

PAPEL DE LOS FACTORES EPIGÉNETICOS EN EL DESARROLLO DE ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHÓLICA



Rocío Gallego-Durán¹, Jose Antonio Del Campo¹, Javier Ampuero¹, Marta García-Valdecasas¹, Lourdes Rojas¹, Helena Pastor-Ramírez¹, María Jesús Pareja², Raquel Millán¹, M^a Carmen Rico¹, Antonio Gil-Gómez¹, Anabel Rojas³, Manuel Romero-Gómez¹.



1. UGMQ Enfermedades Digestivas y CIBERehd, Hospital Universitario de Valme, Sevilla.
2. Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario de Valme, Sevilla.
3. Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa, Sevilla.

OBJETIVO

Evaluar la influencia de los micro-RNAs en el desarrollo de esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

MATERIAL Y MÉTODO

Se aisló RNA total procedente de tejido hepático congelado (miRvana miRNA isolation kit, Life Technologies, USA) en 10 pacientes NASH y 10 esteatosis simple. Se evaluó el RNA Integrity Number (RIN) mediante electroforesis como control de calidad. Aquellos casos con un RIN inferior a 5 no fueron aptos para el análisis.

El perfil de miRNAs candidatos se evaluó usando un array de 84 pocillos (miScript miRNA PCR Array, Qiagen, USA) y la validación independiente se realizó en muestras de biopsias (n=20) y plasma (n=40, 20 NASH y 20 esteatosis simple) mediante RT-PCR.

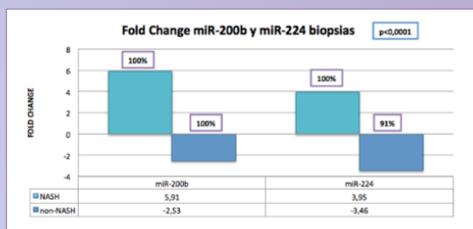
Se genotiparon los SNPs rs738409 de PNPLA3 y rs58542926 de TM6SF2 mediante sonda Taqman (Applied Biosystems, Spain).

La histología se evaluó según la escala Kleiner, analizando el NAS Score y el estadio de fibrosis. El análisis estadístico se realizó usando el software SSPSv22.

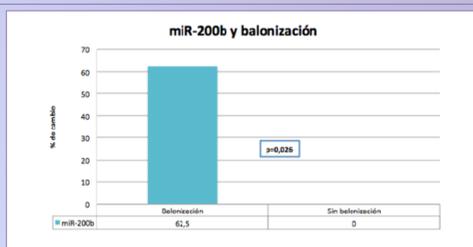
RESULTADOS

TEJIDO HEPÁTICO

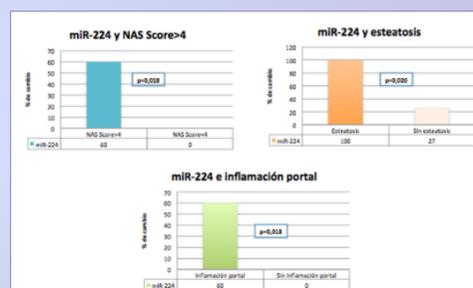
Se observaron dos miRNAs sobre-expresados en hígado de pacientes NASH frente a esteatosis simple: a) miR-200b (fold induction 2,80); b) miR-224 (fold induction 3,08).



El 100%(8/8) de pacientes con miR-200b inducido presentaban NASH (media fold change 5,91±8,70), respecto al 0%(0/8) con miR-200b inhibido (media fold change -2,53±0,61;p=0,0001). La inducción del miR-200b se asoció a degeneración balonzante (62,5%(5/8) vs. 0%(0/8);p=0,026).

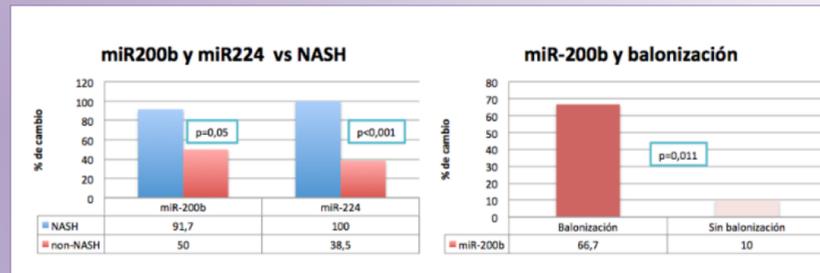


El 100%(5/5) de pacientes con el miR-224 inducido presentaban NASH(media fold change 3,95±2,05) respecto al 9%(1/11) con miR-224 inhibido (media fold change -3,46±1,87);p<0,0001. La sobre-expresión del miR-224 se asoció con puntuaciones de NAS Score superiores a 4(60%(3/5) vs 0%(0/11);p=0,018), presencia de esteatosis(100%(5/5) vs 27%(3/11);p=0,026) e inflamación portal(60%(3/5) vs 0%(0/11); p=0,018).



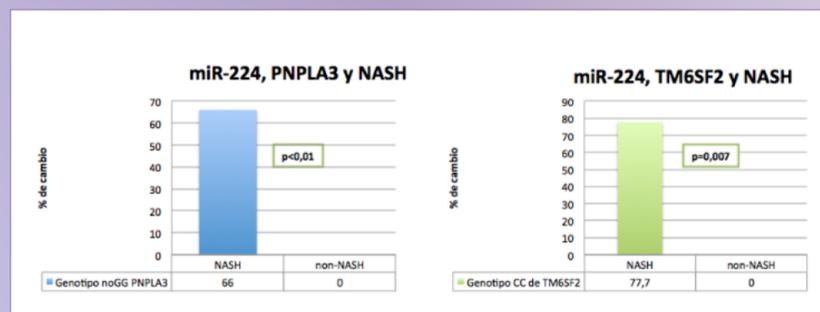
PLASMA

La inducción de miR-200b se asoció a NASH (91,7%(11/12) vs. 50%(5/10);p=0.05) y balonización (66,7% (8/12) vs. 10% (1/10); p=0.011) en pacientes con miR-200b inhibido.



GENOTIPOS DE PNPLA3 Y TM6SF2

En pacientes protegidos del desarrollo de NASH como los portadores del genotipo no-GG de PNPLA3, la inducción de miR-224 se detectó en 6/9 con NASH frente a 0/7 con esteatosis simple;p<0,01; asimismo, en los pacientes genotipo CC de TM6SF2 la inducción de miR-224 se observó en 7/9 pacientes con NASH frente a 0/6 con esteatosis simple;p=0,007.



CONCLUSIONES

El análisis de miRNAs asociados a disfunción hepática ha identificado dos candidatos, miR-200b y miR-224, sobre-expresados en pacientes NASH a nivel intrahepático y circulantes en plasma. La expresión del miR-224 parece regular la progresión a NASH en pacientes portadores de genotipos protectores, como no-GG de PNPLA3 y CC de TM6SF2. Estos miRNAs podrían constituir posibles biomarcadores o nuevas dianas terapéuticas basados en su marcado efecto epigenético.

rociogallegoduran@gmail.com

