

La hepatología
molecular:
un enfoque
multidisciplinar

Susceptibilidad genética a la cirrosis

ISELA PARRA ROJAS
ERIKA MARTÍNEZ LÓPEZ
BERTHA RUIZ MADRIGAL
ARTURO PANDURO CERDA

INTRODUCCIÓN

La Cirrosis Criptogénica constituye del 3-30% de todos los casos de cirrosis reportados hasta el momento (1). Dentro de los principales factores de riesgo que se han asociado con cirrosis criptogénica se encuentran la esteatohepatitis no alcohólica (NASH), obesidad, diabetes e hiperlipidemia. Se considera que NASH es la enfermedad subyacente en el 30-70% de pacientes con cirrosis de etiología indefinida (2). Una evidencia de que NASH, la obesidad o la diabetes, son una causa de enfermedad hepática avanzada, se considera cuando se excluyen otras causas de cirrosis, como de origen viral, alcohólica y alteraciones autoinmunes, y a estos pacientes se les agrupa como cirrosis criptogénica (3).

RESUMEN

La obesidad y la diabetes son comunes en nuestra población y son frecuentemente asociadas con la enfermedad de hígado graso no alcohólica (NAFLD), que incluye hígado graso no alcohólico (NAFL) y esteatohepatitis no alcohólica (NASH). El hígado graso no alcohólico usualmente es considerado benigno, pero la esteatohepatitis no alcohólica es reconocida como precursora para enfermedad hepática más severa y a veces evoluciona a cirrosis criptogénica o también conocida como enfermedad hepática de etiología indefinida. La cirrosis criptogénica constituye del 3-30% de todos los casos de cirrosis. Típicamente se diagnostica después de una evaluación exhaustiva que incluye diagnóstico serológico, para eliminar etiologías identificables y usualmente después de una biopsia hepática. Los principales factores de riesgo para cirrosis criptogénica son: esteatohepatitis no alcohólica (NASH), obesidad, diabetes e hiperlipidemia. Hay factores genéticos que podrían explicar la progresión de steatosis a cirrosis. Los polimorfismos en genes que codifican citocinas, leptina, queratinas y proteínas del metabolismo de hierro, pueden explicar la susceptibilidad a desarrollar cirrosis.

Palabras clave: Cirrosis criptogénica, esteatohepatitis no alcohólica, polimorfismo, citocinas, leptina, queratinas.

Como la prevalencia de obesidad y diabetes tipo 2 continua en incremento en nuestro país, muchos pacientes pueden ser diagnosticados con NASH y consecuentemente pueden progresar a cirrosis. La prevalencia de hígado graso en diabetes tipo 2 es muy alta (4) y en individuos con obesidad severa, el riesgo de enfermedad hepática se incrementa a medida que se presentan un mayor número de características del síndrome metabólico, por lo que una cirrosis inesperada no es rara (5).

Poco se conoce acerca de la patogénesis de NASH y mucho menos de los factores involucrados en su progresión de steatosis a esteatohepatitis a fibrosis y/o cirrosis. Hay evidencias que sugieren que la patogénesis de NASH

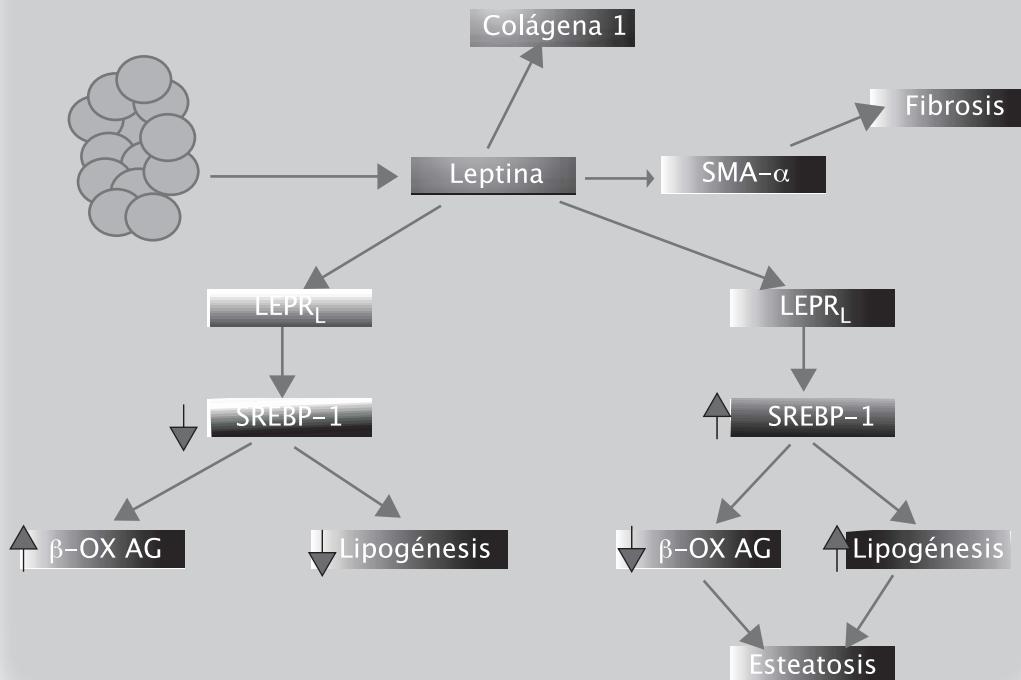
ABSTRACT

Obesity and diabetes are common in our population and are frequently associated with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), which includes nonalcoholic fatty liver (NAFL) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH). Nonalcoholic fatty liver is usually considered benign, but nonalcoholic steatohepatitis is recognized as a precursor to more severe liver disease and sometimes evolves to cryptogenic cirrhosis or also known as liver disease of undefined etiology. Cryptogenic cirrhosis constitutes 3-30% of all cases of cirrhosis. It is typically diagnosed after an exhaustive evaluation including serologic diagnostic to exclude identifiable etiologies and usually after a liver biopsy. The major risk factors for cryptogenic cirrhosis are nonalcoholic steatohepatitis (NASH), obesity, diabetes and hyperlipidemia. Genetic factors could explain the progression of steatosis to cirrhosis. Polymorphisms in genes encoding cytokines, leptin, keratins, iron metabolism proteins, can explain susceptibility to the development of cirrhosis.

Key words: Cryptogenic cirrhosis, nonalcoholic steatohepatitis, polymorphism, cytokines, leptin, keratins

FIGURA 1

Resistencia a la Leptina



La resistencia a la leptina tiene un efecto esteatótico asociado con alteraciones en la señalización de la leptina a nivel de su receptor funcional $LEPR_L$, lo que induce un aumento en la expresión de la proteína de unión al elemento regulatorio de esteroles hepáticos tipo-1 (SREBP-1), que regula negativamente los genes promotores de la β -oxidación de los ácidos grasos y positivamente los de la lipogénesis.

es multifactorial (6). Los probables mecanismos involucrados en la patogénesis del hígado graso no alcohólico (NAFL) y NASH incluyen anormalidades en el metabolismo de lípidos, producción de especies reactivas del oxígeno, aumento en la peroxidación de lípidos hepáticos, células estelares hepáticas activadas, y un patrón anormal de producción de citocinas, las cuales inducen el daño a las células hepáticas, fibrosis y probablemente cirrosis (6,7). Por lo que se considera que variaciones en los genes que codifican para proteínas involucradas en estos procesos metabólicos e inmunológicos, pueden alterar su función y predisponer a daño hepático crónico a los individuos que los presentan.

Mutaciones en el gen asociado a Hemocromatosis Hereditaria

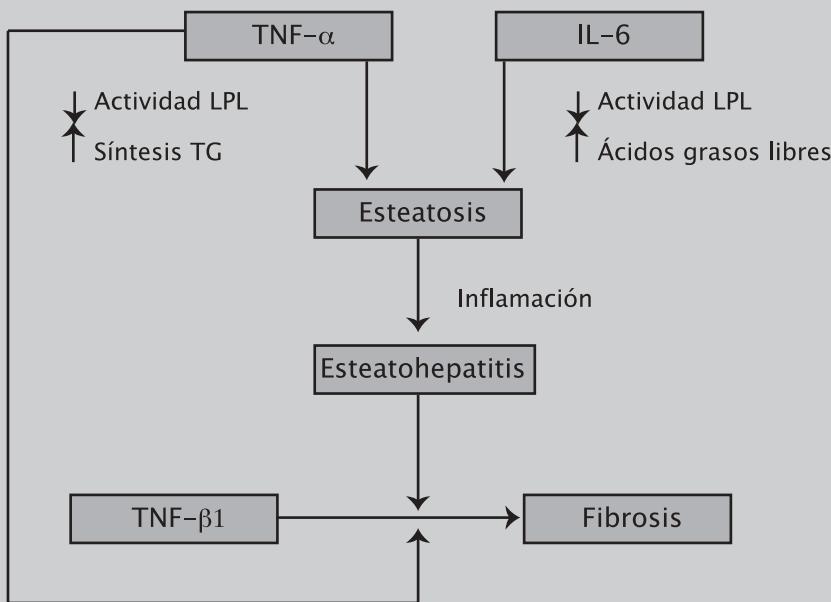
La sobrecarga hepática de hierro puede jugar un papel en el daño hepático, en los pacientes con NASH es común encontrar niveles aumentados de ferritina, hierro y de saturación de transferrina (8). Hay mutaciones en el gen asociado con la hemocromatosis hereditaria (gen HFE), cuya prevalencia está incrementada en individuos estadounidenses con NASH (C282Y, H63D), los portadores de una mutación tuvieron niveles significativamente superiores de ALT, ferritina, hierro y saturación de transferrina; además de que en la biopsia hepática presentaron una mayor tinción de

hierro. Aunque los portadores de la mutación C282Y tuvieron más fibrosis hepática (9). También se ha reportado un aumento en la prevalencia de portadores heterocigotos de la mutación H63D del gen HFE en NASH (10) y en pacientes con el “síndrome metabólico con sobrecarga de hierro” (11). La reciente caracterización del gen HFE ha permitido un estudio más directo de la prevalencia de sus mutaciones en diabetes tipo 2. La homocigocidad para la mutación C282Y generalmente está asociada con la hemocromatosis hereditaria, 83% de los pacientes con hemocromatosis son homocigotos YY. Los heterocigotos compuestos para la mutación H63D (C282Y/H63D) presentan la enfermedad, aunque con reducida penetrancia. Se ha descrito en algunos estudios un aumento en la frecuencia de mutaciones C282Y en sujetos con diabetes tipo 2 (12,13). En población española, la frecuencia de la mutación H63D fue significativamente superior en los individuos con diabetes tipo 2 (14).

La sobrecarga de hierro puede contribuir a la resistencia a la insulina potenciando el daño hepático mediante un aumento del estrés oxidativo (15). El hierro es un fuerte agente oxidativo, y el tránsito de hígado graso a NASH puede ser mediado por este mecanismo. Esta hipótesis se basa en el descubrimiento de daño en la cresta mitocondrial y de inclusiones paracristalinas en la megamitocondria de pacien-

FIGURA 2

Citocinas y la progresión a fibrosis



TNF- α e IL-6 se asocian con un aumento de los triglicéridos mediante la disminución de la actividad de la lipoproteína lipasa (LPL), favoreciendo la esteatosis, así también promueven la inflamación. TNF- α y TGF- β 1 son mediadoras de la fibrogénesis hepática.

tes con NASH. Esta mitocondria anormal puede representar la causa o el resultado del estrés oxidativo en la cadena respiratoria. Desafortunadamente, estas alteraciones no son específicas de NASH, y pueden encontrarse en una variedad de enfermedades hepáticas (16).

Teóricamente, el hierro puede contribuir a la patogénesis de NASH de varias formas. En modelos experimentales de sobrecarga de hierro se ha demostrado que el hierro induce peroxidación de lípidos de membranas de organelos, resultando en ruptura de la membrana, alteración en el metabolismo oxidativo mitocondrial, daño y muerte celular (17). Además el hierro activa los lipocitos (células de Ito), estimula la activación del gen de la colágena tipo I y perpetua la fibrogénesis de los lipocitos (18). Por lo que el hierro puede ser un inductor de la peroxidación de lípidos y de la fibrogénesis, así como de la progresión de NASH a cirrosis.

Polimorfismos en el gen de leptina y su receptor

La leptina es una hormona derivada de los adipocitos que tiene un papel clave en el control del balance de energía y en el consumo de alimentos. Los receptores de leptina, inicialmente fueron encontrados en el tejido nervioso central como

el hipotálamo, pero también se han localizado en otros tejidos, incluyendo el hígado (3). La señalización de la leptina está mediada por el receptor de leptina (LEPR). En humanos y en roedores, existen 2 formas predominantes de receptores; la forma corta del receptor (LEPR_S) se considera incapaz de señalizar y la forma larga (LEPR_L), es el receptor competente en la señalización. El LEPR_L se ha encontrado en órganos periféricos, incluyendo el hígado, sugiriendo que la leptina tiene el potencial para estimular las células hepáticas (19). Varios estudios han relacionado a la leptina como una hormona crítica en el desarrollo de la fibrogénesis hepática. En experimentos realizados *in vitro* en células estelares hepáticas tratadas con leptina, se detectó un incremento en la expresión del gen de la colágena I. Este descubrimiento se confirmó con la detección de la colágena madura en cortes histológicos de hígado de ratones ob/ob tratados con CCl₄, también se determinó la presencia de la α -actina de músculo liso (SMA- α) por tinción inmunohistoquímica, confirmando la importancia de la leptina como un factor profibrogénico. Los estudios inmunohistoquímicos, sugieren un incremento en la producción de leptina y del receptor de leptina durante el proceso de activación de las células estelares, lo que permite sugerir que la leptina puede estar involucrada en la activación de las células estelares hepáticas (20).

En modelos animales de ratones, se ha observado que la leptina reduce la acumulación intrahepática de lípidos, por lo que se puede pensar que la leptina podría jugar un papel similar en NASH. La esteatosis frecuentemente está presente en individuos obesos (21), quienes son generalmente resistentes a la leptina, y también en pacientes con lipodistrofia congénita generalizada, que es un síndrome de deficiencia de leptina (22). En relación a la resistencia a la leptina, la leptina realiza su efecto antilipogénico en el hígado por reducción de la expresión de la proteína de unión al elemento regulatorio de esteroles hepáticos tipo-1 (SREBP-1). SREBP-1 regula positivamente los genes inductores de la β -oxidación de los ácidos grasos y la termogénesis, y regula negativamente aquellos involucrados en la lipogénesis (23). La sobreexpresión sostenida de SREBP-1, por resistencia a insulina u otros mecanismos, facilita la esteatosis, mientras la expresión disminuida de SREBP-1 se opone a esto (ver figura 1). Así, una interpretación alternativa de la hiperleptinemia en pacientes que desarrollaron NASH podría ser que refleja un correctivo, aunque sin éxito, como respuesta a la presencia de esteatosis hepática (24). Esto sugiere alteraciones en la señalización de la leptina a nivel de su receptor funcional LEPR_L. Siendo importante considerar la determinación en estos individuos, de polimorfismos en los genes de la leptina y de LEPR_L, que puedan asociarse con resistencia a la leptina y su posible contribución al desarrollo de NASH y de la cirrosis hepática.

Polimorfismos en genes de enzimas del metabolismo de la homocisteína

La homocisteína (Hcy) es un intermediario en el metabolismo de la metionina. Tres enzimas utilizan a la homocisteína como substrato: metionina sintasa (MS) y betaina-homocisteína metiltransferasa (BHMT), que convierte homocisteína a metionina, y la cistationina β -sintasa (CBS), la primera enzima en la vía de transulfuración (25). La distribución de la homocisteína depende de las condiciones metabólicas: cuando la metionina es relativamente deficiente se favorece la remetilación de homocisteína, mientras en situaciones de exceso de metionina, prevalece la vía de transulfuración (26). La S-adenosil metionina (AdoMet), es el primer metabolito de la metionina, modula el flujo de la homocisteína a través de estas vías metabólicas: niveles altos de AdoMet activa CBS e inhibe la actividad de MS y BHMT. La alteración en la remetilación de la homocisteína o en la transulfuración induce la hiperhomocisteinemia. Esta situación puede presentarse como consecuencia de defectos genéticos en las enzimas MS, CBS o en la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR). Hay estudios que demuestran que la hiperhomocisteinemia se presenta en cirrosis hepática, y que en parte se deben a una marcada reducción en la expresión de los principales genes involucrados en su metabolismo. Por lo que es importante la determinación de las variantes genéticas en los genes que codifican para las enzimas clave del metabolismo de la homocisteína.

El control de la homeostasis de la matriz extracelular es importante en la mayoría de los tejidos, pero es central para preservar la función del hígado. La fibrosis hepática

ocurre al inicio de la mayoría de las situaciones de daño hepático crónico (27). La expresión de procolágena- α 1 inducida por homocisteína en células estelares hepáticas y la inducción del inhibidor tisular de metaloproteínas tipo 1 (TIMP-1) en células estelares hepáticas y hepatocitos, sugiere que el efecto profibrogénico de homocisteína que se había observado en el lecho vascular, podría extenderse al tejido hepático. También se ha observado, en ratas tratadas con CCl₄, que la hiperhomocisteinemia se presenta antes de la fibrosis hepática (28), y el tratamiento con AdoMet regula negativamente los niveles de homocisteína en plasma y disminuye la acumulación de colágena (29). La homocisteína puede así coadyuvar en el inicio de la fibrosis hepática potenciando el efecto de otros agentes, tales como etanol y citocinas.

Mutaciones en genes de queratinas

La función de las queratinas (K) en la protección de las células del estrés mecánico, está relacionada a sus propiedades únicas y a su abundancia como una de las tres principales familias de proteínas del citoesqueleto, que incluyen filamentos intermedios, microfilamentos y microtúbulos (30). Las queratinas son miembros de la familia de proteínas de los filamentos intermedios y se expresan específicamente en células epiteliales y sus apéndices. Consisten de 20 miembros (K1-K20), y se clasifican en queratinas tipo I (K9-K20) y tipo II (K1-K8) que forman heteropolímeros no covalentes (31). Las queratinas sirven como marcadores específicos de tipo celular, por ejemplo, los queratinocitos expresan basalmente K5/K14 y los hepatocitos expresan K8/K18 (30). La mayoría de las enfermedades asociadas con queratinas son autosómico dominantes con penetrancia



Eduardo Viana

completa. Las excepciones parecen ser las mutaciones K8 (32) y K18 (33) en pacientes con cirrosis criptogénica, donde estas parecen ser un factor de riesgo más que una causa *per se* de la enfermedad.

En un estudio realizado en 28 pacientes con cirrosis criptogénica, en uno de ellos se identificó la mutación histidina/leucina en la posición 127 de K18. Esta mutación causa *in vitro* un defecto en el ensamblaje del filamento (33). Las consecuencias biológicas de este defecto permanecen por ser investigadas, pero las posibilidades incluyen un incremento en la fragilidad de los hepatocitos y/o un efecto sobre la capacidad para manejar el estrés oxidativo (34).

En otro estudio realizado en 55 pacientes con enfermedad hepática criptogénica, tres pacientes tuvieron mutaciones glicina/cisteína en la posición 61 de K8 y dos tuvieron mutaciones tirosina/histidina en la posición 53 de K8. Estas mutaciones no fueron detectadas en los pacientes con otras enfermedades hepáticas o en pacientes seleccionados al azar. En células transfectadas, la mutación glicina/cisteína limitó la reorganización de los filamentos de queratina cuando las células fueron expuestas a estrés oxidativo. Por otra parte, la mutación tirosina/histidina desestabilizó los filamentos de queratina cuando las células transfectadas fueron expuestas al calor o al estrés por ácido okadaico (32). Por lo que existe la posibilidad que algunas enfermedades que están ligadas a la cirrosis criptogénica, como la esteatohepatitis no alcohólica, puedan estar asociadas con mutaciones en los genes de las queratinas.

Polimorfismos en genes de citocinas

La interleucina-6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) son citocinas proinflamatorias que están involucradas en la respuesta de fase aguda, pero también participan en el metabolismo de lípidos. En modelos animales, la IL-6 inhibe la actividad de la lipoproteína lipasa en tejido adiposo de ratones (35) e induce aumento en la secreción hepática de triglicéridos en ratas (36). En el humano, la IL-6 está asociada con incremento en plasma de ácidos grasos libres (37). TNF- α también afecta el metabolismo de lípidos y puede inducir hipertrigliceridemia por disminución de la actividad de la lipoproteína lipasa en cultivos de adipocitos (38) y aumenta la síntesis hepática de novo de los ácidos grasos (39). También se ha demostrado que TNF- α administrado a humanos se asocia con aumento en los niveles de triglicéridos (40). Por lo que ambas citocinas pueden tener un papel importante en el desarrollo de la esteatosis y su consecuente evolución a esteatohepatitis.

Los genes de las citocinas son polimórficos en sitios específicos, y algunas de estas mutaciones se han asociado con un aumento o disminución en la producción de citocinas específicas. Los polimorfismos de TNF- α en las posiciones -308 y -238, son los polimorfismos mejor caracterizados y se ha determinado que influyen sobre la expresión de TNF- α (41).

Los productos de la peroxidación de lípidos y las especies reactivas del oxígeno inducen una respuesta inflamatoria: regulan positivamente a las citocinas (particularmente, TNF- α y TGF- β), aumentan la infiltración de leucocitos polimorfonucleares y mononucleares, activan las células de

Kupffer y la expresión del ligando Fas (42). Esto puede aumentar la necrosis, apoptosis y la muerte celular mediada por el ligando Fas. El efecto de TNF- α está aumentado en NASH, con un perfil de citocinas anormal y la expresión incrementada del receptor de TNF- α en el hígado (43). TNF- α también aumenta la fibrogénesis mediante la inducción de la expresión de genes de la matriz extracelular y de remodelamiento (44).

De las citocinas secretadas en el hígado como respuesta a daño celular, TGF- β 1 (factor de crecimiento transformante- β 1) tiene un papel determinante como mediador de la fibrosis hepática, contribuyendo a la activación de las células estelares y en la producción de proteínas de la matriz extracelular (colágena, fibronectina, proteoglicanos y ácido hialurónico) (45). Se conocen 3 isoformas de TGF- β : β 1, β 2, y β 3. TGF- β 1 es la forma más abundante secretada durante la fibrogénesis (46). Tiene 3 receptores celulares de membrana. Cuando se une al receptor β RI induce la síntesis y depósito de la matriz extracelular. La activación con β RII aumenta la proliferación celular y β RIII presenta TGF- β a los otros dos receptores (47). Se conoce que la capacidad para la producción de citocinas en los individuos tiene un componente genético muy importante. Se han descrito varios sitios polimórficos dentro del gen de TGF- β 1. Las consecuencias de las mutaciones en la secuencia líder de TGF- β 1, sobre la regulación de la expresión del gen son poco comprendidas. Sin embargo, la producción de TGF- β 1 por leucocitos de sangre periférica de individuos sanos con genotipo G/G para el polimorfismo localizado en la posición +74 (codón 25) de TGF- β 1, se ha demostrado que es significativamente superior cuando se compara con los portadores del genotipo G/C (48). La transición T a C en la posición +29 de la secuencia líder de TGF- β 1 resulta en un cambio de leucina a prolina en el codón 10 de la secuencia del péptido señal, que es separado de la proteína precursora. Esta secuencia es importante en la translocación de las proteínas recientemente sintetizadas, a través de la membrana del retículo endoplásmico (49). En dos estudios se sugiere la relevancia funcional de la transición T a C en la posición +29 de la secuencia líder de TGF- β 1. En ambos estudios, los pacientes con genotipo C/C tuvieron niveles séricos de TGF- β 1 significativamente más altos o significativamente más bajos que los portadores de los genotipos T/C o T/T. Estos descubrimientos sugieren que la presencia del genotipo C/C puede influir la eficiencia de la exportación de la preproteína, que resulta en la alteración de los niveles extracelulares de TGF- β 1 (ver figura 2) (50).

Polimorfismos en genes de proteínas que participan en el metabolismo de lípidos

Los niveles sanguíneos de los lípidos están determinados por una combinación de factores genéticos y ambientales. Dentro de los genes implicados se incluyen las apolipoproteínas, receptores de lipoproteínas, proteínas de transferencia de lípidos y enzimas involucradas en síntesis de lípidos, en su absorción y metabolismo.

De los genes de las apolipoproteínas que pueden estar relacionados con alteraciones en los niveles de lípidos plasmáticos que pueden llevar a esteatosis se considera a la

Apo E. En humanos, existen 3 variantes alélicas comunes de este gen: E2, E3 y E4; lo que resulta en tres isoformas de la proteína, apo E2, apo E3 y apo E4 y seis diferentes genotipos, apo E3/3, apo E4/4, apo E2/2, apo E3/2, apo E4/2 y apo E4/3 (51). La isoforma E3 se ha considerado como el alelo normal y su afinidad por el receptor LDL se usa como base para la comparación con las otras isoformas. Hay estudios donde se han relacionado algunos polimorfismos con el riesgo de esteatosis. Los genotipos de Apo E2/2 y 3/4 se han asociado con una baja secreción de VLDL (52), y portadores del polimorfismo -493 GG en el promotor de la proteína microsomal de transferencia de triglicéridos tienen un riesgo mayor de esteatosis (53).

En un estudio realizado en la población del Occidente de México, se determinó la distribución del polimorfismo de Apo E. En los individuos aparentemente sanos, se detectó con mayor frecuencia el polimorfismo 3/3 seguido del 3/4 y por último el 2/3. El alelo E2 fue más predominante en el grupo de cirróticos alcohólicos, y se asocia con dislipidemia caracterizada por un aumento en los triglicéridos plasmáticos y en la Apo B, y una disminución en la lipoproteína de alta densidad (HDL), que se asocia con el inicio de la cirrosis a una edad más temprana (54). Los polimorfismos predominantes en la población aparentemente sana, sugieren que estos individuos pueden tener un riesgo menor para desarrollar esteatosis.

CONCLUSIÓN

El inicio de la esteatosis y su progresión a cirrosis, puede depender de factores genéticamente determinados, como la presencia de polimorfismos en los genes implicados en el metabolismo hepático de lípidos, en la homeostasis del hierro y de la homocisteína, de la resistencia a la leptina, de estrés oxidativo o de citocinas, entre otros, que de manera conjunta pueden establecer una interacción gen-gen o gen-medioambiente, predisponiendo a los individuos al daño hepático crónico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Byron D, Minuk GY. Clinical hepatology: profile of an urban, hospital-based practice. *Hepatology*, 1996;24:813-815.
2. Caldwell SH, Crespo DM. The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 2004;40:578-584.
3. Marchesini G, Forlani G. NASH: From Liver Diseases to Metabolic Disorders and Back to Clinical Hepatology. *Hepatology*, 2002;35:497-499.
4. De Marco R, Locatelli F, Zoppini G, Verlato G, Bonora E, Muggeo M. Cause-specific mortality in type 2 diabetes. The Verona Diabetes Study. *Diabetes Care*, 1999;22:756-761.
5. Marceau P, Biron S, Hould FS, Marceau S, Simard S, Thung SN, Kral JG. Liver pathology and the metabolic syndrome X in severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999;84:1513-1517.
6. Chitturi S, Farrell GC. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis*, 2001;21:27-41.
7. Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease. *Curr Gastroenterol Reports*, 1999;1:57-61.
8. Bonkovski HL, Banner BF, Lambrecht RW, Rubin RB. Iron in liver diseases other than hemochromatosis. *Semin Liver Dis*, 1996;16:65-82.
9. Bonkovsky HL, Jawaid Q, Tortorelli K, Le Clair P, Cobb J, Lambrecht RW, Banner BF. Non-alcoholic steatohepatitis and iron: increased prevalence of mutations of the HFE gene in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*, 1999;31:421-429.
10. George KD, Goldwurm S, MacDonald GA, Cowley LL, Walker NI, Ward PJ, Jazwinska EC. Increase hepatic iron concentrations in non-alcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis. *Gastroenterology*, 1998;114:311-318.
11. Mendlar MH, Turlin B, Moirand R, Jouanolle AM, Sapy T, Guyader D, Le Gall JY, et al. Insulin resistance-associated hepatic iron overload. *Gastroenterology*, 1999;117:1155-1163.
12. Kwan T, Leber B, Ahuja S, Carter R, Gerstein H. Patients with type 2 diabetes have a high frequency of the C282Y mutation of the hemochromatosis gene. *Clin Invest Med*, 1998;21:251-257.
13. Moczulski DK, Grzeszczak W, Gawlik B. Role of hemochromatosis C282Y and H63D mutations in HFE gene in development of type 2 diabetes and diabetic nephropathy. *Diabetes Care*, 2001;24:1187-1191.
14. Fernandez-Real JM, Vendrell J, Baiget M, Gimferrer E, Ricart W. C282Y and H63D mutations of the hemochromatosis candidate gene in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 1999;22:525-526.
15. Pagano G, Pacini G, Musso G, Gambino R, Mecca F, Depetrini N, Cassader M, David E, Cavallo-Perin P, Rizzetto M. Nonalcoholic Steatohepatitis, Insulin Resistance, and Metabolic Syndrome: Further Evidence for an Etiologic Association. *Hepatology*, 2002;35:367-372.
16. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, Luketic VA, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology*, 2001;120:1183-1192.
17. Bacon B, O'Neill R, Britton R. Hepatic mitochondrial energy production in rats with chronic iron overload. *Gastroenterology*, 1993;105:1134-1140.
18. Pietrangelo A, Gualis R, Casalgrandi G, Geerts A, De Bleser P, Mantosi G, Ventura E. Enhanced hepatic collagen type I mRNA expression into fat-storing cells in a rodent model of hemochromatosis. *Hepatology*, 1994;19:714-721.
19. Wang Y, Kuropatwinski KK, White DW, Hawley RG, Tartaglia LA, Baumann H. Leptin receptor actino in hepatic cells. *J Biol Chem*, 1997;272:16216-16223.
20. Saxena NK, Ikeda K, Rockey DC, Friedman SL, Anania FA. Leptin in Hepatic Fibrosis: Evidence for Increased Collagen Production in Stellate Cells and Lean Littermates of ob/ob Mice. *Hepatology*, 2002;35:762-771.
21. James OF, Day CP. Nonalcoholic steatohepatitis (NASH): a disease of emerging identity and importance. *J Hepatol*, 1998;29:495-501.
22. Chandalia M, Garg A, Vuitch F, Nizzi F. Postmortem findings in congenital generalized lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995;80:3077-3081.
23. Kakuma T, Lee Y, Higa M, Wang ZM, Pali W, Shimomura I, Unger R. Leptin, troglitazone, and the expression of sterol regulatory element binding proteins in liver and pancreatic islets. *Proc Natl Acad Sci*, 2000;97:8536-8541.
24. Caldwell SH, Hespenheide EE, Redick JA, Iezzoni JC, Battle EH, Sheppard BL. A pilot study of a thiazolidinedione, troglitazone, in nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*, 2001;96:519-525.
25. Finkelstein JD. Methionine metabolism in mammals. *J Nutr Biochem*, 1990;1:228-236.
26. Refsum H, Ueland PM, Nygard O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Medicine*, 1998;49:31-62.
27. Arthur MJP. Collagenases and liver fibrosis. *J Hepatol*, 1995;22:43-48.
28. Varela-Moreiras G, Alonso-Aperte E, Rubio M, Gasso M, Deulofeu R, Alvarez L, Caballería J, Rodes J, Mato JM. Carbon tetrachloride-induced hepatic injury is associated with global DNA hypomethylation and homocysteinemia: effect of S-adenosylmethionine treatment. *Hepatology*, 1995;22:1310-1315.
29. Mato JM, Alvarez L, Ortiz P, Pajares MA. S-adenosylmethionine synthesis: molecular mechanisms and clinical implications. *Pharmacol Ther*, 1997;73:265-280.
30. Ku NO, Zhou X, Toivola DM, Omary MB. The cytoskeleton of digestive epithelia in health and disease. *Am J Physiol*, 1999;277:G1108-G1137.
31. Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell*, 1982;31:11-24.
32. Ku NO, Gish R, Wright TL, Omary MB. Keratin 8 mutations in patients with cryptogenic liver disease. *N Engl J Med*, 2001;344:1580-1587.
33. Ku NO, Wright TL, Terrault NA, Gish R, Omary MB. Mutation of human keratin 18 in association with cryptogenic cirrhosis. *J Clin Invest*, 1997;99:19-23.
34. Ku NO, Michie S, Oshima RG, Omary MB. Chronic hepatitis, hepatocyte fragility, and increased soluble phosphoglycokeratins in

- transgenic mice expressing a keratin 18 conserved arginine mutant. *J Cell Biol*, 1995;131:1303-1314.
35. Greenberg AS, Nordan RP, McIntosh J, Calvo JC, Scow RO, Jablons D. Interleukin-6 reduces lipoprotein lipase activity in adipose tissue of mice in vivo and in 3T3-L1 adipocytes: a possible role for interleukin-6 in cancer cachexia. *Cancer Res*, 1992;52:4113-4116.
36. Nonogaki K, Fuller GM, Fuentes NL, Moser AH, Staprans I, Grunfeld C. Interleukin-6 stimulates hepatic triglyceride secretion in rats. *Endocrinology*, 1995;136:2143-2149.
37. Stouthard JM, Romijn JA, Van der Poll T, et al. Endocrinologic and metabolic effects of interleukin-6 in humans. *Am J Physiol*, 1995;268:E813-E819.
38. Morin L, Schlaepfer IR, Eckel RH. Tumor necrosis factor-alpha eliminates binding of NF-Y and an octamer-binding protein to the lipoprotein lipase promoter in 3T3-L1 adipocytes. *J Clin Invest*, 1995;95:1684-1689.
39. Feingold KR, Grunfeld C. Role of cytokines in inducing hyperlipidemia. *Diabetes*, 1992;41(Suppl 2):97-101.
40. Starnes HR, Warren RS, Jeevanadem M, et al. Tumour necrosis factor and the acute metabolic response to injury in man. *J Clin Invest*, 1988;82:1321-1325.
41. Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphisms in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997;94:3195-3199.
42. Day CP. Pathogenesis of steatohepatitis. Best practice and research. *Clin Gastroenterol*, 2002;16(5):663-678.
43. Crespo J, Cayon A, Fernandez Gil P, Hernandez Guerra M, Mayorga M, Dominguez Diez A, et al. Gene expression of tumor necrosis factor alpha and TNF-receptors, p55 and p75, in nonalcoholic steatohepatitis patients. *Hepatology*, 2001;34(6):1158-1163.
44. Tilg H, Diehl AM. Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*, 2000;343(20):1467-1476.
45. Bedossa P, Paradis V. Transforming growth factor-beta (TGF-beta): a key-role in liver fibrogenesis. *J Hepatol*, 1995;22:37-42.
46. Blobe GC, Scieman NP, Lodis HF. Role of Transforming Growth Factor β in Human Disease. *N Engl J Med*, 2000;342:1350-1358.
47. Border NA, Noble NA. Mechanisms of disease: Transforming Growth Factor (beta) in Tissue Fibrosis. *N Engl J Med*, 1994;331:1286-1292.
48. Awad MR, El-Gamal A, Hasleton P, Turner DM, Sinnott Hutchinson IV. Genotypic variation in the transforming growth factor-beta1 gene: association with transforming growth factor-beta1 production, fibrotic lung disease, and graft fibrosis after lung transplantation. *Transplantation*, 1998;66:1014-1020.
49. Cambien F, Ricard S, Troesch A, Mallet C, Generenaz L, Evans A, et al. Polymorphisms of the transforming growth factor-beta1 gene in relation to myocardial infarction and blood pressure. The Etude Castemoir de l'Infarctus du Myocarde (ECTIM) Study. *Hypertension*, 1996;28:881-887.
50. Grainger DJ, Heathcote K, Chiano M, Snieder H, Kemp PR, Metcalfe JC, et al. Genetic control of the circulating concentration of

ISELA PARRA ROJAS¹
ERIKA MARTÍNEZ LÓPEZ²
BERTHA RUIZ MADRIGAL³
ARTURO PANDURO CERDA⁴

¹ Pasante del Doctorado de Biología Molecular en Medicina. Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde”.

² Técnico Académico Asistente A. Pasante del Doctorado de Biología Molecular en Medicina. Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde”.

³ Profesor Investigador Asistente C. Pasante del Doctorado de Biología Molecular en Medicina. Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde”.

⁴ Profesor Investigador Titular C. Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde”.

CORRESPONDENCIA

Isela Parra Rojas.

Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde”. Hospital # 278, Guadalajara, Jalisco. 44280.

Tel/fax (33) 36-14-7743.

Correo electrónico: iprojas@hotmail.com

Conflictos de interés no declarado

transforming growth factor type beta1. *Hum Mol Genet*, 1999;8:93-97.

51. Manhley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science*, 1988;240:622-630.
52. Mensenkamp AR, Havekes LM, Romijn JA, Kuipers F. Hepatic steatosis and very low density lipoprotein secretion: the involvement of apolipoprotein E. *J Hepatol*, 2001;35(6):816-822.
53. Bernard S, Touzet S, Personne I, Lapras V, Bondon PJ, Berthezene F, et al. Association between microsomal triglyceride transfer protein gene polymorphism and the biological features of liver steatosis in patients with type II diabetes. *Diabetología*, 2000;43(8):995-999.
54. Panduro A, Ruiz B, Nuño P, Hernández ZH, León RE, Gurrola CM, Troyo R. Genetic polymorphism of apolipoprotein E in mexican alcoholic cirrhotics. *Hepatology*, 1998;28:198A.



Eduardo Viana