



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**MECANISMOS MOLECULARES DE LA
PROGRESIÓN DESDE LA RESISTENCIA A LA
INSULINA ASOCIADA A LA OBESIDAD HACIA
LA ENFERMEDAD DEL HÍGADO GRASO NO
ALCOHÓLICO**

Autora: Marta García Esteban

Tutora: Ángela M^a Martínez Valverde

Convocatoria: Junio 2018

INDICE

1. RESUMEN/ABSTRACT	3
2. INTRODUCCIÓN	4
2.1. La obesidad y su conexión con la diabetes mellitus tipo 2 (DT2): El problema clínico y datos epidemiológicos.	4
2.2. Lipotoxicidad y daño lipotóxico.	7
2.3. El tejido adiposo como un órgano endocrino y enfermedad inflamatoria crónica de bajo grado.....	9
2.4. Efecto de la lipotoxicidad en hígado durante la obesidad	10
3. OBJETIVO	11
4. MATERIAL Y MÉTODOS	12
5. RESULTADOS	12
5.1. Enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD)	12
5.2. Progresión clínica de la NAFLD.....	14
5.3. Diagnóstico de la NAFLD	15
5.4. Tratamiento y efecto de fármacos antidiabéticos en la NAFLD	18
6. CONCLUSIONES	19
7. BIBLIOGRAFÍA	20

1. RESUMEN/ABSTRACT

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (del inglés non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) es la enfermedad hepática crónica de mayor prevalencia en la actualidad y constituye un importante problema clínico y de salud pública. Tras una revisión bibliográfica de artículos científicos y libros especializados se concluye que la NAFLD se encuentra íntimamente ligada a patologías también crónicas como la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 (DT2). Los ácidos grasos libres son los responsables, a través de múltiples mecanismos moleculares, de la aparición y progresión de esta patología ya que estos ejercen efectos lipotóxicos sobre sus órganos diana entre los cuales el hígado es especialmente sensible. El tejido adiposo no es únicamente un órgano de almacenamiento de grasa, sino que también ejerce funciones como órgano endocrino. Debido a esto, alteraciones en la funcionalidad de los adipocitos pueden cambiar el patrón de las moléculas secretadas por los mismos que en el caso de la obesidad se manifiesta por un aumento en la secreción de mediadores proinflamatorios (citoquinas y especies lipídicas reactivas). Por tanto, existe una interrelación entre la obesidad y sus comorbilidades y el desarrollo de la NAFLD. Debido a la importancia de esta patología resulta muy necesario su diagnóstico y tratamiento de manera precisa, así como un tratamiento farmacológico adecuado que frene su progresión.

Palabras clave: Obesidad, Diabetes, Inflamación, Citoquinas, Hígado.

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is currently the most prevalent chronic liver disease and an important clinical and public health problem. After a bibliographical review of scientific articles and specialized books, it is concluded that NAFLD is closely linked to chronic diseases such as obesity and type 2 diabetes mellitus (T2D). Free fatty acids are responsible, through multiple molecular mechanisms, for the appearance and progression of this pathology since they elicit toxic effects known as lipotoxicity on their target organs among which the liver is particularly sensitive. Adipose tissue is not only a fat storage organ, but it is also attributed multiple functions as an endocrine organ. Due to this, alterations in the functionality of the adipocytes can switch the pattern of the molecules secreted by them; in the case of obesity being manifested by an increase in the secretion of proinflammatory mediators (cytokines and reactive lipid species). Therefore, there is a close relationship between obesity and its comorbidities and the development of NAFLD. Due to the importance of this pathology, its diagnosis and treatment are very necessary, as well as an adequate pharmacological treatment that slows down its progression

Key words: Obesity, Diabetes, Inflammation, Cytokines, Liver.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. La obesidad y su conexión con la diabetes mellitus tipo 2 (DT2): El problema clínico y datos epidemiológicos

La **obesidad y el sobrepeso** se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que aparece como consecuencia de un desequilibrio entre la ingesta calórica y el gasto energético. La organización mundial de la salud (OMS) estima que al menos 1.900 millones de adultos de más de 15 años presentaban sobrepeso en 2016 de los cuales al menos 650 millones eran obesos. El incremento es especialmente alarmante en la población infantil. Cada año al menos 2.8 millones de personas mueren por sobrepeso, lo que muestra el impacto negativo de esta patología en la población humana.

La pandemia de la obesidad representa un grave problema en nuestra sociedad, ya que se asocia a otras importantes patologías crónicas como resistencia a insulina, diabetes mellitus tipo 2 (DT2), síndrome metabólico, hipertensión arterial, enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer. Todo esto se relaciona con una muy elevada morbilidad y mortalidad lo que ocasiona grandes gastos económicos en los sistemas sanitarios.

El uso del índice de masa corporal (IMC) permite clasificar y evaluar la gravedad y el grado de obesidad. También es de importancia conocer la distribución de la grasa corporal en el individuo, pues de esta van a depender los riesgos asociados a la obesidad. En este sentido hay que tener en cuenta el grado de acúmulo de grasa en depósitos subcutáneos o viscerales, ya que estudios de los últimos años han revelado que los adipocitos de estas localizaciones se comportan de diferente manera en relación a su capacidad secretora. Igualmente en la fisiopatología de la obesidad de deben considerar factores como el sexo, la edad, la etnia y la genética entre otros.

La **diabetes mellitus (DT2)** es una patología que aparece ante la incapacidad del organismo de responder de manera eficiente a concentraciones de insulina fisiológicas. La DT2 se relaciona con la falta de actividad física y con el sobrepeso.

La población con DT2 ha aumentado de un 4.7% en 1980 a un 8.5% en 2014 y la OMS estima que en 2030 será la séptima causa de mortalidad mundial. Cabe destacar que un 90% de los pacientes con DT2 padecen sobrepeso u obesidad. No obstante, un 23-24% de la población obesa no presenta alteraciones metabólicas.

Podemos concluir señalando que la obesidad es el factor independiente más poderoso para la aparición de la DT2 y cualquier tipo de patología relacionada con alteraciones en la homeostasis de la glucosa. Debemos tener en cuenta, no solo el incremento del IMC, sino

también el depósito preferencial de grasa a nivel visceral, dejando en un segundo plano el subcutáneo.

Conexión entre obesidad y DT2; Resistencia a insulina

Una de las consecuencias de más relevancia en la obesidad es la aparición de resistencia a la insulina. Además, hoy día se sabe que la resistencia a la insulina es también una alteración muy temprana en la fisiopatología de la DT2. Esta asociación es tan evidente que ha dado lugar al término "disobesidad" para hablar de la diabetes que ocurre en personas obesas.

La **insulina** es una hormona sintetizada por las células beta en los islotes de Langerhans pancreáticos que tiene un papel central en el control de la homeostasis glucídica del organismo. La insulina tiene como órganos diana principales:

- El músculo esquelético donde promueve la captación de glucosa y la síntesis de glucógeno.
- El tejido adiposo donde favorece la captación de la glucosa e inhibe la lipólisis.
- El hígado donde favorece la captación de glucosa y la síntesis de glucógeno en el periodo postprandial e inhibe la gluconeogénesis.

Como se ha mencionado, la **resistencia a la insulina** se define como un estado en el que se requieren cantidades de insulina superiores a las habituales para producir una respuesta biológica normal ya que los tejidos anteriormente mencionados no responden a concentraciones fisiológicas de dicha hormona.

A nivel molecular la insulina actúa a través de un receptor de membrana que pertenece a la superfamilia de los receptores con actividad tirosina quinasa. Este receptor es una proteína tetramérica con 2 subunidades alfa extracelulares que transmiten la señal a dos subunidades beta intracelulares en las que reside la actividad tirosina quinasa. La unión de la insulina al receptor desencadena en una primera instancia un cambio conformacional de las subunidades alfa que se transmite a las subunidades beta y como consecuencia se produce la autofosforilación de estas últimas en varios residuos tirosina situados en el dominio catalítico muy próximo al extremo carboxilo terminal. El receptor de insulina ya fosforilado es, a su vez, una enzima que fosforila en residuos tirosina a una familia de moléculas identificadas a finales del siglo XX y que se conocen como sustratos del receptor de la insulina, siendo los más relevantes el IRS1 (en músculo y tejido adiposo) y el IRS2 (en el hígado). Se trata de proteínas embarcadero que asocian otras proteínas con actividad quinasa (serina/treonina fundamentalmente). Estas quinasas fosforilan quinasas adicionales que en último término inducen, entre otras respuestas, la traslocación de transportadores de glucosa (GLUT-4) de el

interior celular a la superficie para facilitar la entrada de glucosa en las células. Esto ocurre en las células de los tejidos adiposo y muscular. En el hígado la entrada de glucosa al hepatocito depende de GLUT2 que se encuentra constitutivamente anclado a la membrana plasmática.

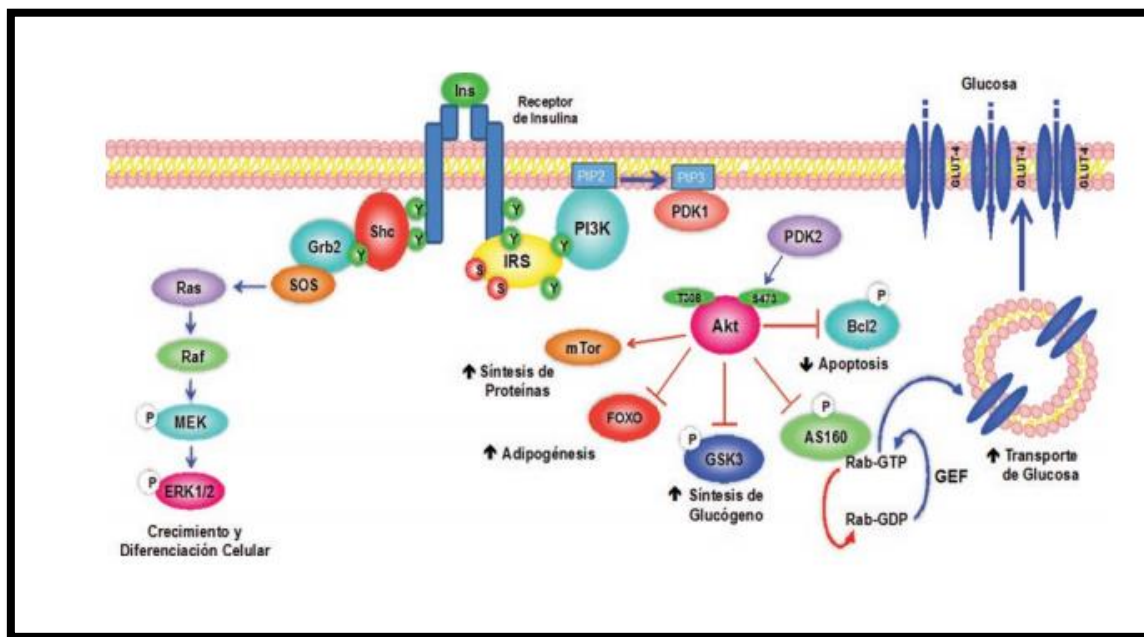


FIGURA 1. Representación esquemática de la señalización de la insulina. Fuente: Copiado de Vázquez-Jiménez J, Roura-Guiberna A, Jiménez-Mena L, Olivares-Reyes J. El papel de los ácidos grasos libres en la resistencia a la insulina.

En un estado de insulino-resistencia hay fallo en alguno de los nodos críticos que conforman esta cascada lo que demanda la secreción de mayores cantidades de insulina por parte de las células beta-pancreáticas. Esta situación conduce a un estado de hiperinsulinemia circulante que permite mantener la glucemia.

Entre los mecanismos propuestos en la interrupción de la señalización de la insulina en sujetos obesos se encuentran el aumento de metabolitos intracelulares derivados del metabolismo de los triglicéridos y ácidos grasos. Algunos de estos como el diacilglicerol, acyl-CoA y ceramidas activan una serie de cascadas mediadas por proteínas serina-treonina quinasas que fosforilan residuos IRS-1 e IRS-2 quedando reducida la capacidad de activación de la PI3K (fosfatidilinositol 3-quinasa) que es una de las quinasas más importantes en la cascada que regula el transporte de glucosa al interior celular. Estos eventos moleculares provocan una disminución del transporte de glucosa entre otras acciones mediadas por la insulina, como la síntesis de glucógeno o la supresión de la lipólisis y la gluconeogénesis.

2.2. Lipotoxicidad y daño lipotóxico

El término **lipotoxicidad** hace referencia a los efectos deletéreos del exceso de los ácidos grasos y la acumulación de la grasa ectópica lo que resulta en una disfunción orgánica que puede concluir con la muerte celular.

En la obesidad, el consumo excesivo de alimentos ricos en hidratos de carbono, combinado con el aumento de la liberación excesiva de ácidos grasos por parte de adipocitos insulino-resistentes, sobrepasa la capacidad de oxidación de los mismos en tejidos como músculo esquelético, hígado y páncreas. El daño es debido a la acumulación de derivados tóxicos en dichos tejidos ya que estos derivados son responsables de la activación de vías inflamatorias, disfunción celular y apoptosis.

Esta acumulación anormal de grasa causa daño en células y órganos especialmente en la mitocondria y retículo endoplasmático. Como se detallará más adelante, este daño lipotóxico es responsable de la progresión del hígado graso a etapas más avanzadas del daño metabólico en este tejido.

Efecto de la lipotoxicidad sobre el retículo endoplásmico y mitocondria

A nivel molecular la lipotoxicidad ejercida por la acumulación de lípidos en tejidos periféricos ocasiona daños en orgánulos celulares esenciales como el retículo endoplásmico y la mitocondria.

El **retículo endoplasmático (RE)** tiene una importancia funcional como "sensor de nutrientes", asegura el correcto plegamiento de las proteínas, y exporta proteínas funcionales a la membrana de las células. Un desequilibrio nutricional, las infecciones, la exposición a toxinas o un exceso de lípidos van a alterar la capacidad de llevar a cabo de manera correcta dichas funciones dando lugar a un mal ensamblaje proteico que causa una acumulación de proteínas mal plegadas ocasionando una sobrecarga proteica (estrés). El RE lleva a cabo adaptaciones para responder a esta situación de estrés; se inhibe la síntesis de proteínas en el mismo y se degradan las defectuosas compensando así su exceso de actividad. También como consecuencia de este estrés se activan vías de señalización proinflamatorias como las mediadas por la quinasas JNK e IKK β y que estimulan a su vez la fosforilación de IRS en residuos serina (Ser 307) lo que conduce a su degradación por el proteasoma. Otros efectos deletéreos resultantes de una actividad descontrolada del RE incluyen: exceso de concentración intracelular de lactato, aumento de estrés oxidativo y apoptosis descontrolada.

La **mitocondria** es un órgano crucial en el metabolismo de la glucosa que resulta severamente dañado en estados de resistencia a la insulina. Un exceso de ácidos grasos libres satura la capacidad oxidativa de este orgánulo ocasionando una grave disfunción en el mismo. Esta disfunción provoca una síntesis de especies reactivas de oxígeno responsables del estrés oxidativo empeorando la resistencia a insulina y las alteraciones en la homeostasis de glucosa. Entre estos efectos deletéreos destacamos un daño en componentes celulares como pueden ser los lípidos, proteínas y DNA en órganos clave como lo es el hígado.

Efecto de la lipotoxicidad sobre células beta-pancreáticas

El efecto lipotóxico se ejerce igualmente a nivel de las células **beta-pancreáticas** lo que se traduce en un daño mediado por estrés del RE y estrés oxidativo que si permanece de manera crónica termina desencadenando una respuesta apoptótica, fenómeno que se conoce como fallo de la célula beta (del inglés beta cell failure). Es en este momento cuando se impide la hipersecreción de insulina necesaria para compensar la resistencia periférica a dicha hormona y se progresa hacia la DT2.

Efecto de la lipotoxicidad en la autofagia

Recientemente se ha demostrado la implicación de la **autofagia** en el metabolismo lipídico de los hepatocitos. Es decir, se ha observado una alteración en este sistema lisosomal encargado de la degradación de orgánulos intracelulares que permite mantener la homeostasis energética y la eliminación de orgánulos de las células dañadas. La alteración de la autofagia puede ser importante en la fisiopatología de los trastornos que resultan de la excesiva acumulación de lípidos, tales como manifestaciones del síndrome metabólico y la NAFLD. En la NAFLD, el deterioro en la autofagia hepática no sólo puede promover la esteatosis, sino que también puede conducir a una progresión de la enfermedad hacia la esteatohepatitis (NASH), debido a la pérdida de la función protectora que tiene la autofagia frente a la muerte celular.

Efecto de la lipotoxicidad en la hipoxia tisular

La **hipoxia** del tejido adiposo es una respuesta específica de dicho tejido en la obesidad que se manifiesta como una disminución de la vascularización ya que en este contexto la angiogénesis se ve reducida. La hipoxia también es responsable de una inducción de la

respuesta inflamatoria, del estrés oxidativo, de la infiltración de macrófagos y de la muerte de los adipocitos.

El mecanismo de la hipoxia incluye, entre otros, la inducción del factor de transcripción HIF-1 α que lleva a cabo la modulación de muchos genes que controlan el metabolismo. Este factor de transcripción se encarga de la activación de genes proinflamatorios como los que codifican para las citoquinas TNF- α , IL-1 o IL-6.

2.3. El tejido adiposo como un órgano endocrino y enfermedad inflamatoria crónica de bajo grado

El tejido adiposo tiene una función protectora frente a la exposición directa a los ácidos grasos en otros tejidos que en su forma libre (no esterificados) y cuando se encuentran elevados inducen lipotoxicidad. Esto es debido a que en el interior de los adipocitos los ácidos grasos se almacenan en gotas de grasa en forma de triglicéridos que son especies lipídicas no tóxicas para las células. Además, el tejido adiposo es considerado hoy en día como un órgano endocrino ya que se encarga de la secreción de hormonas, proteínas del complemento, citoquinas como el TNF- α e interleucinas (IL-6, IL-1 β), quimioquinas (MCP1), factores de crecimiento, todos ellos conocidos como adipoquinas. En condiciones normales el tejido adiposo secreta adipoquinas antiinflamatorias como la adiponectina. El perfil antiinflamatorio de la adiponectina ha sido demostrado mediante estudios in vitro en macrófagos humanos y de roedores. Cuando la acumulación de triglicéridos excede la capacidad que tienen los adipocitos de almacenamiento de dichas moléculas, el tejido adiposo cambia de perfil secretor ya que se observa una disminución de adipoquinas antiinflamatorias y se convierte en un órgano secretor de citoquinas proinflamatorias y adipoquinas como el TNF- α , la resistina y el retinol binding protein 4 (RBP4). Estas moléculas llegan vía circulatoria a los tejidos periféricos en los cuales desencadenan cascadas de señalización proinflamatorias como las mediadas por el factor de transcripción NF- κ B, las proteínas STAT etc., lo que conduce a la interrupción de la señalización de la insulina entre otros efectos deletéreos.

Este cambio de perfil secretor en los adipocitos da lugar a lo que se conoce como **enfermedad inflamatoria crónica de bajo grado** la cual se caracteriza por una elevación en los niveles circulantes de citoquinas inflamatorias y un aumento en la infiltración de macrófagos en los tejidos periféricos. El rasgo distintivo de la enfermedad inflamatoria crónica de bajo grado es la ausencia de lesión y pérdida de funcionalidad en el tejido infiltrado.

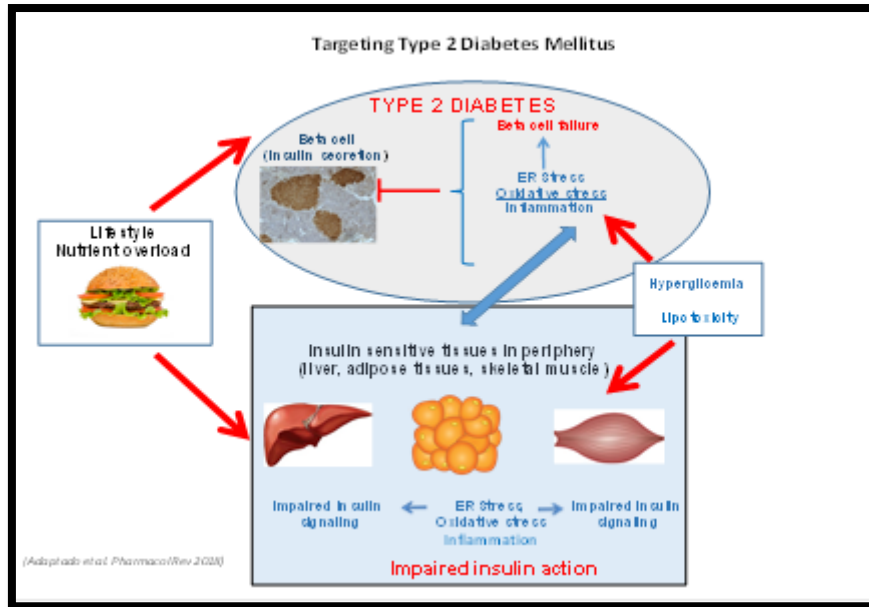


FIGURA 2: Efectos de la hiperglucemia y lipotoxicidad en los tejidos relevantes en el control metabólico. *Adaptación: Cuadrado et al., Pharmacol Rev 201.*

2.4. Efecto de la lipotoxicidad en el hígado durante la obesidad

Como consecuencia del ambiente lipotóxico e inflamatorio que tiene lugar durante estados de obesidad se desarrolla resistencia a insulina que, como hemos mencionado, tiene importantes manifestaciones con graves implicaciones a distintos niveles. Para comprender mejor las alteraciones que ocurren en el metabolismo hepático durante la lipotoxicidad, recordemos los efectos de la insulina en dicho órgano en condiciones normales:

- La insulina inhibe la síntesis hepática de glucosa.
- Se estimula la captación de glucosa por parte del hígado tras la ingesta (periodo post-prandial) y la síntesis de glucógeno.
- Favorece el ensamblaje y la exportación de las lipoproteínas VLDL. Por tanto, los individuos obesos con resistencia a insulina presentan una sobreproducción de VLDL que se asocia a un incremento de la grasa en hígado.

A la resistencia a insulina se suman daños, a diversos niveles, dentro de nuestro organismo responsables de un gran número de manifestaciones clínicas. Dentro de dichas manifestaciones clínicas de la lipotoxicidad centraremos ahora nuestro estudio en los **efectos hepáticos**, destacando:

- Incremento del contenido lipídico en los hepatocitos lo que conduce a la esteatosis.
- Activación y reclutamiento de las células de Kupffer (macrófagos hepáticos).

- Incremento de los niveles de citoquinas como TNF- α , IL-1 e IL-6 secretadas por las células de Kupffer.
- Estrés oxidativo (mitocondria) y estrés del retículo endoplásmico.
- Activación de las células estrelladas hepáticas lo que conduce a estadios iniciales de fibrosis.

Todos estos efectos ocurren de manera progresiva y pueden dar lugar a fases más avanzadas de la NAFLD como fibrosis, cirrosis y carcinoma hepatocelular como veremos más adelante.

Las fuentes de triglicéridos y ácidos grasos responsables del hígado graso son varias. Se consideran principalmente los quilomicrones remanentes procedentes de la dieta, los ácidos grasos procedentes de la lipólisis del tejido adiposo y lipogénesis de novo en el propio hígado. No obstante estudios in vivo sugieren que la fuente principal es la lipólisis del tejido adiposo (hasta un 60%).

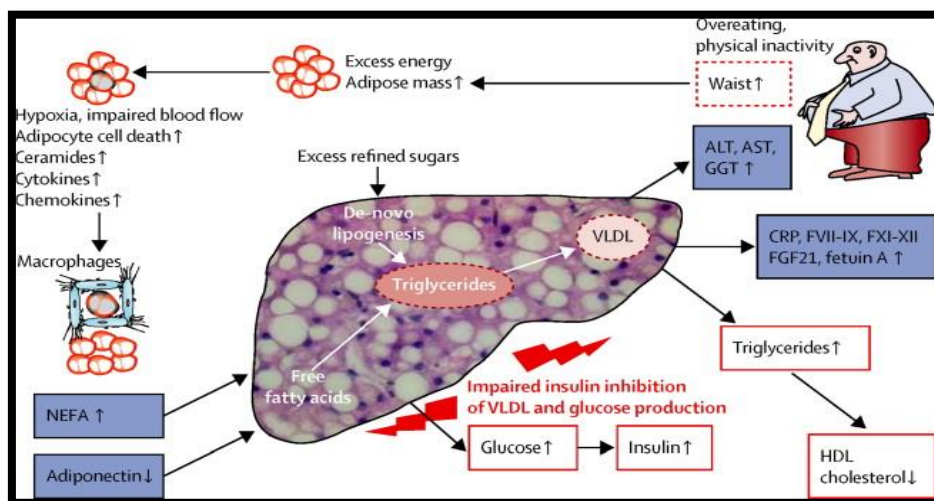


FIGURA 3: Efecto de la lipotoxicidad en el hígado en individuos obesos. Fuente: Yki-Järvinen H. *Non-alcoholic fatty liver disease as a cause and a consequence of metabolic syndrome. The Lancet Diabetes & Endocrinology. 2014; 2(11):901-910.*

3. OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica de los últimos estudios que relacionan el papel de la obesidad y la resistencia a insulina con la aparición y progresión de la NAFLD.

Para ello, se ha buscado información acerca de los mecanismos moleculares, los métodos diagnósticos y del desarrollo de la patología, así como información sobre los posibles tratamientos.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Para realizar el trabajo se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica, consultando diferentes bases de datos científicas, libros y tesis doctorales. Dentro de las bases de datos se consultan principalmente PubMed-NCBI, Research Gate, Medline y Google académico. Se han empleado palabras clave y se han seleccionado artículos de elevado índice de impacto. También se han consultado webs oficiales como la de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la de la American Diabetes Association para la obtención de definiciones y datos epidemiológicos. Una vez consultada toda la información necesaria se ha resumido y expuesto de manera clara.

5. RESULTADOS

5.1. Enfermedad del hígado graso no alcohólico

La **enfermedad del hígado graso no alcohólico** (en inglés, Nonalcoholic Fatty Liver Disease, NAFLD) es la consecuencia hepática de una acumulación ectópica de grasa situada dentro de un contexto de obesidad e insulino resistencia. Esta patología puede ser asintomática en sus fases iniciales, pero en un 20% de los individuos aparece una inflamación que da lugar a una inflamación hepática crónica o esteatohepatitis no alcohólica (en inglés, nonalcoholic steatohepatitis, NASH) que se refiere a un amplio espectro de afectaciones que van desde la fibrosis y posterior cirrosis hasta el carcinoma hepatocelular.

La prevalencia de la NAFLD es de un 23% siendo la afectación hepática más frecuente en los países occidentales. Esta prevalencia se sitúa entre un 75-100% en individuos obesos mientras que en la población general es de un 20-30%. Es muy importante subrayar como su frecuencia es paralela a la incidencia del síndrome metabólico y a su creciente importancia.

Procesos implicados en la progresión de la NAFLD

En sujetos obesos, un aumento de tejido adiposo visceral, será responsable de un incremento de ácidos grasos libres en el torrente circulatorio como consecuencia de incremento de la lipólisis y un aumento de ácidos grasos procedentes de la dieta. A esto se le añade un aumento en la secreción de las adipoquinas y citoquinas proinflamatorias como TNF- α , leptina, adiponectina, resistina y visfatina por parte del tejido adiposo que actúan a nivel hepático. La combinación de la acumulación de especies lipídicas reactivas y la apoptosis resultante en hepatocitos es conocida como lipoapoptosis, la cual es el mecanismo crucial en la aparición de daño hepático.

Hay una serie de procesos asociados a la progresión de la NAFLD como lo serán el estrés oxidativo, estrés del RE, disfunción a nivel mitocondrial, apoptosis y autofagia.

Las alteraciones en los procesos, previamente mencionados son consideradas como responsables de una desregulación inmunometabólica, es decir, son responsables de la inflamación crónica de bajo grado en obesidad, resistencia a insulina y diabetes que se asocian al daño hepático durante la NAFLD.

El aumento de ácidos grasos libres ocasiona la activación de cascadas proinflamatorias tales como IKK β /NF- κ B y JNK/AP1 en los hepatocitos a través de la estimulación de los receptores TLR4/TLR2 o de la activación de las rutas de estrés del RE. Otra de las consecuencias de la inflamación que tiene lugar en individuos obesos es la degradación de IRS-1 e IRS-2, lo que inhibe la cascada de señalización de insulina generando la resistencia a la misma en los hepatocitos. Por ello, el desencadenamiento de estos mecanismos explica como la lipotoxicidad es un proceso complejo, que afecta al hígado, bien por acción directa de las especies lipotóxicas sobre los hepatocitos o bien de manera indirecta por la acción de los mediadores proinflamatorios procedentes del tejido adiposo tal como queda reflejado en la Figura 4.

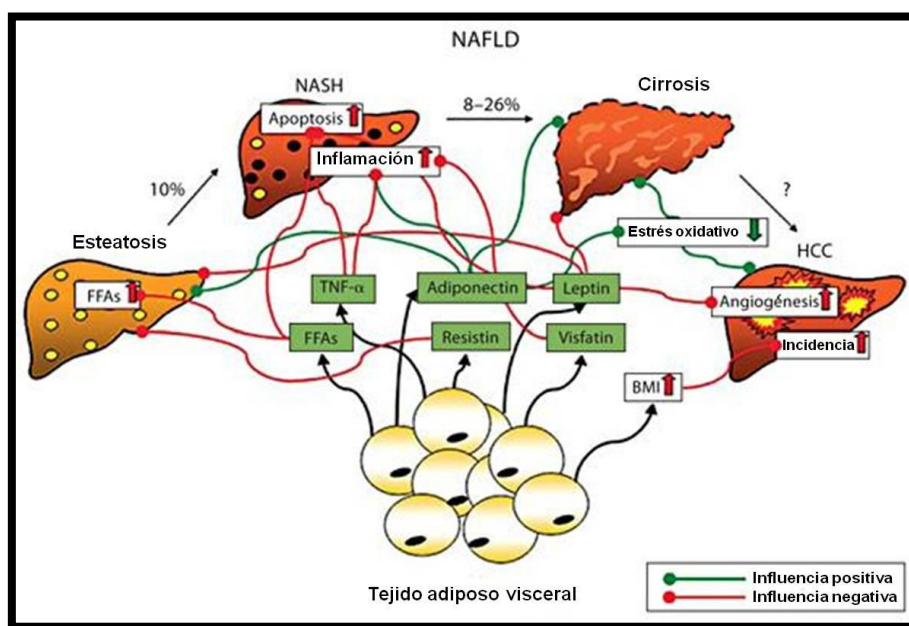


FIGURA 4: Influencia del tejido adiposo visceral en la progresión de la NAFLD. *Adaptado de: Wree A, Digestion, 2011).*

5.2. Progresión clínica de la NAFLD

La progresión de esta enfermedad es muy variable y frecuentemente presenta una progresión no lineal que viene determinada por la presencia o ausencia de NASH.

Tenemos que tener en cuenta los distintos estadios en la progresión de la enfermedad, ya que van a ser condicionantes en la intervención de la misma.

Vamos a diferenciar y detallar las 5 etapas en el desarrollo y aparición de NAFLD:

1. **Esteatosis hepática o hígado graso.** Es la acumulación anormal de grasa en el hígado frecuentemente en forma de triglicéridos. Este acúmulo anormal de grasa suele asociarse a una lesión y alteración de la funcionalidad hepática. La mayoría de los individuos se mantienen en esta primera etapa que es reversible. No obstante, algunos de los pacientes presentarán una progresión de la patología que puede ser responsable de daño hepático.

2. **Esteatohepatitis no alcohólica (NASH).** Es la etapa de NAFLD caracterizada no solo por un acúmulo graso en hígado, sino también por una elevada inflamación que se puede visualizar a nivel histológico mediante una masiva infiltración de células inmunes en el hígado y daño en las células hepáticas. La NASH puede progresar y ser responsable de estadios más graves de NAFLD.

3. **Fibrosis hepática.** Es el resultado de una inflamación hepática y muerte de células hepáticas responsable de la aparición de un tejido cicatricial. Se produce una regeneración fraudulenta de los hepatocitos que da lugar a los nódulos de regeneración. En este proceso juegan un papel clave las células estrelladas hepáticas que son responsables de la síntesis de colágeno que se deposita en el hígado fibrótico.

4. **Cirrosis.** Esta etapa es la de mayor severidad y aparece tras años de inflamación. En este caso el tejido cicatricial sustituye al tejido normal hepático. Todo esto da lugar a un fallo hepático responsable de numerosas alteraciones en el funcionamiento del hígado que pueden incluso llegar a provocar carcinoma hepatocelular. En la mayoría de los individuos con la enfermedad en esta fase el único tratamiento a día de hoy es el trasplante hepático.

5. **Carcinoma hepatocelular (CHC).** Aparece habitualmente en individuos cirróticos y supone entre un 80-90% de los tumores hepáticos malignos.

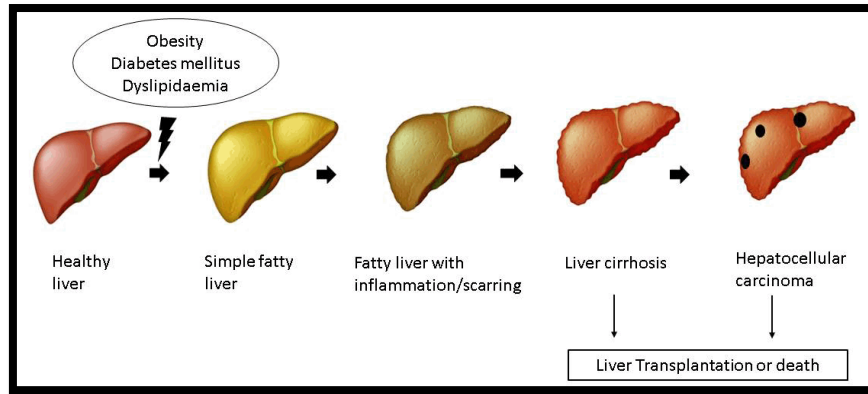


FIGURA 4: Progresión de NAFLD. Fuente: *Clin Med (Lond)*. 2015 Apr

Es de gran importancia la diferenciación de la NASH de una simple esteatosis, puesto que puede ser responsable de enfermedades cardiovasculares y de un aumento del riesgo de muerte por causas hepáticas. Por ello, debemos considerar siempre esta patología en individuos obesos ya que será la primera causa de trasplante hepático en 2020 en USA.

5.3. Diagnóstico de la NAFLD

Debido al riesgo que la NAFLD presenta es de gran importancia el diagnóstico de la misma mediante procedimientos adecuados.

1. *Biopsia hepática:*

Para el diagnóstico de NAFLD se requiere la presencia conjunta de esteatosis, degeneración balonizante e inflamación lobulillar. También se observan otras características histológicas como la inflamación portal, la aparición de infiltrados de polimorfonucleares, cuerpos de Mallory-Denk, cuerpos apoptóticos, núcleos vacuolados claros, esteatosis microvacuolar, megamitocondrias y fibrosis perisinusoidal. Mediante el sistema de puntuación NAS (NAS score) que se correlaciona con los niveles de la aminotransferasa y con la evaluación del modelo homeostático de la resistencia a la insulina (HOMA-IR), se puede evaluar la gravedad de la enfermedad una vez diagnosticada. También se puede usar la puntuación SAF que tiene en cuenta la esteatosis y fibrosis.

2. *Evaluación no invasiva:*

Este tipo de evaluación busca identificar el riesgo de NAFLD en individuos con alto riesgo metabólico, identificar a aquellos individuos con peor pronóstico, vigilar la progresión de la enfermedad y predecir la respuesta a intervenciones terapéuticas. Todo esto permite, a su vez, reducir la realización de biopsias hepáticas que tienen una serie de riesgos y limitaciones.

Se han estudiado diversos **biomarcadores** que han demostrado su valor para la detección de la NAFLD. Las pruebas que se llevan a cabo para el diagnóstico y manejo de enfermedades hepáticas son conocidas como "pruebas de función hepática".

Ante la sospecha de NAFLD se deben medir diferentes marcadores como aspartato aminotransferasas (AST), alanino aminotransferasas (ALT) y fosfatasa alcalina (biomarcadores de lesión hepática y colestasis) y se debe realizar un seguimiento de la función hepática (bilirrubina sérica, albúmina y tiempo de protrombina). En un 85,7% de individuos con NASH, se observó una alteración de funcionamiento hepático, observándose en un 21 a 63% de entre ellos una actividad de aminotransferasa anormal.

Comercialmente, en los últimos cinco años se han desarrollado diversas técnicas de biomarcadores hepáticos. De estas técnicas destacaremos las siguientes:

a) FibroTest® (FT Biopredictive, París, Francia); el cual incluye α 2-microglobulina, apolipoproteína A1, haptoglobina, bilirrubina total y gammaglutamiltranspeptidasa corregido por edad y sexo. Ha sido validado como marcador de índice de fibrosis en la NAFLD.

b) ActiTest® (AT Biopredictive, París, Francia) desarrollado para valorar el grado de necroinflamación en esteatosis y NASH, el cual combina los mismos cinco marcadores del FibroTest® más ALT.

c) SteatoTest® nuevo panel que combina los seis componentes del FibroTest-ActiTest ajustados para edad, sexo e IMC, más AST, glucosa, colesterol y triglicéridos. Se relacionan valores elevados con una alta probabilidad de esteatosis.

d) Fibrospect I y II® (Prometheus, USA), esta técnica combina α 2-macroglobulina, ácido hialurónico e inhibidor tisular de metaloproteinasa-1.

Otros biomarcadores en suero; microRNAs

Los **microRNAs** (miRNAs) son secuencias cortas de RNA que tienen un papel fundamental en la expresión génica de la NAFLD. Su desregulación se asocia a la patogenia de la NAFLD ya que los miRNAs hepáticos se han relacionado con vías moleculares implicadas en su desarrollo, como las vías del metabolismo de colesterol y lípidos, la señalización de la insulina, la inflamación, el estrés oxidativo y la proliferación. Es por todo esto que los niveles circulantes de miRNAs suponen un prometedor avance en el desarrollo de biomarcadores no invasivos de NAFLD.

Los miRNAs pueden detectarse en fluidos caporales como lo es la saliva. Tras el estudio de la relación entre los miRNAs circulantes y la NAFLD se han relacionado la presencia de miR-122, miR-34a y miR-16 con una mayor prevalencia de fibrosis y carcinoma

hepatocelular. También se ha relacionado miR-122 con niveles elevados de ALT. Otros estudios relacionan los niveles circulantes de miR-128-3p con el grado de fibrosis y niveles elevados de miR-192, miR-19a, miR-19b, miR-125 y miR-375 con la aparición de la NAFLD.

Diagnósticos diferenciales

Esteatosis

La esteatosis se evalúa ante la sospecha de NAFLD y permite una predicción de una futura DT2, hipertensión y eventos cardiovasculares. Para dicha evaluación se efectúan fundamentalmente técnicas de imagen; en la mayoría de casos ecografías. No obstante, la sensibilidad de esta técnica es limitada y no detecta una esteatosis inferior al 20% y presenta problemas en individuos con índice de masa corporal elevado (> 40 kg/m²). Esta determinación permite evaluar la eficacia del tratamiento. A pesar de que la ecografía detecta con seguridad una esteatosis moderada o grave se prefiere el empleo de biomarcadores séricos. Para clasificar la esteatosis se usa el índice de hígado graso (FLI), el SteatoTest® y la puntuación de hígado graso de la NAFLD. Estas puntuaciones van a ser métodos fiables de la predicción de la presencia y gravedad de la esteatosis, y se asocian a la resistencia a insulina.

NASH

El diagnóstico de la NASH es fundamental en el pronóstico y el conocimiento de la progresión de la fibrosis, cirrosis y carcinoma hepatocelular. Para la diferenciación de la esteatosis y NASH no basta con datos clínicos, de imagen y bioquímicos. No hay pruebas no invasivas validadas ya que los fragmentos de citoqueratina-18 (CK-18) generados durante la muerte celular, o la apoptosis tienen una exactitud insuficiente. Es por ello que para el diagnóstico de NASH se debe realizar una biopsia hepática que muestre la presencia de esteatosis, degeneración balonizante hepatocitaria e inflamación lobulillar.

Fibrosis y cirrosis

La fibrosis es el factor pronóstico de mayor importancia en la NAFLD y se correlaciona con la mortalidad. Ante una fibrosis avanzada es necesario un estudio hepatológico mediante una biopsia de confirmación y un control de su progresión. Hay marcadores séricos aceptados como la NFS (puntuación de fibrosis de NAFLD) y la calculadora de fibrosis 4 (FIB-4). Estos dos marcadores junto con la ELF (fibrosis hepática intensificada) y el FibroTest® predicen la mortalidad global, la mortalidad cardiovascular y la mortalidad de causa hepática.

Obesidad

Puesto que la obesidad es primordial en la aparición de la NAFLD, su seguimiento será obligado ya que aumenta considerablemente el riesgo de enfermedad avanzada.

DT2

En individuos con NAFLD se deben realizar determinaciones de glucemia o de la HbA1c. En pacientes con DT2 se busca la presencia de NAFLD, independientemente de los niveles de enzimas hepáticas.

5.4. Tratamiento y efecto de antidiabéticos en la NAFLD

Hábitos alimenticios y cambios en el estilo de vida

Es incuestionable la relación directa que existe entre la aparición de la NAFLD y un estilo de vida poco saludable al igual que su relación con una alimentación poco equilibrada. Por ello se considera como piedra angular del tratamiento de la NAFLD una reducción ponderal basada en el ejercicio físico anaerobio y una alimentación saludable. También se considerará una pérdida de peso quirúrgica inducida por la técnica del bypass gástrico, que dará lugar a una importante mejora en la sensibilidad a insulina y reducción del estrés del RE en pacientes obesos. El objetivo será una disminución de peso de entre 7 y 10%.

Tratamiento farmacológico

Actualmente no hay ningún fármaco con indicación autorizada para la NAFLD. No hay tratamientos específicos, si no que se emplean una serie de fármacos aprobados para otras enfermedades metabólicas siempre que sean seguros y tolerables, tanto en estadios iniciales con riesgo de progresión de la fibrosis, como en la NAFLD progresiva.

1. Tiazolidinedionas (agonistas PPAR- γ)

Las tiazolidinedionas activan los receptores nucleares específicos de los peroxisomas (PPAR- γ) y esto modula la transcripción génica de proteínas que actúan sobre el metabolismo de lípidos y glucosa. Estos fármacos concretamente van a aumentar la sensibilidad a la insulina en hígado, músculo esquelético y tejido adiposo. Se ha observado un efecto beneficioso en el uso de **pioglitazona** en pacientes con la NAFLD, ya que se va a disminuir la gluconeogénesis hepática y a va a aumentar la utilización de glucosa en tejidos periféricos. Varios estudios relacionan el uso de fármacos sensibilizadores de insulina con la mejora de la fibrosis y la inflamación hepática. Sin embargo, a día de hoy y debido a efectos secundarios se está limitando el uso de estos fármacos.

2. Antioxidantes, agentes citoprotectores e hipolipemiantes

Se ha estudiado el uso de **vitamina E** en pacientes con NAFLD, con mejoras en la esteatosis y la inflamación en un 36% de los casos. La vitamina E actúa inhibiendo la peroxidación lipídica de membranas celulares y reduce la expresión de TNF- α y de otras citoquinas inflamatorias. Con suplementos de vitamina E se observa una mejora en la bioquímica e histología hepáticas.

3. Biguanidas e incretin-miméticos

La metformina, el fármaco de mayor uso en pacientes con DT2, carece de evidencias científicas claras que permitan afirmar su efecto beneficioso sobre el hígado graso. Se observa cierta acción antitumoral frente al carcinoma hepatocelular pero sin estudios concluyentes para realizar recomendaciones.

En cuanto a los incretin-miméticos se ha observado en ensayos clínicos una mejora histológica de NAFLD tras el uso de liraglutida (análogo del GLP-1).

No hay bibliografía concluyente respecto al uso del orlistat o similares. Tampoco hay datos sobre el uso de fármacos hipolipemiantes, ezetimiba o estatinas.

6. CONCLUSIÓN

El modo de vida actual se ve estrechamente relacionado con la aparición de la obesidad, con todos los riesgos asociados que ello conlleva. Entre las posibles consecuencias de la obesidad, la resistencia a insulina va a ser determinante en la aparición de comorbilidades tales como la DT2. Tras la revisión de diversos estudios científicos se llega a la conclusión de que la obesidad y la resistencia a insulina son factores clave en la aparición y progresión de la NAFLD. En individuos con DT2 se observa una mayor probabilidad de aparición y progresión de NAFLD. En la mayoría de pacientes no-obesos con NAFLD se observa una resistencia a insulina y y/o alteración de la distribución del compartimento graso que se relaciona con la patología.

En lo relacionado al tratamiento, a pesar de la falta de evidencia suficiente, podríamos concluir que en pacientes con NAFLD en estado avanzado podrían emplearse preferentemente pioglitazona (con limitaciones en ciertos pacientes) o vitamina E o una combinación de ambos. Un diagnóstico adecuado es vital para evitar la progresión hacia etapas avanzadas de NAFLD. Hoy en día los esfuerzos se centran en la búsqueda de biomarcadores; procedimientos no-invasivos que causen el menor daño posible en el paciente y permitan detectar la enfermedad en sus etapas iniciales.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Serrano Ríos M, Ordovás J, Gutiérrez Fuentes J. Obesity. Amsterdam: Elsevier; 2011.
2. Hassan, K. (2014). Non-alcoholic fatty liver disease: A comprehensive review of a growing epidemic. World Journal of Gastroenterology, 20(34), p.12082.
3. Non-alcoholic fatty liver disease: What the clinician needs to know. (2014). World Journal of Gastroenterology, 20(36), p.12956.
4. Cusi, K. (2012). Role of Obesity and Lipotoxicity in the Development of Non-alcoholic Steatohepatitis: Pathophysiology and Clinical Implications. Gastroenterology, 142(4), pp.711-725.e6.
5. de Luca, C. and Olefsky, J. (2007). Inflammation and insulin resistance. FEBS Letters, 582(1), pp.97-105.
6. Shulman, G. (2000). Cellular mechanisms of insulin resistance. Journal of Clinical Investigation, 106(2), pp.171-176.
7. Montejano Sánchez, R. (2010). Pioglitazona, vitamina E o placebo para esteatohepatitis no alcohólicas. Revista Clínica Española, 210(11), p.581.
8. He, L., Liu, X., Wang, L. and Yang, Z. (2016). Thiazolidinediones for nonalcoholic steatohepatitis. Medicine, 95(42), p.e4947.
9. Ye J. Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance. International Journal of Obesity. 2008;33(1):54-66.
10. Vázquez-Jiménez J, Roura-Guiberna A, Jiménez-Mena L, Olivares-Reyes J. El papel de los ácidos grasos libres en la resistencia a la insulina. Gaceta de México. 2017;153(7).
11. José Roberto Barba Evia. Esteatosis hepática, esteatohepatitis y marcadores de lesión hepática. (2008) Rev Mex Patol Clin, Vol. 55, Núm. 4. pp 216-232.
12. Baffy G. MicroRNAs in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. Journal of Clinical Medicine. 2015;4(12):1977-1988.
13. Yki-Järvinen H. Non-alcoholic fatty liver disease as a cause and a consequence of metabolic syndrome. The Lancet Diabetes & Endocrinology. 2014;2(11):901-910.
19. José Israel León-Pedroza, Luis Alonso González-Tapia, Esteban del Olmo-Gil, Diana Castellanos-Rodríguez, Galileo Escobedo y Antonio González-Chávez. Inflamación sistémica de grado bajo y su relación con el desarrollo de enfermedades metabólicas: de la evidencia molecular a la aplicación clínica. 2015;83(6):543-551.