

# LA MELATONINA REDUCE EL ESTRÉS DE RETÍCULO Y LA AUTOFAGIA EN UN MODELO ANIMAL DE FIBROSIS HEPÁTICA

B San Miguel<sup>(1)</sup> | Crespo<sup>(1,2)</sup> | J González-Gallego<sup>(1,2)</sup> | MJ. Tuñón<sup>(1,2)</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biomedicina (IBIOMED), Universidad de León. <sup>2</sup>CIBEREHD



## Objetivos

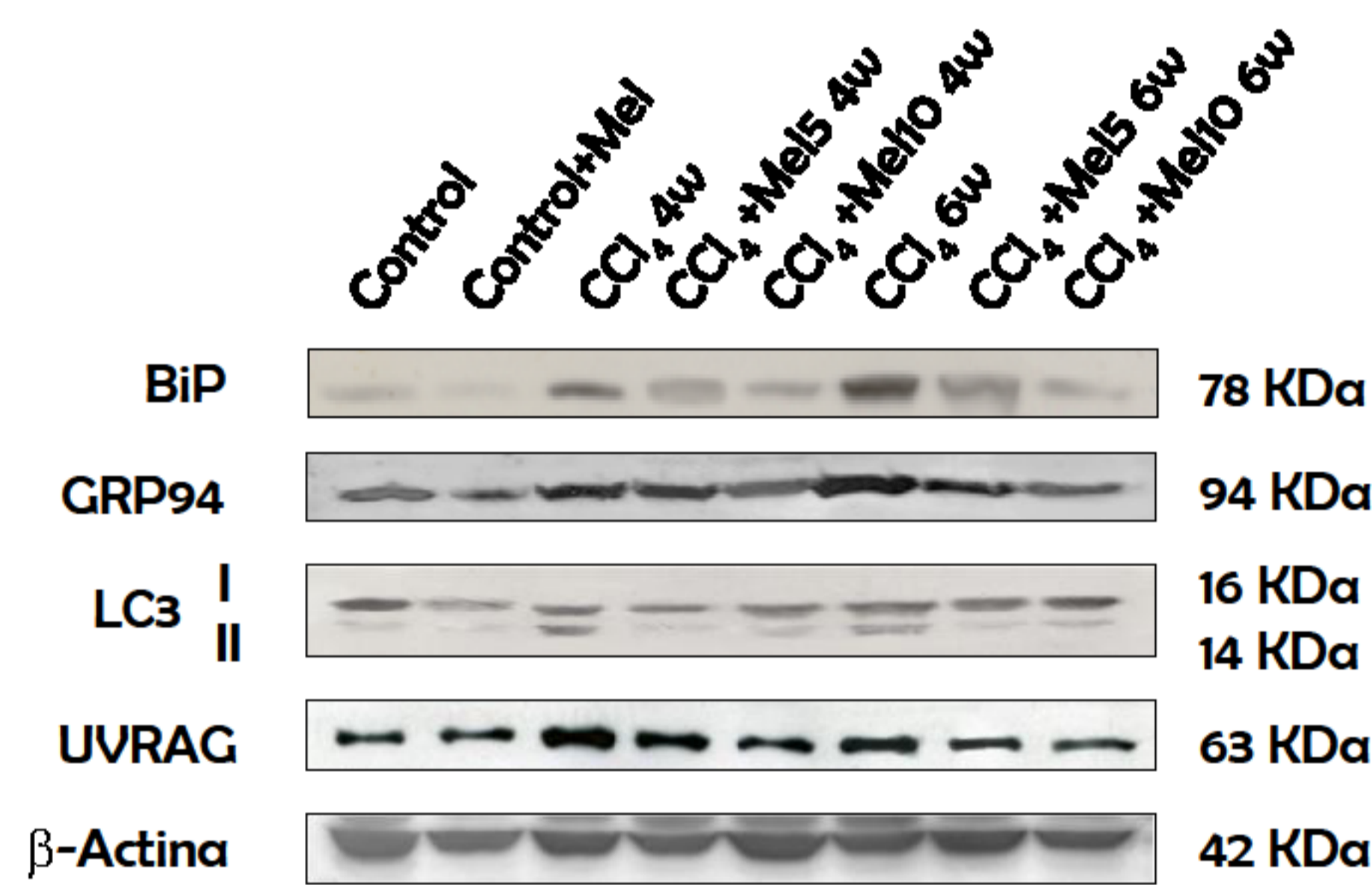
La administración de tetracloruro de carbono ( $\text{CCl}_4$ ) en ratones induce una alteración hepática que evoluciona a fibrosis. Recientes estudios han indicado que la respuesta autofágica y el estrés de retículo endoplasmático (RE) son mecanismos que están relacionados con la fibrogénesis hepática. De hecho, el exceso de proteínas mal plegadas en el RE es una señal para la activación de la autofagia que es un proceso fundamental en la regulación del desarrollo de fibrosis. La melatonina (Mel) ha mostrado efectos protectores en diversos modelos de daño hepático. El objetivo de este estudio ha sido comprobar el efecto de la Mel sobre los mecanismos implicados en la respuesta autofágica y el estrés de RE en un modelo murino de fibrosis hepática.

## Métodos

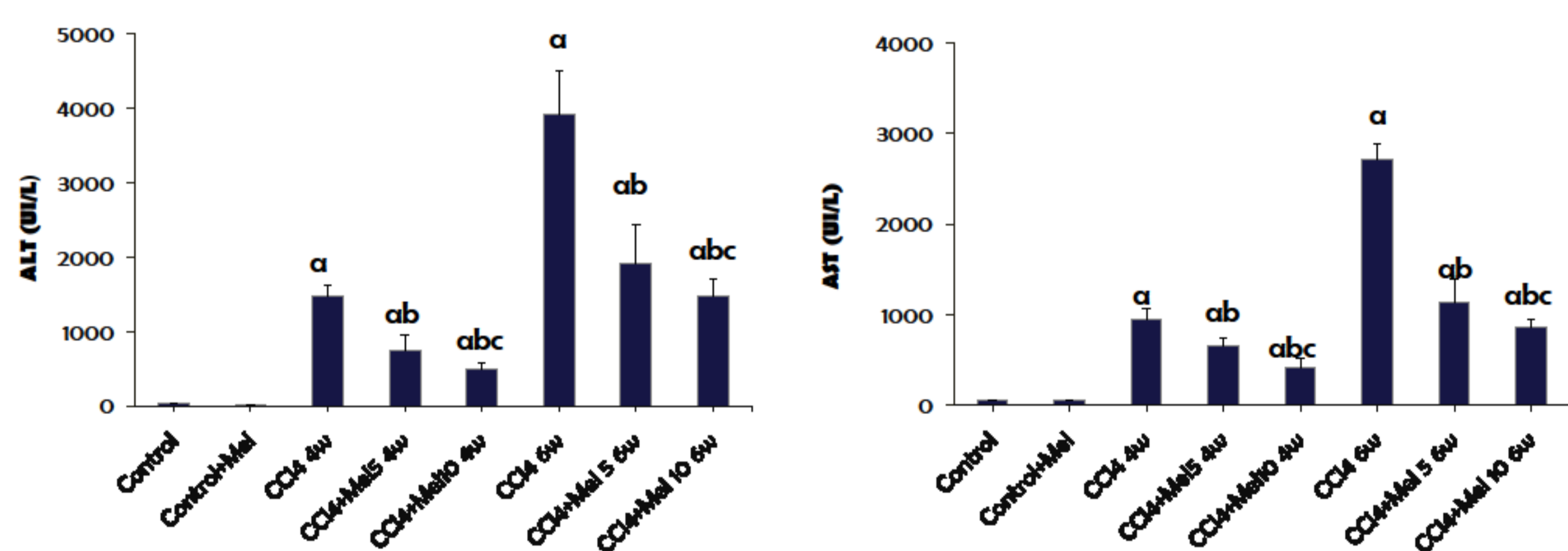
La fibrosis hepática fue inducida en ratones C57BL/6J macho mediante la administración ip de  $\text{CCl}_4$  dos veces a la semana durante 4 ó 6 semanas. Se administraron 5 ó 10 mg/Kg de Mel (5% etanol) ip. diariamente desde la segunda semana tras la administración de  $\text{CCl}_4$ . El grupo control recibió el vehículo. Tras el sacrificio, a las 4 ó 6 semanas, se determinaron los niveles plasmáticos de ALT, AST y se evaluó la fibrosis mediante tinción de fibras de colágeno (Van Gieson) e inmunohistoquímica de alfa-SMA. La expresión de los marcadores de autofagia LC3 I/II y UVRAG y de estrés de RE, BiP y GRP94 se llevó a cabo mediante western blot.

## Resultados

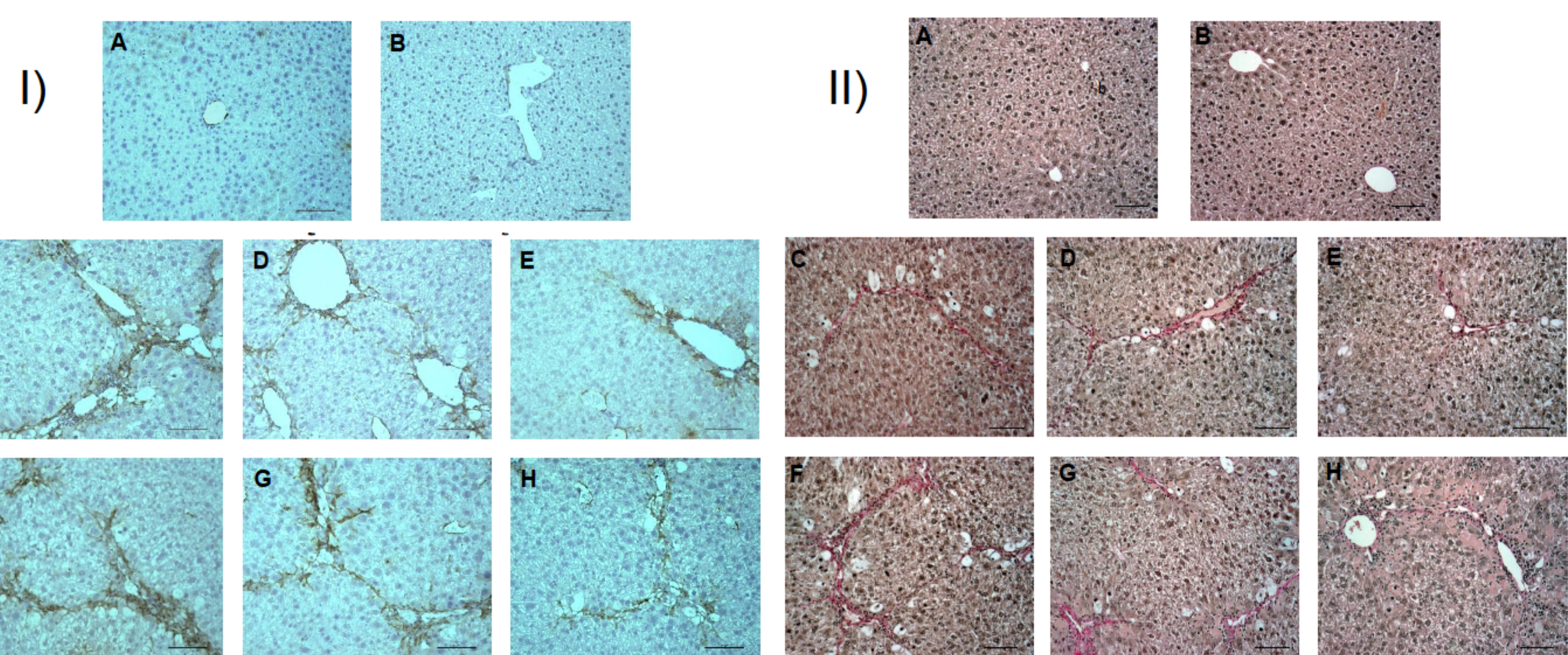
A las 4 y 6 semanas de la administración de  $\text{CCl}_4$  se observó daño y fibrosis hepática caracterizada por un incremento en la expresión de alfa-SMA y mayor contenido de colágeno, así como una elevación de los niveles de ALT y AST, que fueron más marcados a las 6 semanas. Estos efectos disminuyeron de forma significativa en los ratones que recibieron Mel. La expresión de LC3 I/II, UVRAG, BiP y GRP94 aumentaron significativamente, en ambos periodos, en los animales que recibieron  $\text{CCl}_4$  respecto a los del grupo control. El tratamiento con Mel disminuyó significativamente la expresión tanto de los marcadores de autofagia como de estrés de RE hasta valores similares a los del grupo control.



Western blot representativos de marcadores de estrés de RE y autofagia.



Actividades plasmáticas de la alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST). <sup>a</sup> $p < 0,05$  respecto a Control. <sup>b</sup> $p < 0,05$  respecto a  $\text{CCl}_4$  en el mismo periodo. <sup>c</sup> $p < 0,05$  respecto a Mel5 en el mismo periodo.



I) Determinación inmunohistoquímica de alfa-SMA. II) Determinación de fibrosis (Van Gieson). Microfotografías de secciones hepáticas de A) Control B) Control+Mel C y F)  $\text{CCl}_4$  4 y 6 semanas, respectivamente. D y G)  $\text{CCl}_4$  + 5 Mel 4 y 6 semanas, respectivamente. E y H)  $\text{CCl}_4$  + 10 Mel 4 y 6 semanas, respectivamente. Aumentos (200x).

## Conclusiones

Los datos obtenidos indican que en el modelo animal de daño hepático inducido por  $\text{CCl}_4$  se producen importantes alteraciones en la respuesta autofágica y el estrés de RE durante el desarrollo de la fibrosis hepática. La melatonina es capaz de disminuir de forma marcada el daño hepático modulando el estrés de RE y la autofagia por lo que podría ser considerada de utilidad para el tratamiento de patologías que cursan con fibrosis.

