

APOPTOSE COMO MECANISMO DE LESÃO NAS DOENÇAS HEPATOBILIARES

Mônica Beatriz PAROLIN* e Iara J. Messias REASON**

RESUMO – Racional – *A morte celular por apoptose é processo biológico fundamental envolvido em muitos eventos fisiológicos e fisiopatológicos no fígado.* Objetivo – *Revisar o processo da apoptose, seus mecanismos celulares, sua regulação por fatores externos e sua participação em várias doenças hepatobiliares.* Conclusão – *O conhecimento dos mecanismos celulares da apoptose, bem como seus desequilíbrios durante distúrbios fisiopatológicos possibilitam melhor compreensão das doenças que afetam o fígado e vias biliares. A inibição farmacológica da apoptose ou sua indução podem oferecer grandes perspectivas no tratamento de doenças nas quais ocorra desequilíbrio no processo natural de morte celular.*

DESCRIPTORIOS – *Apoptose. Hepatopatias. Doenças das vias biliares.*

INTRODUÇÃO

A manutenção da homeostasia tecidual nos organismos multicelulares é assegurada por diferentes mecanismos biológicos regulatórios, entre os quais figura a apoptose. O termo apoptose (do grego *apó* = separação, *ptôsis* = queda), adotado pela primeira vez por KERR et al.⁽⁷⁾, na década de 70, designa forma fisiológica de morte celular que ocorre segundo programa genético que desencadeia processo de autodigestão controlada, em consonância com a remoção de células lesadas, senescentes ou imprestáveis, sem alteração do microambiente celular.

Além de seu papel fisiológico que regula a população celular, controla os processos de desenvolvimento e morfogênese e limita as reações imunes, a apoptose representa importante mecanismo fisiopatológico de lesão tecidual⁽¹⁴⁾.

Os últimos anos presenciaram considerável avanço na compreensão dos mecanismos genéticos e moleculares envolvidos na regulação da apoptose, elucidando seu papel na fisiopatologia de afecções hepatobiliares como as doenças autoimunes, as hepatites virais agudas e crônicas, a carcinogênese, lesão pelo álcool e outras drogas, lesão de isquemia e reperfusão, rejeição do enxerto hepático e doenças pelo acúmulo de cobre^(7,9).

O propósito desta revisão é comentar os mecanismos celulares da apoptose e sua contribuição no desencadeamento de lesões teciduais em diversas doenças hepatobiliares.

MORTE CELULAR: NECROSE *VERSUS* APOPTOSE

A morte celular, definida como perda irreversível da estrutura e funções vitais da célula, ocorre por dois processos

Serviço de Transplante Hepático e Serviço de Imunopatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

* Médica Hepatologista do Serviço de Transplante Hepático do Hospital de Clínicas da UFPR.

** Chefe do Laboratório de Imunopatologia do Hospital de Clínicas da UFPR, Departamento de Patologia Médica.

Endereço para correspondência: Dra. Mônica Beatriz Parolin - Rua Lamenha Lins, 2280 - 80220-080 - Curitiba, PR. email: mbparolin@hotmail.com

morfologicamente distintos: necrose e apoptose. Sabe-se atualmente que os dois fenômenos contribuem para a morte celular nas doenças hepatobiliares e que a opção da célula por uma dessas formas de morte é influenciada pelo seu estado energético (reserva de ATP). Como processo ativo, a apoptose requer reservas de ATP (pelo menos nas fases iniciais), ao passo que a necrose se instala quando há depleção total do ATP⁽⁷⁾.

A necrose se caracteriza pela perda da integridade da membrana plasmática quanto a sua permeabilidade. Diferentes insultos patológicos como isquemia, hipoxia, hipertermia, irradiação e metabólitos tóxicos podem levar à perda abrupta da integridade da membrana plasmática (citólise) e à alteração de seus gradientes eletroquímicos. Ademais, a liberação dos constituintes intracelulares para o meio extracelular estimulam a resposta inflamatória e ampliam a lesão tecidual. O fenômeno de morte celular por necrose é facilmente reconhecido nos espécimes de biopsia hepática porque os restos celulares permanecem por longo período antes de serem removidos pelas células inflamatórias⁽¹¹⁾.

A apoptose é processo ativo cuja marca registrada é a autodigestão controlada dos constituintes celulares, devida à ativação de proteases endógenas e pode ser comparada metaforicamente a um "suicídio celular". A ativação dessas proteases compromete a integridade do citoesqueleto, provocando verdadeiro colapso da estrutura celular. Em resposta à contração do volume citoplasmático, a membrana celular forma bolhas e se altera o posicionamento de seus lipídios constituintes. Em células indenes a distribuição de fosfatidilserina se faz primariamente no folheto interno da membrana plasmática. Durante o processo de apoptose esse lipídio se expõe no folheto externo da membrana. O novo posicionamento da fosfatidilserina serve como sinalizador para que células fagocíticas das proximidades englobem os fragmentos celulares e completem o processo de degradação. Durante a apoptose ocorrem alterações características no núcleo celular graças à ativação de endonucleases que degradam o DNA. Como resultado, o núcleo torna-se picnótico e a cromatina se condensa nas porções adjacentes à membrana nuclear. Finalmente, o núcleo entra em colapso e se fragmenta. Simultaneamente, as bolhas que se formam no citoplasma separam a célula em fragmentos circundados por membrana, contendo partes do núcleo e organelas intactas (corpos apoptóticos). Os restos celulares são fagocitados pelos macrófagos teciduais ou células adjacentes⁽¹⁴⁾.

Um dos aspectos que distingue a apoptose da necrose é, nesta, a preservação da integridade da membrana plasmática que evita a liberação dos constituintes celulares para o meio extracelular e, conseqüentemente, a quimiotaxia e a ativação de células fagocíticas. O fenômeno da apoptose é mais difícil de ser detectado nos espécimes de biopsia hepática, pois suas alterações morfológicas se processam rapidamente, entre 2 a 4 horas e os corpos apoptóticos são rapidamente removidos pelos macrófagos teciduais. Essas peculiaridades justificam a ausência característica de resposta inflamatória no tecido adjacente

com preservação do microambiente celular^(11, 12, 14). Em condições patológicas, o grande número de células que sofre apoptose pode suplantar a capacidade fagocitária do fígado. Nessas circunstâncias, os corpos apoptóticos não-fagocitados sofrem processo secundário de necrose, com resposta inflamatória. Portanto, nessas circunstâncias, a elevação dos níveis séricos de aminotransferases pode ser observada, refletindo tanto aumento da apoptose, como necrose hepatocelular⁽¹⁰⁾.

MECANISMOS CELULARES DA APOPTOSE

Caspases

A apoptose pode ser deflagrada por estímulos externos através de receptores específicos na superfície celular chamados receptores da morte ou por estímulos internos de estresse intracelular, tais como lesão do DNA ou perturbações no ciclo celular ou nas vias metabólicas. Essas diferentes vias culminam com a ativação de proteases conhecidas como caspases, que jogam papel fundamental no processo de morte celular.

As caspases estão presentes no citosol sob a forma de pró-enzimas inativas, tornando-se ativas após clivagem proteolítica à altura de resíduos do ácido aspártico⁽¹⁴⁾. Pelo menos 14 membros dessa família já foram identificados nos mamíferos e estão envolvidos no processo de inflamação e apoptose. Uma vez ativada, a maioria das caspases tem a habilidade de catalizar a ativação de múltiplos outros membros dessa família, resultando em amplificação da cascata proteolítica. Alguns membros, tais como a caspase-8, ocupam posição proximal na cascata proteolítica e agem como reguladores e iniciadores, enquanto outros como a caspase-3, são mais distais e agem como efetores da fragmentação celular⁽¹⁰⁾. Contrariamente às proteases armazenadas nos lisossomos ou ativadas no citosol pelo cálcio, que têm espectro amplo de substratos inespecíficos, as caspases têm substratos bem restritos, o que lhes assegura um processo seletividade e especificidade no processo de proteólise. Tais substratos incluem proteínas envolvidas no reparo de danos e na replicação do DNA, no ciclo celular, na sinalização de transdução e na manutenção da integridade da estrutura celular. O ataque a todos esses alvos impede o reparo quando se rompe toda a estrutura do citoesqueleto e do núcleo, levando a desestruturação da célula^(7, 14). Em muitos modelos de lesão hepática, a inibição das caspases freqüentemente impede a apoptose, o que as torna alvos atraentes para uma estratégia farmacológica, quando, na patogênese da doença, o processo de apoptose esteja envolvido.

Mecanismos de ativação das caspases: receptores da morte e disfunção mitocondrial

Um dos mecanismos pelos quais a apoptose pode ser deflagrada é através dos receptores da morte presentes na superfície

celular, que são ativados em resposta ao acoplamento de ligantes específicos. A maioria identificada dos receptores da morte é membro da superfamília de receptores para o fator de necrose tumoral (FNT) e é caracterizada por apresentar porção extracelular rica em cisteína e uma região citoplasmática, chamada cadeia da morte ("death domain"), essencial para transdução intracelular do sinal de morte. Entre esses receptores, um dos mais estudados e melhor caracterizados é o receptor Fas (CD95 ou APO-1), abundantemente expresso no fígado e cuja importância na fisiopatologia hepática e na homeostasia tem sido amplamente documentada em diversas observações^(2, 7).

Quando o ligante-Fas se acopla ao receptor Fas, as moléculas individuais do receptor se trimerizam formando agregado de cadeias da morte. Este permite que as mesmas se liguem a uma proteína adaptadora presente no citosol, chamada cadeia da morte associada ao Fas ("Fas-associated death domain", FADD). A ligação desse complexo à pro-caspase-8 resulta na ativação dessa enzima por clivagem proteolítica. A caspase-8 pode então, diretamente ou pela via mitocondrial, ativar a caspase-3 (caspase efetora) (Figura 1).

O receptor-Fas é expresso em uma variedade de células, incluindo células epiteliais, hematopoiéticas e linfócitos B e T ativados. O padrão de expressão tecidual do ligante Fas é mais restrito, sendo expresso nos linfócitos T maduros CD4+ e CD8+ e nas células "natural killer" ativadas. A expressão simultânea de receptor-Fas e ligante-Fas em linfócitos maduros ativados, pode representar mecanismo de autolimitação da resposta imunológica⁽⁹⁾. No fígado, o receptor-Fas é expresso nos hepatócitos, colangiócitos, células

estelares ativadas e células de Kupffer. A ativação da caspase-8 via receptor-Fas é importante mecanismo iniciador da apoptose dos hepatócitos em condições fisiológicas e patológicas, sendo de extrema relevância na fisiopatologia de diversas doenças hepáticas⁽²⁾. Em condições normais, os hepatócitos expressam baixos níveis de receptores-Fas. Citocinas inflamatórias, tais como a interleucina-1, ou a presença de estresse oxidativo, que resulta na lesão de DNA e ativação do *p53*, podem aumentar a expressão dos receptores-Fas, tornando as células mais suscetíveis à apoptose pelo sistema Fas^(2, 7). Simultaneamente, o estresse oxidativo aumenta a expressão do ligante-Fas, o que pode levar a processo conhecido como "fratricídio", no qual hepatócitos vizinhos podem se destruir uns aos outros pela indução da apoptose⁽⁴⁾.

Recentemente, identificou-se uma expressão significativamente reduzida do receptor-Fas em formas agressivas de hepatocarcinoma, especialmente em tumores pouco diferenciados e que cursam com invasão da veia porta, ou extracapsulares. A perda da expressão do receptor-Fas em tais tumores, provavelmente reflete mecanismo de adaptação para evitar a morte das células tumorais pelo sistema imune⁽²⁾.

Além dos receptores da morte, a apoptose pode também ser deflagrada por sinais de estresse intracelular que resultem em disfunção mitocondrial, tais como lesão do DNA (via gene *p53*), alterações nas vias metabólicas (aumento do cálcio intracelular, redução do pH, estresse oxidativo), drogas, toxinas ou privação dos fatores de crescimento. Na presença de sinais de estresse intracelular ocorre a translocação de proteínas pró-apoptóticas (Bax, Bid, etc) do citosol para a mitocôndria. Essas proteínas são membros da família de proteínas *Bcl-2* que exercem importante função reguladora da apoptose, como será discutido adiante. A translocação das proteínas pró-apoptóticas para a mitocôndria resulta na liberação para o citosol do citocromo-c, presente no espaço existente entre a membrana mitocondrial externa e interna. No citosol, o citocromo-c forma um complexo com o fator ativador da apoptose 1 ("apoptosis-activating factor 1, apaf-1"), levando à ativação da caspase-9, que ativa caspases efetoras. Portanto, a ativação das caspases pode ser desencadeada via receptores da morte ou via disfunção mitocondrial, com liberação do citocromo-c (Figura 1).

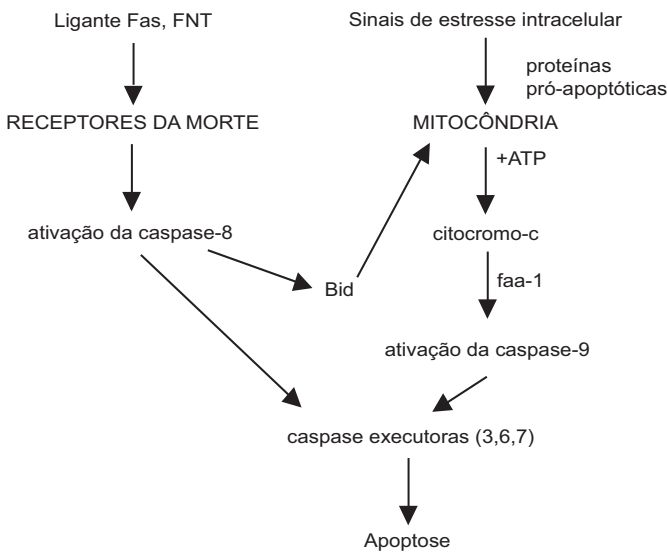


FIGURA 1 – Indução da apoptose pela via receptores da morte e por disfunção mitocondrial.

FNT = fator de necrose tumoral; faa-1 = fator ativador da apoptose 1. Adaptado de KAPLOWITZ⁽⁵⁾.

O controle genético da apoptose

Um número crescente de genes tem sido identificado como capazes de influenciar o processo da apoptose. Entre eles destaca-se a família das proteínas *Bcl-2*, que desempenha papel crítico na regulação da apoptose em condições fisiológicas ou patológicas. Pelo menos 15 membros dessa família já foram identificados nos mamíferos. Algumas dessas proteínas, como *Bcl-2* e *Bcl-XL*, *Bcl-w*, *Mcl-1* e *A1* são anti-apoptóticas, enquanto outras, tais como a Bax, Bad e Bid são pró-apoptóticas⁽¹⁰⁾.

Muitos membros dessa família residem na membrana externa da mitocôndria, na membrana nuclear e no retículo endoplasmático. Na mitocôndria, distribuem-se focalmente, nos locais de contato entre a membrana interna e externa. Três funções têm sido descritas para essas proteínas: dimerização, atividade formadora de poro ou canal de íons, e ligação a outras proteínas. A formação de heterodímeros entre proteínas agonistas e antagonistas, pode inibir a apoptose pela neutralização das agonistas ou promover a apoptose pelo deslocamento de fatores pró-apoptóticos ligados a antagonistas, como por exemplo, o fator-1 ativador da apoptose 1^(7, 14).

Os principais antagonistas da apoptose, *Bcl-2* e *Bcl-X_L*, localizam-se, principalmente, na membrana mitocondrial⁽¹⁰⁾. Essas proteínas são capazes de formar poros condutores de íons em membranas sintéticas⁽¹⁴⁾. Acredita-se que um dos mecanismos pelos quais elas mantêm a homeostasia celular, seja o de regulação da permeabilidade das membranas nas quais se distribuem. Recentemente, demonstrou-se que a *Bcl-2* bloqueia a penetração nuclear de perforina e granzime, substâncias liberadas pelos linfócitos T citotóxicos contra seus alvos e que podem ser ativadoras de caspases. Os membros pró-apoptóticos da família *Bcl-2* são normalmente encontrados no citosol e quando ativados, se translocam para a mitocôndria, alterando a permeabilidade da membrana dessa organela, permitindo o extravazamento de proteínas pró-apoptóticas, tais como o citocromo-c, o fator indutor da apoptose, DNase e pró-caspases 2 e 9⁽⁷⁾.

A mitocôndria no processo da apoptose

A mitocôndria participa da manutenção de funções celulares vitais, tais como respiração celular e síntese de ATP, modulação do estado redox da célula, regulação osmótica, controle do pH, homeostasia do cálcio no citosol e sinalização intra-celular. Paradoxalmente, a mitocôndria guarda no espaço intermembranoso substâncias letais, capazes de deflagrar o processo de morte celular, entre as quais figura o citocromo-c. Quando liberado da mitocôndria, o citocromo-c se associa a duas proteínas presentes no citosol – a apaf-1 e a pró-caspase-9 – e na presença de ATP, ativa a caspase-9. A caspase-9, por sua vez, ativa as pró-caspases-3 e 7, que executam o processo de apoptose. A caspase-3 pode amplificar a cascata de proteólise pela ativação da caspase-8 e pela clivagem da proteína anti-apoptótica *Bcl-2* que, normalmente, garante a integridade da membrana mitocondrial^(6, 10).

Para a manutenção da integridade celular é necessário que os componentes pró-apoptóticos, presentes no interior da mitocôndria, não sejam liberados para o citosol. Existe na membrana mitocondrial interna uma estrutura protéica chamada poro de transição de permeabilidade mitocondrial ("mitochondrial permeability transition pore", MPTP), que se mantém habitualmente fechado, assegurando a sobrevivência celular. Seu fechamento é facilitado pelo magnésio

intracelular, pelo potencial elevado da membrana mitocondrial, pela expressão das proteínas *Bcl-2* e *Bcl-X_L*, pela maior expressão da superóxido dismutase mitocondrial, rica em manganês, que atua como removedora de radicais superóxido, e pela translocação nuclear do fator nuclear -κB (NFκB)⁽¹²⁾.

Diferentes estímulos podem causar a abertura do poro de permeabilidade, resultando na morte celular pela ativação das caspases: a ligação do FNT-α, ligantes-Fas ou do fator de crescimento transformador-β1 aos respectivos receptores na membrana celular; a entrada de granzime-B, liberada pelos linfócitos T citotóxicos e facilitada pela perforina. A caspase-8 ativada cliva a proteína pró-apoptótica Bid presente no citosol, gerando um fragmento truncado dessa proteína, que se liga à mitocôndria, permeabilizando as suas membranas. A lesão do DNA celular pode intensificar a expressão do *p53* que favorece maior expressão da proteína pró-apoptótica Bax que, por sua vez, causa abertura do poro mitocondrial. Outros estímulos para a abertura desse poro incluem: maior formação de espécies reativas de oxigênio, aumento do cálcio intra-mitocondrial, ácidos biliares hidrofóbicos e algumas drogas⁽¹²⁾.

Uma das conseqüências da abertura do poro de permeabilidade é a expansão da matriz mitocondrial devido a sua hiperosmolaridade. A membrana mitocondrial interna, que apresentando várias pregas, pode acomodar o aumento do volume da matriz, enquanto a membrana externa, que é esférica, se rompe, liberando componentes pró-apoptóticos, como o fator indutor da apoptose e o citocromo-c. Outra conseqüência é a nova entrada de prótons na matriz, causando colapso no potencial de membrana mitocondrial e comprometendo a síntese de ATP^(3, 12).

A abertura do poro de permeabilidade mitocondrial causa, simultaneamente, ativação das caspases (potencialmente levando à apoptose) e depleção de ATP (potencialmente causando necrose). Essa disputa entre a ativação das caspases e a depleção de ATP irá orientar a morte celular, seja por apoptose, seja por necrose. A disputa pode ser vencida pelas caspases quando estas são diretamente ativadas pelos receptores da superfície celular ou granzime B e quando o poro de permeabilidade se abre em apenas algumas mitocôndrias, permitindo que as demais sintetizem ATP. Nestas circunstâncias, a célula entra no processo de apoptose. Por outro lado, se o poro de permeabilidade é aberto rapidamente e a célula não pode obter energia suficiente a partir da glicólise anaeróbia, a depleção do ATP impede que a apoptose de instale (processo ativo que requer energia) e a célula morre por necrose⁽¹²⁾.

A APOPTOSE NAS DOENÇAS HEPATOBILIARES

Além de assegurar a manutenção fisiológica da população de hepatócitos e células não-parenquimatosas no fígado, a apoptose participa na patogênese de diversas doenças hepatobiliares (Quadro 1)⁽¹⁰⁾. Selecionamos alguns exemplos de doenças hepáticas nas quais a apoptose representa um dos mecanismos de lesão tecidual.

QUADRO 1 – Doenças hepáticas com alteração na regulação da apoptose⁽¹¹⁾

AUMENTO DA APOPTOSE
Hepatites virais agudas e crônicas
Doenças colestáticas crônicas
Hepatite autoimune
Rejeição do enxerto hepático
Lesão associada ao álcool e substâncias químicas
Lesão de isquemia-reperfusão
Doenças metabólicas (doença de Wilson, sobrecarga de ferro)
REDUÇÃO DA APOPTOSE
Hepatocarcinoma
Colangiocarcinoma

Hepatites virais

A presença de corpos apoptóticos em espécimes de biopsia hepática de portadores de hepatites virais é achado comum e ilustra a participação da apoptose como mecanismo de morte celular nessas infecções. A apoptose representa defesa do hospedeiro contra a infecção viral pela qual a morte da célula infectada previne a disseminação do vírus. Durante a infecção viral o principal mecanismo efetor de morte das células infectadas pelo vírus é mediado pelos linfócitos T citotóxicos e células "natural killers".

A apoptose via sistema Fas tem sido documentada como um dos mecanismos de citotoxicidade pelos quais os linfócitos T citotóxicos induzem à morte dos hepatócitos nas hepatites virais. Para assegurar o sucesso dessa função, visto que muitos vírus desenvolvem estratégias anti-apoptóticas, produzindo proteínas capazes de inativar o *p53* ou estimular maior expressão do *Bcl-2*, os linfócitos T citotóxicos dispõem de diferentes mecanismos capazes de levar à morte celular por apoptose, incluindo o sistema Fas e sistema do FNT- α , bem como a liberação de perforina e granzime B^(12, 14). Os grânulos de perforina expulsos dos linfócitos T formam poros na membrana da célula alvo, facilitando a entrada de granzime B, que é uma protease capaz de clivar e ativar as pró-caspases para produção de caspases. Esses três mecanismos utilizados pelos linfócitos T convergem para a ativação das caspases e, conseqüentemente, para a apoptose da célula atingida (Figura 2).

O papel das proteínas virais na modulação da apoptose vem sendo intensamente investigado. Estudos experimentais sugerem que o produto do gene X do vírus da hepatite B, induzindo o FNT, sensibiliza as células hepáticas para a apoptose⁽⁸⁾. Também o vírus da hepatite C pode modular a apoptose em diferentes etapas. Vários estudos têm demonstrado que a proteína cerne (core) deste vírus pode ligar-se à cadeia de morte do receptor do FNT-1, aumentando a sensibilidade da célula à apoptose induzida por esta citocina⁽¹⁰⁾.

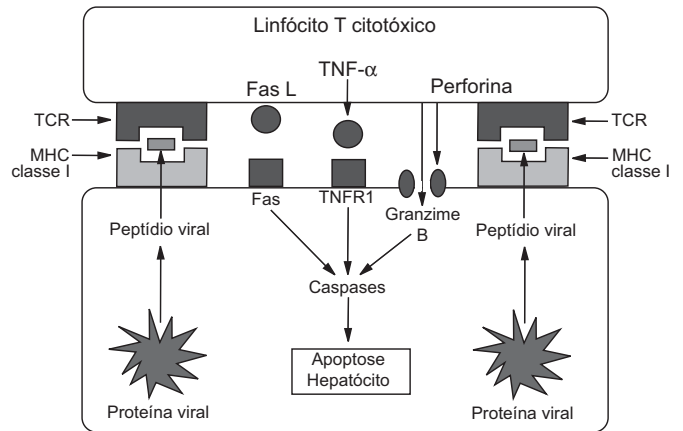


FIGURA 2 – Mecanismos de morte celular nas hepatites virais. O receptor do linfócito T citotóxico (TCR) reconhece os peptídeos virais apresentados pelas moléculas do complexo maior de histocompatibilidade de classe I (MHC). Os linfócitos T citotóxicos expressam ligantes-Fas (FasL) na sua superfície, expressam ou liberam fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e liberam perforina e granzime B. A perforina forma "poros" na membrana celular por onde a granzime B penetra ativando as caspases. A interação entre o ligante-Fas (FasL) e o TNF- α com seus receptores também resulta na ativação das caspases e conseqüente apoptose da célula infectada. Adaptado de PESSAIRE et al.⁽¹²⁾.

Doenças colestáticas

A apoptose via sistema Fas participa da lesão dos colangiócitos e dos hepatócitos nas doenças colestáticas crônicas. A apoptose das células epiteliais dos ductos biliares é mediada pela ação citotóxica das células T ativadas, à semelhança do que ocorre nas hepatites virais^(5, 9). A lesão ductal resulta em prejuízo do fluxo biliar e conseqüente retenção de sais biliares hidrofóbicos, tóxicos para o fígado. Os sais biliares tóxicos são capazes de estimular diretamente os receptores-Fas, deflagrando a apoptose dos hepatócitos⁽²⁾. O efeito protetor oferecido pelo ácido ursodeoxicólico nas doenças colestáticas crônicas parece estar associado, em parte, a sua habilidade de inibir a apoptose pela via mitocondrial pela manutenção da integridade da membrana mitocondria⁽¹³⁾. Esses estudos sugerem que o ácido ursodeoxicólico pode ter aplicabilidade terapêutica em outras condições associadas à apoptose excessiva.

Doença hepática alcoólica

A apoptose é mecanismo importante nas lesões celulares induzidas pelo álcool, segundo estudos clínicos e experimentais. Os mecanismos envolvidos na apoptose mediada pelo álcool são multifatoriais,

compreendendo o estresse oxidativo com peroxidação aumentada de lipídios, sobrecarga de ferro e lesões mediadas pelos receptores de morte (Fas e FNT)⁽¹¹⁾. Os hepatócitos de pacientes com lesão hepática pelo álcool apresentam expressão aumentada de ligantes-Fas, o que propicia que essas células possam induzir a morte de hepatócitos vizinhos pela expressão de receptores-Fas (fratricídio).

Transplante hepático

Alterações na regulação da apoptose desempenham papel importante em diferentes processos patológicos que ocorrem no cenário do transplante hepático. A rejeição do enxerto é resposta imunológica na qual a célula T citotóxica induz a apoptose das células alvo (epitélio dos ductos biliares e hepatócitos) pela via perforina-granzime B e sistema Fas. A apoptose está envolvida na lesão celular durante os episódios de rejeição aguda bem como na ductopenia observada na rejeição crônica. As drogas imunossupressoras comumente utilizadas no pós-transplante, tais como os glicocorticóides, ciclosporina e tacrolimus são capazes de induzir a apoptose das células T, contribuindo, assim, para a aceitação do enxerto. Lamentavelmente, o uso de tais imunossupressores favorece também a instalação de complicações graves como infecções e o risco aumentado de neoplasias. Tais complicações poderiam ser evitadas pela indução de tolerância específica aos antígenos do enxerto, preservando a reatividade aos demais antígenos. A possibilidade de se induzir tolerância imunológica pela expressão de ligantes-Fas pelas células do enxerto, e conseqüente apoptose dos linfócitos T citotóxicos, constituem hoje área de intensa investigação⁽¹⁰⁾.

Outras condições associadas ao transplante hepático nas quais a apoptose participa no mecanismo fisiopatológico, incluem a lesão de isquemia e reperfusão do enxerto e o aparecimento de neoplasias e doenças linfoproliferativas pós-transplante. A apoptose excessiva das células endoteliais sinusoidais submetidas a preservação em baixas temperaturas, com posterior reperfusão, compromete significativamente a viabilidade do enxerto. O papel da apoptose na lesão de isquemia-reperfusão é ilustrado pelo efeito protetor da adição de agentes anti-apoptóticos à solução de preservação em estudos experimentais⁽¹⁾. Pacientes submetidos a imunossupressão após transplante hepático, têm frequência aumentada de doenças linfoproliferativas. O desenvolvimento dessas doenças está associado à intensidade de imunossupressão e à presença de infecção pelo vírus Epstein-Barr (VEB), que pode existir em forma latente nos linfócitos B e a ação dos linfócitos T citotóxicos e das células "natural killer" é fundamental no controle da proliferação das células B infectadas. O VEB é capaz de inibir a apoptose das células B, tornando-as mais resistentes à apoptose pela expressão de proteínas virais ou pela expressão aumentada da proteína anti-apoptótica *Bcl-2*⁽¹⁰⁾.

Concluindo, a morte celular por apoptose é evento comum nas diferentes doenças hepáticas, podendo representar papel importante em sua patogênese. As caspases ocupam função de destaque na execução do programa de morte celular. A possibilidade de inibição ou indução farmacológica da apoptose abre grande perspectiva no tratamento das doenças hepatobiliares cujas lesões possam refletir a implicação desse mecanismo de morte celular.

Parolin MB, Reason IJM. Apoptosis as a mechanism of tissue injury in hepatobiliary diseases. *Arq Gastroenterol* 2001;38(2):138-144.

ABSTRACT – Background – Cell death by apoptosis is a fundamental biologic process involved in many physiologic and pathophysiologic processes in the liver. Objective – To review the process of apoptosis, its cellular mechanisms, its regulation by external factors, and its role in pathophysiologic process and specific diseases of the liver. Conclusion – An understanding of the cellular mechanisms of apoptosis and their dysregulation during pathophysiologic disturbances will help in understanding human liver diseases. The modulation of apoptosis may lead to novel therapeutic strategies for the treatment of a wide range of liver diseases.

HEADINGS – Apoptosis. Liver diseases. Bile duct diseases.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Clavien PA. Sinusoidal endothelial cell injury during hepatic preservation and reperfusion. *Hepatology* 1998;28:281-5.
2. Faubion WA, Gores GJ. Death receptors in liver biology and pathobiology. *Hepatology* 1999;29:1-4.
3. Feldmann G, Haouzi D, Moreau A, Durand-Schneider A-M, Bringuier A, Berson A, Mansouri A, Fau D, Pessayre D. Opening of the mitochondrial permeability transition pore causes matrix expansion and outer membrane rupture in Fas-mediated hepatic apoptosis in mice. *Hepatology* 2000;31:674-83.
4. Galle PR, Hofmann WJ, Walczak H, Schaller H, Otto G, Stremmel W, Krammer PH, Runkel L. Involvement of the CD95 (APO-1/Fas) receptor and ligand in liver damage. *J Exp Med* 1995;182:1223-30.
5. Harada K, Ozaki S, Gershwin ME, Nakanuma Y. Enhanced apoptosis relates to bile duct loss in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1997;26:1399-405.
6. Kaplowitz N. Cell death at the millennium. Implications for liver diseases. *Clin Liver Dis* 2000;4:1-23.
7. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26:18.
8. Kim H, Lee H, Yun Y. X-gene product of hepatitis B virus induces apoptosis in liver cells. *J Biol Chem* 1998;273:381-5.
9. Patel T, Gores G. Apoptosis and hepatobiliary disease. *Hepatology* 1995;21:1725-41.
10. Patel T, Gores GJ. Apoptosis in liver transplantation: a mechanism contributing to immune modulation, preservation injury, neoplasia, and viral disease. *Liver Transplant Surg* 1998;4:42-50.
11. Patel T. Apoptosis in hepatic pathophysiology. *Clin Liver Dis* 2000;4:295-317.
12. Pessayre D, Haouzi D, Fau D, Robin MA, Mansouri A, Berson A. Withdrawal of life support, altruistic suicide, fratricidal killing and euthanasia by lymphocytes: different forms of drug-induced hepatic apoptosis. *J Hepatol* 1999;31:760-70.
13. Rodrigues CMP, Fan G, Xiaoming M, Kren BT, Steer CJ. A novel role for ursodeoxycholic acid in inhibiting apoptosis by modulating mitochondrial membrane perturbation. *J Clin Invest* 1998;101:2790-9.
14. Thompson CB. Apoptosis. In: Paul WE, editor. *Fundamental immunology*. 4. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999. p.813-29.

Recebido em 15/9/2000.
Aprovado em 1/2/2001.