

Mecanismos de protección de estrategias terapéuticas basados en la inhibición de PPAR γ en el trasplante de hígados esteatósicos

Araní Casillas-Ramírez,** Mónica Jiménez-Castro B,* Marta Massip-Salcedo,*[§]
María Elías-Miró,* Carmen Peralta*,[§]

RESUMEN

Introducción: La esteatosis es la causa del mayor número de órganos no aptos para trasplante hepático, ya que los hígados esteatósicos toleran peor que los normales la lesión por isquemia-reperfusión. Se ha reportado previamente el papel clave que desempeña el receptor de peroxisoma proliferador-activado gamma en la vulnerabilidad de los injertos esteatósicos frente a la isquemia-reperfusión en el trasplante hepático y los beneficios de los antagonistas del peroxisoma proliferador-activado gamma en esas condiciones; sin embargo, se conoce poco acerca de sus mecanismos protectores subyacentes. **Objetivos:** Investigar si los antagonistas del peroxisoma proliferador-activado gamma protegen a los injertos esteatósicos a través de regular el estrés del retículo endoplásmico y el estrés oxidativo. **Material y métodos:** Se realizó un trasplante hepático con injertos esteatósicos utilizando ratas de la cepa Zucker. El peroxisoma proliferador-activado gamma fue alterado farmacológicamente. **Resultados:** La expresión de marcadores del retículo endoplásmico en injertos esteatósicos mostró niveles basales de expresión, y consecuentemente, la administración del antagonista del peroxisoma proliferador-activado gamma tampoco indujo cambios en la expresión. Por otro lado, el tratamiento con el antagonista del peroxisoma proliferador-activado gamma resultó en una reducción de la peroxidación lipídica y nitrotirosinas, indicando una disminución en la formación de peroxinitritos. **Conclusiones:** La inhibición farmacológica del peroxisoma proliferador-activado gamma protege a los injertos esteatósicos a través de reducir el estrés oxidativo.

Palabras clave: Trasplante hepático, hígado esteatósico, isquemia-reperfusión, PPAR γ , estrés del retículo endoplásmico, estrés oxidativo.

ABSTRACT

Background: Numerous steatotic livers are discarded as unsuitable for transplantation because of their poor tolerance of ischemia-reperfusion. The key role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in the vulnerability of this type of liver to ischemia-reperfusion injury associated with transplantation and the benefits of peroxisome proliferator-activated receptor gamma antagonists under these conditions have been previously reported. However, the mechanisms responsible for such effect are poorly understood. **Objective:** This study examines whether the benefits of peroxisome proliferator-activated receptor gamma antagonists in steatotic liver transplantation could be explained by the regulation of endoplasmic reticulum stress and oxidative stress. **Material and methods:** Steatotic livers were transplanted in Zucker rats. The peroxisome proliferator-activated receptor gamma was altered pharmacologically and endoplasmic reticulum stress and oxidative stress markers were measured. **Results:** Protein expression of endoplasmic reticulum stress markers in steatotic livers subjected to

Recibido: 6 febrero 2013. **Aceptado:** 3 mayo 2013.

* Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, España.

† Campus de la Salud «Dr. Rodolfo Torre Cantú», Universidad La Salle Victoria, Cd. Victoria, México.

§ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD), Barcelona, España.

either transplantation without treatment or transplantation with administration of peroxisome proliferator-activated receptor gamma antagonist was at baseline levels. On the other hand, treatment with peroxisome proliferator-activated receptor gamma antagonist significantly reduced lipid peroxidation and nitrotyrosine levels when compared with the transplantation group without treatment, indicating a reduction in peroxynitrite levels. Conclusions: Our results indicate that strategies based on inhibition of peroxisome proliferator-activated receptor gamma protect steatotic liver grafts against ischemia-reperfusion through a reduction in oxidative stress.

Key words: Liver transplantation, fatty liver, ischemia-reperfusion, PPAR γ , endoplasmic reticulum stress, oxidative stress.

INTRODUCCIÓN

La lesión por isquemia-reperfusión (I/R) persiste como una complicación seria en la práctica clínica, ya que está asociada con el riesgo de disfunción del injerto y con falla hepática posterior a la cirugía en el trasplante hepático. Actualmente se estima que la esteatosis hepática está presente en más de 50% de los donantes cadavéricos y se le ha reconocido como una variable crucial en el donante para predecir el resultado post-trasplante.^{1,2} El uso de injertos hepáticos esteatóticos en el trasplante supone un riesgo añadido, ya que estos hígados toleran peor que los no esteatóticos la lesión por isquemia-reperfusión. La presencia de esteatosis moderada aumenta la incidencia de falla primaria y disminuye la supervivencia del paciente después de un trasplante hepático. Además, la esteatosis es la causa del mayor número de órganos no aptos para el trasplante, acentuando así la problemática del banco de órganos.³ Por lo tanto, es evidente la necesidad de minimizar los efectos adversos de la lesión por isquemia-reperfusión en el trasplante de injertos hepáticos esteatóticos.

Nuestro grupo de investigación ha reportado anteriormente que la reducción en los niveles del peroxisoma proliferador-activado gamma (PPAR γ) protege a los injertos hepáticos esteatóticos frente a la lesión por isquemia-reperfusión. En este sentido, el tratamiento con un antagonista del PPAR γ redujo la lesión hepática en injertos esteatóticos y su efectividad fue específica para este tipo de hígado, ya que no se observó ningún efecto protector en injertos no esteatóticos.⁴ Sin embargo, los mecanismos moleculares involucrados en el efecto terapéutico de esta estrategia no se han explicado completamente.

En respuesta a una sobrecarga o estrés del retículo endoplásmico (ERE), se inicia un programa transcripcional denominado respuesta a mal ensamblaje proteico (*unfolded protein response* o UPR por sus siglas en inglés) diseñado específicamente para disminuir la tasa de traducción o síntesis de proteínas, y prevenir con ello una acumulación posterior de proteínas mal ensambla-

das y una disrupción de la homeostasis en el retículo endoplásmico. La UPR característicamente presenta tres sensores de ERE compuestos por proteínas transmembrana del retículo: la proteína reclutadora de inositol 1 (*inositol requiring 1* o IRE-1 por sus siglas en inglés), la proteína cinasa del retículo endoplásmico (*protein kinase-like endoplasmic reticulum kinase* o PERK por sus siglas en inglés) y el factor activador de la transcripción 6 (*activating transcription factor 6* o ATF6 por sus siglas en inglés). Estas proteínas normalmente se encuentran en estado inactivo en la membrana del retículo endoplásmico unidas a chaperonas residentes en el retículo endoplásmico, particularmente a la proteína de 78 kDa regulada por glucosa/proteína de unión a inmunoglobulina (78-kDa *glucose regulated/binding immunoglobulin protein* o GRP78 por sus siglas en inglés). Cuando el daño celular es excesivo, el ERE es capaz de inducir vías de muerte celular.⁵ Actualmente, el ERE está siendo considerado como un componente importante de la respuesta inflamatoria hepática asociado con el proceso de isquemia-reperfusión en hígados esteatóticos.^{6,7} Adicionalmente se ha reportado que la modulación farmacológica del PPAR γ afecta la activación del ERE en el tejido hepático, en modelos experimentales de obesidad y diabetes,^{8,9} pero no se sabe si esto también sucede en condiciones de isquemia-reperfusión asociada con el trasplante de hígados esteatóticos.

El estrés oxidativo es la consecuencia de un desequilibrio entre sustancias antioxidantes y prooxidantes, tales como los radicales libres de oxígeno (RLO). En los diferentes modelos de hígado esteatótico sometidos a isquemia normotérmica o a trasplante hepático, se ha demostrado que la mayor susceptibilidad de ese tipo de hígado frente a la lesión por isquemia-reperfusión puede deberse a su elevada sensibilidad frente a los radicales libres de oxígeno (RLO).^{4,10} Varias investigaciones indican que existe una relación entre el PPAR γ y el estrés oxidativo en modelos de obesidad, esteatosis y de isquemia-reperfusión hepática.¹¹⁻¹³ Por lo tanto, no puede descartarse la posibilidad de que los beneficios de los fármacos antagonistas del PPAR γ en el trasplante hepático de injertos esteatóticos puedan ser explicados a través de modular el estrés oxidativo.

Teniendo en cuenta estas observaciones, en el presente estudio se investigó si los beneficios de los antagonistas del PPAR γ en el trasplante hepático de injertos esteatósicos podrían ser explicados a través de la regulación del ERE y del estrés oxidativo.

MATERIAL Y MÉTODOS

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

En el presente estudio se utilizaron como animales de experimentación, ratas macho de la cepa Zucker homocigotas (obesas [Ob]) y heterocigotas (delgadas [Ln]) (Iffa-Credo, L'Abresle, France) de 10 a 11 semanas de edad. A esa edad, las ratas Ob presentaban infiltración de grasa moderada, de tipo macrovesicular y microvesicular en el citoplasma de los hepatocitos, mientras que los animales Ln no mostraron evidencia de esteatosis hepática.¹⁴ Los procedimientos se llevaron a cabo bajo anestesia inhalatoria con isoflurano (Abott Laboratories, Chicago, IL., USA).⁴ El presente estudio se realizó de acuerdo con las normas reguladoras de la Unión Europea para modelos de experimentación animal (Directiva 86/609/ECC). Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en los grupos experimentales que se describen a continuación.

DISEÑO EXPERIMENTAL

En el cuadro I se presenta el diseño experimental del presente estudio. Los procedimientos quirúrgicos que se realizaron fueron los siguientes:

Sham (n = 6 ratas, 6 Ob): los animales se sometieron a anestesia y laparotomía transversal.

Trasplante hepático (TH) (n = 12 ratas, 6 trasplantes): los hígados esteatósicos extraídos de ratas Zucker Ob se perfundieron y se preservaron con solución de preservación fría (Universidad de Wisconsin) durante seis horas. A continuación se realizó el trasplante hepático ortotópico estándar utilizando ratas Zucker Ln como receptores, de acuerdo con la técnica de doble *cuff* sin reconstrucción de la arteria hepática de Kamada.¹⁵

Al final del procedimiento quirúrgico, se recogieron muestras de plasma y tejido hepático después de cuatro horas de reperusión. Se evaluó la lesión hepática a través de la determinación de transaminasas en plasma. Para investigar los mecanismos de protección de los antagonistas del PPAR γ , se determinó la expresión de marcadores de ERE y de estrés oxidativo en el tejido hepático. La duración de los periodos de isquemia fría y de reperusión se han basado en estudios anteriores en los que observó que seis horas de isquemia fría es suficiente para inducir lesión por isquemia-reperusión en injertos esteatósicos

Cuadro I. Diseño experimental del presente estudio.

Diseño experimental		
Grupos experimentales		
1. Sham (n = 6, 6 Ob)	Animales sometidos a anestesia y laparotomía transversal	
2. Trasplante hepático (TH) (n = 12, 6 trasplantes, 6 ratas Ob donantes y 6 ratas Ln receptoras).	Los hígados se preservaron en solución Universidad de Wisconsin y se sometieron a trasplante.	
3. Trasplante hepático + antagonista del PPAR γ (TH+PPAR γ antagonista) (n = 12, 6 trasplantes, 6 ratas Ob donantes y 6 ratas Ln receptoras)	Igual que en el grupo 2, pero con administración previa en el donante de un antagonista del PPAR γ	
4. Trasplante hepático + agonista del PPAR γ (TH+PPAR γ agonista) (n = 12, 6 trasplantes, 6 ratas Ob donantes y 6 ratas Ln receptoras)	Igual que en el grupo 2, pero con administración previa en el donante de un agonista del PPAR γ	
Protocolo de administración de fármacos		
Fármaco	Dosis y tiempo de pretratamiento	
Antagonista del PPAR γ	GW9662	1 mg/kg, vía intraperitoneal, una hora antes del procedimiento quirúrgico en la rata donante
Agonista del PPAR γ	Rosiglitazona	3 mg/kg, vía intraperitoneal, una hora antes del procedimiento quirúrgico en la rata donante

sometidos a trasplante y es un tiempo de isquemia fría normalmente utilizado en la práctica clínica. Las cuatro horas de perfusión están dentro del margen de tiempo en el que se observan los máximos niveles en los parámetros de lesión hepática.^{4,14,16-18} Por lo tanto, estas condiciones experimentales se consideraron apropiadas para evaluar los mecanismos de protección del antagonista del PPAR γ en el trasplante de hígados esteatósicos. Las dosis y los tiempos de pretratamiento señalados para la administración de los fármacos utilizados en el presente estudio se seleccionaron con base en los estudios previos de otros autores^{19,20} y los ensayos preliminares realizados por nuestro grupo.⁴

DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS

Se midió la actividad de las enzimas aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (AST) en el plasma sanguíneo, mediante un kit comercial (RAL, Barcelona, España). También se determinaron malondialdehído (MDA) y nitrotirosinas como parámetros indirectos de estrés oxidativo y de la formación de peroxinitrito respectivamente en muestras de tejido hepático, siguiendo los protocolos descritos previamente.¹⁴

WESTERN BLOT

Se determinaron los marcadores del ERE en tejido hepático siguiendo los procedimientos descritos previamente⁷ y utilizando anticuerpos dirigidos contra las siguientes proteínas: GRP78, factor de transcripción homólogo a C/EBP (*C/EBP homologous protein-10* o CHOP por sus siglas en inglés), PERK total y fosforilada, factor eucariótico de iniciación 2 α (*eukaryotic initiation factor 2 α* o eIF2 α por sus siglas en inglés) total y fosforilado, activador del factor de transcripción 4 (ATF4), ATF6 α , ATF6 β , proteína ligadora 1 de la caja X (*X-box binding-protein 1* o XBP1 por sus siglas en inglés), β -actina (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, EUA) y el factor 2 asociado con el receptor de TNF (*TNF receptor-associated factor 2* o TRAF2 por sus siglas en inglés; *Cell Signaling Technology*, Danvers, EUA). La expresión de las proteínas fue cuantificada a través del programa de densitometría óptica *Quantity One* (Bio-Rad Laboratories, Hercules, EUA). Los resultados obtenidos se expresaron en unidades arbitrarias.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos están expresados como valor de la media \pm error estándar de la media y se compararon estadísticamente mediante un análisis de la varianza (ANOVA). En

seguida se determinó el nivel de significación estadística con un test Student-Newman-Keuls, considerando los datos significativamente diferentes cuando $p < 0.05$.

RESULTADOS

Tal y como se ha demostrado previamente⁴ en injertos esteatósicos, el tratamiento con el antagonista del PPAR γ (grupo TH + PPAR γ antagonista) resultó en una reducción en los niveles de transaminasas, en comparación con los valores observados en el grupo TH (*Figura 1*). Por el contrario, la administración de un agonista del PPAR γ (grupo TH + PPAR γ agonista) resultó en parámetros de lesión hepática mayores que los observados en el grupo TH (*Figura 1*).

Para investigar cuáles fueron los mecanismos de protección del antagonistas del PPAR γ en el trasplante hepático de injertos esteatósicos, en primer lugar, se evaluó el efecto del antagonista sobre la inducción en el tejido hepático de GRP78, un marcador clásico del ERE.⁷ Los resultados obtenidos mostraron que los niveles de GRP78 en los grupos TH y TH+PPAR γ antagonista fueron similares a los observados en el grupo Sham (*Figura 2A*).

Con base en estos resultados, a continuación se investigó si, en concordancia con GRP78, los tres sensores de ERE (ATF6, IRE1 y PERK) estaban inactivos en los injertos esteatósicos. El ATF6 es una proteína de 90 kDa (p90ATF6 α o p90ATF6 β) que durante el ERE es convertido en una proteína de 50 kDa (p50ATF6 α o p50ATF6 β).^{5,7} En los grupos TH y TH + PPAR γ antagonista se observaron niveles de p50ATF6 α (*Figura 2B*) y de p50ATF6 β (datos no mostrados) similares a aquellos observados en el grupo Sham. La activación del IRE1 se evaluó a través de la determinación de XBP1(s) y TRAF2. Al activarse IRE1, se induce su propiedad de endorribonucleasa y su acción se centra en desmembrar su sustrato, el mRNA de XBP1, eliminándole un pequeño intrón y produciendo una proteína más estable denominada XBP1(s).^{5,7} En los grupos TH y TH + PPAR γ antagonista se observaron niveles de XBP1(s) y de TRAF2 semejantes a los niveles registrados en el grupo Sham (*Figura 2C*). En respuesta al ERE, PERK es activada y fosforila al eIF2 α . La fosforilación de eIF2 α mejora la traducción de ATF4, lo cual a su vez, promueve la expresión del factor de transcripción CHOP.^{5,7} En los grupos TH y TH + PPAR γ antagonista se registraron niveles de PERK fosforilada, eIF2 α fosforilado, ATF4 y CHOP similares a los del grupo Sham (*Figura 2D*).

Se evaluó entonces, si la regulación en la formación de peroxinitrito, la forma predominante de radicales libres de oxígeno en injertos hepáticos esteatósicos,¹⁴ podría ser el mecanismo protector del antagonista del PPAR γ en

el trasplante hepático de injertos esteatósicos. En el grupo TH se observó un incremento en los niveles de MDA y de nitrotirosinas en comparación con el grupo Sham, lo cual indicó la presencia de peroxinitritos (Figura 3). En el grupo TH + PPAR γ antagonista se observó una reducción

en los niveles de MDA y nitrotirosinas en comparación con el grupo TH, indicando así, una reducción en los niveles de peroxinitrito (Figura 3).

DISCUSIÓN

Los efectos protectores de los antagonistas del PPAR γ sobre la lesión hepática en injertos esteatósicos sometidos a trasplante ya se han reportado previamente.⁴ En el presente estudio se proporciona información sobre los mecanismos de acción subyacentes a esos beneficios.

En las condiciones experimentales evaluadas en este estudio, no hubo inducción del ERE en injertos esteatósicos, por lo cual el ERE parece no ser relevante para la lesión por isquemia-reperfusión asociada con el trasplante de ese tipo de hígado. Por lo tanto, es de esperar que los beneficios del antagonista del PPAR γ no se vieran reflejados en cambios en los marcadores de ERE. Estos resultados contrastan con los datos encontrados en la literatura, los cuales indican una relación entre el PPAR γ y el ERE en modelos de obesidad y diabetes en ratones,^{8,9} así como también con aquellos estudios que señalan la implicación del ERE en la lesión por isquemia-reperfusión en hígados esteatósicos sometidos a isquemia normotérmica o trasplante hepático.^{6,7} Estas diferencias en resultados podrían ser explicados, al menos parcialmente, por las considerables diferencias que existen entre los modelos experimentales evaluados por otros autores y por el modelo usado en este estudio, los cuales incluyen, entre otros aspectos: el uso de modelos de obesidad o diabetes sin intervención quirúrgica, las especies animales que se usaron, el tipo de isquemia que se induce y los tiempos de preservación en frío.

Varios estudios han reportado que los mecanismos de señalización del PPAR γ implican la liberación de óxido nítrico (NO), el cual es beneficioso en otras patologías.^{21,22} En injertos hepáticos esteatósicos tiene lugar la inducción de PPAR γ ,⁴ lo que podría conducir a la generación de NO. Sin embargo, lo anterior puede ser perjudicial en ese tipo de injerto, ya que cuando el NO se combina con el superóxido se forman peroxinitritos. Esto podría estar sucediendo en nuestras condiciones de estudio, ya que se observaron altos niveles de radicales libres de oxígeno y la presencia de peroxinitritos en los hígados sometidos a trasplante. El poder oxidativo y los efectos citotóxicos de los peroxinitritos están bien documentados.²³

Tales observaciones podrían explicar los efectos adversos del PPAR γ en el trasplante hepático de injertos esteatósicos que se han reportado previamente.⁴ Los resultados de la presente investigación indican que la reducción en la formación de peroxinitrito podría ser el mecanismo

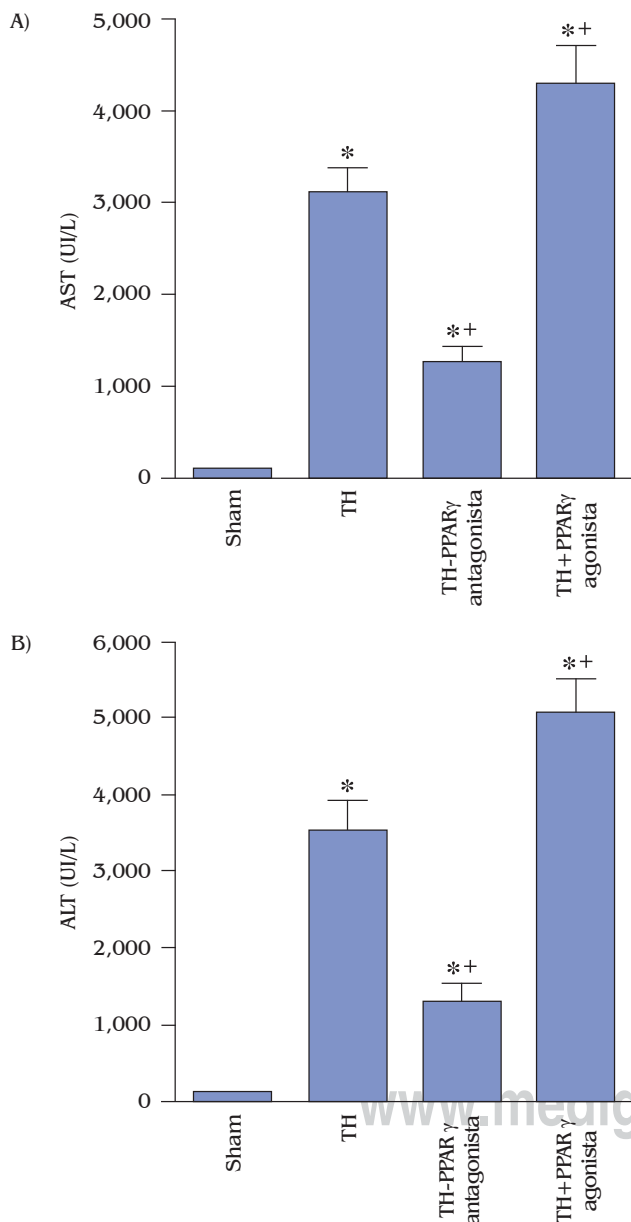


Figura 1. Efecto de la modulación farmacológica de PPAR γ sobre la lesión hepática en el trasplante de hígados esteatósicos. Se analizaron los niveles de transaminasas (A y B) en plasma, cuatro horas después del trasplante. Todos los trasplantes de cada grupo experimental fueron incluidos en cada determinación. *p < 0.05 vs grupo Sham, + p < 0.05 vs grupo TH.

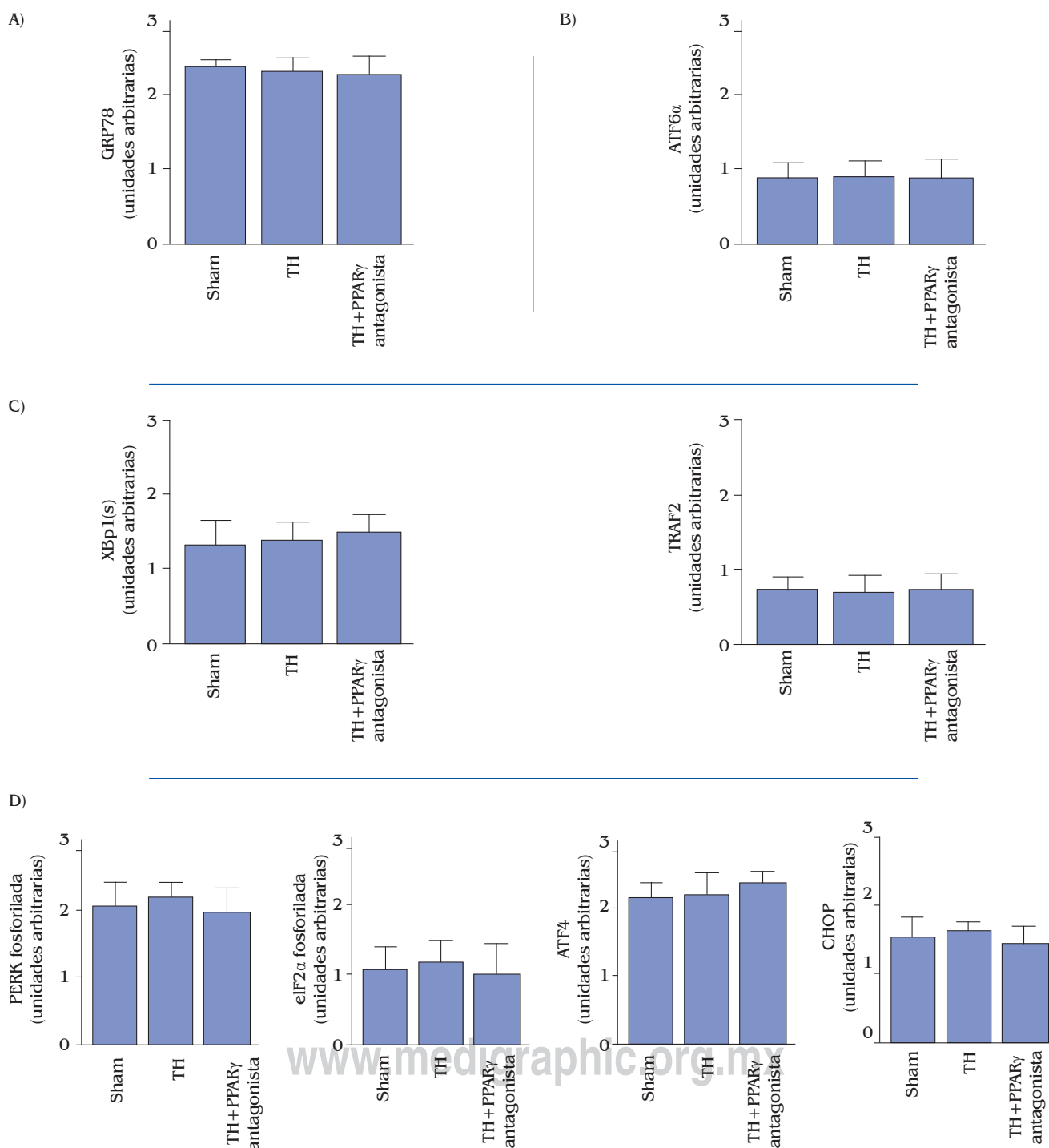


Figura 2. Efecto del antagonista del PPAR γ sobre la inducción del estrés del retículo endoplásmico (ERE) en el trasplante de hígados esteatósicos. Análisis densitométrico de la expresión de proteína de: A) GRP78, B) p50 ATF6 α , XBP1(s) y C) TRAF2, PERK fosforilada, eIF2 α fosforilada, ATF4 y D) CHOP en el tejido hepático, 4 horas después del trasplante. La expresión de GRP78, p50 ATF6 α , XBP1(s), TRAF2, ATF4 y CHOP se normalizó en función de la expresión de β -actina; y la expresión de PERK fosforilada y eIF2 α fosforilada se normalizó en función de la expresión de PERK total y eIF2 α total respectivamente. Todos los trasplantes de cada grupo experimental fueron incluidos en cada determinación. No se observaron diferencias significativas de los niveles de expresión de proteína en ningún grupo.

protector del antagonista del PPAR γ en los injertos esteatóticos, ya que este tratamiento redujo el estrés oxidativo y la formación de peroxinitrito.

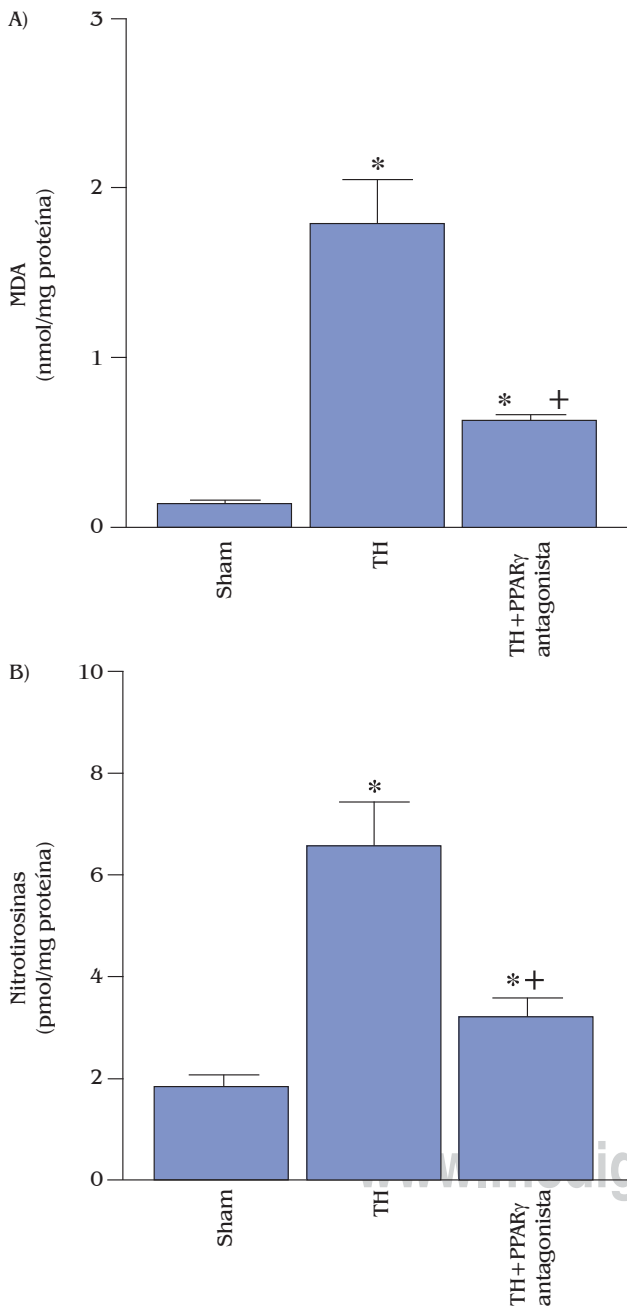


Figura 3. Efecto del antagonista del PPAR γ sobre el estrés oxidativo en el trasplante de hígados esteatóticos. Se evaluaron los niveles de MDA (A) y nitrotirosinas (B) en tejido hepático, 4 horas después del trasplante. Todos los trasplantes de cada grupo experimental fueron incluidos en cada determinación. *p < 0.05 vs grupo Sham, + p < 0.05 vs grupo TH.

En conclusión, en los injertos esteatóticos, el tratamiento con un antagonista del PPAR γ protege frente al daño hepático mediante una reducción en el estrés oxidativo. Estos datos refuerzan el bloqueo farmacológico de la acción del PPAR γ como una estrategia que podría mejorar las condiciones iniciales de los hígados esteatóticos que se someten a trasplante y que, por lo tanto, tienen el potencial de aumentar la disponibilidad de numerosos injertos esteatóticos, que en la actualidad no son considerados aptos para trasplante por sus condiciones patológicas.

AGRADECIMIENTOS

La presente investigación fue financiada por el Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto SAF2012-31238), Madrid, España. Jiménez-Castro Mónica B. es becaria de la *Societat Catalana de Transplantament*, Barcelona, España.

BIBLIOGRAFÍA

- Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease and liver transplantation. *Liver Transpl.* 2006; 12: 523-534.
- Nocito A, El-Badry AM, Clavien PA. When is steatosis too much for transplantation? *J Hepatol.* 2006; 45: 494-499.
- Casillas-Ramírez A, Mosbah IB, Ramalho F, Roselló-Catafau J, Peralta C. Past and future approaches to ischemia-reperfusion lesion associated with liver transplantation. *Life Sci.* 2006; 79: 1881-1894.
- Casillas-Ramírez A, Alfany-Fernández I, Massip-Salcedo M, Juan ME, Planas JM, Serafin A et al. Retinol-binding protein 4 and peroxisome proliferator-activated receptor- γ in steatotic liver transplantation. *J Pharmacol Exp Ther.* 2011; 338: 143-153.
- Xu C, Bailly-Maitre B, Reed JC. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *J Clin Invest.* 2005; 115: 2656-2664.
- Anderson CD, Upadhyay G, Conzen KD, Jia J, Brunt EM, Tiriveedhi V et al. Endoplasmic reticulum stress is a mediator of posttransplant injury in severely steatotic liver allografts. *Liver Transpl.* 2011; 17: 189-200.
- Ben Mosbah I, Alfany-Fernández I, Martel C, Zaouali MA, Bintlanel-Morcillo M, Rimola A et al. Endoplasmic reticulum stress inhibition protects steatotic and non-steatotic livers in partial hepatectomy under ischemia-reperfusion. *Cell Death Dis.* 2010; 1: e52.
- Yoshiuchi K, Kaneto H, Matsuoka TA, Kasami R, Kohno K, Iwawaki T et al. Pioglitazone reduces ER stress in the liver: direct monitoring of *in vivo* ER stress using ER stress-activated indicator transgenic mice. *Endocr J.* 2009; 56: 1103-1111.
- Han KL, Choi JS, Lee JY, Song J, Joe MK, Jung MH et al. Therapeutic potential of peroxisome proliferators—activated receptor- α /gamma dual agonist with alleviation of endoplasmic reticulum stress for the treatment of diabetes. *Diabetes.* 2008; 57: 737-745.
- Horrobin DF. Is the main problem in free radical damage caused by radiation, oxygen and other toxins the loss of membrane essential fatty acids rather than the accumulation of toxic materials? *Med Hypotheses.* 1991; 35: 23-26.
- Matsuda A, Jacob A, Wu R, Zhou M, Aziz M, Wang P. Milk fat globule-EGF factor VIII ameliorates liver injury after hepatic ischemia-reperfusion. *J Surg Res.* 2013; 180: e37-e46.
- Lee SE, Lee EH, Lee TJ, Kim SW, Kim BH. Anti-obesity effect and action mechanism of *Adenophora triphylla* root ethanol extract in

- C57BL/6 obese mice fed a high-fat diet. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2013; 77: 544-550.
13. Her GM, Pai WY, Lai CY, Hsieh YW, Pang HW. Ubiquitous transcription factor YY1 promotes zebrafish liver steatosis and lipotoxicity by inhibiting CHOP-10 expression. *Biochim Biophys Acta*. 2013; 1831: 1037-1051.
 14. Carrasco-Chaumel E, Roselló-Catafau J, Bartrons R, Franco-Gou R, Xaus C, Casillas-Ramírez A et al. Adenosine monophosphate-activated protein kinase and nitric oxide in rat steatotic liver transplantation. *J Hepatol*. 2005; 43 (6): 997-1006.
 15. Kamada N, Calne RY. Orthotopic liver transplantation in therat. Technique using cuff for portal vein anastomosis and biliary drainage. *Transplantation*. 1979; 28: 47-50.
 16. Serafín A, Roselló-Catafau J, Prats N, Xaus C, Gelpí E, Peralta C. Ischemic preconditioning increases the tolerance of fatty liver to hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *Am J Pathol*. 2002; 161: 587-601.
 17. Selzner M, Rüdiger HA, Sindram D, Madden J, Clavien PA. Mechanisms of ischemic injury are different in the steatotic and normal rat liver. *Hepatology*. 2000; 32: 1280-1288.
 18. Sun Z, Klein AS, Radaeva S, Hong F, El-Assal O, Pan HN, Jaruga B et al. In vitro interleukin-6 treatment prevents mortality associated with fatty liver transplants in rats. *Gastroenterology*. 2003; 125: 202-215.
 19. Yue TL, Chen J, Bao W, Narayanan PK, Bril A, Jiang W et al. *In vivo* myocardial protection from ischemia/reperfusion injury by the peroxisome proliferator activated receptor-gamma agonist rosiglitazone. *Circulation*. 2001; 104: 2588-2594.
 20. Sivarajah A, McDonald MC. The cardioprotective effects of preconditioning with endotoxin, but not ischemia, are abolished by a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma antagonist. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005; 313: 896-901.
 21. Wong WT, Tian XY, Xu A, Yu J, Lau CW, Hoo RL et al. Adiponectin is required for PPAR γ -mediated improvement of endothelial function in diabetic mice. *Cell Metab*. 2011; 14 (1): 104-115.
 22. Majithiya JB, Paramar AN, Balaraman R. Pioglitazone, a PPAR γ agonist, restores endothelial function in aorta of streptozotocin-induced diabetic rats. *Cardiovasc Res*. 2005; 66: 150-161.
 23. Ferdinandy P, Schulz R. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite in myocardial ischaemia-reperfusion injury and preconditioning. *Br J Pharmacol*. 2003; 138: 532-543.

Correspondencia:

Dra. Araní Casillas Ramírez

Campus de la Salud «Dr. Rodolfo Torre Cantú»

Universidad La Salle Victoria.

Libramiento Guadalupe Victoria s/n, Área de Pajaritos, 87087, Cd. Victoria, Tamaulipas.

E-mail: arani.casillas@ulsavictoria.edu.mx