller@med.ucm.es

Resumen las técnicas microquirúrgicas en la actualidad son utilizadas para crear modelos experimentales en la rata que permitan estudiar la patología hepática que sufre el ser humano. Destacan los modelos que se fundamentan en la siguientes técnicas microquirúrgicas: colestasis extrahepática, anastomosis porto-cava termino-terminal, hipertensión portal por triple ligadura parcial de la vena porta, ligadura parcial de la vena cava inferior suprahepática y hepatectomías parciales. Los modelos experimentales microquirúrgicos obtenidos se propone que sufren una patología hepática que se fundamenta en la recapitulación de mecanismos embrionarios. En particular, destaca la existencia de una reacción ductular similar a la existente en las primeras fases del desarrollo embrionario del hígado. Ya que la respuesta ductular en los modelos experimentales de patología hepática es inducida por mecanismos inflamatorios, se sugiere en el presente trabajo que dichos mecanismos son fundamentales en el hígado tanto para su desarrollo embrionario como para la inducción de múltiples patologías.

Palabras clave: hígado. Microcirugía. Embriología. Reacción ductular. Colestasis. Hepatectomía. Hipertensión portal.

INTRODUCCIÓN

En el adulto, muchos mecanismos que desempeñan un papel esencial durante el desarrollo embrionario se inactivan durante la madurez. Sin embargo, algunos de éstos mecanismos puedan reaparecer durante procesos de reparación en la vida post-natal. Esta capacidad de involución podría constituir una solución efectiva en respuesta a cualquier tipo de agresión. A través de la desdiferenciación, los tejidos se autoremodelan ante las nuevas condiciones ambientales impuestas.

En este sentido, la inflamación integra diversos mecanismos asociados no solo con condiciones patológicas (como cáncer u obesidad), sino también con procesos fisiológicos (como la embriogénesis o la ontogénesis). Además, dado que múltiples mecanismos inflamatorios están también presentes en el desarrollo embrionario, podemos postular que en las situaciones patológicas que implican una respuesta inflamatoria se produciría un retorno a la ontogenia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Patología hepática y desdiferenciación relacionada con la inflamación

Las patologías inflamatorias del hígado inducirían una desdiferenciación a través de la cual estructuras comunes en el desarrollo embrionario vuelven a crearse. En este sentido, se ha propuesto que ciertos mecanismos presentes durante el desarrollo embrionario del hígado podrían reaparecer en situaciones patológicas caracterizadas por el desarrollo de un elevado número de conductos biliares.

Existen cuatro tipos de reacciones ductulares: *tipo 1*, predominante en la obstrucción total del conducto biliar, que representa una de las muchas interacciones entre inflamación, estroma y células epiteliales biliares; es el resultado de la proliferación de colangiocitos, lo cual resulta en elongación, ramificación y ensanchamiento luminal. El *tipo 2A* (periportal), que se interpreta como una metaplasia ductular de hepatocitos y es característico de colestasis crónicas. Además, se activan miofibroblastos responsables de aumentar la producción de matriz de tejido conectivo. El *tipo 2B* (centrolobular) ocurre áreas parenquimatosas hipóxicas. El *tipo 3* consiste en la activación y proliferación de las células progenitoras del hígado, de forma que aparecen estructuras ductulares periportales en situaciones de necrosis.

La mayoría de las reacciones ductulares siguen un patrón en el cual se desarrolla el conducto biliar por la formación de una placa ductal, formada por hepatoblastos y células de la placa ductal. Estas últimas se localizan alrededor de la vena porta, creando una doble capa de epitelio: la placa ductal. De esta forma, las reacciones ductulares se componen de un pequeño vaso sanguíneo central (vena o sinusoides alterados) rodeado de una pequeña cantidad de mesénquima derivado del espacio de Disse y, normalmente, por una doble capa de epitelio biliar que deja un espacio virtual entre ambas dos capas. Por ello, las reacciones ductulares se podrían correlacionar con la placa ductal de doble capa que aparece durante el desarrollo embrionario.

Modelos quirúrgicos que permiten estudiar reacciones ductulares

Diversos modelos experimentales de insuficiencia hepática en la rata pueden ser utilizados para el estudio de los cuatro tipos de reacciones ductulares descritas. El parénquima del hígado de las ratas tiene cuatro lóbulos: lateral derecho, medial, lateral izquierdo y caudado con vascularización porto-arterial y drenaje biliar y venoso

individualizados. Esto permite la resección de los conductos biliares que drenan los cuatro lóbulos hepáticos hasta el inicio de su porción intrapancreática. En este modelo, la proliferación biliar invade los espacios portales de las zonas 1 y 2 del acino de Rappaport, pero no la 3. Esto sugiere que el colangiocito adopta un comportamiento similar al tumoral, con un crecimiento complejo y expandido.

Por todo ello, podría concluirse que la persistencia de la lesión secundaria a la obstrucción biliar en la rata induce una proliferación biliar intensa que se asemejaría a la formación de un tumor biliar atípico. Dicho tumor estaría constituido por un parénquima de colangiocitos y por un estroma, formado por fibroplasia y angiogénesis, para su soporte metabólico.

La anastomosis porto-cava termino-terminal se inicia con la disección de la vena cava inferior, entre el parénquima hepático y la vena renal derecha, y la vena porta. A continuación, la vena porta se anastomosa termino-lateralmente y se liga con nylon 9-10/0. Este modelo experimental produce una situación de insuficiencia hepática por isquemia portal que se acompaña de estrés oxidativo, inflamación y reacción ductular con fibrosis; por tanto sería una reacción de tipo 2A.

Otras técnicas que permiten obtener hipoxia crónica en el hígado se basan en la ligadura parcial de la vena porta o de la vena cava inferior suprahepática inferior, lo cual comporta la obstrucción total o parcial del drenaje sinusoidal total o parcialmente. Si la ligadura parcial es de la vena cava inferior, además, se induce hepatomegalia con necrosis e hipertensión portal a los 15 días de la operación.

En el modelo experimental de hipertensión portal prehepática, procedemos a efectuar una triple ligadura parcial en tres zonas equidistantes de la vena porta, antes de su bifurcación hiliar. Una de las razones por las que la hipertensión portal prehepática presenta una gran variabilidad en su evolución podría basarse en su naturaleza inflamatoria.

La reacción ductular de tipo 3 enfatiza la acción del hígado en la regeneración de células progenitoras, un proceso secundario a la hepatectomía parcial. La hepatectomía microquirúrgica en la rata tiene importantes beneficios ya que reduce las complicaciones inherentes a las técnicas macroquirúrgicas. La regeneración del hígado se estudia normalmente tras una hepatectomía parcial del 70%, que elimina 2/3 de la masa hepática. Esta técnica consiste en la resección de los lóbulos medio y lateral izquierdo, dejando intactos los lóbulos inferiores hepáticos, lo cual es mucho más preciso cuando se utilizan técnicas microquirúrgicas. En la rata, a los 21 días después de la operación, el hígado recupera completamente su volumen original. Se da por la activación y proliferación de células progenitoras localizadas en los canales de Hering. Como células bipotenciales, estas células madre pueden diferenciarse a hepatocitos o colangiocitos.

Reacción ductular e investigación

La reacción ductular es una respuesta compensatoria y reparadora muy común en las situaciones de lesión hepática, que recapitula la ontogénesis. El desarrollo del epitelio biliar intrahepático comienza alrededor de la 8ª semana de gestación cuando los hepatoblastos periportales se organizan en una única capa de células epiteliales llamada placa ductal. Entonces pequeñas porciones de esta capa se duplicarán, obteniéndose así la denominada placa ductal en doble capa, a partir de la cual se obtendrán estructuras tubulares en su proceso de incorporación al mesénquima. Finalmente, estos túbulos inmaduros se transforman en vías biliares individualizadas.

La colestasis obstructiva en la rata, tanto si es obtenida por técnicas macroquirúrgicas (ligadura y sección del colédoco) o por técnicas microquirúrgicas, destaca entre los modelos experimentales que pueden ser utilizados para el estudio de la reacción ductular. A partir de 6 a 12h tras la colestasis obstructiva se observa en la reacción ductular precoz el crecimiento de pequeñas vías biliares y de un plexo biliar periportal, asociados a la transdiferenciación de los hepatocitos maduros en células propias de vías biliares, resultando así la formación de conductos biliares normales desde el segundo día después de la obstrucción biliar, aunque éste proceso es más llamativo desde el séptimo día de evolución.

En el hígado adulto la división de los hepatocitos o de los colangiocitos maduros conduce a la regeneración del daño agudo hepatocelular o biliar, no ocurriendo lo mismo en las patologías crónicas hepáticas, como las *colangiopatías*, puesto que la reparación depende en este caso de la activación de células progenitoras hepáticas que serán capaces de dividirse y diferenciarse en células de linaje hepatocelulares o biliares. Para convertirse en hepatocitos, éstas células progenitoras primero deben convertirse en células hepato-biliares. Por el contrario, si van a diferenciarse hacia el linaje biliar previamente formarán conductos ductales reactivos. Por lo cual, aunque la transdiferenciación de los hepatocitos, proceso reconocido como *metaplasia ductular*, puede que ocurra después de la obstrucción biliar, realmente se cree que son los conductos ductales reactivos los que inducirán la mayoría de las células progenitoras hacia los distintos compartimentos. Además, se genera el estroma fibrovascular capaz de sustentar y nutrir a las estructuras ductulares remodeladas. Por lo tanto, la colestasis obstructiva en la rata, se considera un modelo experimental idóneo para el estudio de la fibrosis hepática e, incluso de la fibrosis biliar que ocurre como consecuencia de la fibrosis progresiva de áreas periportales que ocasionará la obstrucción de conductos biliares conduciendo finalmente a la fibrosis biliar. Además, éste modelo experimental también permitiría estudiar la atresia biliar extrahepática y de la colangitis esclerosante primaria.

En el mundo occidental la hipertensión portal no cirrótica más común incluye patologías crónicas del hígado como la esteatohepatitis alcohólica y la colestasis precirrótica crónica (cirrosis primarias biliares y colangitis esclerosantes primarias).

Asimismo, la fibrosis hepática congénita es un trastorno dinámico caracterizado por un deterioro variable de la fibrosis periportal y de los conductos biliares en formación. Dicha patología es una enfermedad autosómica recesiva y se presenta clínicamente en forma de hipertensión portal. Aunque los colangiocitos expresan varios marcadores morfológicos funcionales comúnmente asociados con los fenotipos mesenquimales, hay evidencia de que no se produce su transdiferenciación. Las malformaciones de la placa ductal también representan un complejo de anomalías patológicas, que incluyen desde el hamartoma biliar hasta la enfermedad hepática poliúística. Las diferentes patologías hepáticas pueden existir como enfermedades individuales o asociadas y las anomalías clinico-patológicas que comportan dependen del nivel de afectación del la vía árbol biliar, bien intrahepática y/o extrahepática.

CONCLUSIÓN

Teniendo todo lo anterior en cuenta, podríamos concluir que la respuesta inflamatoria del hígado que se produce como consecuencia de las diferentes técnicas microquirúrgicas expuestas en el presente estudio que inducen insuficiencia hepática, podrían integrar los mecanismos inherentes a los diferentes tipos de reacciones ductulares. De ser así, los modelos experimentales descritos serían complementarios para estudiar la ontogenia que induce la inflamación en diversos tipos de patologías.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aller MA, Lorente L. A model of cholestasis in the rat using a microsurgical technique. *Scand J Gastroenterol*. 1993; 28, 10-14.
2. Aller MA, Arias JL, Cruz A, Arias J. Inflammation: a way to understanding the evolution of portal hypertension. *Theor Biol Med Model*. 2007; 4, 44.
3. Aller MA, Arias JL, Garcia-Dominguez J, et al. Experimental obstructive cholestasis: the wound-like inflammatory liver response. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2008; 1, 6.
4. Aller MA, Mendez M, Nava MP, et al. The value of microsurgery in liver research. *Liver Intern*. 2009; 29, 1132-40.
5. Aller MA, Arias JL, Prieto I, et al. Bile duct ligation: Step-by-step to cholangiocyte inflammatory tumorigenesis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2010; 22, 651-661.

6. Aller MA, Arias N, Prieto I, et al. A half century (1961-2011) of applying microsurgery to experimental liver research. World J Hepatol. 2012; 4, 199-208.

Recibido: 7 noviembre 2013.

Aceptado: 24 febrero 2014.