



Hígado graso no alcohólico: un encuadre didáctico para un problema latente. Segunda parte

Victor Hugco Córdova Pluma*

RESUMEN

El hígado graso no alcohólico es una enfermedad poco reconocida pero con incremento en su frecuencia por su asociación con el síndrome metabólico, predominantemente con obesidad y diabetes mellitus. En México, cada día hay más enfermos que enfrentan cirrosis hepática y que, en su momento, tuvieron esta enfermedad sin recibir el diagnóstico adecuado, situación capaz de transformar su historia natural. Esta revisión busca definir la enfermedad, revelar sus causas, describir los mecanismos fisiopatológicos que la generan, establecer rutas diagnósticas, ofrecer diferentes abordajes terapéuticos y mencionar las complicaciones en la población adulta, mediante un exhaustivo análisis de bibliografías seleccionadas por un grupo de médicos con adiestramiento en metodología de la investigación, con la finalidad de ofrecer un documento final que contemple las aportaciones más relevantes del tema en los años recientes. Se estudiaron más de 900 citas bibliográficas y espacios electrónicos para, finalmente, incluir el material contenido sólo en 507 referencias. Al final sólo se presentan trabajos realizados por investigadores mexicanos y se anexan diversas sugerencias de los autores en cuanto al manejo dietético y farmacológico, en una experiencia en 97 enfermos tratados durante cuatro años.

Palabras clave: hígado graso, cirrosis hepática, esteatosis hepática no alcohólica, síndrome metabólico, diabetes mellitus.

ABSTRACT

The non-alcoholic fatty liver (NAFLD) is a little diagnosed but more and more frequent because of their association with metabolic syndrome, predominantly with obesity and diabetes mellitus. In our country every day we find more patients facing liver cirrhosis, that were not timely diagnosed with this disease, situation capable of transforming its natural history. The following paper attempts to define the disease, revealing their causes, describing pathophysiologic mechanisms that generate it, to establish routes diagnostic, therapeutic and offer different approaches to mention the complications in the adult population, through an extensive analysis of selected bibliographies by a group of doctors trained in clinical research, with the aim of offering a final document that provides the most relevant topic in recent years, due to its extension has been divided into several chapters. More than nine hundred citations and electronic spaces were studied to eventually include the material contained only five hundred and seven references. In his last chapter, presented exclusively works by Mexican researchers and annexed various suggestions of authors in terms of dietary management and drug therapy, in an experiment on 97 patients treated over a period of four years.

Key words: fatty liver, hepatic cirrhosis, non alcoholic steatohepatitis, metabolic syndrome, diabetes mellitus.

* Jefe de posgrado y vinculación de la Facultad Mexicana de Medicina de la Universidad La Salle. Miembro del departamento de Medicina Interna del Hospital Ángeles del Pedregal, Ciudad de México.

Correspondencia: Dr. Víctor Hugco Córdova Pluma. Jefatura de posgrado y vinculación, Facultad Mexicana de Medicina de la Universidad La Salle. Calle Fuentes 17, Tlalpan, 14000 México, DF. Tels.: 52789500, 560663157. Correo electrónico: vhc@ulsa.mx
Recibido: octubre, 2008. Aceptado: enero, 2009.

Este artículo debe citarse como: Córdova PVH. Hígado graso no alcohólico: un encuadre didáctico para un problema latente. Segunda parte. Med Int Mex 2009;25(2):129-53. La versión completa de este artículo también está disponible en: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

La esteatosis hepática de cualquier origen puede asociarse con inflamación y necrosis (esteatohepatitis) e incluso cirrosis. La esteatohepatitis causada por alcohol, químicos u otros agentes comparte muchas características histológicas. La pregunta es si estas diversas causas pueden llevar a esteatohepatitis y sus secuencias potenciales, cirrosis o insuficiencia hepática por uno o más mecanismos en común. Cualquier mecanismo satisfactorio unificador debería, idealmente, explicar la razón de que en algunos individuos la esteatosis, sin importar su causa, nunca progresa a esteatohepatitis.

También debe explicar la incidencia variable y gravedad de la esteatohepatitis y fibrosis en el hígado graso.¹²¹ Para comprender la fisiopatología del espectro de hígado graso no alcohólico, primero es necesario conocer el tejido adiposo, así como su interacción con el metabolismo de los lípidos en el hígado:

Desde una perspectiva telológica, el tejido adiposo se desarrolló como mecanismo para almacenar combustible energético en forma de grasa, que puede ser movilizado para enfrentar las demandas metabólicas durante periodos de ayuno o cuando las necesidades están incrementadas.^{51,61} El tejido adiposo puede dividirse en dos tipos: marrón y blanco.

El tejido adiposo marrón se localiza, principalmente, alrededor del cuello y de los grandes vasos del tórax,¹²² su función principal es la termogénesis antienfriamiento.^{122,123} Este tejido especializado puede generar calor al desacoplar la cadena respiratoria de la fosforilación oxidativa dentro de la mitocondria, llevando a la rotura de ácidos grasos. El proceso es vital en neonatos porque no tienen la capacidad de escalofrío ni pueden tomar acciones para buscar fuentes de calor.¹²²

El tejido adiposo blanco representa la mayor parte de tejido adiposo del cuerpo;¹²³ es una red de revestimiento conectivo especializada para el depósito de grasa.⁶¹ Hasta hace no mucho tiempo se consideraba un tejido inerte, principalmente dedicado a almacenar energía, pero en la actualidad está emergiendo como un participante activo en el almacén de lípidos y su neutralización, y en la regulación de procesos fisiológicos y patológicos, incluidas la inmunidad y la inflamación.^{61,123}

El tejido adiposo blanco está compuesto por diversos tipos celulares:^{61,123}

- a) Células estromales:^{123,124} tejido de sostén que comprende a la amplia red vascular. Los brotes de células endoteliales son especialmente activos en la vecindad de adipocitos en diferenciación.¹²⁴
- b) Macrófagos:^{61,124} aproximadamente 10% de las células estromavasculares son macrófagos del tipo CD14+CD31+; el número de macrófagos coexistentes se correlaciona con el tamaño de los adipocitos y del tejido adiposo. La proteína 1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1), que es expresada por adipocitos y correlaciona con el grado de adiposidad, puede contribuir al reclutamiento de monocitos al tejido adiposo blanco. Estos macrófagos parecen tener

un fenotipo activado, tanto morfológicamente (de células gigantes) como funcional, ya que producen la mayor cantidad de TNF- α y 50% de la IL-6 del tejido adiposo blanco.¹²³

c) Adipocitos:^{61,124} el adipocito preside la encrucijada de homeostasia energética, inflamación y aterosclerosis y existe un número creciente de investigación en la que se identifica al tejido adiposo blanco como un órgano endocrino clave en obesidad y estados de resistencia de la insulina.⁶¹ Un adulto delgado posee, aproximadamente, 35,000 millones de adipocitos, cada uno contiene entre 0.4 y 06 μ g de TAG; un obeso extremo puede llegar a tener cuatro veces más (125,000 millones) cada uno almacenando el doble de lípidos (0.8-1.2 μ g de TAG)¹²⁵. En momentos de exceso calórico estas células tienen que ajustarse y remodelarse, diferenciándose de preadipocitos en adipocitos, para lograr colmar la demanda de almacenamiento de TAG.¹²⁴ Los cambios en la morfología celular vistos durante la diferenciación de preadipocitos a adipocitos conllevan varias alteraciones; por ejemplo, disminuyen la fibronectina, un prerequisite absoluto para la diferenciación en la matriz extracelular. La fibronectina puede ser degradada por otra adipocina, la catepsina S. Ésta es secretada cuando se incrementan el estado obeso y es capaz de dirigir la diferenciación de los preadipocitos.^{123,124}

La catepsina K se incrementa en el estado obeso; es requerida para la inducción del almacenamiento de lípidos durante la diferenciación 3T3-L1, ésta puede degradar varios componentes de la matriz extracelular, como las colágenas tipo 1 y 2, pero su blanco primario es la proteína secretada ácida y rica en cisteína osteonectinon (SPARC). Ésta no es un componente estructural de la matriz extracelular, sino un mediador de las interacciones célula-matriz.¹²⁴

Las metaloproteasas de matriz son una familia de proteínas que tienen un dominio dependiente de cinc, con especificidad para varias proteínas de la matriz extracelular; su actividad está controlada por otra familia de proteínas reguladoras, los inhibidores tisulares de metaloproteinasas de matriz, que neutralizan la actividad MMP. Los adipocitos secretan varias metaloproteasas de matriz e inhibidores tisulares de metaloproteinasas de matriz. El MMP de membrana tipo 1 (MT1) se ha implicado de forma crítica en la diferenciación de adipocitos; a su vez,

durante la diferenciación se induce la actividad proteolítica de MMP-2 y 9. Esta sobreexpresión es significativa, pues la inhibición directa de ellas por anticuerpos previene la diferenciación. De forma similar a la cathepsina S, un sustrato crítico para MMP-2, está la fibronectina; cuando se bloquea la acción de MMP-2, la cathepsina S falla para compensar completamente la pérdida de la actividad MMP-2 y se inhibe la adipogénesis por falla en la degradación de la red de fibronectina que rodea al adipocito, dejando sin afectar la expresión de otros factores adipogénicos críticos, como PPAR- γ y la proteína favorecedora de la unión/CCAAT b.^{123,124}

El adipocito no es una célula estática almacenadora de grasa; expresa y secreta una gran cantidad de hormonas metabólicamente activas, colectivamente llamadas “adipocinas”;⁶¹ las reportadas en la bibliografía (cerca de 100) se engloban en el cuadro 1.

El tejido adiposo es un órgano heterogéneo con depósitos subcutáneos múltiples dentro del abdomen y del tórax, poseen una función endocrina y la capacidad de almacenamiento de lípidos depende de la localización de los depósitos de grasa y de la morfología celular del adipocito.⁶¹ Este trabajo se enfoca al tejido adiposo que influye en la génesis de NAFLD, por lo que sólo se discute el comportamiento de los depósitos abdominales.

Tejido adiposo subcutáneo abdominal

Existe un plano fascial donde la capa superficial se caracteriza por septos compactos (fascia de Camper), mientras que la capa profunda posee divisiones más laxas (fascia de Scarpa). Los lóbulos de grasa de los dos sitios difieren: el superficial se caracteriza por lóbulos pequeños y compactos, mientras que en el profundo son grandes y de forma irregular. El grosor de la capa profunda es más variable entre individuos y especialmente en relación con la obesidad.¹²⁷

El tejido adiposo subcutáneo superficial manifiesta una fuerte relación con la leptina plasmática, pero pobre con resistencia a la insulina. En estos aspectos sigue el patrón observado para el tejido adiposo del muslo. En contraste, el tejido adiposo subcutáneo superficial profundo tiene una relación estrecha con diversos aspectos clave que definen al síndrome metabólico (presión arterial, insulina en ayuno y lípidos), de una manera prácticamente idéntica a la de la grasa visceral. Entonces, desde la perspectiva para entender la composición corporal, no es exacto agrupar

estos dos depósitos diferentes de tejido adiposo blanco en una sola categoría, sino que es útil dividirlos de acuerdo con la demarcación anatómica del plano facial.¹²⁷

El estudio de Miyazaki y col¹²⁸ examinó la relación entre la distribución de grasa y la resistencia a la insulina hepática y muscular en adultos con diabetes mellitus tipo 2. Separaron la grasa subcutánea en sus componentes profundo y superficial sobre la base de su plano de separación facial; encontraron que son histológicamente distintas. Los estudios recientes sugieren que estos depósitos pueden ser metabólicamente diferentes en sujetos sin diabetes. Concluyen que existen correlaciones estrechas entre la adiposidad visceral-grasa corporal total y la resistencia a la insulina, independientes del género. En sujetos masculinos con diabetes mellitus tipo 2, más no en femeninos, la adiposidad abdominal subcutánea, especialmente en el tejido adiposo profundo, también se asoció con resistencia a la insulina, lo cual dibuja la posible participación de distintos grupos de hormonas.

Tejido adiposo intra abdominal

Los adipocitos del omento y los mesentéricos, que son los componentes principales de la grasa visceral, son endocrinológicamente más activos que los subcutáneos.^{61,129} Diversos estudios han demostrado la importancia de la grasa visceral en la patogénesis del hígado graso; el grosor de la grasa mesentérica, medida por ultrasonido, se reporta como más específico para determinar grasa visceral. La grasa mesentérica es un tipo específico de tejido adiposo visceral, que es drenado por la circulación portal y tiene diferentes características metabólicas (por ejemplo, mayor actividad de lipoproteínas).^{44,61,129,130,131} Ésta es la base para incluir la circunferencia de la cintura como indicador de síndrome metabólico en los criterios ATP III.^{44,130,131} Carr y colaboradores¹³² aclararon que la medición de la grasa intra abdominal por TAC es el determinante mayor de este síndrome. De acuerdo con los criterios ATP III ésta se asocia independientemente con todos los criterios y con la resistencia a la insulina, lo que sugiere que tiene un papel fisiopatológico.^{44,130,131}

Kelley y col¹²⁷ estudiaron 47 sujetos de uno y otro sexo, delgados y obesos y tolerantes a la glucosa, y encontraron que la utilización de glucosa estimulada por insulina medida por HOMA, se correlacionó directamente con el tejido adiposo visceral y tejido adiposo subcutáneo abdominal profundo, más no con el superficial.

Cuadro 1. Proteínas secretadas por adipositos considerando su función elemental^{61,124,126}

<i>Matriz extracelular</i>	<i>Metabolismo</i>	<i>Sistema inmune</i>	<i>Otras</i>
α 2 macroglobulina	Adipsina	Glicoproteína ácida α 1	Angiopoyetina 1
Catepsina B	Adiponectina	Factor estimulador de colonias-1	Angiopoyetina 2
Catepsina D	Apelina	Componentes del complemento	Angiotensinógeno
Catepsina L	Apolipoproteína E	Inhibidor C1	Calcitonina
Catepsina S	Cortisol	Complemento C1	Quemerina
Colágena alfa 1 (I)	Factor de crecimiento de insulina 1	Complemento C2	Ciclofilina A
Colágena alfa 1 (III)		Complemento C3	Ciclofilina C
Colágena α (IV)	Factor de crecimiento de insulina	Complemento C4	Superóxido dismutasa extracelular
Colágena α 1 (VI)		Complemento C7	
Colágena α 1 (XV)	Proteína de unión 7	Complemento factor B	Galectina 1
Colágena α 1 (XIV)	Lipoprotein lipasa	Complemento factor C	Factor de crecimiento de fibroblastos
Colágena α 1 (XVII)	Leptina	Complemento factor D	
Colágena α 2 (I)	Factor adiposo inducido por ayuno	Proteína C reactiva	Factor de crecimiento hepático
Colágena α 2 (IV)	Plasminógeno activado	Haptoglobina	
Colágena α 2 (VI)	Inhibidor-1	Interleucina 1 β	Factor liberador de mineralocorticoides
Colágena α 3 (VI)	Resistina	Interleucina 4	Factor de crecimiento nervioso
Distroglucano	Proteína de unión de retinol 4	Interleucina 6	Factor pigmentario derivado del epitelio
Entactina	Vasplina	Interleucina 7	
Fibulina-2	Visfatina	Interleucina 8	Prostaglandina E2
Fibulina-3	Proteína de transferencia de colesterol	Interleucina 10	Prostaglandina I2
Fibronectina		Interleucina 12	Prostaglandina 2a
Fibulina-3		Interleucina 18	Transferrina sérica
Proteína de unión Galectina-3		Interleucina 10	Factor derivado del estroma 1
Gelsolina		Lipocalina 24p3	TGF β
Laminina α 4		Factor inhibidor de la migración de macrófagos 1	Factor tisular
Laminina b 1		Amiloide sérico A3	Estrona ¹²⁶
Laminina α		TNF- α	
Lisil oxidasa			
Matrilina-2			
MMP-1, 2, 3, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 23, 24			
TIMP-1, 2, 3, 4			
Osteonectina			
Perlecan			
Procolágena C-proteinasa			
proteína potenciadora			
Protein-lisina 6-oxidasa			
Espondina-1			
Tenacina			
Tromboespondina-1			
Tromboespondina-2			

Metabolismo de los lípidos entre el tejido adiposo y el hígado

La evidencia sugiere que el tejido adiposo sirve como neutralizador dinámico que controla el flujo de ácidos grasos libres al mantener el equilibrio entre la supresión de la liberación de ácidos grasos no esterificados y la evacuación de triglicéridos circulantes. En ayuno, el tejido adiposo libera ácidos grasos libres (para ser usados como sustrato por otros tejidos oxidativos), mientras que en la alimentación, el adipocito cambia para “absorber” flujo de ácidos grasos libres desde la circulación (principalmente de TAG circulantes). Esta capacidad de absorber flujo de ácidos grasos libres de la circulación le da al tejido adiposo un papel especial para proteger otros tejidos del flujo excesivo de ácidos grasos libres.⁶¹ Dentro del hígado el flujo de ácidos grasos libres se sintetiza o transporta al mismo unido a albúmina después de la absorción en el tubo digestivo, en el caso de los de cadena corta, o a través de lipólisis del tejido adiposo,⁵ por vía portal y arterial. El nivel de flujo de ácidos grasos libres en el sistema porta refleja el grado de actividad lipolítica en los adipocitos viscerales y la extensión de la captación dietaria.^{51,129} El destino de este flujo de ácidos grasos libres se decide en los hepatocitos que vacían el sistema porta. Estas células están debidamente dotadas de mecanismos para unir, transformar, catabolizar y exportar el exceso de flujo de ácidos grasos libres a través de las acciones concretas de proteínas de unión de ácidos grasos, síntesis de TAG y secreción como VLDL, β -oxidación mitocondrial, β -oxidación por el sistema citocromo P450, ω -oxidación microsomal. Adquiere un papel importante en situaciones de sobrecarga de flujo de ácidos grasos libres, donde contribuye a la creación de especies reactivas de oxígeno y un sistema predominante de estrés oxidativo en el hígado graso no alcohólico, y remoción enzimática de productos de la peroxidación de lípidos.^{2,51}

Un regulador clave transcripcional del metabolismo de ácidos grasos es el sistema de receptores proliferadores activados de peroxisomas (PPAR): PPAR- α , PPAR- β/δ y PPAR- γ . En el hígado predomina PPAR- α , mientras que en el tejido adiposo PPAR- γ .⁵¹ El primero estimula la captación de ácidos grasos de cadena larga y su oxidación peroxisomal hepática. La vía PPAR también activa la carnitina palmitotransferasa (CPT) y las proteínas de transporte de ácidos grasos, con incremento en la captura de flujo de ácidos grasos libres por mitocondrias y su

oxidación. Por último, la activación de PPAR- α induce la expresión de la acil CoA oxidasa mitocondrial.^{2,51}

Un importante modulador del metabolismo graso es la acil CoA de cadena larga (LC-CoA), que es el primer producto de la β -oxidación de ácidos grasos en el citosol, sufre reesterificación para generar sustancias intermedias, como: ceramidas, ácido fosfatídico y diacilglicerol, que son responsables de modular enzimas como la piruvato cinasa; puede tener un papel en modular la actividad de la insulina. LC-CoA es responsable de incrementar los receptores proliferadores activados de peroxisomas que, a su vez, modula la β -oxidación de ácidos grasos y la diferenciación de adipocitos.⁵¹

Una ruta mayor para disponer del flujo de ácidos grasos libres en el hígado es la secreción de triglicéridos por los hepatocitos al espacio de Disse como VLDL; el ensamblaje hepático de estas lipoproteínas es un proceso complejo y, por tanto, sujeto a alteración en múltiples sitios. La síntesis requiere, principalmente, apo B100^{2,5,133} pero también apo E^{2,5} y apo C-I, C-II y C-III;¹³³ el metabolismo y los polimorfismos de apo E y apo E- leiden están asociados con esteatosis hepática en ratones. Para la producción de apo B100 se necesitan proteína disulfideisomerasa^{2,5} y proteína de transferencia de triglicéridos microsomal (MTTP);^{2,5,133} las apo B100 llenas de lípidos se incorporan rápidamente a las VLDL y son liberadas al plasma, donde tienen un índice triglicéridos-colesterol de 5:1.¹³³

El estudio de Charlton y col¹³⁴ demostró que la incorporación de leucina a la Apo B100 está disminuida en sujetos con esteatohepatitis no alcohólica; para un grado dado de flujo de lípidos a través del hígado, este defecto es muy probable que incremente la posibilidad de desplazar el equilibrio entre síntesis de triglicéridos y movilización, para promover la acumulación hepática.⁵¹ Defectos menores se han asociado con aumento del riesgo de esteatosis hepática en diabetes y de la sensibilidad del hígado a endotoxinas.²

En la circulación, la apo C-II de las VLDL activa la lipoproteína lipasa dentro de lechos capilares específicos, hidrolizando los triglicéridos con la subsecuente liberación de glicerol y flujo de ácidos grasos libres. En el tejido adiposo, los flujos de ácidos grasos libres liberados son captados por los hepatocitos y reesterificados a triglicéridos para almacenamiento. Los remanentes de las VLDL son neutralizados por endocitosis hepáticas. Una fracción menor sufre mayor lipólisis con subsecuente

transformación a IDL y LDL, las últimas con un índice triglicéridos-colesterol de 1:5. Tanto IDL como LDL son neutralizadas por endocitosis hepáticas. Sin embargo, cerca de 60% de la neutralización de LDL ocurre en sitios extrahepáticos.¹³³

Las VLDL nacientes pueden ser desviadas de su camino acostumbrado desde el retículo endoplásmico al aparato de Golgi, donde son degradadas en un compartimiento separado. Este proceso es estimulado por la activación de fosfatidilinositol (PI)-3 cinasa, una vía que también media la señalización de insulina.²

El factor de transcripción Foxa2 promueve la oxidación de ácidos grasos en el hígado, pero es inactivado por fosforilación de las vías de señales de IRS-1 o IRS-2 porque Foxa2 sigue siendo sensible a las acciones de la insulina en el hígado, la hiperinsulinemia, incluso en estado de ayuno, puede resultar en supresión completa lo que disminuye la oxidación de ácidos grasos y contribuye a la acumulación de grasa.¹³¹ La lipogénesis está bajo el control de la proteína de enlace de elementos reguladora de esterol (SREBP-1), sustancia sensible a la insulina⁵ y a la fosfolipasa D glicosilfosfatidilinositol- específica (GPI-PLD). El incremento de ésta se asocia con resistencia a la insulina y elevación de triglicéridos, efecto mediado, al menos en parte, por la reducción del catabolismo de lipoproteínas ricas en triglicéridos.¹³⁵

El manejo mitocondrial de flujo de ácidos grasos libres depende del estado global del balance de CHO; en estado de alimentación con altas concentraciones de glucosa e insulina hay síntesis hepática de flujo de ácidos grasos libres, generación de malonil CoA e inhibición de carnitín palmitotransferasa, lo que bloquea la entrada de flujo de ácidos grasos libres a la mitocondria, por lo que se convierten en triglicéridos y se secretan como VLDL. Sin embargo, en estados de falta de energía disminuye la síntesis hepática de flujo de ácidos grasos libres; en consecuencia, bajan las concentraciones de malonil CoA y se incrementa la actividad de carnitín palmitotransferasa, lo que promueve la captación del flujo de ácidos grasos libres por la mitocondria y su oxidación subsecuente. La β -oxidación mitocondrial conduce a la producción de NADH y FADH₂, proceso durante el cual se pierde una pequeña fracción de electrones por la generación de radicales libres, que producen estrés oxidativo dentro de la célula.⁵¹

De forma simple, se desarrollará esteatosis hepática cuando la producción-secuestro hepático de triglicéridos

exceda su excreción o metabolismo. Los mecanismos que contribuyen al aumento de la producción y acumulación de triglicéridos o disminución en su excreción^{133,135} se resumen en la figura 1.

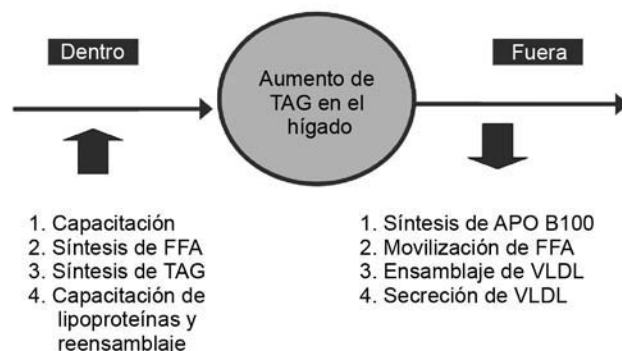


Figura 1. Procesos que pueden contribuir al aumento de triglicéridos hepáticos que caracterizan la esteatosis hepática y NASH. Los de la izquierda contribuyen al aumento del influjo de triglicéridos. Los de la derecha incrementan el contenido hepático de triglicéridos al disminuir los niveles normales de salida de triglicéridos, principalmente como VLDL.¹³³

Procesos que incrementan la producción-acumulación de triglicéridos hepatocelulares

1. Aumento en la captación de flujo de ácidos grasos libres. Los adipocitos de los obesos son de mayor tamaño, teniendo que el componente de captación de flujo de ácidos grasos libres no saturable aumenta paralelamente con la superficie del adipocito. Cuando se satura la combinación con albúmina, las células hepáticas captan más flujo de ácidos grasos libres. La resistencia a la insulina también juega un papel importante.¹³³ Aunque la DM2 se considera un defecto primario del metabolismo de hidratos de carbono, hay gran cantidad de datos que sugieren que es igualmente una enfermedad del metabolismo de flujo de ácidos grasos libres; entonces, los factores que se consideran como principales en la alteración de la glucosa pueden tener su origen en una alteración de la regulación de ácidos grasos de cadena larga (LCFA) o lesión tisular relacionada con el flujo de ácidos grasos libres (por ejemplo, lipotoxicidad). Como prototipo se ha propuesto que una causa de la resistencia a la insulina glucorreguladora en diabetes puede ser el papel del aumento de flujo de ácidos grasos libres plasmáticos al inhibir la liberación de insulina por las células β del páncreas; de forma alterna, se ha sugerido

también que este tipo de resistencia es una consecuencia del aumento hepático de flujo de ácidos grasos libres que resultan de una fase antilipolítica en el tejido adiposo, mediada por el ciclo de ácidos grasos- glucosa de Randle. Es evidente que la resistencia a la insulina (y probablemente también a la leptina) no es un fenómeno único global, sino específico de tejido y sustrato, que puede ocurrir en diferentes tejidos en distintos momentos.^{133,136} Es exceso de flujo de ácidos grasos libres en el hígado juega un papel primordial en la elevada secreción de VLDL que lleva a una hipertrigliceridemia y dislipidemias asociadas.¹³⁶

2. *Aumento en la síntesis hepática de flujo de ácidos grasos libres.*^{4,133} La esteoaril CoA desaturasa (SCD) es la enzima limitante en la conversión de flujo de ácidos grasos libres saturados a monosaturados; éstos son componentes mayores de la membrana fosfolipídica y de los triglicéridos hepáticos almacenados. SCD-1 es inhibida por leptina; en modelos roedores se ha demostrado un incremento en SCD-1 en obesidad, junto con disminución del gasto de energía, esteatosis hepática marcada, hiperlipidemia y aumento de la secreción de VLDL. El aumento de SCD-1 promueve la génesis de esteatosis hepática, adiposidad corporal y otras características del síndrome metabólico en roedores, pero falta conocer su papel en humanos.¹³³

3. *Aumento en la síntesis hepática de triglicéridos.*^{4,133} Determinada por la disponibilidad de flujo de ácidos grasos libres y por su β -oxidación; por tanto, el aumento en el flujo de ácidos grasos libres incrementa la síntesis de triglicéridos.¹³³ Donnelly y col¹³⁷ demostraron que el defecto primario en lípidos en pacientes con NAFLD es un aumento de cinco veces en la lipogénesis de novo; de forma consistente con esta observación *in vivo*, el análisis de Nakamuta y col¹³⁸ demostró un incremento en genes involucrados en la lipogénesis de novo (acetil coenzima A carboxilasa (ACC) 1 y 2) y síntesis de triglicéridos (DGAT1), así como alteraciones en genes involucrados en la β -oxidación de ácidos grasos libres (disminución de CPT 1a con elevación de acil coenzima A deshidrogenada de cadena larga y 3 hidroxiacl coenzima A deshidrogenada alta de cadena larga L).

4. *Incremento en la captura hepatocelular de triglicéridos preformados.* La alta ingestión de triglicéridos, aumento en la secreción de VLDL hepática o actividad reducida de LDL puede resultar en mayor captación hepática de triglicéridos en asociación con endocitosis mediada por receptores de varias partículas de lipoproteínas.¹³³

Procesos que teóricamente podrían disminuir la secreción hepática de triglicéridos

1. *Disminución en la síntesis de Apo B100.* Se desconocen los factores que regulan la síntesis de Apo B100. El aumento en la secreción de VLDL menor que el incremento en la disponibilidad de flujo de ácidos grasos libres para acumulación de triglicéridos puede contribuir a la patogénesis de la esteatosis.¹³³

2. *Disminución en el ensamblaje y secreción de VLDL.*^{4,133} Las anomalías cualitativas o cuantitativas de MTTP pueden llevar a esteatosis hepática. Medicamentos como: amiodarona, tetraciclinas, pirprofeno y tianeptina inhiben la β - oxidación de flujo de ácidos grasos libres y a MTTP; el bloqueo de MTTP lleva a falta de incorporación de Apo B100 a las VLDL, con lo que se inhibe su secreción llevando a esteatosis hepática y esto sensibiliza al hígado a aumento en efectos de diferentes toxinas; por lo tanto, la abetalipoproteinemia resulta de mutaciones del gene que codifica para MTTP y ocasiona esteatosis hepática severa que llega a cirrosis, niveles muy bajos circulantes de colesterol y triglicéridos y niveles no detectables de lipoproteínas que contienen ApoB. Aparentemente la secreción de Apo B100/ VLDL no está deprimida en términos absolutos en pacientes con obesidad o resistencia a la insulina, pero está disminuida en pacientes con NASH, lo que sugiere que este proceso puede ser un factor en la transición de esteatosis simple a esteatohepatitis.^{76,133}

HIPÓTESIS DE DOBLE GOLPE

En 1998 Day y James¹²¹ propusieron la “hipótesis de doble golpe” para explicar porqué algunos casos de esteatosis hepática progresan a esteatohepatitis. El primer golpe es la acumulación de flujo de ácidos grasos libres y triglicéridos dentro del hígado; el segundo impacto es que la acumulación de grasa dentro del hígado lleva a estrés oxidativo crónico, lo que se cree hace al hepatocito vulnerable a apoptosis o necrosis.

El primer golpe es la acumulación de grasa en el hepatocito.^{15,134,139} Esto puede estar ocasionado por defectos genéticos responsables primariamente por la resistencia a la insulina, hipoxia, toxinas, inflamación sistémica, neoplasias malignas, ayunos prolongados, deficiencias nutricionales, diversas alteraciones metabólicas, ingestión excesiva de calorías y obesidad visceral, es mediada por adipocitocinas (leptina, adiponectina, TNF- α .)¹³⁹ La

adipofilina (proteína relacionada con la diferenciación adiposa) está fuertemente inducida en células con aumento en la carga de lípidos; por tanto, gobierna la acumulación de triglicéridos hepáticos,³⁹ disminución en la síntesis de apolipoproteínas y el polimorfismo del gen de transferencia de proteínas microsomales.^{9,15,76,134} La esteatosis puede resultar, teóricamente, de al menos uno de los siguientes procesos:¹³⁶

- Aumento en el aporte de flujo de ácidos grasos libres al hígado.¹³⁶
- Aumento en la síntesis de flujo de ácidos grasos libres por el hígado.¹³⁶
- β - oxidación insuficiente de flujo de ácidos grasos libres.¹³⁶
- Síntesis o secreción insuficiente de VLDL.¹³⁶

La acumulación de lípidos en el hepatocito parece resultar del aumento en la expresión de los genes involucrados en la adipogénesis, más que de una desregulación de los genes involucrados en el metabolismo del flujo de ácidos grasos libres. Los pacientes con NAFLD tienen una composición diferente de ácidos grasos en su hígado comparados con individuos normales, lo que refleja una alteración adversa del metabolismo de lípidos.³⁹ Se ha propuesto que estos hepatocitos llenos de grasa actúan como un reservorio para agentes hepatotóxicos y son más susceptibles al daño por segundo golpe por compuestos como endotoxinas y TNF- α que llevan a peroxidación lipídica, un proceso que estimula la fibrogénesis.⁷ El principal factor que da inicio a la acumulación de lípidos intrahepáticos es la resistencia a la insulina que incrementa la lipólisis y la carga de ácidos grasos que llegan al hígado.^{15, 76, 129, 134}

HIPÓTESIS DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA

La resistencia a la insulina se refiere a un estado en donde las concentraciones fisiológicas de la hormona producen una respuesta subnormal en las células blanco que, por ser de tipo diferente, tienen respuestas distintas.¹⁴⁰ En NAFLD se encuentra de forma central la resistencia a la insulina que se asocia con la enfermedad, independientemente del índice de masa corporal o tolerancia a la glucosa.^{15,21,51,131,141} Se cree que el evento inicial es la resistencia a la insulina periférica, específicamente en el tejido adiposo. En los adipocitos, la insulina inhibe la lipasa sensible a la hormona, previniendo la lipólisis de triglicéridos y la liberación de flujo de ácidos grasos libres.⁵ Tanto en los adipocitos

como en el músculo, el principal transportador de insulina almacenada en vesículas intracelulares es el GLUT-4s;¹⁴² la insulina se une a su receptor en la membrana plasmática, resultando en fosforilación del mismo y activación de los sustratos del receptor de insulina (IRS); éstos forman complejos con proteínas de acoplamiento como la fosfoinositide-3 cinasa (PI3) en su subunidad p85, por lo que se adhiere a la unidad catalítica. La activación de PI3 es una vía mayor en la mediación del transporte de glucosa y metabolismo mediado por insulina, pues activa las cinasas fosfoinositide-dependientes que participan en la activación de proteína-cinasa B (también conocida como Akt) y formas atípicas de proteína-cinasa C; este proceso da como resultado la translocación GLUT-4 a la membrana.^{5,74} El defecto más frecuente de resistencia a la insulina es una sustitución de serina por tirosina en IRS-1,^{2,74} causada por el exceso de ácidos grasos libres; la lesión de fosforilación de tirosina, la desfosforilación acelerada y la fosforilación de residuos de serina tienen el efecto de desactivar los sustratos del receptor de insulina como IRS-1, llevando a resistencia a la insulina.² (Figura 2)

La sensibilidad a la insulina también está regulada por péptidos mediadores; el tejido adiposo, en especial la grasa mesentérica con flujo venoso directo al hígado, es una rica fuente de producción de citocinas y hormonas que regulan la actividad metabólica descendente. Los ejemplos incluyen TNF- α , leptina, angiotensinógeno, inhibidor del activador del plasminógeno-1 y componentes del complemento. El TNF- α se deriva, primariamente, del tejido adiposo en condiciones normales, donde sus niveles correlacionan con el contenido de grasa corporal; TNF- α estimula la fosforilación de serina.² Otros de los mecanismos involucrados en el síndrome de resistencia a la insulina incluyen los relacionados con el gen Rad (asociado con diabetes, por sus siglas en inglés), el cual interfiere con funciones celulares esenciales (crecimiento, diferenciación, transporte vesicular y transducción de señales); PC-1 (una glucoproteína de membrana que participa en la resistencia a la insulina) la cual reduce la actividad de la tirosin-cinasa inducida por insulina.⁹

La resistencia a la insulina resulta de influencias heredadas y adquiridas. Las primeras incluyen mutaciones en el receptor de insulina, transportador de glucosa y proteínas de señalización, aunque las formas más frecuentes no han sido identificadas. Las causas adquiridas incluyen: inactividad física, dieta, medicamentos, hiperglucemia

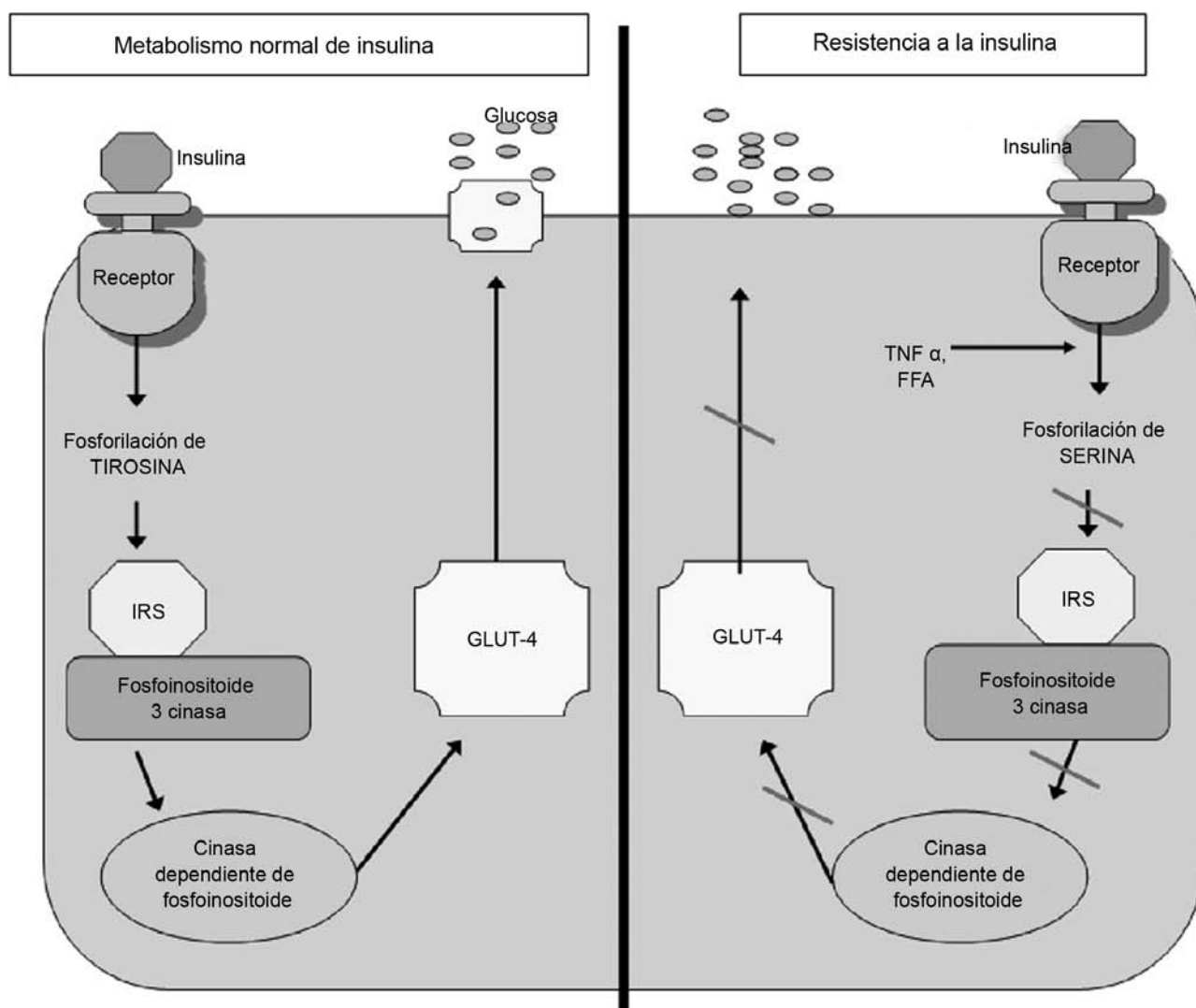


Figura 2. El defecto más frecuente de resistencia a la insulina es una sustitución de serina por tirosina en IRS-1, causada por el exceso de ácidos grasos libres.

(toxicidad por glucosa), aumento de flujo de ácidos grasos libres y proceso de envejecimiento.¹⁴² (Cuadro 2)

La resistencia a la insulina, en la mayoría de los casos, es poligénica e involucra polimorfismo de diferentes genes involucrados en la secreción de insulina o actúa como mediador en sus efectos.⁵¹ (Cuadro 3)

HIPÓTESIS DEL EFECTO DE LA INSULINA SOBRE EL TEJIDO ADIPOSO BLANCO DE GRASAS. HIPÓTESIS DE PUERTA ÚNICA

El tejido adiposo blanco es uno de los blancos de la insulina con respecto a la patogénesis del síndrome metabólico y

NAFLD; el equilibrio entre el almacén y movilización de lípidos está determinado por factores genéticos, localización del tejido adiposo y vías neurohumorales (por ejemplo, neuronas adrenérgicas $\beta 3$). La insulina es la principal hormona que promueve el almacén de lípidos, mientras que las hormonas contrarreguladoras y varias citocinas proinflamatorias promueven la movilización. Los efectos de mediadores neurales y endócrinos están modulados por la expresión de diversas citocinas que promueven el almacén o la movilización. Al trabajar en conjunto todos estos factores determinan la sensibilidad de la insulina del tejido adiposo (habilidad de inhibir lipólisis y promover lipogénesis); hay resistencia a la insulina

Cuadro 2. Causas de base de estados resistentes a la insulina^{2,51,74,142}

<i>Defecto</i>	<i>Ejemplos</i>
Prerreceptor	Insulina anormal (mutaciones) Ac contra insulina
Receptor	Disminución en cantidad (principalmente por falla en activar la tirosín cinasa) Unión reducida a insulina Mutaciones del receptor de insulina Ac bloqueadores del receptor de insulina
Posreceptor	Transducción defectuosa de señal Mutaciones del GLUT-4 (en teoría, éstas podrían causar resistencia a la insulina, pero los polimorfismos son raros)
Combinaciones de defectos	La obesidad se asocia, principalmente, con anomalías posreceptor, pero también con disminución del número de receptores Envejecimiento: disminución en la producción de GLUT-4
Aumento en la producción de antagonistas de insulina	Síndrome de Cushing Acromegalia Estados de estrés (intervención quirúrgica, traumatismo, cetoacidosis, infección severa, uremia y cirrosis hepática)
HIV	Lipodistrofia asociada con el uso de inhibidores de proteasas
Tratamiento con insulina	Hay concentraciones bajas de IgG contra insulina en la mayoría de los pacientes que reciben insulina; en casos raros, estos Ac resultan en resistencia a la insulina significativa de tipo prerreceptor Incremento en la destrucción de insulina en el sitio de inyección subcutánea
Misceláneas	Síndrome tipo A Síndrome tipo B Enanismo Estados lipodistróficos Ataxia-teleangiectasia Síndrome de Werner Síndrome de Rabson-Mendenhall Síndrome de glándula pineal hipertrófica Factor nuclear κB (NF-κB) Ceramida Factor de necrosis tumoral (TNF)

cuando los factores sistémicos y locales que regulan el equilibrio favorecen la movilización.^{51,133}

Los adipocitos son extremadamente sensibles a la insulina y al flujo de ácidos grasos libres, por lo que los cambios en esta sensibilidad son un factor clave en el desarrollo de la resistencia a la insulina.⁵¹ La resistencia a la insulina antilipolítica concomitante con obesidad intraabdominal se espera que lleve a:

Niveles elevados de flujo de ácidos grasos libres en la sangre portal.¹³³

El aumento proporcionalmente aún mayor en la concentración de flujo de ácidos grasos libres no unidos a albúmina que lleva al aumento en la captación hepática de flujo de ácidos grasos libres.¹³³

Aumenta en la oxidación de flujo de ácidos grasos libres, no sólo dentro de la mitocondria, sino también en CYP microsomales y perioxomas.¹³³

Al no haber efecto de la insulina en el tejido adiposo blanco sobreviene lipólisis de triglicéridos y liberación de flujo de ácidos grasos libres, con el evidente influjo

Cuadro 3. Sitios de resistencia a la insulina dentro de las células. Basado en datos experimentales¹⁴³

A. Señal efectora proximal	
1. Receptor de insulina	
RI -/-	Crecimiento normal <i>in utero</i> , pero mueren de cetosis en una semana (no se ve en forma humana de deficiencia a la insulina-enanismo)
RI +/-	Muestran hiperinsulinemia moderada y sólo 10% manifiesta diabetes
2. Sustrato del receptor de insulina	
IRS-1-/-	IR leve/leve alteración/retraso de tolerancia a la glucosa; no se ve crecimiento/diabetes por hiperplasia de células beta
IRS-1-/+	Falta de cambios significativos vistos en IRS-1-/-
IRS-2-/-	Manifiestan diabetes a los 10 años de edad/ masa reducida de células beta/parece DM2
IRS-3-/- / IRS-3-/+	Fenotipo normal
IRS-4-/- / IRS-4-/+	Fenotipo normal
B. Transductores de señales en favor de la corriente	
1. Akt2	Resistencia a la insulina en hígado/músculo
2. PTP1B	Aumento de la sensibilidad de la insulina
3. P85 α (hetero)	Incremento de la sensibilidad de la insulina
4. SHP2	Aumento de la sensibilidad de la insulina
5. Transportador de glucosa (GLUT-4)	Hiperinsulinemia con glucosa normal/hipertrofia cardiaca

elevado de éstos al hígado;^{5,16} el tejido adiposo visceral es particularmente sensible a este proceso, quizá por aumento en la expresión de 11 β -OH deshidrogenasa 51. Si el grado de aporte de flujo de ácidos grasos libres y la subsecuente nueva reesterificación a triglicéridos sobrepasa la habilidad para formar y exportar VLDL, los triglicéridos se acumularán en el hígado^{51,136} llevando a resistencia a la insulina hepática, al interferir con la señalización de la insulina con consecuente inhibición del ciclo de Krebs y estimulación de la gluconeogénesis, lo que resulta en aumento en la salida de glucosa hepática;⁵¹ esto lo comprobó el estudio de Seppälä-Lindroos y col,¹⁴⁴ quienes trabajaron en 30 hombres sanos no diabéticos, a los que se determinó el contenido hepático de grasa, grasa intraabdominal y sensibilidad a la insulina; encontraron que a mayor contenido de lípidos intrahepáticos, mayor resistencia a la insulina.

La producción constante de flujo de ácidos grasos libres empeora la sensibilidad a la insulina periférica al inhibir la captura de glucosa mediada por la hormona y provee un sustrato para estrés oxidativo,^{5,16,141} al aumentar la β -oxidación de flujo de ácidos grasos libres. Las concentraciones excesivas intracelulares de ácidos grasos pueden ser *per se* tóxicas o llevar a estrés oxidativo, por lo tanto contribuyen a NASH (cuadro 4).¹³⁶

La proteína estimulante de la acilación actúa en los adipocitos, principalmente como factor paracrino para incrementar la síntesis y almacén de triglicéridos; hipotéticamente puede jugar un papel similar en la patogénesis de NAFLD. El estudio de Yesilova y col¹⁴⁵ reunió a 46 hombres con NAFLD (grupo A), 30 hombres con hepatitis crónica viral (Grupo B) y 30 sujetos sanos; entre los casos de NAFLD, 10 pacientes (24.4%) tenían esteatosis simple y 36 (69.6%) NASH; los niveles medios de ASP, complemento 3, insulina, péptido C, HOMA-resistencia a la insulina, triglicéridos y VLDL fueron significativamente más altos en el grupo A. Los niveles de ASP correlacionaron significativamente de forma positiva con IMC, insulina y HOMA-resistencia a la insulina, por lo que concluyen que la desregulación de la vía ASP puede tener importantes consecuencias metabólicas en NASH y está asociada con resistencia a la insulina. Independientemente de los cambios hepáticos por el aumento del flujo de ácidos grasos libres, la resistencia a la insulina también se asocia con discapacidad de captura de glucosa por el músculo estriado,⁵¹ principal sitio de evacuación de glucosa de la circulación. El defecto fisiopatológico clave es una alteración en la translocación de GLUT-4 a la superficie celular, por lo que se afecta la habilidad de internalizar glucosa, debido a fosforilación inducida por

Cuadro 4. Insulina y metabolismo intermedio: normal y en estados de resistencia a la insulina⁵¹

Fisiología normal	Activación	Inhibición	Estado del receptor de insulina
Receptor de insulina	Insulina		
Transducción de señales de insulina	Insulina Ácidos grasos libres	↓ Glucosa Glucagón Epinefrina Hormona del crecimiento	Inhibido por FFA, TNF α
Metabolismo de carbohidratos			
Glicolisis	↑ Insulina/glucagón	Glucagón	Inhibido
Gluconeogénesis	↓ Insulina/glucagón	↑ Insulina/FFA	Aumentado
Glucogenolisis	↓ Insulina/glucagón	↑ Insulina/glucagón	Aumentado
Glucogénesis	↑ Insulina/glucagón	↓ Insulina/glucagón	Disminuido
Metabolismo de lípidos			
β Oxidación	FFA (todos los largos de cadenas)	↑ Insulina/glucagón	Aumentado por ↑ carga de FFA
ω Oxidación	Cadenas muy largas FFA (> C20)	↑ Insulina/glucagón	Aumentado por ↑ carga de FFA

serina, en lugar de tirosina.⁷⁴ Los flujos de ácidos grasos libres pueden alterar la señalización de insulina y, por ende, el transporte de GLUT-4 a la superficie celular. La cantidad de depósitos grasos en las fibras musculares se ha asociado con el grado de resistencia a la insulina. Basados en estas consideraciones parece que el aumento del flujo de ácidos grasos libres a partir de índices lipolíticos elevados puede contribuir a la inhabilidad de eliminar glucosa por el músculo estriado.^{2,51} Ante resistencia a la insulina muscular, la glucosa plasmática se eleva por baja eliminación, así como por aumento en la salida del hígado; entonces, las células β del páncreas captan el estado hiperglucémico por lo que incrementan la producción de insulina con el fin de restaurar la euglucemia; esta serie de eventos continúa hasta que la oferta puede cumplir la demanda, pero con el tiempo las células β fallan y aparece la diabetes.^{51,140} Este proceso por el que el metabolismo de la glucosa y lípidos en el hígado están integrados por lipólisis en los almacenes adiposos viscerales y el flujo de flujo de ácidos grasos libres, se ha llamado “hipótesis de puerta única”.⁵¹

La hiperinsulinemia promueve la lipogénesis, efectos mediados en gran parte por la inhibición de PKA; ésta resulta en inhibición de la lipoproteína lipasa así como en activación de fosfofructocinasa (PFK-1) que aumenta la glicólisis y la generación de piruvato. El piruvato es convertido en acetil CoA y provee un sustrato necesario para la síntesis de ácidos grasos, así como para la

hidroximetilglutaril CoA (HMGCoA) reductasa, el paso limitante en la síntesis de colesterol. Además, la insulina induce factores transcripcionales regulatorios involucrados en el metabolismo de los lípidos incluyendo proteína de unión de elementos reguladora de esteroides (SREBP)^{51,131} factor clave de la determinación de la insulina codificados mediante un programa genético de aumento de síntesis de lípidos en los hepatocitos; la sobreexpresión de SREBP-1 en ratones transgénicos se asocia con esteatosis hepática severa.² El efecto neto es una sobre producción de ácidos grasos que contribuyen a esteatosis hepática y al inicio del espectro de cambios asociados con NAFLD.^{51,131}

HIPÓTESIS PORTAL-VISCERAL

Esta teoría se basa en el paradigma utilizado para explicar que el aumento en la adiposidad, particularmente visceral, lleva al aumento del flujo de ácidos grasos libres e inhibición de la acción de la insulina por vía del efecto Randle en tejidos sensibles a ésta. Los datos recientes no apoyan completamente esta hipótesis; como tal, dos nuevas corrientes han surgido para poder explicar los vínculos establecidos entre adiposidad y enfermedad.¹⁴⁶

- Síndrome de depósito de grasa ectópica.* Tres líneas de evidencia lo defienden; tomándolas juntas, avalan la teoría de la lipodistrofia adquirida como un vínculo entre adiposidad y resistencia a la insulina.¹⁴⁶

- 1) La falla para desarrollar adecuada masa de tejido adiposo en pacientes con lipodistrofia, que resulta en intensa resistencia a la insulina y diabetes. Se cree que esto es ocasionado por la acumulación ectópica de lípidos en el hígado, músculo esquelético y las células β del páncreas.¹⁴⁶
 - 2) La mayoría de los pacientes obesos también desvían lípidos al músculo esquelético, al hígado y probablemente a la célula β del páncreas; la importancia de este hallazgo está ejemplificada por varios estudios que demuestran que el grado de infiltración lipídica en el músculo esquelético y el hígado correlacionan directamente con resistencia a la insulina.¹⁴⁶
 - 3) El incremento en el tamaño de los adipocitos se asocia altamente con resistencia a la insulina y diabetes; esto puede representar una falla de la masa de tejido adiposo blanco para expandirse (defecto en la proliferación/ diferenciación) y acomodar un influjo de energía creciente.^{61,146}
- b) *El paradigma endocrino desarrollado en paralelo con la hipótesis del síndrome de acumulación de grasa ectópica.* El tejido adiposo blanco secreta una variedad de hormonas incluidas: leptina, IL-6, angiotensina II, adiponectina y resistina. Desde este punto de vista, el tejido adiposo blanco juega un papel crítico como glándula endocrina, secretando numerosos factores con efectos potentes en el metabolismo de tejidos distantes.¹⁴⁶

La reciente propuesta de que el síndrome de resistencia a la insulina podría ser un trastorno inflamatorio puede ser relevante; consistente con este concepto está el estudio de Arkan y col¹⁴⁷ que demuestra que la inhibición sistémica de la cinasa κB inhibidora mejora la glucemia, sensibilidad a la insulina e hiperlipidemia en pacientes con DM2. Como se muestra en la figura 3, el equilibrio entre citocinas pro y anti inflamatorias derivadas de los adipocitos y otros tejidos puede determinar la aparición de resistencia a la insulina. Datos recientes sobre el mecanismo de acción y los efectos benéficos de los agonistas PPAR- γ y los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga dan crédito a la naturaleza inflamatoria de la resistencia a la insulina. El reporte reciente de que los salicilatos o la disrupción de IKK- β revierten la obesidad y la resistencia a la insulina inducida por dieta, apoyan este concepto.¹⁴⁸

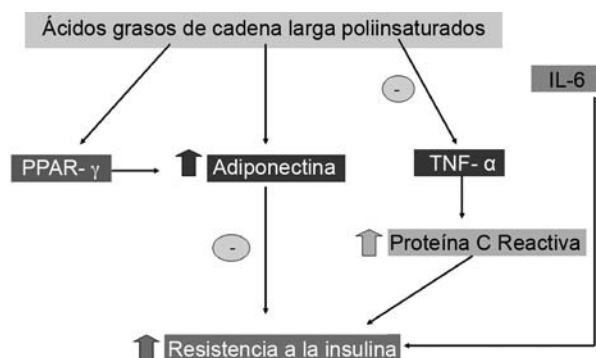


Figura 3. Esquema que muestra la relación entre citocinas, proteína C reactiva, resistencia a la insulina y ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

SEGUNDO GOLPE

El segundo impacto se caracteriza por lesión hepatocelular;² la acumulación de grasa en el hígado hace al órgano más sensible a inflamación, peroxidación lipídica y generación de ROS. (Figura 4)^{16,139}

Sin embargo, muchos pacientes con esteatosis nunca progresan a necroinflamación o fibrosis, lo que sugiere que, además de la esteatosis, la esteatohepatitis requiere otros factores, o “segundo golpe”, que sean capaces, por

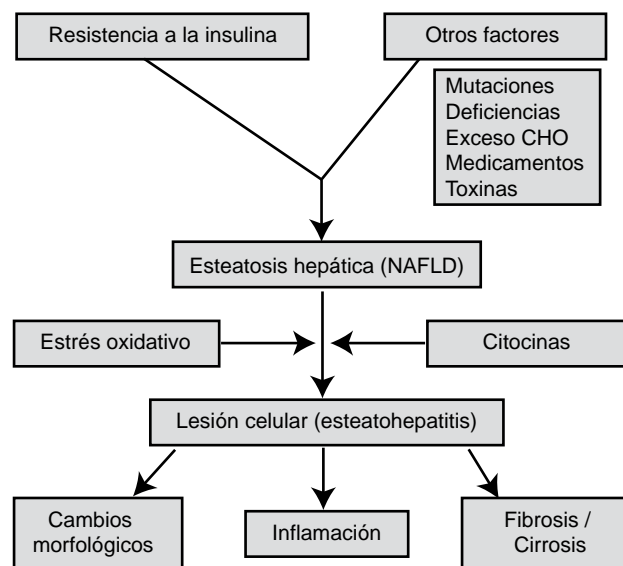


Figura 4. En la mayoría de los casos la resistencia a la insulina es el componente principal, aunque tiene otros factores que contribuyen. El exceso de grasa en el hígado predispone a daño hepatocelular en algunos individuos, quizá por toxicidad celular directa o exceso de ácidos grasos libres, estrés oxidativo, peroxidación lipídica y otros mecanismos.

ejemplo, de producir radicales libres que induzcan estrés oxidativo^{51,121,136} como lo han presentado Berson y col¹⁴⁹ Los candidatos posibles de este segundo golpe son:

1) Factores que contribuyen al estrés oxidativo y subsecuente peroxidación de lípidos.¹³⁶ Los productos de la oxidación de ácidos grasos (peróxido de hidrógeno, superóxido y peróxidos lípidos) son capaces de generar estrés oxidativo y subsecuente peroxidación de lípidos.⁷⁴

2) Factores asociados con producción anormal de citocinas.¹³⁶

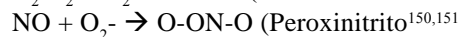
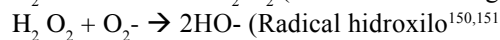
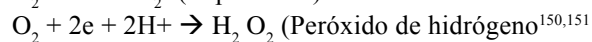
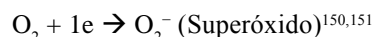
3) Factores asociados con alteraciones del metabolismo de ácidos grasos y resistencia a la insulina.¹³⁶ La insulina puede dañar al hígado directa e indirectamente; el efecto directo podría ser resultado de la habilidad de la hormona de generar estrés oxidativo, regular positivamente SREBP, estimular el factor de crecimiento de tejido conectivo (lo que favorece la fibrosis, especialmente en presencia de hiperglucemia) y causar estrés en el retículo endoplásmico junto con la respuesta de desdoblamiento de proteínas y apoptosis; esto puede exacerbar la resistencia a la insulina.⁷⁴

Con base en la figura 4 a continuación se explican los diferentes factores que conforma el segundo golpe:

ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo es una situación de desequilibrio en donde las concentraciones excesivas de radicales libres de oxígeno o ROS están presentes en el organismo debido a una habilidad inadecuada de las sustancias neutralizadoras relevantes, referidas como antioxidantes, que destruyen estos productos dañinos de los procesos metabólicos.^{150,151}

En un átomo estable, el número de protones en el núcleo es igual al número de electrones en las órbitas y cada átomo no puede tener más de ocho electrones; la reactividad química de un átomo es dependiente de la conformación de electrones en la órbita. Cuando una molécula tiene un número de electrones impar o raro en su estructura, es conocido como radical libre, que es relativamente inestable y consecuentemente muy reactivo. Por ejemplo, el oxígeno molecular (O_2) tiene dos electrones impares en su órbita, lo que le permite aceptar hasta dos electrones por parte de otro compuesto. Cuando se añade un solo electrón al oxígeno molecular, se convierte en la molécula superóxido (O_2^-), que es un radical libre con un electrón impar. Los radicales libres comprenden:¹⁵⁰



Hay otras moléculas, como el peróxido de hidrógeno, que no son necesariamente radicales libres, pero ciertamente son muy reactivos; estas moléculas junto con los radicales libres se conocen como ROS. El radical hidroxilo es el más tóxico en los sistemas biológicos. Los ROS tienen una enorme habilidad para causar daño a las células y tejidos por su altamente reactiva naturaleza; además, ciertos aldehídos, como el malnodialdehído y el hidroxinonenal, que son productos de reacciones de radicales libres con ácidos grasos poliinsaturados, son capaces de formar entrecruzamientos con lípidos y ácidos nucleicos, por lo tanto, dañan a las macromoléculas.¹⁵⁰

Los blancos principales de las reacciones de radicales libres son ácidos grasos poliinsaturados, lipoproteínas y aminoácidos.¹⁵¹ Cuando son agredidas las uniones insaturadas de fosfolípidos de membrana, se produce el fenómeno de peroxidación lipídica, cuyas consecuencias incluyen la pérdida de la fluidez membranal, la alineación de receptores y lisis celular potencial. Resultados de estudios recientes sugieren un modelo compuesto de dos posibles resultados de reacciones que llevan a daño oxidativo:¹⁵⁰

- 1) El estrés oxidativo causa peroxidación lipídica y esto resulta en daño celular: teoría original.¹⁵⁰
- 2) El estrés oxidativo ocasiona daño celular, que lleva de forma secundaria a aumento de peroxidación lipídica en las células lesionadas. Se ha demostrado que las concentraciones elevadas de calcio, así como el daño a proteínas y ADN, son frecuentemente más importantes en la lesión celular que la peroxidación de lípidos.¹⁵⁰

A pesar de la ambigüedad, está bien establecido que la peroxidación lipídica se asocia con daño celular y que los peróxidos lípidos y sus productos intermedios están presentes en el daño oxidativo, por lo que de forma rutinaria se miden las concentraciones de peróxido lipídico y sus productos de degradación como índices de estrés oxidativo.¹⁵⁰

El trabajo del grupo de Pessayre¹⁵² ha sugerido que la mera presencia de grasa oxidable dentro del hígado es suficiente para iniciar la peroxidación de lípidos. El exceso de flujo de ácidos grasos libres diverge en múltiples rutas metabólicas para llevar a la génesis de ROS y estrés

oxidativo dentro de los hepatocitos, incluyendo las vías mitocondrial, perioxosomal, citocromo P450, NADPH oxidasa, ciclooxigenasa y lipooxigenasa; de éstas, las más importantes son la mitocondrial, perioxosomal y citocromo P450.^{5,15,16,51,133}

a) *Vía mitocondrial*: Genera la mayor parte de ROS por tres mecanismos:

- 1) Inducción de citocinas.^{16,51} Las adipocinas, citocinas producidas por el tejido adiposo, se han implicado ampliamente en NAFLD o resistencia a la insulina; entre las involucradas se encuentran: leptina,¹⁶ IL-6,¹⁶ adiponectina 16, resistina,¹⁵³ visfatina,¹⁵⁴ proteína acetilada estimuladora¹⁴⁵ y, particularmente, TNF- α .^{15,16}
- 2) Peroxidación lipídica.^{16,51} La peroxidación lipídica directa de las membranas mitocondriales lleva a pérdida progresiva del citocromo C del organelo, lo que conduce a apoptosis y necrosis de los hepatocitos con la liberación de productos como malondialdehído (MDA) y 4- hidroxinonenal (HNE), iniciando los mecanismos inflamatorios e inmunológicos de lesión del hepatocito, así como la activación directa de células estelares hepáticas^{16,42,51,121} (fibrosis)⁷⁴, el entrecruzamiento de citoqueratinas para formar los cuerpos de Mallory 121, sobreregular la citocina factor transformador del crecimiento beta (TGF- β) en macrófagos⁷⁴ y estimular la quimiotaxis de PMN (necroinflamación), lo que lleva típicamente a un infiltrado inflamatorio de tipo agudo.^{74,84,121} MDA puede contribuir a la inflamación mediante la activación de NF- κ B, un factor de transcripción que regula

la expresión de varias citocinas proinflamatorias y moléculas de adhesión, como TNF- α , IL- 8, molécula de adhesión intercelular 1 y E- selectina.¹²¹ En resumen, los efectos de peroxidación se pueden ver en la figura 5.

Otro producto de peroxidación lipídica es 3- nitrotirosina, cuyos niveles aumentan aún más con el desarrollo de esteatohepatitis, lo que sugiere de un límite crítico de estrés oxidativo que lleva al desarrollo de NASH o variabilidades interpersonales de susceptibilidad a estrés oxidativo.⁵¹

- 3) Inducción del ligando Fas (FasL):¹⁶ proteína transmembranal II que pertenece a la familia de TNF. La unión del ligando Fas con su receptor induce apoptosis, jugando un importante papel en la regulación del sistema inmunitario y la progresión de cáncer. Los oxidantes son mediadores potenciales en la regulación de la expresión de FasL.¹⁵⁵ Feldestein y col¹⁵⁶ han demostrado que el receptor de FasL y la expresión de caspasa 3 y 7 están aumentadas en pacientes con NASH; además de estimular apoptosis, la activación de Fas lleva a disfunción mitocondrial y mayor generación de ROS.⁵

b) *Vía perioxosomal*. Esta se vuelve importante en condiciones de sobrecarga de sustratos o cuando la b- oxidación mitocondrial es inhibida.¹²¹ Produce peróxido de hidrógeno que, en presencia de hierro libre, es convertido al altamente reactivo radical hidroxil.¹²¹ Otro producto generado es acil- CoA que se deja sin metabolizar y funciona como un ligando para PPAR- α .¹⁶ Sin embargo, Ip y col¹⁵⁷ demostraron la regresión de esteatohepatitis y

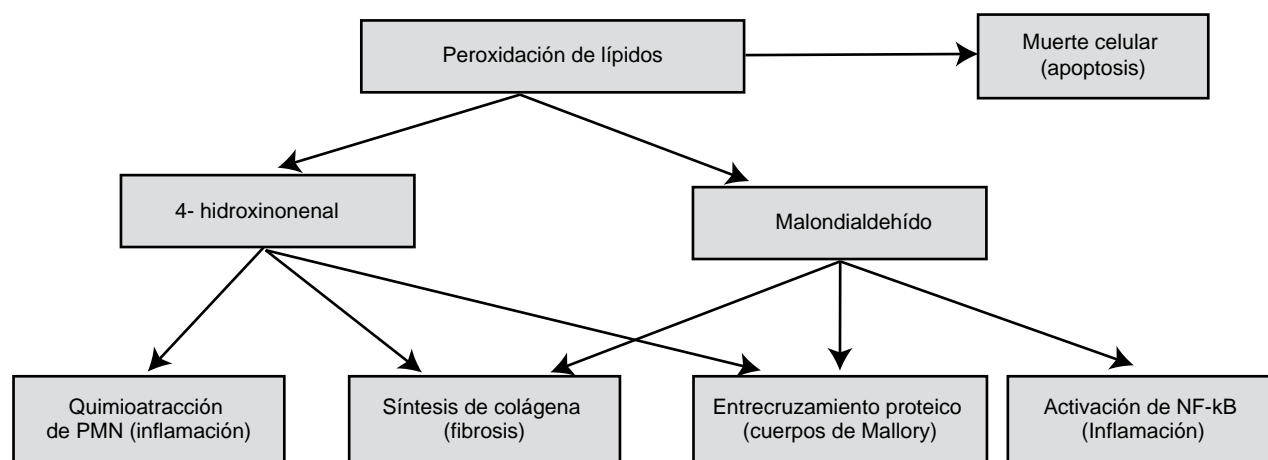


Figura 5. Mecanismos propuestos de esteatohepatitis por peroxidación lipídica inducida.^{74,84,121}

fibrosis en ratones a los que se administró un agonista PPAR- α ; entonces parece que PPAR- α y sus ligandos están implicados en la progresión de la enfermedad.¹⁶

- c) *Vía citocromo P450*. Los pacientes con NASH tienen sobreexpresión de proteínas microsomales, de las cuales CYP2E1 y CYP4A pueden ser las más importantes en la oxidación de flujo de ácidos grasos libres.^{16,74} La CYP2E1 está elevada por pérdida de la inhibición por insulina;^{15,51} ésta es una enzima que puede producir grandes cantidades de radicales libres (especialmente superóxido) por su ciclo inútil en la ausencia de sustratos. La liberación excesiva de radicales libres, si no es controlada por los sistemas endógenos antioxidantes, puede llevar a peroxidación de lípidos. Los efectos proinflamatorios, profibrogénicos de los productos aldehído finales de la peroxidación lipídica (malondialdehído y 4- hidroxinonenal) potencialmente pueden ser responsables por todas las características histológicas típicas vistas en NASH.¹⁵⁸ CYP2E1 es una fuente microsomal mayor de estrés oxidativo, por lo que juega un papel en la patogénesis de NASH.^{121,158}

El estudio de Weltman y col¹⁵⁹ demostró que CYP2E1 está incrementada en NASH, en patrón similar al de la enfermedad por alcohol con incremento en la intensidad perivenular y una distribución acinar más extensa de la inmunotinción, siendo más prominente en la zona III, el área menos oxigenada del acino. Este trabajo encontró que CYP3A estaba disminuido, por lo que el cambio en CYP2E1 no es parte de un incremento generalizado de las proteínas de la citocromo P450.^{51,141}

El trabajo de Chalasani y col¹⁵⁸ determinó que la actividad de CYP2E1 hepática y la expresión de CYP2E1 en linfocitos está incrementada en NASH; las correlaciones significativas de CYP2E1 con hipoxemia y b- hidroxibutirato (cetona) sugieren que estos factores juegan un papel en el incremento de la actividad de CYP2E1 vista en pacientes con NASH.

Datos preliminares sugieren que CYP4A11 está significativamente inducida en sujetos con obesidad grave probablemente debido a niveles más altos de ácidos grasos de cadena larga en el hígado;⁵⁰ esta proteína se localiza en el retículo endoplásmico e hidroxila ácidos grasos de cadena media como laureato y miristato.¹⁶⁰

El cuadro 5 resume las vías principales de generación de ROS.

Estas adaptaciones al estrés crónico incluyen: inhibición del gen de la ciclina D-1, activación aumentada del transductor de señal y activador de la transcripción 3 (Stat-3, por sus siglas en inglés), pérdida del ATP hepático e inhibición de los estados replicativos del ciclo celular.⁹

En resumen, los mecanismos involucrados se pueden ver en la figura 6.

Algunos estudios sugieren que el hierro es importante para precipitar la producción de ROS y, consecuentemente, la peroxidación de lípidos.^{42,74} Aunque la mayoría de los trabajos no encuentra asociación entre sobrecarga de hierro con o sin heterocigocidad para hemocromatosis⁷⁴ y NAFLD, hay evidencia indirecta que sugiere que el hierro puede ser significativo; aproximadamente 30% de los casos de NAFLD tienen elevada ferritina (un tercio de los pacientes con NASH tiene aumento en la frecuencia de mutaciones Cys282Tyr en el gene de hemocromatosis, HFE)^{93,121} y hay una asociación entre resistencia a la insulina y hierro hepático. El hierro es un prooxidante, tiene efectos deletéreos en las mitocondrias y puede ser un sustrato para estrés oxidativo, promoviendo la progresión de la enfermedad.⁷⁴

CITOCINAS

Se ha propuesto que las adipocinas, citocinas producidas predominantemente por tejido adiposo, pueden jugar un papel importante en la patogénesis de resistencia a la insulina, hipertensión, alteraciones de la coagulación, dislipidemia e intolerancia a la glucosa, anomalías asociadas con el síndrome de resistencia a la insulina.^{39,131,161} Entre las principales citocinas adiposas involucradas se encuentran

Cuadro 5. Oxidación de ácidos grasos en el hígado⁷⁴

	Mitocondria	Microsomas	Peroxisomas
Tamaño de cadena	Mediana/larga	Larga/muy larga	Muy larga
Producto intermedio	H ₂ O ₂ peróxidos lípidos	H ₂ O ₂ superóxido	H ₂ O ₂
Regulación por PPAR- α	+	+++	+++

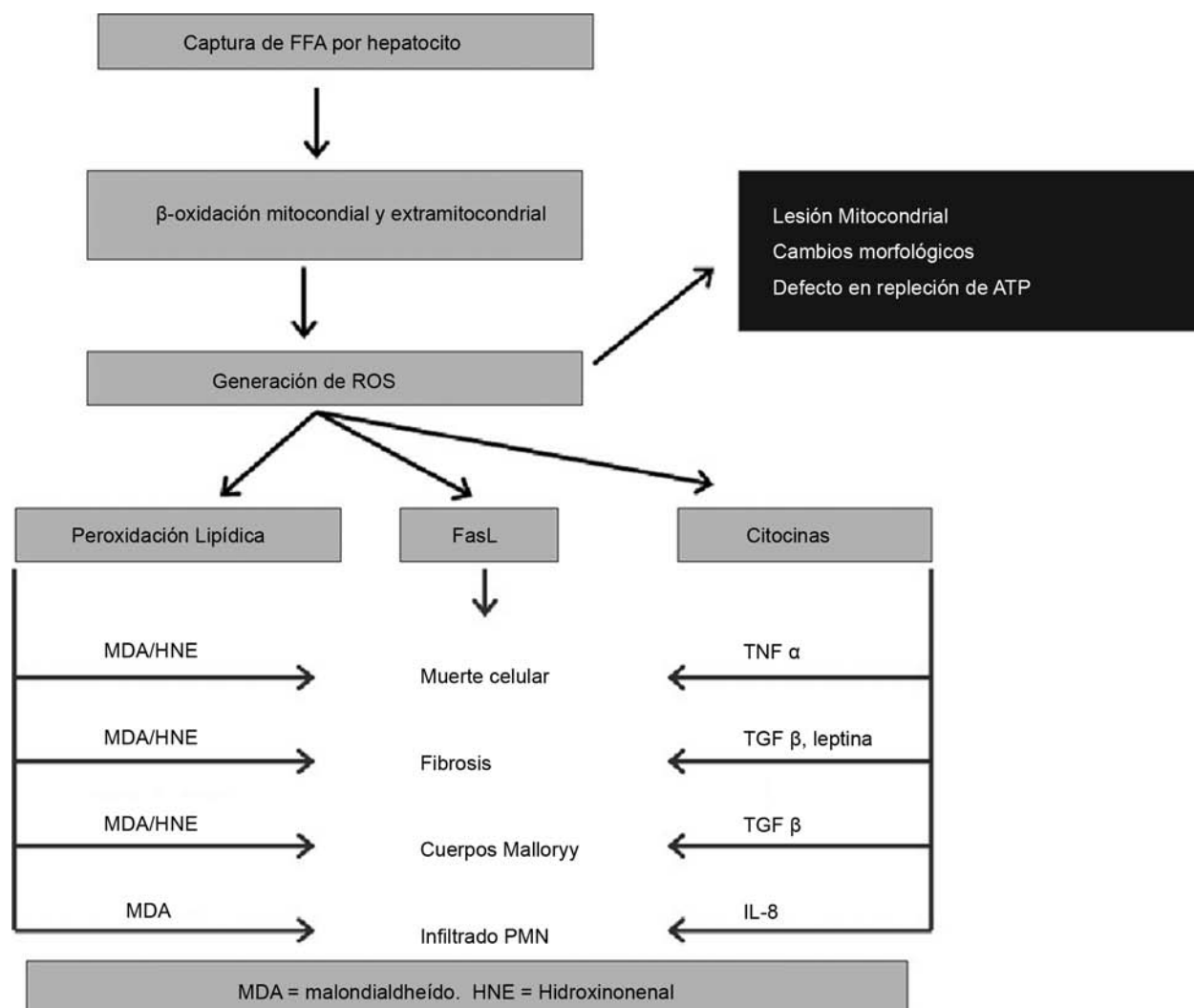


Figura 6. Consecuencias del aumento de FFA por hepatocitos. Muchas de las características de NASH siguen, lógicamente, a partir del incremento de FFA hepatocelular y subsecuente aumento en la generación de ROS por oxidación de FFA mitocondrial y extramitocondrial.¹³³

las sensibilizadoras a la insulina y las antagonistas a la hormona:

I Sensibilizadoras de insulina

a) Adiponectina

La adiponectina es la única adipocina conocida que se infraregula en obesidad, aunque la hipoadiponectinemia se ha relacionado más fuertemente al grado de resistencia a la insulina e hiperinsulinemia que al de adiposidad.⁶¹ Circula en valores relativamente altos en el organismo para influir la función metabólica,¹⁶² sugiriéndose que actúa como un adipostato al regular el balance de energía,¹⁶¹ pues tiene

diversas funciones sobre: carbohidratos, lípidos y el sistema inmunitario.⁶¹

a) *Efectos metabólicos:* estimula el uso de glucosa y la oxidación de ácidos grasos en el hígado por medio de la activación de la proteína cinasa activada por AMP,^{61,131,140,161,163} reduciendo la expresión de fosfoenolpiruvato carboxilasa y glucosa- 6- fosfatasa,¹⁶¹ incrementa la habilidad de niveles subfisiológicos de insulina para suprimir la producción de glucosa. A nivel molecular aumenta el transporte de proteínas de flujo de ácidos grasos libres en el músculo y aumenta la actividad de aciltransferasa-coenzima A oxidasa y proteína 2 no unida; esto resulta en aumento del

transporte-oxidación de flujo de ácidos grasos libres en el músculo, con la subsecuente reducción en el plasma y concentración de triglicéridos musculares;¹⁶¹ en el hígado, promueve la exportación de lipoproteínas.¹⁴⁰ Otros mecanismos propuestos para explicar los efectos metabólicos de la adiponectina incluyen la expresión aumentada del gene PPAR α , que incrementa la oxidación grasa y activación directa de AMO- activada proteína-cinasa en el músculo esquelético y el hígado y, subsecuente incremento en la oxidación de ácidos grasos, captura de glucosa y producción de lactato en los miocitos.^{140,161} El estudio de Bajaj y col¹⁶¹ encontró que la concentración de adiponectina se correlacionó inversamente con los niveles de triglicéridos, por lo que es posible que tenga un efecto directo para inhibir la síntesis hepática de los mismos, evento que confirman otros autores.^{140,164}

La adiponectina disminuye la concentración plasmática de VLDL ApoB al aumentar su índice de catabolismo; esta asociación es independiente del efecto de resistencia a la insulina sobre la secreción de VLDL ApoB y puede resultar por su efecto en el músculo esquelético. Esto puede explicar la razón de que las concentraciones bajas de adiponectina se asocien con dislipidemia aterogénica (hipertrigliceridemia, baja HDL, preponderancia de LDL).⁶¹

b) Efectos inmunológicos. Estudios *in vitro* han demostrado que tiene diversos efectos antiinflamatorios.^{39,161,163,165} Opera como un factor clave autócrino de la función secretora del adipocito, reduciendo la liberación de IL 6⁶¹ e IL8,⁶¹ oncogene del crecimiento regulado- a⁶¹ proteína quimiotáctica para monocitos- 1 (MCP),⁶¹ proteína inflamatoria de macrófagos (MIP) – 1a y 1 b,⁶¹ inhibición de la activación del factor nuclear κ B, supresión de la función de macrófagos y disminuye la expresión plasmática de TNF- α .^{161,163,165} El trabajo de Hui y col¹⁶² proveyó evidencia contundente que apoya la hipótesis de que la adiponectina tiene efectos antiinflamatorios hepatocitoprotectores en humanos con hígado graso, atribuible únicamente a factores metabólicos.

c) Efectos tróficos. Evidencia reciente sugiere que opera como un factor clave autócrino de la función secretora del adipocito, reduciendo la liberación de inhibidor tisular de metaloproteinasa (TIMP)-1 y TIMP-2; los inhibidores titulares de metaloproteinasas de matriz juegan un papel importante en la remodelación de la matriz extracelular, por lo que son esenciales para la adipogénesis; por lo

tanto, se ha sugerido que al disminuir la secreción de inhibidores titulares de metaloproteinasas de matriz, la adiponectina podría disminuir la hipertrofia del adipocito y la acumulación de grasa, contribuyendo directamente a la remodelación del tejido adiposo blanco al incrementar el número de adipocitos más pequeños.⁶¹

La adiponectina se asocia de forma positiva con la sensibilidad a la insulina^{131,163,166} y negativa con la grasa intraabdominal.¹³¹ Hui y col¹⁶² demostraron que en pacientes con NASH, entre menor sea el nivel de adiponectina, mayor es el grado de esteatosis o actividad necroinflamatoria. El trabajo de Petit y col¹⁶⁷ encontró que en hepatitis crónica C, la hipoadiponectinemia se asocia de forma significativa con el desarrollo de esteatosis hepática, de forma inversamente proporcional.

Los agonistas para PPAR γ , como las tiazolidinedionas, aumentan los niveles de adiponectina y reducen el de esteatosis hepática. Los estudios de Bajaj¹⁶¹ y de Promrat¹⁶⁵ descubrieron que estos agentes también reducen la necroinflamación hepática en NASH.¹⁶² Las tiazolidinedionas inician su acción al unir los PPAR γ , que se localizan primariamente en los adipocitos.¹⁶¹ Datos emergentes reportan que la administración de adiponectina recombinante disminuye la alteración metabólica y el daño hepático en modelos animales de NASH,^{5,16} al incrementar la oxidación de ácidos grasos e inhibir su síntesis por medio del aumento de la actividad de carnitina palmitotransferasa y supresión de acetil CoA carboxilasa y sintetasa de ácidos grasos, resultando en detrimento de la esteatosis hepática.⁵

b) Leptina

Es el producto genético secretado por adipocitos maduros en respuesta a la masa de tejido adiposo;¹⁶ su función principal es la regulación de la ingestión (disminuye¹⁶⁸) y gasto de energía,¹⁶⁹ al entrar al núcleo arcuato del hipotálamo, estimula los circuitos catabólicos e inhibe simultáneamente vías anabólicas, ambas mediadas por neuropéptidos efectores específicos. Uno de estos, el neuropéptido Y (NPY) estimula el consumo de alimentos y es inhibido por insulina y leptina. La proteína relacionada con agouti (AGRP) también es anabólica e inhibida por las mismas hormonas; el bloqueo neto de estos neuropéptidos resulta en efectos anorexigénicos, con disminución de la ingestión alimentaria e incremento del gasto energético.¹⁶⁸

La leptina está íntimamente involucrada con las señales de insulina (modula la secreción y actividad de esta hormona y su expresión está influida por la actividad de la misma)¹⁶ y la regulación del metabolismo de la glucosa en el músculo, tejido adiposo e hígado.⁵

La leptina puede jugar un papel importante en regular la repartición de grasa entre la b-oxidación mitocondrial y la síntesis de triglicéridos; los defectos en las señales de leptina se asocian con acumulación preferencial de grasa y alteración en la b-oxidación de grasa en el hígado. En los humanos estos defectos son más frecuentemente adquiridos que ser estados resistentes.² La infusión de esta adipocina disminuye significativamente el contenido hepático de triglicéridos y de grasa visceral, mientras que aumenta la acción de la insulina en la absorción periférica y síntesis de glucógeno.⁵

Recientemente se sugirió que las concentraciones elevadas de leptina asociadas con obesidad pueden contribuir a la esteatosis hepática en dos formas, al empeorar la resistencia a la insulina^{5,136} y la hiperinsulinemia sérica o al alterar la señalización de insulina en hepatocitos para promover la acumulación de ácidos grasos intracelulares.¹³⁶

Algunos estudios reportan niveles elevados de esta citocina en NASH^{5,162}, que correlacionan con el grado de esteatosis, más no con el de fibrosis; esto es ciertamente sorprendente, pues los estudios en animales indican que la leptina es profibrogénica.¹⁶ Paradójicamente, otros estudios sugieren que no está elevada al compararse con controles.⁵

La leptina y sus receptores comparten similitudes estructurales y funcionales con la familia de citocinas IL-6 y, aparentemente leptina juega un papel crítico en la respuesta inflamatoria.^{16,169} Hukshorn y col¹⁶⁹ administraron leptina a pacientes bajo régimen para perder peso; encontraron que, excepto las células b, el tratamiento con leptina no influyó el detrimento de leucocitos y subfracciones mononucleares. La pérdida ponderal disminuyó los parámetros de inflamación humoral TNF- α , activador tisular del plasminógeno y factor Von Willebrandt, pero la suplementación de leptina incrementó las concentraciones de proteína C reactiva, el único indicador de una acción proinflamatoria humoral de leptina.

II Antagonistas de insulina

a) Factor de necrosis tumoral (TNF)

El factor de necrosis tumoral es una citocina multifuncional que regula la inflamación, viabilidad celular, metabolismo

y producción de otras citocinas; se produce por muchos tipos celulares, pero, en ausencia de infecciones activas, se genera principalmente en adipocitos.^{9,140} Los niveles de expresión del gene TNF son mayores en el tejido adiposo visceral (TAV) que en el subcutáneo (TASC).¹⁴⁰ Los sujetos con exceso de peso tienen una sobreexpresión del gene TNF- α ¹³⁶ lo que lleva a un estado de inflamación crónica.⁹ Aparentemente TNF- α actúa localmente en el tejido adiposo blanco, influyendo las concentraciones de otras adipocinas, como adiponectina y PAI-1.⁶¹

El factor de necrosis tumoral surgió como el líder que media la resistencia a la insulina relacionada con la obesidad,^{5,9,140} (se ha sugerido que puede ser el factor común que une estas dos anomalías metabólicas).¹³⁶ Experimentos en animales han demostrado que la administración de anticuerpos anti-TNF mejora la sensibilidad a la insulina y reduce la hiperinsulinemia, mismo efecto que sucede cuando se interrumpen los genes que codifican para TNF- α o sus receptores.¹⁴⁰ Cuando el TNF- α interactúa con sus receptores celulares, las proteínas relacionadas con el estrés son activadas, lo que explica la razón por la que TNF- α produce resistencia a la insulina; además, los incrementos en la actividad de las proteínas cinasas relacionadas al estrés también inducen factor nuclear kappa beta (NF-kb), el regulador transcripcional principal del gene de TNF- α y la fosforilación anormal de IRS-1; en algunos tipos celulares, como macrófagos y adipocitos, promueve la producción de más TNF- α .^{16,74,140}

El TNF- α incrementa la producción de ROS e inicia la fibrosis por activación directa de las células estelares hepáticas y por la producción de TNF- β , una citocina potentemente profibrogénica.⁵¹

La interacción de NF-kb con PPAR γ reduce la actividad de la segunda sustancia necesaria para la diferenciación de adipocitos. Por este medio el aumento de TNF- α previene la inducción normal de ciertos genes de adipocitos, incluyendo el antagonista de TNF- α , adiponectina. Los niveles bajos de adiponectina promueven una actividad sostenida de TNF, mayor inducción de cinasas relacionadas con el estrés y resistencia a la insulina crónica.¹⁴⁰

En ausencia de otra condición inflamatoria extrahepática, los niveles de TNF- α correlacionan con IMC incremento en la expresión de mRNA TNF- α del tejido adiposo en pacientes con diagnóstico histológico de NASH.^{16, 131} Algunos autores han reportado correlación entre TNF- α con el grado necroinflamatorio¹⁷⁰, pero otros no apoyan esta hipótesis.¹⁶²

b) Resistina

La resistina, encontrada en la zona inflamatoria 3 (FIZZ3), es una proteína expresada en el tejido adiposo blanco y células mononucleares,¹⁵³ con características pro inflamatorias.³⁹ Varios estudios han encontrado aumento de esta adipocina en obesidad que se correlaciona positivamente con IMC o grasa corporal.¹⁷¹⁻¹⁷⁴ Otros han detectado asociación entre aumento de resistina y resistencia a la insulina con DM2.^{175,176,177} Otros más no han confirmado esta asociación.¹⁷⁵ Se ha sugerido que la resistina, incrementada en obesidad, podría proveer un vínculo decisivo entre la obesidad y DM2, con un papel en los mecanismos moleculares por los cuales el aumento de la adiposidad ocasiona resistencia a la insulina y DM2. En ratones tratados con resistina se altera la tolerancia a la glucosa y la acción de la insulina, mientras que la captación de glucosa estimulada por insulina por adipocitos está incrementada al neutralizar la resistina. Aparentemente, la adipocina influye en la diferenciación de adipocitos, aunque hay reportes conflictivos sobre si inhibe o promueve este proceso. Aunque el papel de la resistina en humanos aún no es claro, un estudio reciente demostró que los macrófagos son la fuente principal de esta adipocina en tejido adiposo blanco humano.⁶¹

Bajaj y col¹⁷⁸ mostraron que la resistina sérica correlaciona con el contenido de grasa hepática y la resistencia a la insulina hepática, más no con la resistencia a la insulina periférica en pacientes con DM2; de hecho, el principal blanco de la resistina es el hígado, donde induce resistencia a la insulina incrementa la producción de glucosa.

La mayoría de los autores concuerda en que la resistina está elevada en pacientes con NAFLD en proporción a la gravedad histológica de la enfermedad, por lo que los mayores niveles se encuentran en casos de NASH;^{153,179} no correlaciona con resistencia a la insulina, sino con obesidad.^{153,172}

c) Interleucina 6

La IL-6 es una citocina pleiotrópica con efectos que van desde la inflamación hasta la lesión tisular y es una de varias citocinas proinflamatorias que se han asociado con resistencia a la insulina. Es secretada por muchos tipos celulares, incluyendo células inmunitarias, fibroblastos, células endoteliales, músculo esquelético, queratinocitos, hepatocitos y tejido adiposo;^{180,181} inmunológicamente, IL-6 logra la diferenciación de linfocitos en células plas-

máticas maduras secretoras de Ig; participa en la activación de células T, y en el crecimiento y diferenciación. Además, induce pírexia y la producción de proteínas de fase aguda, es el inductor más potente de éstas por hepatocitos. IL-6 termina la sobreexpresión de la cascada inflamatoria e inhibe la síntesis de IL-1 y TNF- α .¹⁸¹

En cuanto a su papel en NAFLD, se sabe que los depósitos grasos viscerales liberan más IL-6 que los subcutáneos,^{61,180} aunque aparentemente la mayor parte de la IL-6 derivada de tejido adiposo blanco proviene de células inmunológicas estromales y no adipocitos. Ya que los depósitos viscerales drenan a la circulación portal, la evidencia sugiere que IL-6 inhibe la transducción de señales del receptor de insulina en hepatocitos que está mediada, al menos en parte, por inducción de supresores de señalización de citocinas-3.¹⁸⁰

Los niveles plasmáticos de IL-6 correlacionan positivamente con obesidad y resistencia a la insulina; los valores elevados de esta citocina predicen el desarrollo de DM2. La pérdida ponderal disminuye considerablemente los niveles en tejido adiposo y suero. Estudios genéticos han demostrado también un alto nivel de correlación entre resistencia a la insulina y polimorfismo genético de IL-6.¹⁸⁰

Además de sus efectos glucorreguladores, IL-6 incrementa los niveles circulantes de flujo de ácidos grasos libres (a partir del tejido adiposo), con su bien conocido efecto adverso hacia la sensibilidad a la insulina; también deprime la secreción de adiponectina.¹⁸⁰

No sólo el exceso de tejido adiposo promueve la liberación de citocinas. Las células de Kupffer producen citocinas para eliminar los depósitos de lípidos oxidizados en lipoproteínas y por medio de la endotoxina portal derivada del intestino. Este mecanismo parece ser dependiente de leptina, osteopontina y ausencia de adiponectina.^{5,74} Asimismo, la lesión celular precipitada por ROS^{5,133} ocasiona liberación relacionada con la inflamación de varias citocinas, como TNF- α y otros mediadores, a los que se atribuyen características histológicas y fisiopatológicas específicas de NASH.¹³³ Además, promueve el aumento de la expresión de leptina y resistina, que son fibrogénicas por medio de sus efectos paracrinicos en células endoteliales sinusoidales y por estimulación directa de células estelares hepáticas; éstas son la fuente clave del aumento en la matriz extracelular que caracteriza a la fibrosis y, por último, a la

cirrosis.^{15,133} Leptina y resistina también son fibrogénicas por su efecto indirecto en la producción de TNF- β por células sinusoidales y de Kupffer.¹⁵

CAMBIOS MORFOLÓGICOS

La acumulación de flujo de ácidos grasos libres en células hepáticas es directamente citotóxica (además de actuar como reservorio para hepatotoxinas)⁷⁴ e induce muerte celular de hepatocitos^{2,5,9,39} por diversos mecanismos:

- Disrupción de membrana (efecto detergente) en muy altas concentraciones.²
- Inhibición de la ATPasa Na⁺/K⁺.²
- Inhibición de glucólisis.²
- Desacoplamiento de b oxidación mitocondrial.²
- Disfunción mitocondrial global (ácidos grasos dicarboxílicos).²
- Anticuerpos de proteína cinasa C.²
- Alteración en la regulación de la homeostasis de Ca²⁺ intracelular.²
- Anticuerpos sostenida de PPAR α .²
- Anticuerpos aberrante de receptores nucleares (receptor de hormona tiroidea, receptor de hormonas sexuales, Fas/ Jun).²
- Genotoxicidad de aldehídos reactivos derivados de peroxidación lipídica.²
- Formación de etil ésteres de ácidos grasos tóxicos.²
- Inducción de disrupción lisosomal con activación de catepsina B.³⁹
- Regulación a la baja en el casete transportador A1 unido a ATP (ABCA1 por sus siglas en inglés) debido a la supresión o inhibición del factor de transcripción nuclear del receptor X alfa del hígado (LXR α por sus siglas en inglés).⁹
- Estimulación de proteínas apoptóticas con capacidad de inducir muerte celular.⁷⁴
- Sobrerregulación de la proteína- 2 de desacoplamiento, con potencial de causar depleción de ATP intracelular.⁷⁴
- Probable activación de la cinasa de la proteína mitógeno- anticuerpos (MAP).²

Ante el incremento de estrés oxidativo característico de esta enfermedad, la resultante peroxidación lipídica de membranas celulares deriva en disfunción de organelos y muerte celular apoptótica/ necrótica del hepatocito,^{5,133} a lo que también contribuye el ligando FAS inducido por ROS.⁷⁴

En cuanto a los organelos intracelulares, existen alteraciones morfológicas y funcionales en las mitocondrias,⁹ teniendo que el TNF- α liberado por estrés oxidativo altera la respiración, aumenta la permeabilidad y depleta el citocromo C de las mitocondrias. Ante esta lesión mitocondrial se encuentran cuerpos apoptoicos en hígados de pacientes con NAFLD, que son el resultado de un desequilibrio entre factores pro (Bax) y anti (Bcl-2 y Bcl-x) apoptóticos.⁷⁴ Los cambios morfológicos que presentan estos organelos comprenden megamitocondrias, cuerpos de inclusión paracristalinos, multilamelación y polimorfismo en la apariencia y localización dentro de la célula y lóbulo de la mitocondria.^{74,141,182,183}

El estudio de Ozcan y col¹⁸⁴ demuestra que la grasa hepática causa estrés del retículo endoplásmico; la tensión biológica, incluyendo exceso de lípidos, hipoxia e hiperinsulinemia, altera el balance normal del RE y causa respuesta de estrés del organelo, activando varias proteínas que pueden causar: 1) resistencia a la insulina: por vía de la enzima que requiere inositol 1 (IRE-1) o la cinasa c-Jun N-terminal (JNK 1); 2) Apoptosis: vía caspasa 2; 3) inflamación, vía NF-kb y 4) disfunción mitocondrial: vía BAP31.⁷⁴

INFLAMACIÓN

La obesidad representa una inflamación sistémica crónica de bajo grado,^{39,169} mediada particularmente por macrófagos,⁶¹ como se evidencia por la leucocitosis, aumento de citocinas proinflamatorias, IL-6 y TNF- α , elevación de proteínas de fase aguda y aumento en los niveles de marcadores de disfunción y activación de células endoteliales.^{61,169} El espectro de NAFLD es parte de este estado proinflamatorio.³⁹ La preponderancia de macrófagos puede ser ocasionada por MCP- 1 y sus receptores, pues es necesaria para el reclutamiento de macrófagos y está elevada en obesidad. Los niveles de MCP-1 son significativamente más altos en TAV comparado con el SC. Los macrófagos del tejido adiposo blanco constituyen la principal fuente de TNF- α y MCP-1, expresando niveles elevados de IL 6, así como receptores para leptina y adiponectina.⁶¹

Los macrófagos y adipocitos comparten varias características: TNF- α e IL 6 inducen un fenotipo inflamatorio en adipocitos, mientras que la adiponectina liberada por células grasas tiene efectos antiinflamatorios, como inhibir

la producción de TNF- α mediada por leptina. Algunos datos sugieren que la adiponectina puede tener propiedades proinflamatorias bajo ciertas circunstancias, por lo que se predice una intercomunicación probable entre macrófagos y adipocitos, particularmente en los depósitos de grasa viscerales metabólicamente más activos. Entonces, la co-localización de adipocitos metabólicamente activos y otros tipos celulares en tejido adiposo blanco con macrófagos provee un ambiente paracrino amplificado, estableciendo un círculo vicioso potencial de infiltración de células inflamatorias, producción de citocinas y disfunción de adipocitos. Un componente de la intercomunicación puede involucrar un asa paracrina entre ácidos grasos no esterificados y TNF- α , pues un estudio demostró que el TNF- α derivado de macrófagos incrementa la liberación de flujo de ácidos grasos libres de los adipocitos. Este efecto induce cambios inflamatorios (sobre regulación de MCP-1, IL 6 y TNF- α y contrarregulación de adiponectina), al menos parcialmente a través de la activación de MAPK.⁶¹

La simple oxidización de lipoproteínas convierte a éstas en partículas altamente inmunogénicas que, por ende, desencadenan una respuesta inmune.¹⁵¹ La ROS favorece la atracción de células inflamatorias al sitio,¹³³ por lo que característicamente hay infiltrado mixto de células inflamatorias agudas y crónicas,¹⁸² con polimorfonucleares dentro de los sinusoides y adyacentes a las células hepáticas lesionadas, pero pueden estar de forma dispersa e inespecífica en el lóbulo hepático.^{10,182}

Se presenta apoptosis de células T asesinas naturales, mediada por deficiencia de noradrenalina; consecuentemente a la disminución de esta estirpe celular en el hígado, el medio de citocinas es proinflamatorio (polarizado a Th-1), lo que lesiona el hepatocito, particularmente cuando las citocinas se producen por estímulos secundarios, como lipopolisacáridos.⁷⁴

También se pueden activar cinasas Redox- sensibles, resultando en que resultan aumento de la actividad de IKK β , llevando a inducción de factor de transcripción, factor nuclear kappa (NF- κ b).^{5,61,74} Los flujos de ácidos grasos libres pueden activar directamente IKK- β /NF- κ b mediante un mecanismo lisosomal, dependiente de catepsina. En esta vía, la translocación de Bax a los lisosomas con subsecuente desestabilización de estos organelos y la liberación de cisteína proteasa (catepsina B) al citosol; este fenómeno lleva a la activación de NF- κ b vía IKK- β y el siguiente incremento en la expresión de TNF- α .⁷⁴ Esto

puede incluir una cascada de citocinas proinflamatorias como TNF- α e IL8, así como síntesis de moléculas de adhesión, lo que resulta en aumento de la quimiotaxis para PMN y mayor producción mitocondrial de ROS, con depleción eventual del almacén antioxidante natural.⁵

Otro mecanismo inflamatorio es la señalización de PPAR α y PPAR γ ¹³³ teniendo que la expresión de PPAR- g correlaciona con aumento de la inflamación en NASH,³⁹ mientras que la sobreexpresión de PPAR- a puede ser de hecho benéfica, ya que en modelos animales un ligando potente de PPAR- a disminuyó el contenido hepático de triglicéridos y el daño hepático.¹⁵⁷

FIBROSIS-CIRROSIS

El estrés oxidativo, ya sea como resultado de una generación excesiva de ROS dentro del hepatocito o reducción de las defensas antioxidantes, resulta en activación de las células estelares hepáticas,^{16,74} que son las responsables primarias de fibrogenesis;⁵ éstas normalmente se encuentran en el hígado como células inactivas para almacén de vitamina A^{5,185} y producen factores de crecimiento, citocinas, prostaglandinas y otras sustancias bioactivas,¹⁸⁵ localizándose a los lados del espacio de Disse.⁵ Sin embargo, una vez que se activan, sufren una transformación fenotípica a células similares a miofibroblastos^{5,185} con aumento en la capacidad de proliferación, movilidad, contractibilidad, así como síntesis de colágena y otros componentes de la matriz extracelular.¹⁸⁵ El proceso de estimulación es iniciado y perpetuado por una interacción compleja de factores que puede incluir ROS, citocinas y productos liberados de los hepatocitos dañados.^{5,15,50} Las células estelares hepáticas poseen procesos citoplásmicos adheridos a los sinusoides y pueden afectar el flujo sanguíneo sinusoidal.¹⁸⁵

El óxido nítrico que se origina en el TAV también juega un papel en el desarrollo de NASH.¹⁸⁶ El estudio de Canabakan y col¹⁸⁷ en 105 pacientes con NAFLD, encontró una elevación importante en los niveles de óxido nítrico plasmático cuando los casos tenían NASH.

CUADRO CLINICO

La mayor parte de los pacientes con NAFLD no avanzada son asintomáticos^{5,7,15,16,38} (45-100%).⁷ Como en otras enfermedades hepáticas crónicas, la fatiga^{5,7,15,38,79,188} es el síntoma más frecuente, pero el grado no correlaciona con la

gravedad o el estadio histológico de la enfermedad;³⁸ se ha sugerido que muchos pacientes obesos tienen síndrome de apnea del sueño y que éste puede empeorar la resistencia a la insulina.^{5,38} Algunos casos pueden experimentar dolor en el cuadrante superior derecho del abdomen^{5,7,15,38,188} secundario al estiramiento de la cápsula de Glisson,³⁸ pues hasta en 75% hay hepatomegalia^{7,79} (esto se ha reportado más frecuentemente en niños).³⁸ Los estudios actuales sugieren que cualquier paciente con hepatomegalia, especialmente ante diabetes, es muy probable que tenga hepatopatía.¹⁸⁸ Los síntomas son más comunes en niños,⁷ que también pueden presentar acantosis nigricans.^{7,16}

Frecuentemente, los pacientes son diagnosticados cuando inician el tratamiento con medicamentos para disminuir niveles de lípidos y los estudios subsecuentes de TGP se encuentran anormales. Otro grupo de enfermos se detecta cuando la imagenología hepática se ordena por otra condición y se sospecha hígado graso. En un gran conjunto de casos se encuentra una TGP anormal cuando se están realizando estudios por síntomas inespecíficos.³⁸

Durante la exploración física la obesidad^{16,38} es el hallazgo dominante; en otros, las características de síndrome metabólico.³⁸ Se estima que 30-100% de los pacientes con NAFLD tienen obesidad^{16,38} y hasta 50% tiene cierto grado de hepatomegalia^{15,16,38} que puede elevarse hasta 95% si se valora por ultrasonido.⁷ El eritema palmar y arañas vasculares asociadas con enfermedad hepática crónica se presentan en una proporción pequeña; la atrofia muscular¹⁵ puede presentarse durante la progresión, pero es difícil de valorar por la obesidad.³⁸ Prurito,³⁸ anorexia,^{16,38} náusea³⁸ e incluso ictericia^{15,38} se ven ocasionalmente con la evolución del trastorno del hígado, pero una vez más, representan síntomas de enfermedad hepática avanzada de cualquier causa.³⁸ Edema y anasarca no se presentan hasta que la cirrosis se manifiesta,^{15,38} hemorragia variceal^{16,38} o encefalopatía^{38,74} señalan la hipertensión porta y el avance hacia cirrosis.^{38,74}

Parece que la disfunción mitocondrial que se presenta en la entidad no se limita sólo al hígado, pues se ha descrito mirada fija desconjugada intermitente (resultado de lesión mitocondrial adquirida) en pacientes con NAFLD.⁷⁴

REFERENCIAS

121. Day CP, James FWJ. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114(4):842-5.
122. Cinti S. The adipose organ. Milán: Editrice Kurtis, 1999.
123. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115(5):911-9.
124. Halberg N, Wernstedt-Asterholm I, Scherer PE. The adipocyte as an endocrine cell. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2008; 37(3):753-68.
125. Hirsch J, Knittle JL. Cellularity of obese and non-obese human adipose tissue. *Fed Proc* 1970; 29:1516-21.
126. Bray GA. The underlying basis for obesity: relationship to cancer. *J Nutr* 2002; 132(11 Suppl):3451S-5S.
127. Kelley DE, Thaete FL, Troost FM, Huwe T, et al. Subdivisions of subcutaneous abdominal adipose tissue and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 278(5):E941-8.
128. Miyazaki Y, Glass L, Triplitt C, Wajsborg E, et al. Abdominal fat distribution and peripheral and hepatic insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283(6):E1135-43.
129. Nielsen S, Guo ZK, Johnson CM, Hensrud DD, et al. Splanchnic lipolysis in human obesity. *J. Clin. Invest* 2004; 113(11):1582-8.
130. Sabir N, Sermez Y, Kazil S, Zencir M. Correlation of abdominal fat accumulation and liver steatosis: importance of ultrasonographic and anthropometric measurements. *Eur J Ultrasound* 2001; 14(2-3):121-8.
131. Utzschneider KM, Kahn SE. The role of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(12):4753-61.
132. Carr DB, Utzschneider KM, Hull RL, Kodama K, et al. Intra-abdominal fat is a major determinant of the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III criteria for the metabolic syndrome. *Diabetes* 2004; 53(8):2087-94.
133. Bradbury MW, Berk PD. Lipid metabolism in hepatic steatosis. *Clin Liver Dis* 2004; 8(3):639-71, xi.
134. Charlton M, Sreekumar R, Rasmussen D, Lindor K, et al. Apolipoprotein synthesis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2002; 35(4):898-904.
135. Chalasani N, Vuppalanchi R, Raikwar NS, Deeg MA. Glycosylphosphatidylinositol-specific Phospholipase D in nonalcoholic fatty liver disease: a preliminary study. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(6):2279-85.
136. Luyckx FH, Lefebvre PJ, Scheen AJ. Non-alcoholic steatohepatitis: association with obesity and insulin resistance, and influence of weight loss. *Diabetes Metab* 2000; 26(2):98-106.
137. Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, et al. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* 2005; 115(5):1343-51.
138. Nakamuta M, Kohjima M, Morizono S, Kotoh K, et al. Evaluation of fatty acid metabolism-related gene expression in nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med* 2005; 16(4):631-5.
139. Bugianesi E, Zannoni C, Vanni E, Marzocchi R, et al. Non-alcoholic fatty liver and insulin resistance: a cause-effect relationship? *Dig Liver Dis* 2004; 36(3):165-73.
140. Diehl AM. Tumor necrosis factor and its potential role in insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2004; 8(3):619-38, x.
141. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: a Association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001; 120(5):1183-92.
142. <http://www.emedicine.com/med/TOPIC1173.HTM>

143. Haque M, Sanyal AJ. The metabolic abnormalities associated with non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol* 2002; 16(5):709-31.
144. Seppälä-Lindroos A, Vehkavaara S, Häkkinen AM, Goto T, et al. Fat accumulation in the liver is associated with defects in insulin suppression of glucose production and serum free fatty acids independent of obesity in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(7):3023-8.
145. Yesilova Z, Ozata M, Oktenli C, Bagci S, et al. Increased acylation stimulating protein concentrations in nonalcoholic fatty liver disease are associated with insulin resistance. *Am J Gastroenterol* 2005; 100(4):842-9.
146. Ravussin E, Smith SR. Increased fat intake, impaired fat oxidation, and failure of fat cell proliferation result in ectopic fat storage, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 967:363-78.
147. Arkan MC, Hevener AL, Greten FR, Maeda S, et al. IKK-B links inflammation to obesity induced insulin resistance. *Nat Med* 2005; 11(2):191-8.
148. Yuan M, Konstantopoulos N, Lee J, Hansen L, et al. Reversal of obesity and diet induced insulin resistance with salicylates on targeted disruption of IKKB. *Science* 2001; 293(5535):1673-7.
149. Berson A, De Baco V, Lettéron P, Robin MA, et al. Steatohepatitis- inducing drugs cause mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation in rat hepatocytes. *Gastroenterology* 1998; 114(4):764-74.
150. Opara EC. Oxidative stress. *Dis Mon* 2006; 52(5):183-98.
151. Tsimikas S. In vivo markers of oxidative stress and therapeutic interventions. *Am J Cardiol* 2008; 101(10A):34D-42D.
152. Letteron P, Fromenty B, Terris B, Degott C, et al. Acute and chronic hepatic steatosis lead to in vivo lipid peroxidation in mice. *J Hepatol* 1996; 24(2):200-8.
153. Pagano C, Soardo G, Pilon C, Milocco C, et al. Increased serum resistin in nonalcoholic fatty liver disease is related to liver disease severity and not to insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(3):1081-6.
154. Chen MP, Chung FM, Chang DM, Tsai JC, et al. Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(1):295-9.
155. Suzuki M, Aoshiba K, Nagai A. Oxidative stress increases Fas ligand expression in endothelial cells. *J Inflamm (Lond)* 2006; 3:11.
156. Feldstein AE, Canbay A, Angulo P, Taniai M, et al. Hepatocyte apoptosis and Fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2003; 125(2):437-43.
157. Ip E, Farrell G, Hall P, Robertson G, et al. Administration of the potent PPAR α agonist, Wy-14,643, reverses nutritional fibrosis and steatohepatitis in mice. *Hepatology* 2004; 39(5):1286-96.
158. Chalasani N, Gorski C, Asghar MS, Asghar A, et al. Hepatic cytochrome P450 2E1 activity in nondiabetic patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2003; 37(5):544-50.
159. Weltman MD, Farrell GC, Hall P, Ingelman-Sundberg M, et al. Hepatic cytochrome P450 2E1 is increased in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1998; 27(1):128-33.
160. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=1579>.
161. Bajaj M, Suraamornkul S, Piper P, Hardies LJ, et al. Decreased plasma adiponectin concentrations are closely related to hepatic fat content and hepatic insulin resistance in pioglitazone-treated type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(1):200-6.
162. Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, et al. Beyond insulin resistance in NASH: TNF- α or adiponectin? *Hepatology* 2004; 40(1):46-54.
163. Targher G, Bertolinia L, Zenari L. Hypoadiponectinemia is closely associated with nonalcoholic hepatic steatosis in obese subjects. *Diabetes Care* 2004; 27(9):2085-6.
164. Bugianesi E, Pagotto U, Manini R, Vanni E, et al. Plasma adiponectin in nonalcoholic fatty liver is related to hepatic insulin resistance and hepatic fat content, not to liver disease severity. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(6):3498-504.
165. Promrat K, Lutchman G, Uwaifo GI, Freedman RJ, et al. A pilot study of pioglitazone treatment for nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2004; 39(1):188-96.
166. Pagano C, Soardo G, Esposito W, Fallo F, et al. Plasma adiponectin is decreased in nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Endocrinol* 2005; 152(1):113-8.
167. Petit JM, Minello A, Jooste V, Bour JB, et al. Decreased plasma adiponectin concentrations are closely related to steatosis in hepatitis C virus infected patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(4):2240-3.
168. Woods SC. The endocannabinoid system: mechanisms behind metabolic homeostasis and imbalance. *Am J Med* 2007; 120(2 Suppl 1):S9-17; discussion S29-32.
169. Hukshorn CJ, Lindeman JHN, Toet KH, Saris WHM, et al. Leptin and the proinflammatory state associated with human obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 2004; 89(4):1773-8.
170. Wong VW, Hui AY, Tsang SW, Chan JL, et al. Metabolic and adipokine profile of Chinese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4(9):1154-61.
171. Fujinami A, Obayashi H, Ohta K, Ichimura T, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for circulating human resistin: resistin concentrations in normal subjects and patients with type 2 diabetes. *Clin Chim Acta* 2004; 339(1-2):57-63.
172. Degawa-Yamauchi M, Bovenkerk JE, Juliar BE, Watson W, et al. Serum resistin (FIZZ3) protein is increased in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(11):5452-5.
173. Vozarova de Courten B, Degawa-Yamauchi M, Considine RV, Tataranni PA.. High serum resistin is associated with an increase in adiposity but not a worsening of insulin resistance in Pima Indians. *Diabetes* 2004; 53(5):1279-84.
174. Panidis D, Koliakos G, Kourtis A, Farmakiotis D, et al. Serum resistin levels in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81(2):361-6.
175. Silha JV, Murphy LJ. Serum resistin (FIZZ3) protein is increased in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(4):1977-8.
176. Youn BS, Yu KY, Park HJ, Lee NS, et al. Plasma resistin concentrations measured by enzyme-linked immunosorbent assay using a newly developed monoclonal antibody are elevated

- in individuals with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(1):150-6.
177. Zhang JL, Qin YW, Zheng X, Qiu JL, et al. Serum resistin level in essential hypertension patients with different glucose tolerance. *Diabet Med* 2003; 20(10):828-31.
 178. Silha JV, Krsek M, Skrha JV, Sucharda P, et al. Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlations with insulin resistance. *Eur J Endocrinol* 2003; 149(4):331-5.
 179. Bajaj M, Suraamornkul S, Hardies LJ, Pratipanawatr T, et al. Plasma resistin concentration, hepatic fat content, and hepatic and peripheral insulin resistance in pioglitazone-treated type II diabetic patients. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28(6):783-9.
 180. Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, Ntali G, et al. Serum resistin and hepatic fat content in nondiabetic individuals. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(12):5122-5.
 181. Pittas AG., Nandini A. Greenberg J, Greenberg AS. . Adipocytokines and insulin resistance. *J Clin Endoc Metab* 2004; 89(2):447-52.
 182. Borish LC, Steinke JW. Cytokines and chemokines. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111(2 Suppl):S460-75.
 183. Contos MJ, Chodhury J, Mills AS, Sanyal AJ. The histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2004; 8(3):481-500, vii.
 184. Caldwell SH, Chang CY, Nakamoto RK, Krugner-Higby L. Mitochondria in nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2004; 8(3):595-617, x.
 185. Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee AH, et al. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science* 2004; 306(5695):457-61.
 186. Brandão DF, Ramalho LN, Ramalho FS, Zucoloto S, et al. Liver cirrhosis and hepatic stellate cells. *Acta Cir Bras* 2006; 21 Suppl 1: 54-7.