



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**TÍTULO: RECEPTOR HEPÁTICO X COMO
DIANA TERAPÉUTICA EN LA ENFERMEDAD
DEL HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO**

Autor: Marcos Gómez Bermejo

Fecha: julio 2020

Tutor: María Elvira López-Oliva Muñoz

ÍNDICE

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | RESUMEN..... | 1 |
| 2 | INTRODUCCIÓN..... | 2 |
| 2.1 | CONCEPTO DE LA ESTEATOSIS HEPÁTICA NO ALCOHÓLICA | 2 |
| 2.2 | PATOLOGÍA Y PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD..... | 3 |
| 2.3 | TRATAMIENTO GENERAL | 5 |
| 3 | MATERIAL Y MÉTODOS | 5 |
| 4 | OBJETIVOS..... | 6 |
| 5 | RESULTADOS | 6 |
| 5.1 | RECEPTOR HÍGADO X | 6 |
| 5.2 | LIGANDOS ENDÓGENOS Y EXÓGENOS DE LXR Y SU FUNCIÓN..... | 7 |
| 5.2.1 | LIGANDOS ENDÓGENOS DEL LXR | 7 |
| 5.2.2 | LIGANDOS EXÓGENOS DEL LXR | 8 |
| 5.3 | LXR y EHGNA/EHNA | 10 |
| 5.3.1 | AGONISTAS DEL LXR EN EHGNA/EHNA..... | 10 |
| 5.3.2 | ANTAGONISTAS DEL LXR EN EHGNA/EHNA..... | 13 |
| 6 | DISCUSIÓN..... | 15 |
| 7 | CONCLUSIONES..... | 17 |
| 8 | BIBLIOGRAFÍA | 17 |

1 RESUMEN

La enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA) se presenta como el trastorno hepático más frecuente en países occidentales y el segundo motivo para el trasplante hepático en EEUU. Se caracteriza por un acúmulo de grasa en el hígado en ausencia de un consumo diario de alcohol y puede presentar varios estadios desde la forma asintomática (EHGNA) a estadios avanzados como la esteatohepatitis (EHNA), con presencia de fibrosis o, en el peor de los casos, el hepatocarcinoma (CHC). Cabe destacar la íntima relación que tiene con la diabetes mellitus tipo 2 y otras manifestaciones del síndrome metabólico, al ser la resistencia a la insulina (RI) clave en el desarrollo de esta enfermedad.

Existen diversas terapias para su tratamiento, entre ellas las basadas en medidas dietéticas, el uso de fármacos hipoglucemiantes, antioxidantes o en última instancia, el trasplante hepático. Sin embargo, en la actualidad no hay ningún tratamiento específico con indicación aprobada por las agencias reguladoras. Por esta razón, existe una investigación continua en la búsqueda de dianas terapéuticas y fármacos que curen la EHGNA y la EHNA. En este sentido, el receptor hepático X (LXR) se ha observado que juega un papel patogénico en esta afección. Dicho receptor está implicado en la homeostasis glucídica y lipídica, y además, regula la inmunidad específica e innata, modulando la inflamación y la fibrosis.

Por todo ello, el objetivo de este trabajo es la búsqueda de agonistas y antagonistas del LXR que permitan mejorar los marcadores fisiopatológicos de la enfermedad. En consecuencia, se ha realizado una búsqueda bibliográfica en Google y Pubmed, atendiendo a los últimos estudios realizados.

Las moléculas que se han evaluado son de procedencia natural o artificial. Por un lado, los agonistas de LXR consiguen aminorar la inflamación hepática y la RI a espensas de agravar la esteatosis hepática y favorecer la hipertrigliceridemia. Por el otro, los antagonistas de LXR reducen la esteatosis y la inflamación hepática, pero dificultan el aclaramiento del colesterol. La presencia de los efectos adversos derivada de la ausencia de la selectividad frente a una isoforma específica del LXR, suscita la necesidad de hallar ligandos selectivos con el fin de utilizarlos en terapéutica.

ABSTRACT

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common liver disease in western countries and the second reason for liver transplant in the USA. It is characterized by an accumulation of fat in the liver in the absence of daily alcohol consumption. It usually presents several stages, from the asymptomatic form (NAFLD) to advanced stages as non-alcoholic steatohepatitis (NASH), with fibrosis or, at worst, the development of hepatocellular carcinoma (HCC). It is remarkable its close relationship with type 2 diabetes mellitus and manifestations of metabolic syndrome, with insulin resistance (IR).

There are different therapies, such as dietary measures, glucose-lowering, antioxidant drugs, and ultimately, liver transplant. However, at the present time, there are not any drugs approved by regulatory agencies to treat this disease. For this reason, there is a continuous research of therapeutic targets and drugs that could able to treat NAFLD and NASH. In that way, the liver X receptor (LXR) has a key role in the pathogenic of this disorder. This receptor is involved in the carbohydrate and lipid homeostasis, specific and innate immunity, and in the regulation of fibrosis and inflammation.

Throughout, the principal objective in this paper is the searching of agonists and antagonists drugs of LXR that they may improve the pathophysiological markers of this disease. So, an exhaustive search has been carried out in Pubmed and Google Scholar, based on the latest studies.

The evaluated drugs are natural or synthetic molecules. On one hand, agonists can decrease hepatic inflammation and IR, while producing hepatic steatosis and supporting hypertriglyceridemia. On the other hand, antagonists reduce hepatic inflammation and steatosis, but they drag the cholesterol removal. The presence of adverse effects is caused by the absence of specificity versus the LXR's isoforms. Therefore, there is a strong need of finding selective ligands, able to be used in the treatment of these diseases.

2 INTRODUCCIÓN

2.1 CONCEPTO DE LA ESTEATOSIS HEPÁTICA NO ALCOHÓLICA

La esteatosis hepática se define por la presencia de más del 5% de grasa en los hepatocitos, en ausencia de consumo diario excesivo de alcohol (mayor de 30g en varones y de 20g en mujeres). Comprende un amplio espectro de daño hepático que se extiende desde esteatosis o EHGNA, a la EHNA, caracterizada por la presencia de inflamación y daño celular, con o sin fibrosis (1). En fases avanzadas, la EHNA puede derivar a cirrosis (irreversible) y este a CHC en un pequeño porcentaje de casos (Figura 1).

La EHGNA tiene una prevalencia mundial estimada del 25% (2), lo que le convierte en el trastorno hepático más frecuente en países occidentales y el segundo motivo para el trasplante de hígado en EEUU. Su prevalencia mundial está sujeta al diagnóstico de la EHGNA, la biopsia hepática, siendo este un procedimiento invasivo no siempre realizado en la práctica clínica diaria (3, 4).



Figura 1. Distribución de EHGNA (NAFLD) y EHNA (NASH), cirrosis y carcinoma hepático (HCC) en la población EE.UU. Diehl A y cols. 2017 (4).

Igualmente, desde 1980 que se describió por primera vez EHGNA, la prevalencia ha aumentado de forma paralela con la obesidad, y está fuertemente asociada con la presencia de síndrome metabólico. Cabe señalar que la prevalencia aumenta con la edad, siendo más común en los varones. En mujeres se presenta en mayor proporción EHGNA en estadios avanzados de fibrosis (5). Los factores de riesgo asociados a la EHGNA se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Factores de riesgo asociados con la prevalencia de EHGNA. Adaptada de Chalasani N y cols. 2018 (6).

| Afecciones con una asociación establecida a la EHGNA | Otras afecciones asociadas a la EHGNA |
|--|---------------------------------------|
| Obesidad | Hipotiroidismo |
| Diabetes Mellitus tipo 2 | Apnea obstructiva del sueño |
| Dislipemia | Hipopituitarismo |
| Síndrome metabólico | Hipogonadismo |
| Síndrome del ovario poliquístico | Resección pancreatoduodenal |
| | Psoriasis |

Uno de los aspectos más remarcables de la sintomatología asociada a EHGNA es que con frecuencia cursa de forma silente. No obstante, cuando la EHNA se manifiesta clínicamente, lo hace con una sintomatología vaga, que puede ir desde fatiga hasta una pérdida de peso no justificada. La ausencia de sintomatología conduce a que la mayoría de los diagnósticos se realizan de manera fortuita, al hallar valores anormales en pruebas funcionales de hígado o en pruebas de imagen (3). Hay que tener en cuenta que la EHGNA puede estar presente en edades pediátricas, teniendo la posibilidad de que se pueda complicar a posteriori, como la presencia de cirrosis (1).

2.2 PATOLOGÍA Y PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD

La literatura científica apunta a la EHGNA como un desorden metabólico multifactorial. Factores genéticos, epigenéticos, ambientales y hormonales se ven implicados en el desarrollo de la EHGNA (7). Finalmente, todo ello conduce a una acumulación de ácidos grasos (AG) en forma de triglicéridos (TG) en los hepatocitos (8).

Una de las claves para que se desarrolle la EHGNA es la RI periférica, señalándose como principal agente responsable de la acumulación de AG, al estar suprimido el papel de inhibición de la lipólisis por parte de la insulina en el tejido adiposo blanco (3). Esto provoca una salida de ácidos grasos libres (AGL) a circulación sistémica que son captados y almacenados por los hepatocitos en forma de TG. Durante la EHGNA las rutas de eliminación de los TG hepáticos almacenados en exceso están alteradas, es decir, 1) la capacidad de exportación en forma de VLDL (*very-low density lipoprotein*) no es suficiente, dando lugar como resultado un aumento de LDL (*low-density lipoprotein*) y disminución de HDL (*high-density lipoprotein*) sistémicos, aumentando el riesgo así de arteriosclerosis (5); y 2) la alteración de la oxidación de AG en las mitocondrias por fallos en el proceso de β -oxidación (8).

Asimismo, la RI induce un aumento en la expresión de las vías formadoras de glucosa como la gluconeogénesis y glucogenólisis originando, una situación de hiperglicemia, que conduce a una estimulación de la proteína del elemento de unión de respuesta a carbohidratos (ChREBP). Este factor estimula la transcripción de genes lipogénicos, incrementándose los AG sintetizados *de novo*, además de los procedentes de AGL (8).

Otro factor de transcripción que se induce por un incremento de la RI es la proteína 1c de unión al elemento regulador de esteroides (SREBP-1c), el mayor regulador transcripcional de las enzimas implicadas en la lipogénesis *de novo* (DNL) (8).

Tanto ChREBP como SREBP-1c pueden ser activados por el LXR que a su vez se sobreexpresa por incrementos de los oxisteroides y actúa como regulador de la DNL, activando la expresión de los genes que codifican las enzimas lipogénicas como la sintasa de ácidos grasos

(FASN), acetil-CoA carboxilasa (ACC), y la desaturasa esterol-CoA 1 en el hígado. Se ha demostrado que la sobreexpresión del LXR media la infiltración grasa del hígado en respuesta a la hiperinsulinemia y la hiperglucemia desarrolladas en estados de RI, como en la EHGNA (8). Por añadidura, se ha observado una correlación entre los niveles del LXR y la inflamación, el grado de esteatosis y la fibrosis intrahepática en la EHGNA. Por lo que - con anterioridad - podemos elucidar el papel que juega el LXR en la DNL, regulando este algunos de los factores de transcripción lipogénicos. No obstante, el LXR también está implicado en procesos tales como la inflamación o sensibilidad a la insulina (9). En consecuencia, el LXR está siendo evaluado como diana farmacológica para mejorar los marcadores fisiopatológicos de la EHGNA.

La DNL constituye la segunda fuente mayoritaria de AG, siendo sus precursores glucosa y fructosa. Se ha observado que la fructosa es captada por el hígado y utilizada sin estar bajo regulación. La fosforilación de la fructosa conlleva tanto a la síntesis de AG que se almacenan en forma de TG, como a un estado de depleción de ATP, que va asociado a aumento de estrés celular (10).

En resumen, los AG obtenidos a través de DNL, los AGL procedentes del tejido adiposo como consecuencia de la RI, la alteración en la exportación de TG en forma de VLDL y de la β -oxidación de AG hepáticos conducen a un estado de esteatosis hepática (3).

El paso de la EHGNA a la EHNA ha sido explicado por varias teorías: inicialmente se describió con la hipótesis de doble impacto (*two-hits*) (11), siendo más aceptado en la actualidad una hipótesis de múltiples impactos (*multiple hits*). Esta última engloba a múltiples factores como nutricionales, hormonales, epigenéticos o genéticos (12).

Esta transición va a tener como resultado final un daño hepático acompañado de muerte celular, siendo la primera causa de acumulación de células procedentes del sistema inmune que liberarán sustancias citotóxicas, como citoquinas, iniciando este proceso. Junto a esto, tenemos sustancias que promueven un ambiente inflamatorio que pueden tener como procedencia la grasa visceral, la microbiota intestinal o el síndrome metabólico (Figura 2) (13).

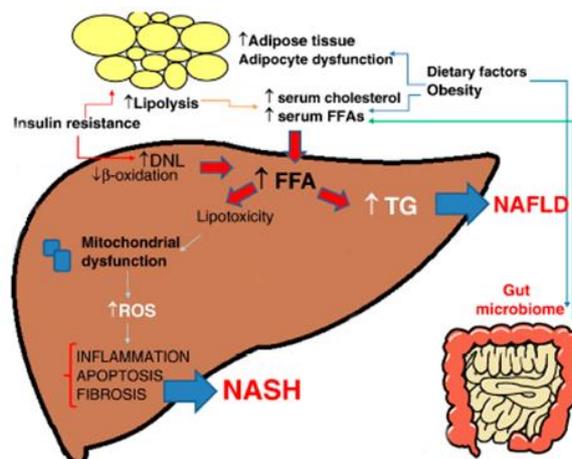


Figura 2. Esquema general de la patogénesis de EHGNA (NAFLD) y su paso a la EHNA (NASH). Adaptado de El Hadi H y cols. 2018 (13).

La muerte de hepatocitos promueve procesos regenerativos, en los que interviene los miofibroblastos, las células del sistema inmune o los progenitores de hepatocitos. Si este daño es repetitivo, acabará dando lugar a fibrosis, lo que conduce a cirrosis e incrementa el riesgo de padecer CHC (4).

En este contexto, existe un estrés oxidativo causado por la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), que puede proceder de la alteración en la β -oxidación hepática de los AG o de la actividad incrementada del citocromo P450 2E1 (CYP2E1) y 4A (CYP4A), oxidando los AG de cadena larga (14). Concretamente esto ocurre cuando existe una disfunción mitocondrial y se sobrepasa la capacidad antioxidante del hepatocito, produciendo daño en diferentes biomoléculas como el ADN o los fosfolípidos de membrana. Además, el daño mitocondrial incrementa el estrés oxidativo al interrumpirse la cadena de transporte electrónico (15).

2.3 TRATAMIENTO GENERAL

Debido a la contribución clave del estrés oxidativo y la RI como factores etiológicos de la EHGNA, los tratamientos actuales van dirigidos a tratar estos dos factores que comentaré a continuación.

La primera línea de tratamiento se basa en la relación entre un estilo de vida poco saludable y la EHGNA y/o su progresión a la EHNA. Por ello, son de alto valor terapéutico y preventivo la reducción de peso, que ha demostrado reducir la grasa hepática y mejorar la respuesta a la insulina; o la exclusión de alimentos procesados o alimentos y bebidas con elevada cantidad de fructosa (1).

La segunda línea corresponde al tratamiento farmacológico. Aunque en la actualidad no existe ningún principio activo aprobado por las agencias reguladoras indicado concretamente para tratar la EHGNA/EHNA, se han realizado diversos ensayos clínicos poniendo a prueba sensibilizantes a la insulina, como puede ser la metformina (TONIC) o la pioglitazona (PIVENS), que parecen evitar un aumento del riesgo de progresión de la EHGNA o una actividad necroinflamatoria elevada. Por otra parte, se ha visto que las estatinas ayudan a prevenir el riesgo cardiovascular, pero no tienen efectos sobre la EHNA. Se han realizado también otros ensayos clínicos utilizando la vitamina E como agente antioxidante debido a la implicación que tiene el estrés oxidativo en la patogenia de la enfermedad (16,17).

La tercera línea corresponde con la cirugía bariátrica, destinada a pacientes que no han respondido a las modalidades de tratamiento anteriores, con el fin de reducir su peso. En un estudio de cohortes, se observó una resolución de la enfermedad en el 85% de los pacientes y una reducción de la fibrosis en el 34%. Sin embargo, los riesgos asociados a este tipo de cirugía no son nada desdeñables (1).

Como última línea, se encuentra el trasplante hepático, indicada en aquellos pacientes que padecen la EHNA en fase terminal (insuficiencia hepática y/o CHC) (1).

Ahora bien, actualmente existen numerosos ensayos clínicos con fármacos candidatos. Entre los cuales nos encontramos el Cenicriviroc, un antagonista dual de los receptores 2 y 5 de quimiocina del motif C-C (CCR2 y CCR5), que se encuentra en ensayos de fase III. Otros como el Elafibranor, Ácido Obeticólico y análogos del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) como la Liraglutida igualmente se hallan en estudios de fase III para el tratamiento de la EHNA (18).

3 MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado una revisión bibliográfica usando la base de datos Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) y Google académico (<https://scholar.google.es>), utilizando como palabras clave: “NAFLD”, “NAFLD and LXR”, “NAFLD and treatment”,

“NAFLD pathogenesis”, “epidemiology and NAFLD”, “LXR agonist and NAFLD”, “LXR antagonist and NAFLD” y “guía clínica hígado graso”.

Se han seleccionado revisiones bibliográficas y estudios utilizando como criterio principal la fecha del artículo y la revista en la que se ha publicado, escogiendo así, los artículos más recientes y en las revistas de mayor impacto.

4 OBJETIVOS

La presente revisión bibliográfica tiene como objetivo principal el estudio del papel del LXR en el tratamiento de la EHGNA y EHNA, con el fin de conocer si el uso de agonistas y antagonistas del receptor LXR puede mejorar los marcadores fisiopatológicos de dicha enfermedad. Para ello se han aplicado los conocimientos adquiridos, en las diferentes materias del campo de las Ciencias de la Salud impartidas durante el Grado de Farmacia.

5 RESULTADOS

5.1 RECEPTOR HÍGADO X

Los receptores nucleares han sido planteados como los principales reguladores de la homeostasis de la energía y los nutrientes en el organismo. Concretamente, en el ser humano hay 48 clases de receptores nucleares clasificados en 7 subfamilias que abarcan desde NR0 hasta NR7. Cabe destacar que la subfamilia NR1 ha sido señalada como una de las clases de receptores que están más implicados en la patogénesis de la EHGNA. Estos receptores actúan como factores de transcripción activados por ligando (19).

El LXR, perteneciente a la subfamilia NR1, se diferencian en dos subtipos: LXR α (Nr1h3) y LXR β (Nr1h2). En un principio y tras su descubrimiento en la década de los noventa, fue clasificado como un receptor nuclear huérfano debido al desconocimiento de la naturaleza de sus ligandos. Los genes del LXR α y LXR β están codificados en los cromosomas 11p11.2 y 19a13.3 respectivamente y las proteínas están formadas por 447 y 460 aminoácidos (9).

En términos estructurales, el LXR está compuesto principalmente por 4 dominios funcionales: dominio de unión del ligando hidrofóbico (LBD), de unión al ADN, dominio dependiente de activación por ligando N-terminal y C-terminal. LXR α y LXR β comparten el 77% de sus dominios de unión al ADN y unión al ligando (9).

A diferencia del LXR β , que se expresa de forma ubicua en el organismo, LXR α se expresa principalmente en hígado, tejido graso, intestino y los macrófagos (20).

En ausencia de ligando, el LXR se localiza en el núcleo formando un heterodímero con el receptor del ácido 9-cis retinoico (RXR), que se une a correpresores (NCOR1 y SMRT), suprimiendo así la expresión de los genes diana. Mientras que, cuando se une los ligandos del LXR o RXR surge un cambio conformacional en el que los correpresores son reemplazados por coactivadores (NCOA1 y ASC2) (21). Esto conlleva a un aumento de la transcripción de dichos genes (Figura 3) (22).

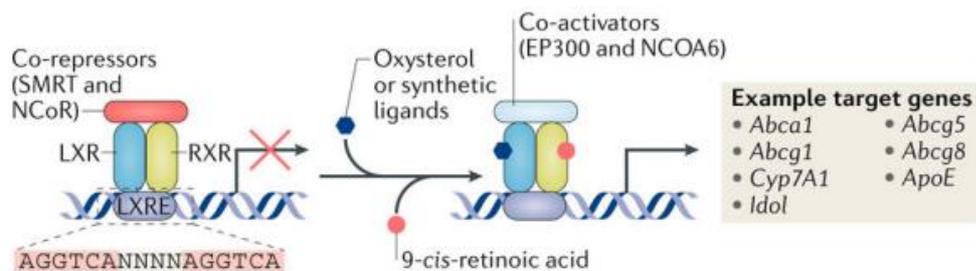


Figura 3. Activación del LXR y genes diana. Wang B y col. 2018 (22).

El LXR es susceptible de sufrir modificaciones post-transcripcionales tales como la sumoilación, la fosforilación, acetilación, ubiquitinación y la O-glucosil-N-acetilación. En este sentido, al igual que los coactivadores favorecen la expresión de los genes diana, también pueden suprimir la transcripción de otros. Este fenómeno ha sido denominado transrepresión, y puede ser explicado por el reclutamiento de monómeros del LXR sumoilitados a promotores de genes inflamatorios (21).

Ambos subtipos activan la expresión de genes uniéndose a elementos de respuesta del LXR (LXRE), los cuales están localizados en las regiones promotoras. Estos elementos de respuesta contienen dos secuencias hexaméricas AGGTCA separadas por 4 nucleótidos (DR-4)(23).

5.2 LIGANDOS ENDÓGENOS Y EXÓGENOS DE LXR Y SU FUNCIÓN

5.2.1 LIGANDOS ENDÓGENOS DEL LXR

Los ligandos endógenos conocidos como oxisteroles, derivan de la oxidación del colesterol. Los principales son 24-(S),25-epoxicolesterol, 24-(S)-hidroxicolesterol, 22-(R)-hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol y 27-hidroxicolesterol (23). Por mediación de estos ligandos, el LXR juega un papel importante en el control del metabolismo del colesterol y la homeostasis lipídica. Así, codifican los genes de los transportadores de *ATP Binding Cassette* (ABC), de la apolipoproteína E (ApoE), y de las enzimas colesterol-7- α -hidroxilasa (CYP7A1), la cual está implicada en la síntesis de ácidos biliares y también de los genes de la lipoproteína lipasa (LPL) - que permite la captación de AGL por los tejidos - y la proteína transportadora de ésteres de colesterol (CETP) y de fosfolípidos (PLTP) (Figura 3). Igualmente, los receptores LXR están implicados en la lipogénesis hepática y en el metabolismo glucídico. Azúcares como la D-glucosa y D-glucosa-6-fosfato también han demostrado ser ligandos fisiológicos de las dos isoformas de los LXRs. La activación del LXR forma una unidad funcional con los factores de transcripción SREBP-1c y ChREBP, en respuesta a la ingesta en condiciones de RI (Figura 4)(25). Si el complejo funcional es reconocido por AG poliinsaturados como ligandos, se produce una disminución de la RI. Por el contrario, si el complejo LXR/SREBP-1c es reconocido por ligandos, como óxidos del colesterol o AG saturados, se produce un aumento de la RI (26).

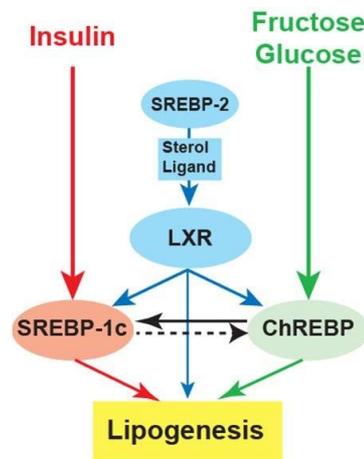


Figura 4. Regulación de la lipogénesis hepática por modulación del LXR, SREBP-1c y ChREBP. Linden AG y cols 2018 (25).

Por otra parte, han sido identificados varios antagonistas endógenos de los LXR. El ácido araquidónico y otros AG insaturados inhiben competitivamente la activación del gen SREBP-1c por un ligando exógeno – el T0901317 - en células de hepatoma de rata cultivadas y de riñón embrionario humano transfectadas, bloqueando de forma competitiva la activación del LXR. La prostaglandina F2 α es uno de los metabolitos de la ciclooxigenasa del ácido araquidónico que antagoniza de forma dosis dependiente la activación inducida por T0901317 del LXR α -LBD y LXR β -LBD y también de ABCA1 y ABCG1. El ácido ursodesoxicólico es un ácido biliar que actúa como correpresor nuclear inhibiendo el LXR α . El 5 α ,6 α -epoxicolesterol es un producto de la autooxidación del colesterol que se produce en lesiones ateroscleróticas, el cual a su vez, exhibe el comportamiento antagonista modulando genes mediados por los LXRs (24).

Además de las funciones metabólicas descritas, la investigación en modelos animales y en cultivos celulares ha permitido establecer otras funciones de los receptores LXRs derivadas de las unión a sus ligandos, como son su actividad antiinflamatoria, la regulación de la respuesta inmune específica e inespecífica, la regulación de la contracción uterina, la regulación de la función gonadal y la esteroidogénesis tanto en las gónadas como en las glándulas suprarrenales. Asimismo, la regulación de la secreción de renina, funciones neurológicas como la inhibición de la formación de β -amiloide y la reducción de las lesiones ateroscleróticas conforman otros efectos derivados de la acción sobre dicho receptor nuclear. Asimismo, los LXRs están involucrados en la proliferación y diferenciación de los queratinocitos y en la inhibición de la proliferación de células tumorales (Figura 5). Los LXRs tienen la capacidad de regular negativamente la expresión de genes inflamatorios, proceso que implica la inhibición de las respuestas inflamatorias de las citoquinas mediante el bloqueo de la actividad del factor nuclear del activador de la transcripción NF- κ β , y de la proteína activadora 1 que induce la transcripción de los genes pro-inflamatorios COX2, MMP9, IL-6, MCP-1, iNOS e IL-1 β (24). Todas estas funciones han conducido a que sus ligandos sean considerados como potenciales agentes terapéuticos para diversas patologías (21).

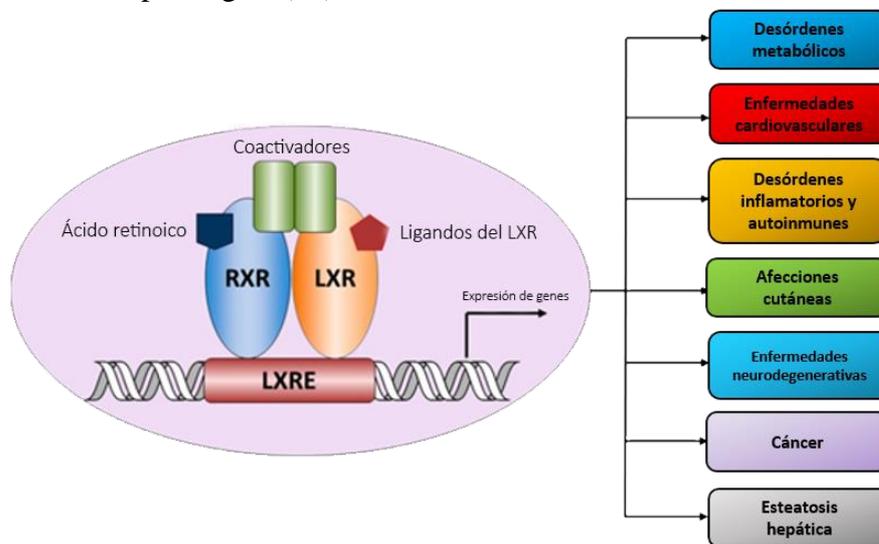


Figura 5. Condiciones patológicas mediadas por los receptores LXR. Adaptado de Komati R 2017 (24).

5.2.2 LIGANDOS EXÓGENOS DEL LXR

Además de los ligandos endógenos del LXR, existen los ligandos exógenos artificiales o naturales (Figura 6). Se han hallado sustancias activas que interactúan con el LXR de

procedencia natural. Por ejemplo, los fitoesteroles como el Ergosterol, Sitostanol, Estigmasterol o Fucosterol son ligandos del LXR que aumentan la expresión de ABCA1, lo cual favorece la excreción de colesterol. De igual manera, la Ginosaponina TR1, incrementa la expresión de ABCA1 y ApoE en células monocíticas humanas THP-1, promoviendo así el aclaramiento de colesterol. La Oubagaina, aglucón del glucósido cardiotónico descubierto en las semillas del género *Strophanthus*, es un agonista que actúa en el LXR sin producir los efectos indeseados, ya que no regula al alza los genes implicados en el metabolismo lipídico y además, no interactúa con otros receptores nucleares. Por consiguiente, los efectos secundarios que se producen con agonistas sintéticos como el T0901317, no suceden cuando se activa el LXR con Oubagaina (27).

Si bien el enfoque principal del desarrollo de los ligandos de LXR en los últimos 10 años, ha estado orientado al estudio de agonistas terapéuticamente útiles, varios antagonistas naturales han demostrado ser capaces de reducir los TG plasmáticos y tener propiedades antiinflamatorias. Se han aislado antagonistas naturales del LXR procedentes de plantas como el extracto de té Kuding, polifenoles como la curcumina, el morín, la quercitina, la naringenina, genisteina, o los extractos metanólicos de algunas plantas, tales como el ácido mesodihidroguayarático, la alpinetina, la fracción hexánica de *Cyperus rotundus*, luteolina y isoharmentina. Igualmente, hay otros compuestos como la taurina, la rheina, la guttiferona o ricardina que han demostrado suprimir la expresión de genes diana de LXRs (24).

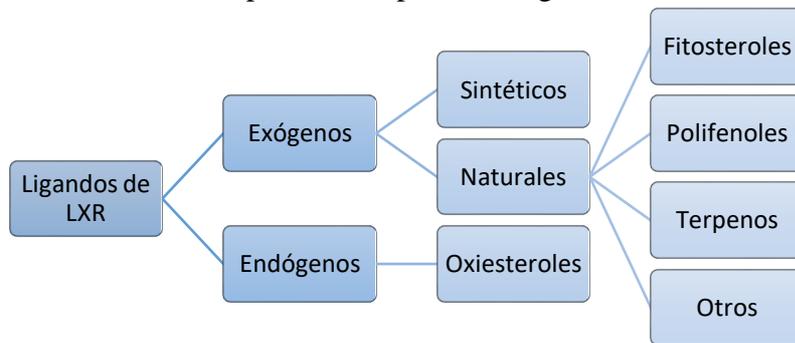


Figura 6. Ligandos exógenos y endógenos del LXR.

Con el fin de modular los efectos derivados de la interacción con el receptor, se han desarrollado ligandos sintéticos del LXR. El objetivo que se persigue con la búsqueda de agonistas selectivos es la disminución de los efectos secundarios hepáticos. La dificultad de este proceso radica en la gran similitud de la secuencia aminoacídica del dominio de unión a ligando en ambos subtipos del receptor. Por esta razón, aquellos fármacos que han sido puestos a prueba en ensayos clínicos no han tenido el suficiente éxito como para ser autorizados para su comercialización. En general, los ligandos sintéticos que se han utilizado en ensayos clínicos tienen como objetivo tratar la hipercolesterolemia (21). No obstante, en la actualidad no hay ningún medicamento comercializado.

La primera generación de agonistas sintéticos la componen las moléculas T0901317 (Figura 8c) y GW3965. La primera de ellas es una molécula de naturaleza no esteroidea (sulfonamida) no selectiva del LXR, pues es capaz de interactuar con otros receptores nucleares. Actúa como agonista en el receptor X de pregnano (PXR) y farnesoide X (FXR). La segunda molécula es de naturaleza no esteroidea (amina terciaria), pero a diferencia del anterior, tiene más selectividad frente al LXR α . Este se ha estudiado para la prevención de procesos como la arteriosclerosis, el daño cerebral inducido por isquemia u otras patologías inflamatorias. Sin embargo, ambos ligandos producen como efectos secundarios la hipertrigliceridemia y la esteatosis hepática, por lo que no han sido autorizados por las agencias

reguladoras. Pero ambos han permitido el estudio de los efectos producidos tras activar el LXR, además de ser sustancias activas de referencia a la hora de encontrar otros agonistas (24).

Otro agonista es el compuesto el LXR-623, que a pesar de no observarse la hipertrigliceridemia en concentraciones terapéuticas, indujo efectos adversos neurológicos en sujetos sanos (28). Este agonista aumentaba la expresión de las proteínas transportadoras ABCA1 y ABCG1, incrementando el eflujo de colesterol.

Otro caso que ilustra la búsqueda de agonistas selectivos es CS-8080, el cual no llegó a finalizar el ensayo clínico de fase I por causas desconocidas (21).

Por último, se han desarrollado agonistas inversos como SR9243, que administrados a bajas dosis de forma continua, suprimen la fibrosis hepática en un modelo murino de la EHNA inducido por sustancias químicas (21).

5.3 LXR y EHGNA/EHNA

Como hemos confirmado en este trabajo, la activación de los receptores LXR sería un objetivo muy válido para el tratamiento de la EHGNA/EHNA. Su efecto sobre la hipercolesterolemia, eliminando el efecto tóxico del exceso de colesterol circulante, disminuyendo la aportación de AGL al hígado, mejorando la RI a nivel sistémico y sus propiedades anti-inflamatorias, le permite ser un candidato sobre el que actuar para revertir o retrasar la progresión de la EHGNA/EHNA. Sin embargo, el LXR también tiene un papel patogénico en el desarrollo de dichas enfermedades, ya que su activación favorece la transcripción de genes clave para la DNL, agudizando la enfermedad. Esta función se atribuye principalmente a la acción en el receptor LXR α . Por ello la búsqueda y diseño de nuevos agonistas farmacológicos está dirigida principalmente a LXR β , con el fin de evitar los efectos adversos. Por otra parte, el bloqueo de su expresión mediante antagonistas del LXR α , podría contribuir a evitar la acumulación de lípidos característica de la EHGNA/EHNA.

5.3.1 AGONISTAS DEL LXR EN EHGNA/EHNA

Los resultados obtenidos en los estudios realizados en animales de experimentación y en cultivos celulares sobre el efecto de la administración de agonistas del receptor del LXR han confirmado que estos fármacos podrían ser candidatos para el tratamiento de EHGNA y su progresión.

En este contexto de búsqueda de activadores del LXR, los compuestos naturales juegan un papel importante en el desarrollo de medicamentos para tratar la EHGNA/EHNA debido a que se han encontrado moléculas que producen menos reacciones adversas que los agonistas puros como T0901317, que como hemos indicado en el apartado 5.2.2. no son selectivos del LXR. Igualmente, el mecanismo de acción por el que activan el LXR puede ser por activación directa del receptor o a través de la estimulación de una vía de señalización en la que esté implicada el LXR (9).

Entre los agonistas más estudiados destacamos el resveratrol, un polifenol extraído del vino tinto al que se le han atribuido numerosos efectos beneficiosos para la salud. En los últimos años se le está estudiando por constituir un posible agente terapéutico para numerosas patologías tales como la enfermedad de Alzheimer, diferentes tipos de cáncer, la diabetes mellitus o el envejecimiento (29, 30), aunque, de la misma manera, se están investigando los efectos perjudiciales que se esconden tras su uso (31). En lo relativo a su relación con el LXR, se ha demostrado su capacidad como activadora del LXR α . Concretamente, promueve la expresión del LXR α al reclutar la ARN polimerasa II en el promotor de dicho gen en células THP-1, induciendo la transcripción de los genes de ABCA1 y ABCG1. Esto, junto a la supresión del gen de LPL y del receptor scavenger A de los macrófagos, consigue reducir la acumulación de colesterol circulante (9).

Gao y cols. (32) examinaron el efecto del resveratrol para comprobar si suprimía la esteatosis inducida por el T0901317. El estudio se realizó en ratones C57BL/6, el cual se dividió en tres grupos: uno control, otro tratado con el T0901317 para inducir esteatosis y un tercero, tratado con T0901317 y resveratrol. El resveratrol bloqueó completamente la elevación de los niveles sanguíneos de TG y colesterol, y redujo la hiperglucemia. El análisis cuantitativo por PCR reveló que el tratamiento con resveratrol no modificó los niveles de ARN mensajero (ARNm) de los genes ABCA1, ABCG1, CYP7A1, SREBP-1c, ChREBP y ACC en comparación con los de animales tratados solamente con T0901317, sino que redujo las expresiones de los genes fosfoenolpiruvato carboxiquinasa y glucosa-6-fosfatasa, implicados en la vía gluconeogénica. Asimismo, el tratamiento de T0901317 y resveratrol bloqueó la hipertigliceridemia que se hacía patente en el grupo tratado con T0901317. En conclusión, el resveratrol consigue, de forma significativa, suprimir tanto la esteatosis hepática como la hipertrigliceridemia inducida por el T0901317. Además, estos mismos autores demuestran otro mecanismo que subyace al efecto producido por el resveratrol (Figura 7), que se basa en el incremento de la fosforilación de la enzima ACC por activación de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK). En presencia del compuesto C, un inhibidor de la AMPK, el efecto supresor del resveratrol sobre la esteatosis se inhibía en aquellos animales tratados con el T0901317. En conjunto, estos datos sugieren que el resveratrol podría ser útil administrado conjuntamente - con agonistas del LXR - de manera que permita disminuir la inflamación y la RI evitando los efectos secundarios de la esteatosis y la hipertrigliceridemia (32).

Otro agonista natural del LXR es el escualeno que también incrementa la expresión en macrófagos de ABCA1, ABCG1 y ApoE a través de la activación del LXR. Dicha activación aumenta la expresión de SREBP-1c y FASN y por ende, no incrementa los niveles de TG en células HepG2. Es decir, hay un aumento en el aclaramiento del colesterol sin provocar una hipertrigliceridemia secundaria. El hecho de que no incremente los niveles de TG sugiere que actúa como un agonista parcial del LXR (33).

En el caso de la betaína – trimetilglicina, que es extraído de alimentos como las espinacas o germen de trigo - ha sido evaluada en diferentes estudios para el tratamiento de EHGNA y EHNA (34, 35). Get y cols. (36), analizaron en ratas los mecanismos moléculares por los que mejoraban la EHGNA inducida por fructosa, caracterizada por estar regulado a la baja el LXR α y el PPAR α . Entre sus hallazgos se destaca que el tratamiento con betaína promovía la β -oxidación de AG y reducía el acúmulo de lípidos hepáticos al regular al alza la expresión del LXR α y PPAR α . Asimismo, el tratamiento aminoró la inflamación hepática ya que, la betaína, disminuye los niveles de citoquinas proinflamatorias como IL-1 β , IL6 e IL-18, interviniendo así sobre la vía de señalización NF- κ B/NLPR3 (9). Por ello, la betaína podría ser útil en el tratamiento de la EHNA.

Los diterpenos, como el ácido acantoico, son esteroides naturales que están ampliamente distribuidos en plantas e insectos. Activan LXR α y LXR β y modulan la fibrosis hepática inducida por CCl₄ en animales al inhibir la translocación de NF- κ B (37).

En definitiva, estos son algunos de los agonistas activadores del LXR que se han encontrado y se han evaluado su eficacia para el tratamiento de la EHGNA y la EHNA. Si bien se han encontrado otros agonistas naturales procedentes de plantas con efectos anti-hiperlipidémicos, neuroprotectores y anti-hepatofibróticos como el cineol (9), la ginosaponina TR1, el ácido podocárpico, el honokiol de la corteza de Houpu, el Paeoniflorin del Shaoyao, el etil-2,4,6-trihidroxibenzoato, etc (24).

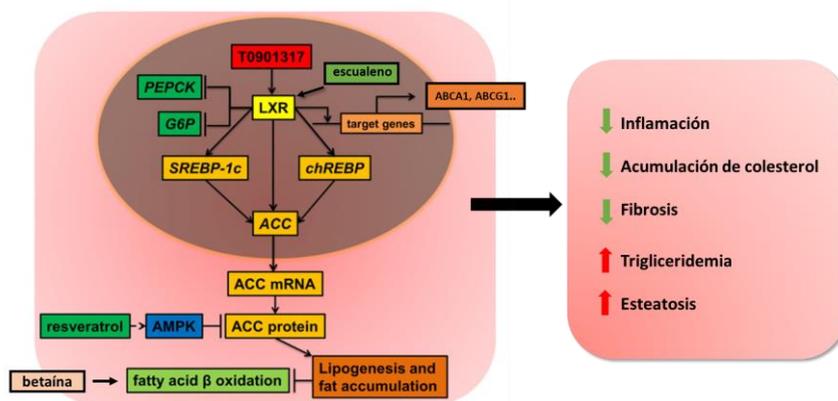


Figura 7. Acción de T091317, la betaína, el resveratrol y el escualeno en la vía de señalización del LXR; y los efectos generales de los agonistas activadores del LXR. Adaptado de Gao M y cols., 2013 (32).

Como hemos indicado, los agonistas selectivos de la isoforma β tienen la ventaja de no presentar los efectos secundarios que se atribuyen a los agonistas puros como el T091317. Se piensa que se debe a la distribución de ambas isoformas, siendo predominante en el hígado la isoforma α (9). En consecuencia y en relación con el diseño de los ligandos sintéticos, los agonistas selectivos del LXR β inducirían en menor medida la esteatosis y la hipertrigliceridemia. Por este motivo, la búsqueda se ha centrado más en agonistas activadores selectivos del LXR β . Según lo dicho, se han identificado varios agonistas selectivos de la isoforma β con un esqueleto de tetracloroftalimida, en el que los cuatro átomos de cloro juegan papel importante en su actividad (Figura 8) (38). En este sentido, Nomura S. y cols. (38), señalaron que el análogo de la molécula tetrabromoftalimida – la (E)-4,5,6,7-tetracloro-2-(2-estirilfenil)isoindolina-1,3-diona (Figura 8b) - presentó selectividad para el LXR β gracias a un cambio conformacional que se produce después de su unión o por el reclutamiento de un coactivador diferente. De esta forma, ejerce sus principales efectos sobre la activación de la expresión de ARNm de ABCA1 en macrófagos (THP-1), sin dar lugar a efectos adversos sobre la lipogénesis hepática al no modificar la expresión del ARNm de SREBP-1c en células HepG2.

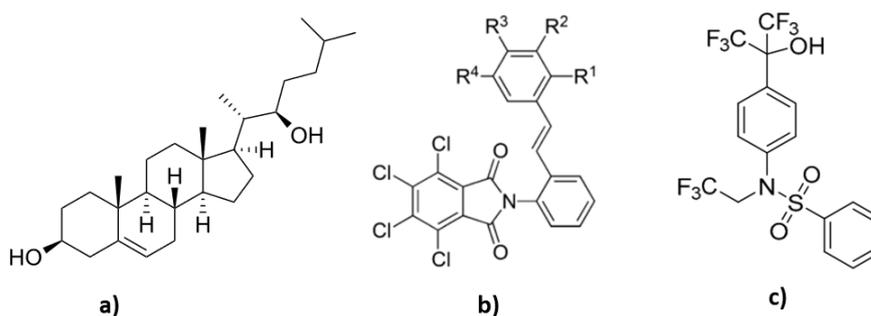


Figura 8. Ligandos del LXR: a) ligando endógeno 22-(R)-hidroxicolesterol b) ligando selectivo del LXR β (E)-4,5,6,7-tetracloro-2-(2-estirilfenil)isoindolina-1,3-diona siendo R_1 , R_2 , R_3 y $R_4 = H$ c) agonista dual sulfonamida T091317.

El SR9243 – otro ligando sintético - se presenta como un candidato a ser usado para el tratamiento de la EHNA, actuando como agonista inverso, al suprimir de forma dosis-dependiente la acción del LXR α y LXR β . En un estudio reciente quisieron determinar su

eficacia a la hora de mitigar la inflamación y la fibrosis intrahepática en un modelo murino de EHNA. Se indujo la EHNA a una cepa de ratón BALB/C con una dieta alta en colesterol, mientras que la fibrosis hepática se provocó administrando tetracloruro de carbono (CCl₄) o ligando el conducto biliar (BDL). A su vez, para la determinación de la fibrosis se midió la expresión génica de la hidroxiprolina, colágeno 1α1 y colágeno 1α2. Por un lado, tras la administración del SR9243 hubo una inhibición de forma significativa de la fibrosis inducida tanto por CCl₄ como con BDL en comparación con el grupo control. Por el otro, para contrastar los efectos sobre la inflamación intrahepática se evaluó la expresión génica de CD68, TNF-α, IL-1β e IL-6. Finalmente, cabe destacar los siguientes resultados obtenidos tras la investigación: 1) el SR9243 logró reducir de forma significativa la inflamación en comparación al grupo control; 2) el SR9243 consiguió aminorar los niveles de colesterol total y de LDL, a diferencia de TG que no los redujo; y 3) no registró un incremento de los niveles de TG en sangre que si se observan en otros agonistas como el T0901317 o GW3965 (39).

Igualmente y en esta línea, el tratamiento con el agonista SR9238 en otro modelo murino de EHNA, ha demostrado ser eficaz en la reducir la inflamación y la EHNA, además de la fibrosis hepática (40). En relación con la inflamación durante la progresión a la EHNA, Griffet K. y cols. (40), demostraron que este fármaco reduce la expresión de TGF-β y de algunos marcadores de la inflamación tales como CD68, IL-6, IL-1β o IL-12. De la misma forma que otros agonistas conseguían reducir la esteatosis, el SR9238 mitigó de forma significativa los genes implicados en la DNL como SREBP-1c. Por último, en este estudio, se ha demostrado que SR9238 disminuyó la fibrosis de forma significativa, siendo capaz de reducir hasta un 90% la cantidad de colágeno hepático.

5.3.2 ANTAGONISTAS DEL LXR EN EHGNA/EHNA

De igual manera, existen antagonistas que actúan tanto directamente sobre el receptor LXR como indirectamente por activación de la cascada de su señalización. En esencia, los efectos que se le atribuyen a la acción de los antagonistas del LXR se fundamentan en la inhibición de la transcripción de genes implicados en la DNL y en la regulación a la baja de genes pro-inflamatorios, disminuyendo previsiblemente el grado de esteatosis hepática, la inflamación y la fibrosis (Figura 9) (9).

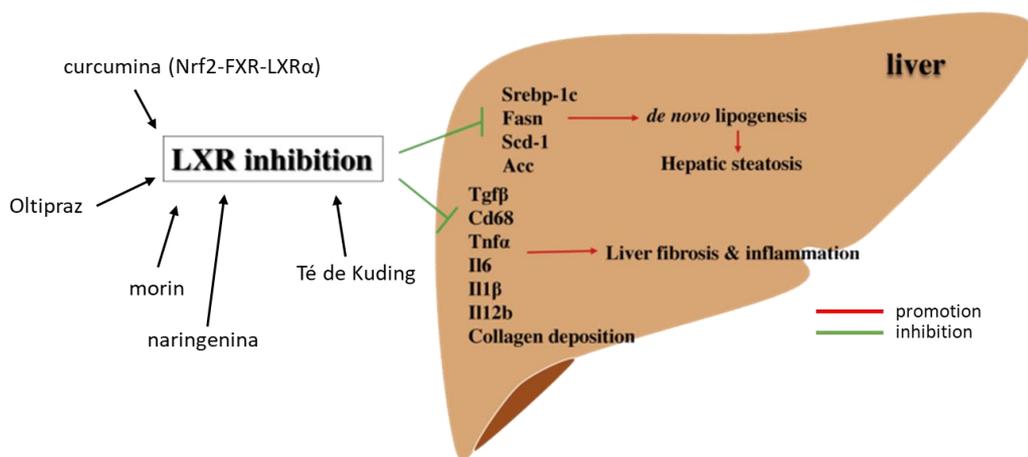


Figura 9. Acción de la curcumina, el Oltipraz, el morín, la naringenina, el té de Kuding con sus diferentes efectos por la inhibición de LXR. Adaptado de Ni M y cols. 2019 (9).

Un ejemplo de una molécula que actúa sobre la vía de señalización del LXR es la curcumina. Se trata de un polifenol extraído de *Curcuma jonga* L. que ha sido examinado para el tratamiento de distintas patologías de diferente índole como las infecciones, afecciones inflamatorias, neoplásicas o crónicas (p.ej. la enfermedad de Alzheimer) (41). La delección del gen del factor nuclear relacionado eritroide 2 (Nrf2) en modelos experimentales animales conduce a una progresión acelerada de esteatosis hepática, lo que nos indica que podría intervenir de una forma crucial en el desarrollo de la EHGNA. Igualmente, según los hallazgos recientes, el Nrf2 estaría relacionado con el LXR α y el control de expresión de genes relacionados con la DNL y la síntesis de ácidos biliares. Concretamente, la curcumina actúa regulando la vía Nrf2-FXR-LXR α . Se ha demostrado que la curcumina es capaz de revertir la esteatosis inducida por palmitato en hepatocitos incrementando la expresión de CYP3A y CYP7A1, siendo la primera una enzima clave en el metabolismo de xenobióticos y la segunda una enzima limitante de la síntesis de ácidos biliares, mientras que disminuyó la expresión de SREBP-1c. La administración de geranilpifosfato (GGPP), un antagonista selectivo del LXR α , disminuyó levemente los efectos de la curcumina. Estos mismos resultados se observaron en ratones alimentados con una dieta alta en AG y fructosa durante 4 semanas tratados con curcumina. La curcumina normalizó los niveles de SREBP-1c y de FAS, disminuyendo la DNL y los niveles de las isoformas del citocromo P450 (CYP3A y CYP7A1) que juegan un papel crucial en la síntesis de ácidos biliares y el metabolismo de xenobióticos. Estos autores demuestran además, que la activación de Nrf2 conlleva a una inhibición del LXR α , por lo que la expresión de los genes que mencionamos anteriormente se vería disminuida (42).

El morín es un flavonoide presente en frutos, como las moras, y en el té verde. Actúa como antagonista, tanto del LXR α como del LXR β . Al igual que a otros flavonoides, tiene asociados efectos beneficiosos en diferentes patologías debido a su amplio espectro de acción: antioxidante, antiinflamatorio y protector cardiovascular, entre otros. En relación a la finalidad del presente trabajo, Gu y cols. (43) estudiaron el efecto del morín en ratas alimentadas con una dieta rica en grasa que desarrollaron la EHNA. Dichas ratas presentaron niveles bajos TG en sangre, sin asociar cambios en las apolipoproteínas y los AGL. La disminución de la esteatosis hepática se produjo por inhibición de la lipogénesis al regular a la baja las enzimas implicadas en la DNL, como SREBP-1c, FASN o ACC. Estos resultados se acompañaron de un descenso en los niveles de glucosa y una mejoría en la sensibilidad a la insulina. Así pues, el morín podría convertirse – en un futuro – en un tratamiento para la EHGNA (43).

Entre otros polifenoles, cabe mencionar la naringenina, un flavonoide que se puede encontrar en las naranjas y los tomates, que reduce la cantidad de ARNm de los genes ABCA1, ABCG1, hidroximetilglutaril-CoA reductasa y FASN.

Asimismo, la genisteína - una flavona derivada de la soja - reduce la expresión de SREBP-1c y ABCA1, al suprimir la activación del LXR α , aumentando al mismo tiempo la expresión de ABCG5, de ABCG8 y de otros genes relacionados con la β -oxidación de AG. No obstante, activa el LXR β , exhibiendo así acciones opuestas en los dos LXRs. La genisteína aumentó los niveles de ARNm de adiponectina pero redujo los de leptina y el de TNF- α , reduciendo la inflamación inducida por la acumulación de lípidos (23).

El té de Kuding (EK) es una de las bebidas más populares de China que se ha estado utilizando en la medicina tradicional china para tratar la obesidad, hipertensión y la hiperlipemia. En un ensayo *in vivo* trataron de comprobar el impacto del consumo del EK sobre el síndrome metabólico, por su efecto como antagonista selectivo del LXR β . Fan y cols. (43) han demostrado que en ratas alimentadas con una dieta rica en grasa durante 5 semanas y tratadas un extracto etanólico al 0,05% de EK, se previno la esteatosis hepática al disminuir los niveles de genes implicados en la DNL como ACC, acil-CoA oxidasa y las enzimas inducidas por la activación del LXR (ApoE, ABCA1 y SREBP-1c). Este ensayo arrojó algunos indicios

que pueden llevar a la posibilidad de que el EK puede proteger frente al desarrollo del síndrome metabólico, el cual está íntimamente relacionado con la EHGNA.

Recientemente se ha demostrado que el Oltipraz - una ditioleona sintética - tiene un efecto antiesteatótico al inhibir la actividad del LXR α . Estudios en hepatocitos y en un modelo de ratón con dieta alta en grasas han demostrado el papel disruptivo de Oltipraz en la lipogénesis dependiente del LXR α . Asimismo, en un estudio de fase II de cohorte controlado con placebo de 64 pacientes a doble ciego, en el que se evaluaron dos dosis distintas (60 y 120 mg) durante 24 semanas; Oltipraz redujo de forma muy significativa la EHGNA y la síntesis de AG, al disminuir la expresión de SREBP-1c en el hígado y acelerar la β -oxidación de los lípidos. La inhibición de la actividad del LXR α produjo la activación de AMPK e inactivación de la proteína ribosómica S6 quinasa β -1, lo que se asoció con su potencial terapéutico para la mejora de la esteatosis. Ahora bien, el Oltipraz no modificó los marcadores de inflamación ni de fibrosis (45).

6 DISCUSIÓN

Tal y como se ha podido observar a lo largo de este Trabajo Fin de Grado, la EHGNA es una enfermedad con una alta prevalencia mundial que puede llegar a tener un gran impacto en la calidad de vida de los pacientes (1, 3). En estadios iniciales cursa de forma asintomática y, posteriormente, puede evolucionar a estadios de notable gravedad como la cirrosis o el CHC (4). A este hecho hay que sumarle que se asocia frecuentemente con otras afecciones como la diabetes mellitus tipo 2, la obesidad o las dislipemias, constituyendo un cuadro fisiopatológico de gran complejidad (3). Si también se tiene en cuenta que no existe un tratamiento farmacológico con indicación específica para tratar la EHGNA, resulta de vital importancia la realización de investigaciones orientadas al estudio de su patogénesis y, consecuentemente, la búsqueda de dianas farmacológicas que mejoren los marcadores fisiopatológicos de la enfermedad.

Entonces, ¿cómo debería ser un fármaco, en condiciones ideales, para tratar la EHGNA/EHNA? Por un lado, este tendría que inhibir la DNL, mejorar la sensibilidad a la insulina, y por ende, incrementar la utilización de glucosa y proteger a las células β -pancreáticas. Por el otro, debía tener la capacidad de generar un efecto antifibrótico hepático, reducir la inflamación hepática y producir una mejoría histopatológica en el hígado (46). Todo ello, debería ser alcanzado sin producir efectos secundarios. ¿Cumplen los agonistas o antagonistas de los receptores LXR estas premisas?

Hemos visto que el receptor nuclear LXR tiene un papel patogénico importante puesto que regula la expresión de genes implicados en diferentes procesos fisiopatológicos que conducen a la EHGNA y su progresión (p.ej. la inflamación, la homeostasis glucídica y lipídica) (21), además de que el incremento de su expresión se correlaciona con la inflamación y la fibrosis intrahepática (9). Por consiguiente, el LXR es susceptible de constituir una diana farmacológica eficaz para aliviar los marcadores fisiopatológicos de la EHGNA y, finalmente, aumentar la supervivencia y disminuir la progresión de la enfermedad en pacientes.

Hasta la actualidad se han examinado tanto moléculas agonistas como antagonistas del LXR, de procedencia natural y sintética. Sin embargo, todas ellas cuentan con efectos indeseables que dificultan su uso como una herramienta terapéutica.

La administración de agonistas conlleva a un alivio de la inflamación intrahepática y un aumento del aclaramiento de colesterol. No obstante, la principal limitación de los agonistas puros es el incremento de los niveles de TG en sangre y de la esteatosis hepática. Por tal razón, la investigación se ha centrado en agonistas selectivos de la isoforma β , pues su expresión en el hígado es menor (9). Del mismo modo, hay agonistas inversos, tales como SR9243 y SR9238,

que no solo aminoran la inflamación y no agravan la esteatosis hepática - como cabría esperar de un agonista - sino que también reducen la fibrosis hepática (40).

Por su parte, los antagonistas del LXR consiguen revertir la acumulación característica de AG en el hígado reduciendo la DNL y mermando la expresión de los genes pro-inflamatorios (9). Sin embargo, los efectos negativos sobre el aclaramiento hepático obstaculizan el desarrollo farmacológico de las moléculas antagonistas (19).

En relación a las limitaciones de los estudios analizados, la mayoría de estos compuestos han sido ensayados en modelos experimentales animales y en cultivos celulares, y no han conseguido pasar a la fase III de los ensayos preclínicos. Existen numerosos estudios sobre sustancias como la betaína o el resveratrol de los que se obtienen resultados más contrastados y fiables en cuanto a los mecanismos de acción sobre LXR y a su eficacia en el tratamiento de la EHGNA (30, 34, 35). En contraposición a lo anterior, existen otras moléculas – mayoritariamente de procedencia natural, de las que apenas se dispone de información contrastada que justifique su empleo. A su vez, no se han esclarecido del todo los mecanismos por los que el LXR interviene en la fibrosis hepática y la inflamación (47).

Por todo ello, parece claro que aún no existe una evidencia científica suficiente para justificar el empleo de moléculas que actúen sobre el LXR. Creemos necesario una sucesiva profundización en el estudio de los compuestos ya descritos y el desarrollo de otros nuevos. Cabe esperar que esta investigación en un futuro se oriente a fármacos selectivos de una isoforma concreta del LXR, para evitar los efectos indeseados.

Aunque este trabajo se ha centrado en sustancias que interactúan, mayoritariamente, con el LXR, existen otras sustancias que interaccionan con varios receptores nucleares – además del LXR - tales como FXR o PXR (24,48). Con todo, estos compuestos que no son selectivos del LXR podrían producir más reacciones adversas que los selectivos, como ocurría con T091317 que actuaba sobre el LXR y el PXR (24).

La EHGNA/EHNA conforma un cuadro patológico de elevada complejidad, en el que intervienen múltiples factores en su desarrollo (p.ej. genéticos, epigenéticos, el estrés oxidativo, la microbiota intestinal) y presenta asociaciones con otras afecciones o síndromes (síndrome metabólico, la diabetes mellitus tipo 2, las dislipemias, etc) (12). En consecuencia, el abordaje terapéutico puede que tenga que estar destinado a tratar las diferentes alteraciones que están asociadas a la manifestación de la enfermedad y por ende, se precise de un tratamiento constituido por la asociación de varios fármacos. Cabe destacar que la politerapia puede aumentar el riesgo de interacciones, por lo cual, podría dificultar la terapéutica de la EHNA. Inclusive, las reacciones adversas asociadas a la administración de agonistas o antagonistas podrían agravar las enfermedades cardiovasculares que pueden padecer estos pacientes. Un ejemplo sería el empeoramiento de las dislipemias por la disminución del aclaramiento de colesterol por el uso de antagonistas del LXR (9). Si bien, estos aspectos necesitan un mayor conocimiento para elucidar el posible rol que tiene el LXR en el tratamiento de la EHGNA/EHNA.

En definitiva, este Trabajo Fin de Grado está dirigido a asentar las bases de la intervención del LXR en la EHGNA, y de aquellas moléculas que han sido evaluadas para tratarla hasta este momento. El continuo desarrollo de nuevos fármacos, en los que la diana es el LXR, podría contribuir potencialmente a la mejora de los marcadores fisiopatológicos de la EHGNA. De esta forma, podríamos enlentecer o detener la progresión de la enfermedad, mejorando así la supervivencia y la calidad de vida de los individuos que la padezcan. Por añadidura, como el LXR también interviene en enfermedades de diversa índole – tales como procesos oncológicos, las enfermedades neurodegenerativas o la aterosclerosis - la investigación en nuevas terapias para la EHGNA podría impulsar el descubrimiento de nuevos tratamientos para tratar otras muchas patologías.

7 CONCLUSIONES

1. La EHGNA/EHNA es una enfermedad que puede evolucionar a estadios graves como la cirrosis o el cáncer, y se asocia frecuentemente con otras manifestaciones como la diabetes mellitus tipo 2, la obesidad o las dislipemias, pero hasta el momento carece de tratamiento farmacológico específico.
2. El LXR tiene un papel patogénico primordial en la EHGNA y en su progresión a la EHNA, al regular la transcripción de genes implicados en la DNL, la inflamación, la fibrosis y la inmunidad innata y específica.
3. Los agonistas de LXR aminoran la RI, la inflamación y la fibrosis hepática, y favorecen el aclaramiento del colesterol, evitando los efectos tóxicos derivados de su exceso, pero agravan la EHGNA y producen una hipertrigliceridemia secundaria.
4. La expresión mayoritaria en el hígado de la isoforma LXR α ha conducido a la búsqueda de agonistas selectivos de la isoforma β , que podrían mejorar la inflamación y la fibrosis hepática sin agravar la esteatosis. Entre ellos, están las moléculas naturales como el resveratrol, el escualeno, la betaína o el SR9238 o el SR9243 de procedencia sintética.
5. Los antagonistas del LXR disminuyen la acumulación de AG en el hígado, al regular a la baja los genes implicados en la DNL, la inflamación y fibrosis hepática. En contraposición, dificultan el aclaramiento de colesterol. La curcumina, el morín, la naringenina o el té de Kuding son algunos antagonistas naturales, mientras que el Oltipraz es de procedencia sintética.
6. Aunque hay muchos estudios en animales de experimentación y en cultivos células, los ensayos clínicos con agonistas y antagonistas del LXR para el tratamiento de la EHGNA/EHNA son escasos y no han sido demostrado que sean eficaces para el tratamiento de la enfermedad. La búsqueda de nuevos fármacos que interaccionen con el LXR, evitando sus efectos adversos, podría aumentar la supervivencia y la calidad de vida de los pacientes con la EHGNA/EHNA.

8 BIBLIOGRAFÍA

1. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. J Hepatol. 2016;64(6):1388-402.
2. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2018;15(1):11-20.
3. Al-Dayyat H, Rayyan Y, Tayyem R. Non-alcoholic fatty liver disease and associated dietary and lifestyle risk factors. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews. 2018.
4. Diehl AM, Day C. Cause, Pathogenesis, and Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. N Engl J Med. 2017;377(21):2063-72.
5. Cotter TG, Rinella M. NAFLD 2020: The State of the Disease. Gastroenterology. 2020 [En prensa].
6. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. Hepatology. 2018;67(1):328-57.

7. Pappachan JM, Babu S, Krishnan B, Ravindran NC. Non-alcoholic Fatty Liver Disease: A Clinical Update. *J Clin Transl Hepatol*. 2017;5(4):384-93.
8. López-Oliva Muñoz E, Muñoz Martienz E. SREBP-1c, ChREBP y LRX: Su influencia en el desarrollo del hígado graso no alcohólico. *An Real Acad Farm*. 2014;80(1):14-48.
9. Ni M, Zhang B, Zhao J, Feng Q, Peng J, Hu Y, et al. Biological mechanisms and related natural modulators of liver X receptor in nonalcoholic fatty liver disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019;113:108778.
10. Friedman SL, Neuschwander-Tetri BA, Rinella M, Sanyal AJ. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nat Med*. 2018;24(7):908-22.
11. Day CP, James OFW. Steatohepatitis: A tale of two “hits”? *Gastroenterology*. 1998;114(4):842-5.
12. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metab Clin Exp*. 2016;65(8):1038-48.
13. El Hadi H, Vettor R, Rossato M. Vitamin E as a Treatment for Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Reality or Myth? *Antioxidants (Basel)*. 2018;7(1).
14. Pacana T, Sanyal AJ. Vitamin E and Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2012;15(6):641-8.
15. Levene AP, Goldin RD. The epidemiology, pathogenesis and histopathology of fatty liver disease. *Histopathology*. 2012;61(2):141-52.
16. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM, et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2010;362(18):1675-85.
17. Lavine JE, Schwimmer JB, Van Natta ML, Molleston JP, Murray KF, Rosenthal P, et al. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. *JAMA*. 2011;305(16):1659-68.
18. Pydyn N, Miękus K, Jura J, Kotlinowski J. New therapeutic strategies in nonalcoholic fatty liver disease: a focus on promising drugs for nonalcoholic steatohepatitis. *Pharmacological Reports*. 2020;72(1):1-12.
19. Tanaka N, Aoyama T, Kimura S, Gonzalez FJ. Targeting nuclear receptors for the treatment of fatty liver disease. *Pharmacology & Therapeutics*. 2017;179:142-57.
20. Liu Y, Qiu DK, Ma X. Liver X receptors bridge hepatic lipid metabolism and inflammation: LXR, hepatic lipogenesis & inflammation. *Journal of Digestive Diseases*. 2012;13(2):69-74.
21. Hong C, Tontonoz P. Liver X receptors in lipid metabolism: opportunities for drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*. 2014;13(6):433-44.

22. Wang B, Tontonoz P. Liver X receptors in lipid signalling and membrane homeostasis. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14(8):452-63.
23. Jakobsson T, Treuter E, Gustafsson J-Å, Steffensen KR. Liver X receptor biology and pharmacology: new pathways, challenges and opportunities. *Trends in Pharmacological Sciences.* 2012;33(7):394-404.
24. Komati R, Spadoni D, Zheng S, Sridhar J, Riley K, Wang G. Ligands of Therapeutic Utility for the Liver X Receptors. *Molecules.* 2017;22(1):88.
25. Linden AG, Li S, Choi HY, Fang F, Fukasawa M, Uyeda K, et al. Interplay between ChREBP and SREBP-1c coordinates postprandial glycolysis and lipogenesis in livers of mice. *J Lipid Res.* 2018;59(3):475-87.
26. Chen G, Liang G, Ou J, Goldstein JL, Brown MS. Central role for liver X receptor in insulin-mediated activation of Srebp-1c transcription and stimulation of fatty acid synthesis in liver. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101(31):11245-50.
27. Tamura S, Okada M, Kato S, Shinoda Y, Shioda N, Fukunaga K, et al. Ouabagenin is a naturally occurring LXR ligand without causing hepatic steatosis as a side effect. *Sci Rep.* 2018;8(1):2305.
28. Katz A, Udata C, Ott E, Hickey L, Burczynski ME, Burghart P, et al. Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of single doses of LXR-623, a novel liver X-receptor agonist, in healthy participants. *J Clin Pharmacol.* 2009;49(6):643-9.
29. Nawaz W, Zhou Z, Deng S, Ma X, Ma X, Li C, et al. Therapeutic Versatility of Resveratrol Derivatives. *Nutrients.* 2017;9(11):1188.
30. Charytoniuk T, Drygalski K, Konstantynowicz-Nowicka K, Berk K, Chabowski A. Alternative treatment methods attenuate the development of NAFLD: A review of resveratrol molecular mechanisms and clinical trials. *Nutrition.* 2017;34:108-17.
31. Shaito A, Posadino AM, Younes N, Hasan H, Halabi S, Alhababi D, et al. Potential Adverse Effects of Resveratrol: A Literature Review. *IJMS.* 2020;21(6):2084.
32. Gao M, Liu D. Resveratrol Suppresses T0901317-Induced Hepatic Fat Accumulation in Mice. *AAPS J.* 2013;15(3):744-52.
33. Hien HTM, Ha NC, Thom LT, Hong DD. Squalene promotes cholesterol homeostasis in macrophage and hepatocyte cells via activation of liver X receptor (LXR) α and β . *Biotechnol Lett.* 2017;39(8):1101-7.
34. Day CR, Kempson SA. Betaine chemistry, roles, and potential use in liver disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects.* 2016;1860(6):1098-106.
35. da Silva RP, Eudy BJ, Deminice R. One-Carbon Metabolism in Fatty Liver Disease and Fibrosis: One-Carbon to Rule Them All. *The Journal of Nutrition.* 2020;150(5):994-1003.

36. Ge C-X, Yu R, Xu M-X, Li P-Q, Fan C-Y, Li J-M, et al. Betaine prevented fructose-induced NAFLD by regulating LXR α /PPAR α pathway and alleviating ER stress in rats. *European Journal of Pharmacology*. 2016;770:154-64.
37. Bai T, Yao Y, Jin X, Lian L, Li Q, Yang N, et al. Acanthoic acid, a diterpene in *Acanthopanax koreanum*, ameliorates the development of liver fibrosis via LXRs signals. *Chem Biol Interact*. 25 de julio de 2014;218:63-70.
38. Nomura S, Endo-Umeda K, Makishima M, Hashimoto Y, Ishikawa M. Development of Tetrachlorophthalimides as Liver X Receptor β (LXR β)-Selective Agonists. *ChemMedChem*. 2016;11(20):2347-60.
39. Huang P, Kaluba B, Jiang X, Chang S, Tang X, Mao L, et al. Liver X Receptor Inverse Agonist SR9243 Suppresses Nonalcoholic Steatohepatitis Intrahepatic Inflammation and Fibrosis. *BioMed Research International*. 2018;2018:1-7.
40. Griffett K, Welch RD, Flaveny CA, Kolar GR, Neuschwander-Tetri BA, Burris TP. The LXR inverse agonist SR9238 suppresses fibrosis in a model of non-alcoholic steatohepatitis. *Molecular Metabolism*. 2015;4(4):353-7.
41. Liczbiński P, Michałowicz J, Bukowska B. Molecular mechanism of curcumin action in signaling pathways: Review of the latest research. *Phytotherapy Research*. 2020;ptr.6663.
42. Yan C, Zhang Y, Zhang X, Aa J, Wang G, Xie Y. Curcumin regulates endogenous and exogenous metabolism via Nrf2-FXR-LXR pathway in NAFLD mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018;105:274-81.
43. Gu M, Zhang Y, Liu C, Wang D, Feng L, Fan S, et al. Morin, a novel liver X receptor α/β dual antagonist, has potent therapeutic efficacy for nonalcoholic fatty liver diseases: Morin improves hepatic steatosis. *British Journal of Pharmacology*. 2017;174(18):3032-44.
44. Fan S, Zhang Y, Hu N, Sun Q, Ding X, Li G, et al. Extract of Kuding Tea Prevents High-Fat Diet-Induced Metabolic Disorders in C57BL/6 Mice via Liver X Receptor (LXR) β Antagonism. Cignarella A, editor. *PLoS ONE*. 2012;7(12):e51007.
45. Kim W, Kim BG, Lee JS, Lee CK, Yeon JE, Chang MS, et al. Randomised clinical trial: the efficacy and safety of oltipraz, a liver X receptor alpha-inhibitory dithiolethione in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017;45(8):1073-83.
46. Ratziu V, Goodman Z, Sanyal A. Current efforts and trends in the treatment of NASH. *Journal of Hepatology*. 2015;62(1):S65-75.
47. Becares Salles N. Effects of LXR α phosphorylation on the regulation of lipid metabolism and hepatic fibrosis. [Londres]: University College London; 2017.
48. Lin Y-N, Chang H-Y, Wang CCN, Chu F-Y, Shen H-Y, Chen C-J, et al. Oleanolic Acid Inhibits Liver X Receptor Alpha and Pregnane X Receptor to Attenuate Ligand-Induced Lipogenesis. *J Agric Food Chem*. 2018;66(42):10964-76.