



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
TÍTULO: PROBIÓTICOS COMO
ESTRATEGIA TERAPÉUTICA FRENTE A LA
ESTEATOSIS NO ALCOHÓLICA Y
ESTEATOHEPATITIS**

Autor: Raquel Almudena Robledo Ricote

Fecha: Junio 2019

Tutor: María Elvira López-Oliva Muñoz

ÍNDICE

1. Resumen /Abstract.....	3
2. Introducción y antecedentes	4
3. Objetivos	7
4. Material y métodos.....	7
5. Resultados y discusión	7
6. Conclusiones.....	20
7. Bibliografía	20

RESUMEN

La enfermedad de hígado graso (EHGNA) se caracteriza por el acúmulo de grasa en los hepatocitos pudiendo progresar a esteatohepatitis (EHNA), un grave proceso inflamatorio hepático que puede empeorar a fibrosis, necrosis, hepatocarcinoma. Actualmente se ha postulado que el origen de la EHGNA podría deberse a una situación de disbiosis (alteración de la microbiota) influenciada en gran medida por la dieta ingerida. La disbiosis produce una disfunción de la barrera intestinal y el aumento de permeabilidad en el epitelio colónico, facilitando el acceso de endotoxinas y metabolitos tóxicos procedentes de la microbiota que llegan desde el intestino por la vena porta hasta el hígado, a través del eje intestino-hígado. Una vez alcanzado el hígado se produce un aumento de respuesta inmunitaria y producción de citoquinas proinflamatorias agravando el proceso y desencadenando EHGNA y su progresión. Los probióticos tienen la capacidad de regular y mejorar la disbiosis observada en pacientes con EHGNA mejorando la disfunción de la barrera intestinal y evitando el paso de endotoxinas a nivel sistémico por lo que serían una buena estrategia terapéutica como se ha confirmado en pacientes que padecen EHGNA/EHNA.

ABSTRACT

Fatty liver disease (NASH) is characterized by the accumulation of fat in hepatocytes which can progress to steatohepatitis (NASH), a serious hepatic inflammatory process that can worsen fibrosis, necrosis, hepatocarcinoma. Currently it has been postulated that the origin of the NASH could be due to a situation of dysbiosis (alteration of the microbiota) influenced largely by the diet ingested. The dysbiosis produces a dysfunction of the intestinal barrier and the increase of permeability in the colonic epithelium, facilitating the access of endotoxins and toxic metabolites from the microbiota that come from the intestine through the portal vein to the liver, through the intestine-liver axis. Once reached the liver there is an increase in immune response and production of proinflammatory cytokines aggravating the process and triggering NASH and its progression. Probiotics have the ability to regulate and improve the dysbiosis observed in patients with NASH improving the dysfunction of the intestinal barrier and avoiding the passage of endotoxins at a systemic level so they would be a good therapeutic strategy as it has confirmed in patients suffering from NASH/NASH.

INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

La enfermedad hígado graso no alcohólico (EHGNA) o esteatosis hepática se define como el acúmulo de grasa en los hepatocitos en forma de triglicéridos, que cursa sin inflamación ni fibrosis y que ocurre sin un consumo de alcohol previo. Esta situación reversible puede evolucionar a lo que conocemos como esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), que se caracteriza por esteatosis con inflamación, con o sin fibrosis, estrés oxidativo y apoptosis. La EHNA puede agravarse y evolucionar a fibrosis, cirrosis, hepatocarcinoma hasta llegar a la necesidad de un trasplante hepático (1) (2) (3). Por ello es de vital importancia la realización de un diagnóstico precoz para modificar los factores de riesgo y evitar que la enfermedad progrese a un estado irreversible. La EHGNA es la acumulación de grasa ectópica en el hígado. Esta grasa proviene del desequilibrio entre la ingesta y el gasto de energía. Dicho exceso de energía se almacena en los depósitos del tejido adiposo en forma de triglicéridos. Esto conlleva a un acúmulo de energía en forma de grasa en órganos no responsables del almacenaje de ésta, como es el caso de los hepatocitos (5).

EPIDEMIOLOGÍA

La EHGNA es actualmente la hepatopatía con mayor prevalencia a nivel mundial ya que se estima que afecta a un cuarto de la población. Está aumentando a lo largo del tiempo a gran escala, afectando actualmente a un 20-30% de la población.

Se estima que será la indicación más frecuente de trasplante hepático como la etiología más habitual de carcinoma hepatocelular en los próximos años (1, 4). La tasa de prevalencia más alta la encontramos en personas que padecen obesidad (90%) o pacientes con diabetes tipo 2 (76%), patologías que forman parte del Síndrome Metabólico (1). Existen diferencias en relación a la etnia y al sexo; siendo más común en personas hispanas que en caucásicas y afroamericanas; así como más en varones que en mujeres (2) (5) (6).

ETIOLOGÍA.

La resistencia a la insulina (RI), la obesidad, diabetes Mellitus tipo 2, hipertensión y dislipemia (niveles altos de triglicéridos en sangre y bajos de HDL) se engloban en el denominado Síndrome Metabólico y son los principales factores de riesgo de la EHGNA (manifestación hepática de este Síndrome). Esta RI es la clave en el desarrollo de la esteatosis; da lugar a la secreción de citoquinas y adipocinas llevando a cabo una fuerte respuesta inflamatoria, por activación de las células de Kupffer, entre otras. Esta respuesta se ve potenciada en el hígado, existiendo un exceso de citoquinas pro- inflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) e interleucina 6 (IL- 6) por vía sistémica e intra hepática. Como resultado se produce un aumento de la lipólisis y liberación de ácidos grasos libres a la circulación desde donde los hepatocitos los captarán, desencadenando lipotoxicidad hepática (2) (7, 8).

La RI influye en el acúmulo de triglicéridos de dos maneras: en primer lugar, la insulina inhibe la actividad de lipasa sensible a las hormonas (HSL) presente en los adipocitos y encargada de hidrolizar los triglicéridos almacenados a ácidos grasos libres. Cuando nos encontramos en una situación de RI la inhibición de esta enzima está disminuida por lo que se produce un aumento de ácidos grasos libres en el hígado donde se esterifican a triglicéridos contribuyendo al desarrollo de esteatosis. En segundo lugar, la síntesis *de novo* de los lípidos en el hígado está aumentada debido a la hiperglucémica e hiperinsulinemia que se manifiesta en el síndrome metabólico (7) .

La dieta juega un papel importante en el desarrollo de esta patología, puesto que una alimentación rica en grasa y azúcares promueven el incremento de lípidos y el desarrollo de

obesidad, patología involucrada en el Síndrome Metabólico que guarda una relación directa con la esteatosis. (5)

La EHGNA al ser una enfermedad digestiva marcada inicialmente por un proceso inflamatorio, tiene una estrecha relación con el sistema inmune (SI) asociado a su vez en la disfunción de la barrera durante el tiempo que transcurre desde el aumento de la permeabilidad intestinal hasta el inicio de la enfermedad.

PATOGENESIS.

El hígado es un órgano indispensable para el metabolismo lipídico, puesto es capaz de captar el exceso de ácidos grasos de la circulación y oxidarlos mediante la beta-oxidación (FAO) o bien acumularlos en forma de triglicéridos. Si alguna de las vías que llevan a cabo la regulación y control de este proceso se ve alterada, daría lugar a un desequilibrio entre la captación y eliminación de lípidos (homeostasis lipídica) lo que daría lugar al acúmulo de grasa en los hepatocitos y posterior desarrollo de la NAFLD. Estas vías implicadas son cuatro: captación de lípidos circulantes, lipogénesis *de novo*, oxidación de ácidos grasos llevada a cabo en las mitocondrias y peroxisomas de los hepatocitos, y exportación de lípidos en lipoproteínas de muy baja densidad (secreción de VLDL) (1) (Figura 1).

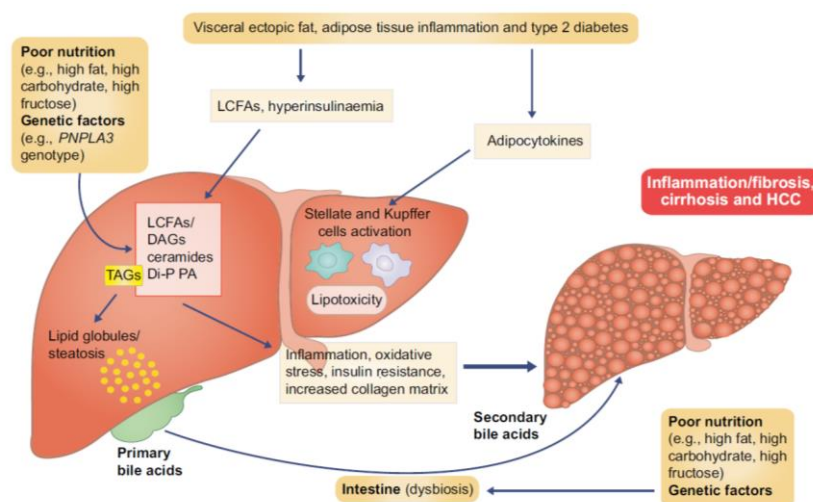


Figura 1. Patología de la EGNA y su progresión a EHNA (5)

La RI tiene una fuerte relación con el diacilglicerol (DAG). El nexo entre el aumento de DAG correlacionado a un aumento de RI se atribuye a la activación de la proteína quinasa Cε (PKCε) expresada en el hígado fundamentalmente. La activación de (PKCε) por el DAG supone la unión de esta proteína al dominio intracelular del receptor de insulina, lo que produce un aumento de la gluconeogénesis e inhibición de glucogenogénesis dando lugar a la RI (5).

En la lipogénesis *de novo* se lleva a cabo la síntesis de TG. El tejido adiposo produce la liberación de ácidos grasos libres que entran en el hepatocito donde serán esterificados y almacenados en forma de TG aumentando sus niveles. La enzima encargada de catalizar el último paso para la formación de TG es la diacilglicerol aciltransferasa 2 en el hígado, si esta enzima está silenciada se reduce el acúmulo de TG pero da lugar a lipotoxicidad por el exceso de AG libres (5). Esta grasa no es capaz de hidrolizarse toda mediante la β oxidación por encontrarse en tan altas cantidades y por ello se produce el acúmulo de grasa en macrovesículas dando lugar a lipotoxicidad lo que conlleva al desarrollo de esteatohepatitis,

viéndose aumentada tanto la producción de radicales libres de oxígeno (ROS) que producen estrés oxidativo como la inflamación. El progreso de esto provocará el desarrollo de EHGNA y posterior fibrosis, necrosis y hepatocarcinoma en el peor de los casos. Por otro lado el acúmulo de grasa se ve favorecido por la incapacidad del organismo de llevar a cabo la beta oxidación de toda la gran cantidad de ácidos grasos presentes en esta patología. Como se produce una acumulación citotóxica de AGL, los hepatocitos tienden a metabolizarlos incorporándolos a lípidos complejos y degradándolos mediante la β (degradación de ácidos grasos mediante reacciones de oxidación en el carbono β) para proporcionar el suministro de energía que éstos necesitan para el desarrollo de sus funciones sintéticas; pero al ser tan elevada la cantidad de grasa existente, esta reacción está disminuida por lo que los AG en lugar de ser degradados para digerirse serán acumulados participando en el desarrollo de la esteatosis. Existirá un elevado flujo de ácidos grasos que serán transformados en TG y empaquetados en VLDL (si la célula dispone de ApoB100 suficiente) siendo excretados por estas proteínas al torrente sanguíneo o bien acumulados en forma de vacuolas lipídicas (9). Durante la progresión de EHGNA a EHNA se produce un aumento en la secreción de citoquinas proinflamatorias, un aumento de la gluconeogénesis y por consiguiente la disminución de la glucogenogénesis y la inhibición de la vía de señalización hepática de la insulina. También si se ve alterada la dieta, se produce una pérdida en la microbiota intestinal que puede afectar a vías hepáticas, como la involucrada en el metabolismo del ácido biliar. Adicionalmente la lipogénesis incrementa la producción de intermediarios como el diacilglicerol (DAG), ácido di palmitol fosfato (Di-P PA) y otros productos lipídicos como ceramidas. Todo ello da lugar a la resistencia a la insulina e inflamación, incrementando así el riesgo del progreso patológico (5).

ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS

Las medidas higiénico dietéticas son la principal recomendación para el tratamiento de la esteatosis; se recomiendan cambios en el estilo de vida, modificando la dieta y realizando ejercicio físico para lograr la pérdida de peso y revertir así la EHGNA y la resistencia hepática a la insulina. Una pérdida del 10% de peso es aproximadamente la necesaria para mejorar la mayoría de las características histopatológicas de la enfermedad (7). Para ello debe seguir tanto una actividad física moderada como una dieta con restricción en la ingesta de calorías de 25-35 kcal/kg por día y una dieta baja en grasas y carbohidratos y la supresión del consumo de alcohol. El consumo de ácidos grasos mono y poliinsaturados, en concreto el ω 3 conlleva una disminución del contenido de grasa en el hígado y del nivel de citoquinas proinflamatorias (10).

No existe un tratamiento farmacológico estandarizado para esta enfermedad, pero podemos destacar los más utilizados (6, 10):

- a) Antidiabéticos: metformina, tiazolidinedionas, inhibidores de la DPP4, agonistas de GLP-1. De gran importancia por la fuerte situación fisiopatológica de resistencia a la insulina presente en esta patología. Aumentando la β oxidación hepática y reduciendo la síntesis de ácidos grasos se revierte la esteatosis.
- b) Antioxidantes: vitamina E, resveratrol. Disminuyen el estrés oxidativo que juega un papel importante en el desarrollo de la EHNA partiendo de la esteatosis.
- c) Ácidos biliares
- d) Ácidos grasos ω 3.

OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo es estudiar de los mecanismos fisiológicos, fisiopatológicos, bioquímicos, farmacológicos e inmunológicos, entre otros, que se desarrollan en la enfermedad de la esteatosis no alcohólica y su progresión a esteatohepatitis. El objetivo concreto es investigar nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento de la esteatosis, que están en auge en la actualidad, y en especial el uso de probióticos a través de su efecto indirecto sobre la microbiota intestinal resultando beneficiosos en esta patología.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una revisión bibliográfica usando como base de datos Web Of Science (WOS) (<https://login.webofknowledge.com>) y PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>). Para seleccionar las fuentes requeridas lo más actualizadas posibles se realizó la búsqueda seleccionando las publicaciones a partir de año 2013 y utilizando como palabras clave “Non alcoholic fatty liver disease (NAFLD)”, “Non alcoholic steatohepatitis (NASH)”, “probiotics”, “microbiote” “gut barrier integrity”, “intestinal permeability”. La bibliografía se realizó con el programa de gestión de citas bibliográficas EndNote siguiendo el estilo Vancouver en Microsoft Office TM Word 2017.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los últimos años se ha postulado que cambios en la microbiota intestinal pueden desencadenar alteraciones metabólicas como la diabetes, la obesidad o el síndrome metabólico. Hay una relación anatómica y funcional entre la microbiota y el hígado, el eje intestino-hígado, a través del cual se transfieren moléculas relacionadas con la microbiota que alcanzan el hígado a través del sistema circulación (Figura 2). Así, una disfunción en la integridad de la barrera intestinal, es decir, un desbalance entre la microbiota intestinal, la integridad de la mucosa colónica y el sistema inmune es un factor de riesgo en el desarrollo y progresión de hígado graso no alcohólico y la obesidad (11). Existen evidencias de la eficacia de las bacterias probióticas en ciertas patologías, y suficientes estudios experimentales en otras para justificar posibles mecanismos de acción que faciliten el desarrollo de microorganismos más efectivos, así como para definir los límites de su efectividad. En esta revisión estudiamos los efectos beneficiosos atribuidos a los probióticos en la EHGNA.

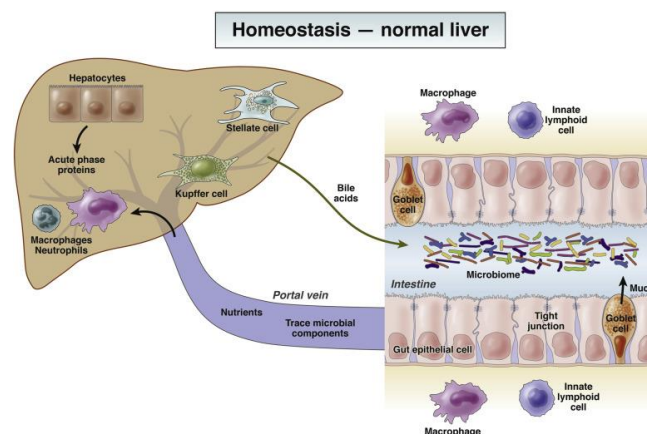


Figura 2: Eje intestino-hígado (12).

DISFUNCION DE LA INTEGRIDAD DE LA BARRERA INTESTINAL Y EHGNA.

BARRERA INTESTINAL

Es una barrera física formada por células epiteliales intestinales conectadas por uniones estrechas, la capa mucosa que recubre la superficie epitelial intestinal y el sistema de defensa antimicrobiano. Así, la barrera intestinal está formada por elementos celulares (enterocitos, células globosas, sistema inmune, microbiota etc...) y extracelulares (mucina, fibra,). Su integridad es muy importante actuando como defensa, impidiendo el paso de toxinas, productos microbianos y/o antígenos, mientras que sostiene un correcto desarrollo de la barrera epitelial y del sistema inmune, además de conseguir tolerancia a los antígenos de la dieta y la microbiota intestinal. Las células epiteliales rodean la parte superficial de la mucosa que compone el tracto gastrointestinal. El epitelio se caracteriza por establecer uniones intercelulares formando una barrera entre el medio externo e interno para impedir el paso de sustancias nocivas y evitar la permeabilidad celular. Los enterocitos son también responsables de la absorción de electrolitos y nutrientes y por ello se necesita una barrera selectiva semipermeable, impidiendo el paso de algunas sustancias y permitiendo el de otras. Además, la mucosa intestinal está adaptada para permitir la colonización de bacterias comensales implicadas en la inmunidad intestinal y procesos digestivos.

Función de los distintos elementos de la barrera intestinal:

- **Elementos celulares:** partiendo del exterior al interior de la barrera
 - Microbiota: influye en el mantenimiento, metabolismo y desarrollo de la barrera. La flora comensal evita la colonización de patógenos.
 - Monocapa de células epiteliales,
 - Enterocitos: forman la mayor parte de la monocapa. Función metabólica, digestiva, inmunitaria y mantenimiento de la integridad física de la barrera.
 - Células especializadas encargadas de secretar moco, defensinas, neuropéptidos y hormonas
 - Células especializadas en captar antígenos de la luz intestinal.
 - Lamina propia: se encuentran las células del sistema inmunitario del tracto gastrointestinal (linfocitos, leucocitos, macrófagos, células dendríticas, mastocitos, eosinófilos)
 - Tejido conectivo: adyacente al epitelio. Se encuentran los fibroblastos que secretan colágeno y metaloproteinasas favoreciendo la proliferación del epitelio intestinal por la producción del factor de crecimiento de hepatocitos y mantienen la función de la barrera intestinal (13).
- **Elementos extracelulares:**
 - Enzimas digestivas: eliminan microorganismos procedentes de la dieta destruyendo sus paredes celulares.
 - Capa de moco, agua y glicocálix: recubre el epitelio intestinal. Contiene péptidos antibacterianos; IgA secretora, productos antimicrobianos (fosfolípidos, mucinas, defensinas...) para evitar la adhesión de microorganismos.

La permeabilidad intestinal es la capacidad de penetración que posee la superficie de la mucosa. El paso sustancias (como nutrientes, absorción de agua e iones...) se realiza mediante dos transportes:

-Vía paracelular: la mayor parte del flujo transepitelial se realiza por esta vía, mediante espacios entre dos células epiteliales contiguas. Por transporte pasivo- Regulado por poros de diferentes tamaños de las uniones estrechas para limitar el paso de partículas.

-Vía transcelular: a través de la membrana del enterocito. Por transporte activo o pasivo difunden las diferentes sustancias según su naturaleza y tamaño. Bacterias, virus y otros patógenos entran al huésped por endocitosis o fagocitosis.

La permeabilidad a partículas depende de su tamaño, carga y naturaleza y está regulada por la interacción de proteínas de las uniones intercelulares, por el citoesqueleto de actina y procesos de señalización intracelular y endocitosis.

La interacción entre la microbiota, las células epiteliales, el sistema inmune y el sistema nervioso entérico tienen el control de la barrera. Las bacterias comensales, en un individuo que presenta condiciones saludables, promueven la activación apical de los PRRs favoreciendo la proliferación y supervivencia de células epiteliales. (13)

MICROBIOTA INTESTINAL

La microbiota intestinal se caracteriza por ser bacterias adaptadas a vivir en la luz del intestino o en la superficie de las mucosas y posee una gran diversidad y una dinámica a lo largo del intestino. Cada individuo posee una composición distinta de la flora intestinal e incluso dentro de un mismo individuo puede variar según la circunstancia. La microbiota es sumamente variada; está compuesta por un número muy abundante de microorganismos, aproximadamente 10^{13} - 10^{14} . El intestino grueso se caracteriza por tener un tránsito más lento, permitiendo la proliferación de un gran número de bacterias. Esto se debe en parte porque al permanecer más tiempo el contenido que llega del intestino delgado se favorece la proliferación de alimentos no digeridos o fibra y de las secreciones corporales que se producen en la digestión. Entre estos sustratos se encuentran los ácidos grasos de cadena corta. Por todo ello, es en este tramo donde se produce una mayor colonización, y se estima que contiene entre 10^{10} y 10^{11} /g bacterias por contenido fecal, unos 500 géneros de bacterias. Destacan los de la familia Bacteroides y Firmicutes que componen el 90% seguido, en menor medida, de los géneros Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria, Verrucomicrobia y Cyanobacteria. Normalmente los microbios comensales y su hospedador se benefician mutuamente (simbiosis) (14-16). Los 6 géneros de bacterias anaerobias estrictas que predominan son: Bacteroidetes, Eubacteria, Bifidobacteria, Clostridia, Peptostreptococci y Ruminococci y los géneros aerobios más representativo se trata de Escherichia, Enterococcus, Streptococcus y Klebsiella. Hay más de 100 especies diferentes siendo 50 de ellas comunes en el 90% de los individuos (16). Hay un grupo funcional de bacterias que incluyen a Lactobacillus, Bacteroides y Bifidobacterias, cuya función es la de protección; otro segundo grupo es inmunomodulador, al que pertenecen Enterococcus Faecalis y E. Coli apatógeno; un tercer grupo que se encarga de dar nutrientes al resto de bacterias, que incluiría Faecalibacterium y Akkermansia; y un cuarto grupo, formado por Clostridium, Pseudomonas, Proteus..., que se encarga de degradar a las proteínas de la alimentación.

Las funciones de la microbiota son esenciales para el mantenimiento de la homeostasia de distintos órganos y sistemas distales al intestino. Llevan a cabo la regulación del crecimiento microbiano, supresión de bacterias patógenas, defensa frente a productos bacterianos, competencia de nutrientes, producción de metabolitos, inmunomodulación y regulación de las barreras físicas (permeabilidad intestinal y función epitelial) y proceso inflamatorio. (4, 17,

18). La alteración cualitativa y cuantitativa de la microbiota intestinal recibe el nombre de disbiosis.

Existe una elevada relación entre la microbiota intestinal y sus productos derivados de la fermentación microbiana con el hígado, estableciéndose el eje intestino-hígado (Figura 2). Las alteraciones en la microbiota intestinal favorecen el desarrollo de DM2 y EHGNA, por ello actuar a este nivel sería un buen tratamiento terapéutico para tratar esta enfermedad (5).

INTERACCIÓN BARRERA COLÓNICA-MICROBIOTA-DIETA

La dieta juega un papel importante en la salud colónica puesto que influye directamente en la composición de la microbiota intestinal y puede alterar la integridad de la barrera del intestino, dando pie a la translocación de bacterias luminales y toxinas derivadas de bacterias en la sangre (4). Se ha encontrado una interacción dinámica entre la fibra dietética y el metabolismo de la microbiota. En situación de disbiosis, los carbohidratos ingeridos con la dieta serán fermentados a ácidos grasos de cadena corta los cuales pueden ser alterados produciendo incrementos de lipopolisacáridos (LPS) en la circulación portal de la salida de bacterias intestinales producida por un aumento en la permeabilidad intestinal (5). También una dieta rica en grasa y fructosa afecta a la composición de la microbiota. Si se altera la microbiota, disminuye la capa de moco colónico, incrementa la permeabilidad de la barrera mucosa del intestino y la susceptibilidad a los patógenos que atraviesan la barrera intestinal dando lugar a endotoxemia (por altos niveles de LPS) en sangre. Por otro lado, se ha observado que la ingesta en la dieta de fructanos (inulina) aumenta el contenido de bifidobacterias intestinales, y también ejerce un efecto protector contra la endotoxemia asociada a la obesidad, además de favorecer la disminución de peso corporal y provocar sensación de saciedad. De modo parecido, la suplementación de arabinosilano en la alimentación de ratones que previamente habían ingerido una dieta rica en grasa, restauraba el contenido de *Bacteroides-Prevotella* y *Roseburia*, a la vez que daba lugar al aumento del contenido en *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*. Por otro lado, se ha descrito que las dietas de adelgazamiento que están basadas en la reducción del consumo de carbohidratos pueden alterar de manera negativa la proporción de la microbiota colónica formadora de butirato y de *Bifidobacterias* que modifican a su vez la integridad de la barrera intestinal. (19).

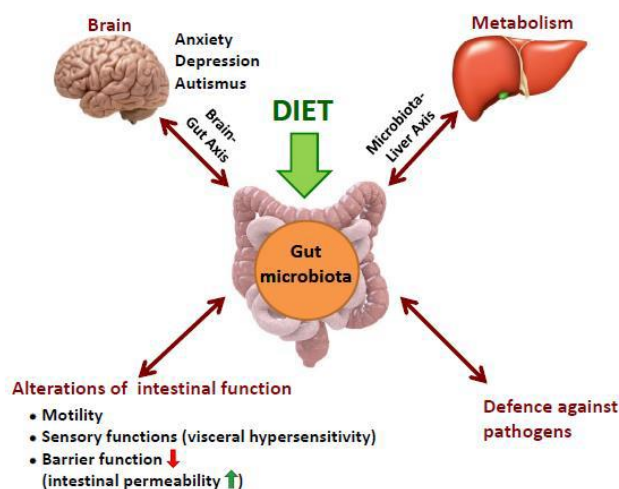


Figura 3. Interacción dieta- microbiota afecta a la función intestinal y a los ejes intestino-cerebro e intestino-hígado.

DISFUNCIÓN DE LA BARRERA INTESTINAL

Las alteraciones en la mucosa intestinal y la disbiosis pueden provocar translocaciones bacterianas e incremento en endotoxinas. Los cambios en la permeabilidad intestinal y el sobrecrecimiento bacteriano provocarían un paso de LPS bacterianos a través del eje mesentérico-portal hacia el hígado que podría extenderse por todo el organismo aumentando el estrés oxidativo e induciendo la liberación de citocinas proinflamatorias pudiendo ocasionar septicemia, shock o fallo multiorgánico. La alteración de la barrera epitelial puede dar lugar a una respuesta inmunitaria exagerada e inflamación, produciendo numerosas patologías crónicas, como fibrosis, cirrosis, carcinoma hepatocelular, alteraciones cardiovasculares y progresión de diabetes (20). En condiciones de salud, el aumento de permeabilidad no es suficiente para desarrollar una patología digestiva puesto que la barrera epitelial se reestablece cuando el estímulo desaparece. En condiciones patológicas, puede no darse esta capacidad de la barrera, produciéndose un aumento en la permeabilidad dando lugar a un proceso inflamatorio. Las uniones estrechas entre los enterocitos son responsables de la regulación de la permeabilidad de la barrera intestinal. Así, alteraciones en la integridad de las uniones estrechas promueven el desarrollo de diferentes procesos patológicos (13, 21). Las pruebas de permeabilidad intestinal tienen utilidad a la hora de evaluar la gravedad de la patología (21).

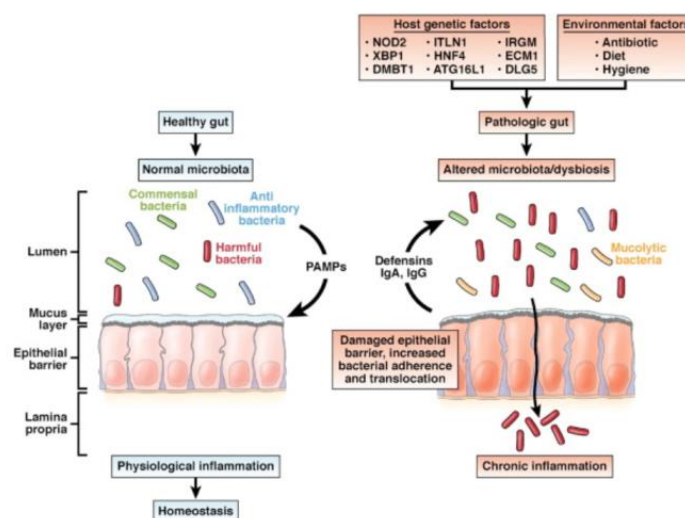


Figura 4: Alteración de la integridad de la barrera intestinal por disbiosis. <https://estudioholisticoantienvejecimiento.wordpress.com/tag/disbiosis/>

DISFUNCIÓN DE LA INTEGRIDAD DE LA BARRERA INTESTINAL Y EHGNA/EHNA

Recientemente se ha postulado que la disfunción de la barrera intestinal juega un papel importante en la regulación intrahepática, alterando las vías metabólicas e inflamatorias, que contribuyen al desarrollo y evolución de la EHGNA. Un aumento en la permeabilidad de la pared intestinal y posterior disrupción de la integridad de la barrera colónica llevan a la aparición de mediadores metabólicos y componentes bacterianos tóxicos derivados de la microbiota intestinal, que llegan al hígado favoreciendo la inflamación hepática y posterior

desarrollo de EHGNA. El hígado queda expuesto debido a que la mayor parte de la sangre le llega por vena porta desde el intestino.

Se ha demostrado que pacientes que sufren EHGNA también sufren disbiosis de la microbiota intestinal y desarrollan de respuestas inmunes pro-inflamatorias características de la patología. Como consecuencia de los cambios en la microbiota se produce una disfunción en la barrera intestinal con permeabilidad aumentada, y un aumento en la translocación de componentes y productos bacterianos hacia el hígado, promoviendo la progresión de la enfermedad hacia un nivel más grave, la EHNA (22, 23). Así, la gravedad de la enfermedad depende de la alteración de la microbiota en cuando a su abundancia, composición y disbiosis (16). Entre los productos bacterianos que incrementan su absorción intestinal se encuentran los ácidos grasos de cadena corta (butirato, propionato y acetato), lipopolisacáridos, los ácidos biliares alterados y endotoxinas (5).

Varios estudios demuestran la relación entre la disbiosis y la EHGNA. Saltzman y col. (2018) compararon la microbiota de sujetos sanos frente la de sujetos que padecían EHGNA y encontraron que las bacterias Gram negativas abundan en pacientes EHGNA, mientras que las Gram positivas están disminuidas. Comparados con los sujetos sanos, los pacientes con EHGNA presentan incrementos del 20% en la especie filo *Bacteroides* y descensos del 2% en Firmicutes (por ejemplo *Ruminococcaceae* y bacterias productoras de ácidos grasos de cadena corta) (16) (24). *Proteobacterias*, *Enterobacterias* y *Escherichia* están elevadas en pacientes con EHGNA. También, en las heces de estos pacientes se encontró en abundancia *Fecalibacterium*, *Anaerosporebacter*, *Parabacteroides* y *Allisonella* (15). En estados avanzados de la enfermedad, si la patología evoluciona a cirrosis, se produce una disminución de *Bacteroidetes* y *Firmicutes* y un aumento en *Streptococcus spp.* y *Veillonella spp.* (25). También, Wong y col. (2013) observaron cambios en la composición fecal de las *gamma proteobacterias* y *Erysipelotrichi* en pacientes con EHGNA (26) y Shen y col. (2018) demostraron que los altos niveles de TG hepáticos están asociados con el filo *Actinobacteria* (*Coriobacteriaceae*) en ratones (24). Según Bousier y col. una vez que la enfermedad progresa a EHNA, no se encontraron diferencias significativas en el nivel filo (16) (24). *Escherichia* junto con la familia de *Enterobacterias* son bacterias productoras de etanol y ambas se encuentran aumentadas en pacientes con EHGNA, contribuyendo a la aparición y progresión de la enfermedad (24). Se ha demostrado que el aumento de alcohol en sangre, altera las uniones estrechas intestinales provocando estrés oxidativo hepático así como la inflamación del hígado al comprometer la integridad de la barrera intestinal, afectando así mismo a la actividad inflamatoria, hepatotoxicidad y aumento en la permeabilidad de la barrera (15) (16) (27) (18).

El aumento de permeabilidad de la mucosa inducido por disbiosis produce una alteración de las uniones estrechas que conforman la barrera colónica y, como ya hemos indicado, permite la entrada por vena porta al hígado de productos bacterianos como el LPS. El LPS es una endotoxina de la pared celular de algunas bacterias Gram negativas, que al solubilizarse actúa como una toxina. Se libera de la bacteria estimulando varias respuestas de inmunidad innata, como la secreción de citocina, expresión de moléculas de adhesión en el endotelio y activación de la capacidad microbicida del macrófago. El aumento de LPS se asoció con la apoptosis de linfocitos. Además se demostró que la pérdida de linfocitos en la mucosa intestinal era consecuencia de la disbiosis epitelial intestinal y posterior liberación de endotoxinas. A su vez, el LPS está implicado en promover la respuesta inflamatoria que conduce al desarrollo de EHGNA y progresión a fibrosis (16) (27) (24) (18). La respuesta innata del sistema inmune que desencadena un proceso pro inflamatorio guarda una fuerte

relación en la progresión de EHGNA. Un incremento de citoquinas promueve un aumento en la permeabilidad de la barrera intestinal. Un conjunto de células NK, denominado Células Natural Killer T (NKT) sirven para regular la inmunidad hepática secretando citocinas Th1 y Th2. Un agotamiento de las células NKT supone una inflamación crónica desencadenando esteatosis hepática (13, 16). En el hígado se activan los TLR por interacción con los tóxicos dando lugar a una respuesta inflamatoria por la producción de citoquinas lo que conlleva el desarrollo de EHGNA y posterior progresión a EHNA (Figura 5). Además, uno de los factores que influyen en el desmontaje de las uniones estrechas (Tj) es la interacción de la microbiota con el hospedador. Se ha observado que el aumento de la permeabilidad intestinal en pacientes con EHGNA es causado por la alteración de las uniones estrechas intestinales entre las proteínas y células que conforman la barrera debido a la disminución de la expresión de una de las principales proteínas denominada zónula occludens-1 (Tj -ZO-1) (15).

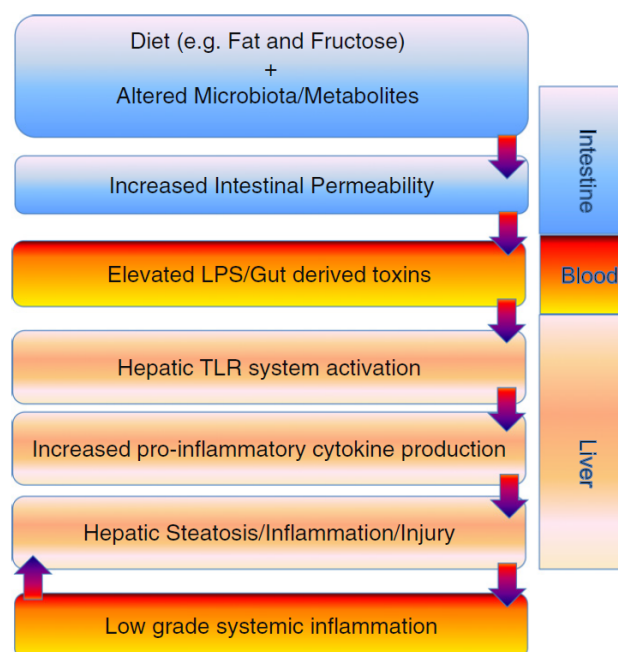


Figura 5: Absorción de LPS por aumento de la permeabilidad de la barrera intestinal y su unión con receptores TLR hepáticos induciendo EHGNA (15).

Los mecanismos por los cuales la disfunción de la integridad de la barrera intestinal puede inducir EHGNA son los siguientes:

- Disfunción en la barrera intestinal: es una barrera física implicada en impedir el paso de microorganismos intestinales al medio estéril que desencadenen una respuesta inmune que dé lugar a tolerancia.
- Inflamación: las bacterias y virus interactúan con receptores específicos como son los TLRs (toll like receptors) y NLRs (nod like receptors). Por esta interacción puede activarse el inflamosoma (multi complejos proteínicos citoplasmáticos) que disminuye la grasa hepática. La disbiosis altera la activación de receptores que da lugar a la producción de citoquinas inflamatorias (TNF α), defectos en el inflamosoma y aumento de la pérdida de integridad de la barrera intestinal.
- Metabolitos: productos sintetizados, degradados o regulados por la flora que afectan hepáticamente generando o empeorando la EHGNA.

- LPS: componente de la pared celular de bacterias gran (-). Favorece la inflamación y activación del sistema inmune. Produce inflamación, estrés oxidativo y daño hepático, progresando de esta manera la EHGNA.
- Ácidos grasos de cadena corta (AGCC): elevados en pacientes obesos. Intervienen en el mantenimiento del peso corporal, homeostasis intestinal y regulación del metabolismo de glucosa y lípidos. Algunos de estos ácidos productos del metabolismo de la microbiota son el ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico con efectos sobre el metabolismo energético, respuesta inmune y señalización entre la microbiota intestinal y el hospedador. Cambios en la microbiota supone un aumento de AGCC en el hígado, promoviendo la esteatosis por los siguientes motivos:
 - Acetato: su aumento en el hígado favorece la acumulación de triglicéridos ya que es sustrato para la síntesis de ácidos grasos.
 - Propionato: aumenta la gluconeogénesis en hígado.
 - Butirato: puede suponer un beneficio en cuanto a detener el progreso de EHGNA ya que activa la AMP quinasa (AMPK) en el hígado, acelerando la cohesión entre las proteínas de uniones estrechas en el epitelio del colon mejorando la disrupción de la barrera intestinal. Además suprime la respuesta inmune reduciendo de tal forma la inflamación hepática.
- Ácidos biliares: regulan la inflamación, homeostasis de la glucosa y el metabolismo lipídico. Interaccionan con el receptor nuclear farnesoide X (FXR) reduciendo la acumulación de grasa y mejorando el metabolismo del colesterol y la glucosa.
- Etanol: la disbiosis producida en la enfermedad da lugar a este metabolito muy toxico para el hígado tras metabolizarse a acetaldehído. Las principales especies responsables son *Escherichia coli* y *Enterobacteriaceae*. Promueve la inflamación, daños oxidativos y necrosis hepática por la formación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. A su vez, aumenta los niveles de acetato incrementando en hepatocitos la acumulación de TG de esta manera.
- Colina: es un nutriente esencial proporcionado mediante la dieta o síntesis endógena. La microbiota metaboliza los componentes ingeridos de la dieta, incluyendo la colina. Un déficit en colina vendrá determinado por la disbiosis; la síntesis y excreción de VLDL se verá comprometida, induciendo a un acúmulo de TG y desarrollo de esteatosis.
- Lipoproteína inhibidora de lipasa: el flujo de ácidos grasos libres puede verse aumentado hacia el hígado debido a la flora bacteriana que suprime la expresión intestinal de la lipoproteína inhibidora de lipasa provocando así un exacerbado acumulo de triglicéridos en el hígado (14, 20).

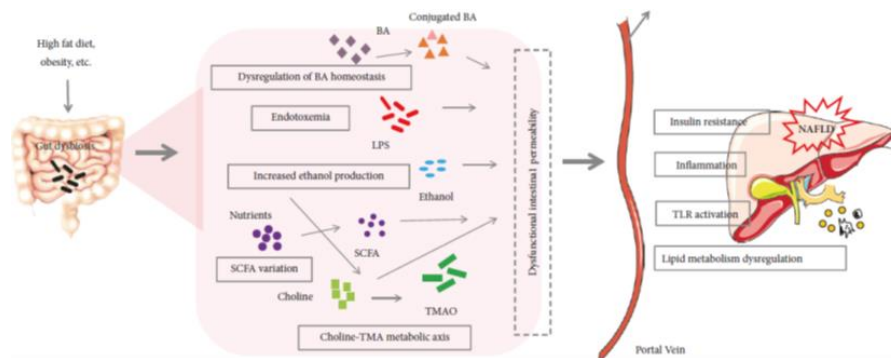


Figura 6: Disfunción de la integridad de la barrera intestinal. Permeabilidad de endotoxinas que puede inducir EHGNA (20)

PROBIOTICOS EN EL TRATAMIENTO DE EHGNA Y EHNA

PROBIÓTICOS

Se define como probióticos a microorganismos vivos o componentes celulares microbianos que cuando se administran en adecuadas cantidades, aportan un beneficio a la salud. Debemos señalar que prebiótico y probiótico no es lo mismo. Los prebióticos sin embargo son sustancias de la dieta (polisacáridos y oligosacáridos no almidón), ingredientes fermentados selectivamente. No son digeribles por el huésped e influyen positivamente sobre los microbios beneficiosos propios del organismo, dando lugar a cambios específicos en la composición y/o actividad de la microbiota gastrointestinal, causando un beneficio en la salud del individuo (11, 17). También existen tratamientos con preparaciones simbióticas que son combinaciones de pre- y probióticos (15).

Algunos ensayos han demostrado el uso de probióticos solos o combinados con prebióticos para el tratamiento de EHGNA/EHNA aportando resultados beneficiosos y mejorando la disbiosis presente en dichas patologías. La manipulación de la microbiota intestinal mediante probióticos supone una estrategia terapéutica interesante pues logra reducir la inflamación intestinal y un buen ajuste de la microbiota en el organismo así como la proliferación de flora beneficiosa como *Parabacteroides*, *Prevotella* y *Oscillibacter*. Además, los probióticos inducen el crecimiento y actividad de otros microorganismos que contribuyen al bienestar del individuo (24). También, el tratamiento con probióticos es beneficioso por su implicación en la diferenciación de células T y la producción de metabolitos antiinflamatorios como ácidos grasos de cadena corta o butirato, necesarios para almacenar y aprovechar la energía eficazmente en tejidos periféricos que la requieran (4) (14) (16) (24).

Los probióticos deben administrarse en las cantidades adecuadas y con una posología determinada según diagnóstico. Así, se debe tener en cuenta a la edad del paciente. Por ejemplo, en bebés los probióticos pueden aislarse de las deposiciones infantiles o leche materna. De la misma manera, las cepas adaptadas para adultos y ancianos deben ser aisladas de personas sanas en las edades correspondientes (24).

Los géneros de bacterias más utilizados en probióticos son Bifidobacteria y Lactobacillus. También se usan preparados compuestos por una combinación de especies bacterianas como es el caso de VSL#3 (8 especies diferentes: *B. breve*, *B. longum*, *B. infantis*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. bulgaricus* y *S. thermophiles*) que suponen una mejora en los parámetros bioquímicos hepáticos como veremos a continuación (15) (14).

La tecnología farmacéutica está desarrollando el diseño de sistemas de liberación modificada que permitan la llegada del probiótico al lugar específico de acción deseado en el tubo digestivo y en las cantidades requeridas. Se ha confirmado la opción de utilizar cepas recombinantes mediante vectores plásmidos para promover la expresión de productos microbianos con funciones antiinflamatorias y bactericidas (28). Hay que tener en cuenta que para fabricar un probiótico no solo es importante modular la composición de la microbiota intestinal, sino también su actividad metabólica con el fin de prevenir terapéuticamente las enfermedades inducidas por disbiosis como la EHGNA (14).

MECANISMO DE ACCIÓN

Los probióticos cambian cuantitativa y/o cualitativamente la composición de la microbiota. Estos cambios permiten reducir la permeabilidad de la barrera intestinal aumentando la resistencia de las uniones estrechas, modificando la organización del citoesqueleto y producción de citoquinas (20). Por ello, disminuyen la tasa de infecciones ya que mejoran la función de la barrera intestinal, inducen la secreción de moco e inmunoglobulina A, disminuyen la síntesis de citoquinas inflamatorias, mejoran la motilidad intestinal y previenen la colonización intestinal por parte de bacterias patógenas. Además, aumentan la producción de ácidos grasos de cadena corta que pueden ser usados como sustratos energéticos para células intestinales y promover efectos beneficiosos similares al de los probióticos (24). Por lo tanto, sus acciones regulan la función epitelial modulando la integridad de la barrera intestinal dando lugar a efectos anti-inflamatorios y bacteridas (Figura 7).

La *acción antiinflamatoria* se manifiesta por su capacidad de modular la respuesta inmunitaria en el tubo digestivo induciendo linfocitos T reguladores, manteniendo la homeostasis en las superficies mucosas mediante la síntesis de TGF β e IL-10, proliferación y activación de linfocitos T efectoras e inhibiendo la presentación antigénica. Este efecto se lleva a cabo mediante la restauración de la arquitectura y funcionalidad de las uniones intercelulares estrechas y mediante la inhibición de la apoptosis de las células epiteliales intestinales (CEIs) inducida por citoquinas pro inflamatorias, reforzando de esta manera la función de la barrera epitelial y estimulando la síntesis (por parte de CEIs) de moléculas de defensa así como su acción inmunológica. Se ha demostrado que probióticos como *E. coli Nissle 1917*, el preparado VSL#3, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus GG* inducen el incremento en la expresión y la restauración de proteínas que constituyen las uniones intercelulares estrechas en modelos experimentales. Además, los probióticos activan mecanismos celulares antiinflamatorios a través de la inhibición la síntesis de quimioquinas y citoquinas proinflamatorias por parte de las CEIs inhibiendo la activación del factor transcripcional nuclear kappa B (NF κ B), clave en la cascada de reacciones inflamatorias y por estimulación del receptor activado por proliferadores de peroxisomas gamma (PPAR γ) endógeno. Esta inhibición da lugar a incrementos en la síntesis de IL-10 y modulación de la permeabilidad intestinal (28).

La *acción bactericida* se produce a través de tres mecanismos:

- 1º- Síntesis de sustancias antibacterianas (bacteriocinas), como las encontradas en el *Lactobacillus* y *Lactococcus* y también en *E. coli Nissle 1917* y VSL#3 con capacidad de inhibir la formación de la pared bacteriana y de formar poros en la misma.
- 2º- Inhibiendo la adhesión de bacterias a las células epiteliales intestinales.
- 3º- Bloqueando la formación de toxinas(28).

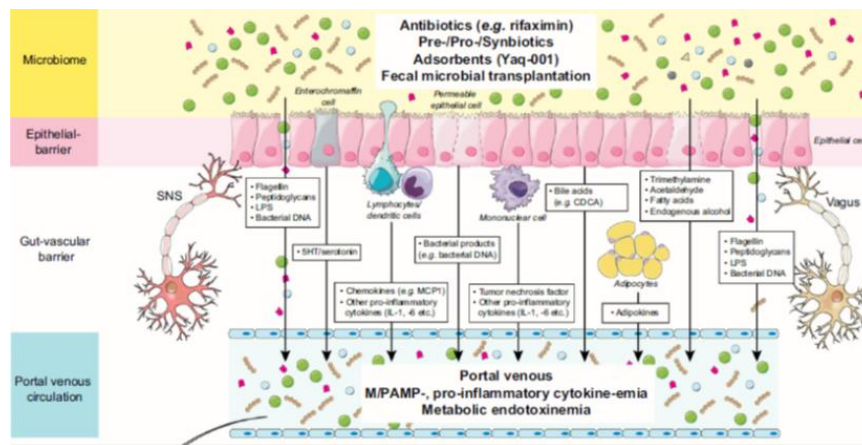


Figura 7. Efecto de los probióticos sobre la integridad de la pared intestinal (25).

Aunque existen ensayos preliminares bien documentados realizados en humanos y animales de experimentación, aún no está demostrado fehacientemente que los probióticos sean eficaces para mejorar la salud y ser utilizados como fármacos de primera línea para cura la EHGNA. Aunque algunos estudios indican una posible aplicación de los probióticos como adyuvantes en el tratamiento de EHGNA. Por ello, el potencial terapéutico de los probióticos en esta patología deberá ser probado en futuros estudios más amplios (26). A continuación se describen y comentan los resultados de los estudios que demuestran la acción de los probióticos en el tratamiento de EHGNA/EHNA.

ESTUDIOS EN HUMANOS

En la literatura hay pocos estudios meta-análisis realizados en humanos que demuestren que el uso de probióticos frente a placebo y mejoren los parámetros metabólicos e inflamatorios de EHGNA (14).

Recientemente Gao y col. (30) han publicado un metaanálisis que aglutina un total de 9 ensayos clínicos de alta calidad (7 adultos y 2 niños) que valoran la eficacia frente a placebo de diferentes probióticos, tanto en población adulta como pediátrica. Se reclutaron un total de 535 pacientes con EHGNA (64 niños). En este estudio, a pesar de que los probióticos no reducen los niveles de glucosa en sangre, la insulinemia o el índice de masa corporal (IMC) en pacientes con EHGNA/EHNA tratados, si fueron eficaces disminuyendo los niveles de aminotransferasas hepáticas, la síntesis *de novo* de ácidos grasos, los niveles de triglicéridos, el colesterol total, el factor TNF- α , la endotoxemia metabólica y también mejoraron la resistencia a la insulina (15). En este estudio también hacen referencia al papel de probióticos concretos, ya que existe cierta evidencia sobre de que la combinación de *Lactobacillus acidophilus* PXN 35, *Lactobacillus casei* PXN 37, *Lactobacillus rhamnosus* GG PXN 54, *Lactobacillus bulgaricus* PXN 39, *Bifidobacterium breve* PXN 25, *Bifidobacterium longum* PXN 30, *Streptococcus thermophilus* PXN 66y *fructooligosacáridos* a dosis de al menos 107 UFC y administrado 2 veces al día sería un tratamiento eficaz frente al EHNA.

Además, otros estudios han demostrado que los probióticos son capaces de reducir las enzimas aminotransferasas. El tratamiento de probióticos conteniendo especies como *Lactobacillus rhamnosus* cepa GG en niños y *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus Thermophilus* en adultos reduce los niveles de aminotransferasas hepáticas (AST y ALT) y gamma glutamil transferasa (15) (25). Se ha demostrado que una fórmula de probióticos que contenía *L. plantarum*, *Lactobacillus deslbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium Bifidum*. redujo el acumulo de grasa hepática y en los niveles de aspartato aminotransferasa sérica (AST) en pacientes con EHGNA (15) (26). También VSL#3 redujo

los niveles de transaminasas en suero y mejoró algunos parámetros de la función hepática en pacientes con diferentes tipos de enfermedades crónicas hepáticas (27) (29).

Otro estudio demuestra el efecto de una fórmula probiótica que contenía: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium bifidum* en pacientes con EHGNA. Los autores demostraron que en el grupo tratado con probióticos disminuyó el contenido de triglicéridos intrahepáticos y los niveles de aspartato aminotransferasa en suero (Figura 8). Sin embargo, estos efectos beneficiosos no se asociaron con cambios en el IMC, circunferencia de la cintura y niveles de lípidos y glucosa. (26)

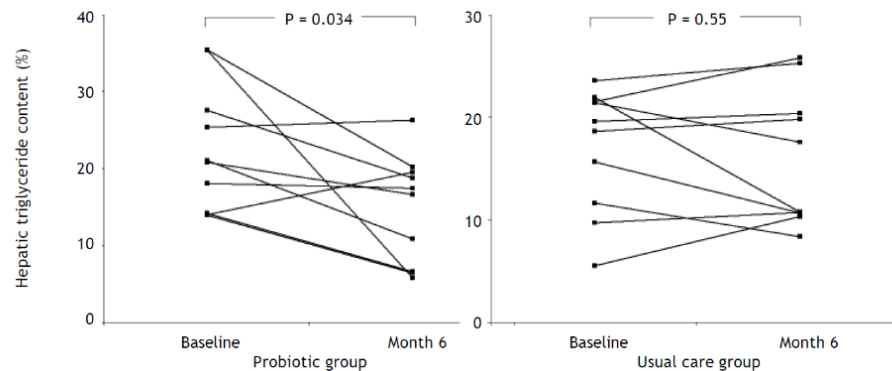


Figura 8. Efecto de los probióticos sobre los niveles de triglicéridos en pacientes EHGNA (26)

También, en humanos, el tratamiento con VSL#3 supuso una mejora en los niveles de malondialdehído en plasma, 4 hidroxinonenal y S-nitrosotioliol (25) (26). Estos efectos parecen ser mediados por disminución de la actividad de la quinasa Jun N terminal y el $\text{NF}\kappa\beta$, incrementan el número de células NKT en el hígado, evitando la progresión a fibrosis hepática mediante cambios en la expresión del factor de crecimiento β (25) (26) (29).

Por otra parte, el cambio en el estilo de vida unido a la ingesta probióticos puede mejorar la EHGNA. En el ensayo de Kirpich y col. (15) se demostró que tras 24 semanas siguiendo unos cambios en el estilo de vida (ejercicio físico y correcta alimentación) y un tratamiento con *B. longum* y suplementos de fructo-oligosacáridos se produjo una reducción significativa de los niveles de AST sérica y $\text{TNF-}\alpha$, endotoxinas y esteatosis en comparación con el grupo en el que únicamente se modificó el estilo de vida (15). El estudio Eslamparast y col. (31), confirmó efectos positivos con disminución en la inflamación hepática en pacientes con EHGNA tras ensayar durante 28 semanas una preparación simbiótica de 7 cepas bacterianas (*L. casei*, *L. rhamnosus*, *S. thermophilus*, *B. breve*, *L. acidophilus*, *B. longum*, y *L. bulgaricus*) en combinación con probióticos fructooligosacáridos y la modificación del estilo de vida. Se demostró que los efectos fueron superiores a los pacientes que únicamente modificaron el estilo de vida sin administración de probióticos (15) (27).

ESTUDIOS EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Algunos estudios en modelos animales demuestran la eficacia de los probióticos en el tratamiento de EHGNA, entre ellos destacamos los siguientes:

El probiótico más ensayado en modelos murinos es el VSL#3 que puede prevenir el desarrollo de EHNA a cirrosis o fibrosis. Su administración disminuye la translocación bacteriana intestinal y el grado de endotoxemia, mejorando la disfunción hemodinámica (28).

A su vez, este preparado mejoró la EHGNA inducida por dietas altas en grasas y disminuyó la RI por modulación de las células T asesinas naturales hepáticas (NKT) y la supresión de la vía de señalización TNF- α /IKK- β . También, aumentó la sensibilidad a la insulina, disminuyó los niveles séricos de alanina aminotransferasa (ALT) y la inflamación hepática (14, 15).

La restauración de los niveles de *Bifidobacteria* y *Akkermansia muciniphila* en ratones que siguieron una dieta alta en grasa con suplementos dietéticos de probióticos y oligofructosa indujo una disminución de la endotoxemia metabólica, características del síndrome metabólico y el acumulo de grasa hepática. Estos resultados se vieron favorecidos por un aumento en la producción del péptido de glucagón endógeno-2 (GLP-2) que disminuyó la permeabilidad de la barrera intestinal, estimuló la beta-oxidación de ácidos grasos activando el receptor proliferador α (PPAR- α), redujo los niveles de colesterol en plasma e incrementó los niveles de endocannabinoides intestinales encargados de regular la inflamación y la integridad de la barrera intestinal (15). Una disminución de *Firmicutes* y aumento de *Bacteroides* supuso una mejora de la cantidad de TG hepáticos (14).

Otros estudios demostraron los efectos beneficiosos de diferentes cepas de *Lactobacillus* en el tratamiento de ratones con EHGNA. Tras 8 semanas de administración oral de *Lactobacillus rhamnosus* PL60 se observaron efectos anti obesidad y mejora de la EHGNA en ratones alimentados con dieta que inducía obesidad. La administración de *L. acidophilus* y *L. casei* durante 8 semanas confirmó los efectos antioxidantes tanto en hígado como en tejidos pancreáticos de ratones alimentados con una dieta alta en fructosa (15). El estudio realizado por Sheng y col. (2018) afirmó que al alimentar a un ratón con una dieta alta en grasa provocó un aumento en la acumulación de lípidos hepáticos e infiltración de células inflamatorias asociadas a un incremento de *Lactobacillus acidophilus*. Muchas cepas bacterianas, incluyendo la nombrada son resistentes a los ácidos biliares. El tratamiento con estas cepas tiene un efecto positivo, disminuyendo los ácidos biliares y el metabolismo lipídico contribuyendo a la mejora de la enfermedad (24). Otro estudio en ratones alimentados con dietas altas en colesterol, *L. plantarum* MA2 redujo los niveles de colesterol y TG tras 5 semanas de administración (15). *Lactobacillus paracasei* F19 restauró la microbiota intestinal llegando a atenuar el daño ocasionado en el hígado por isquemia y dieta deficiente de metionina/colina consiguiendo reducir la inflamación y esteatosis (15). Comparando dos cepas, *Bifidobacterium longum* tuvo más efectos positivos que *Lactobacillus acidophilus* en el tratamiento de EHGNA en cuando a la modulación de la microbiota (25).

El estudio de Endo y col. (2013) confirmó que la cepa *Clostridium buricum*, MIYAIRI 588, probiótico que produce butirato, previene la progresión de EHGNA inducido por deficiencia de colina/L-aminoácido (CDAA) y el desarrollo de tumores en ratas. También disminuyó el depósito de lípidos hepáticos e igualó los niveles de proteína TJ intestinal (ZO-1 ocludin) a los niveles del grupo control. Se produjo una activación de las proteínas encargadas de la lipogénesis y lipólisis. También se vio incrementada la función antioxidante de enzimas que eliminaron el estrés oxidativo (15).

Otros modelos de animales de obesidad e hígado graso demostraron la acción de los probióticos reduciendo en la expresión de citoquinas proinflamatorias y modulando de la actividad de las células NKT(26).

Por último, también estudios *in vitro* y en animales de experimentación han confirmado la eficacia de los probióticos como protectores hepáticos al disminuir la síntesis de sustancias

carcinogénicas por parte de las bacterias intestinales, así como la desconjugación de ácidos biliares y aumentan la actividad enzimática antioxidante (27).

CONCLUSIÓN

En este trabajo se ha conseguido integrar las competencias transversales adquiridas en el grado de Farmacia, sintetizando todos los conocimientos estudiados durante la carrera. Además se ha cumplido el objetivo propuesto profundizando en los mecanismos anatómicos y fisiológicos del hígado y del intestino, así como, los mecanismos fisiopatológicos y farmacológicos de la esteatosis y esteatohepatitis no alcohólica y la acción de los probióticos como un posible estrategia terapéutica.

De los resultados concluimos que el uso de probióticos en el tratamiento de EGHNA es una buena estrategia terapéutica adyuvante ya que, como confirman los estudios en pacientes y animales de experimentación, mejoran los parámetros metabólicos induciendo una mayor sensibilidad a la insulina y mejorando el perfil lipídico, lo que permite disminuir el aporte de grasa al hígado y mejorar la esteatosis. Además, los probióticos reducen la inflamación y la actividad de las aminotransferasas, mejorando la beta-oxidación hepática, contribuyendo a mejorar la enfermedad. Estos efectos se producen por cambios en la microbiota regulando la flora intestinal comensal y disbiosis y como consecuencia mejorando la integridad de la barrera intestinal con disminución de la permeabilidad de endotoxinas, dando lugar a efectos anti-inflamatorios y bactericidas que se manifiestan en el eje intestino-hígado, siendo un tratamiento eficaz para la EHGNA y su progresión a EHNA.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ipsen D, Lykkesfeldt J, Tveden-Nyborg P. Molecular mechanisms of hepatic lipid accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2018;75(18):3313-27.
2. Castros L, Silva G. NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE. *Revista Medicina Clínica Condes*. 2015;Departamento de Gastroenterología, Clínica Las Condes:600.
3. Garcimartin A, Lopez-Oliva M, Santos-Lopez J, Garcia-Fernandez R, Macho-Gonzalez A, Bastida S, et al. Silicon Alleviates Nonalcoholic Steatohepatitis by Reducing Apoptosis in Aged Wistar Rats Fed a High-Saturated Fat, High-Cholesterol Diet. *Journal of Nutrition*. 2017;147(6):1104-12.
4. Moctezuma-Velazquez C. Current treatment for non-alcoholic fatty liver disease. *Revista De Gastroenterologia De Mexico*. 2018;83(2):125-33.
5. Byrne CD. NAFLD: A multisystem disease.
6. Albhaisi S, Sanyal A. Recent advances in understanding and managing non-alcoholic fatty liver disease. *F1000Res*. 2018;7.
7. van Welzen B, Mudrikova T, El Idrissi A, Hoepelman A, Arends J. A Review of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in HIV-Infected Patients: The Next Big Thing? *Infectious Diseases and Therapy*. 2019;8(1):33-50.
8. Sookoian S, Pirola CJ. Review article: shared disease mechanisms between non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome - translating knowledge from systems biology to the bedside. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2019;49(5):516-27.
9. Buque X, Aspichueta P, Ochoa B. Molecular basis of obesity-related hepatic steatosis. *Revista Espanola De Enfermedades Digestivas*. 2008;100(9):565-78.
10. Lanuza F, Sapunar J, Hofmann E. Management of non-alcoholic fatty liver disease. *Revista Medica De Chile*. 2018;146(8):894-901.
11. Alfonso BM. Probióticos, prebióticos y simbióticos. Definición, funciones y aplicación clínica en pediatría. *Revista Pediatría de Atención Primaria*. 2006;Vol. VIII:20.
12. Szabo G. Gut-Liver Axis in Alcoholic Liver Disease. *Gastroenterology*. 2015;148(1):30-6.

13. Salvo-Romero E. Función barrera intestinal y su implicación en enfermedades digestivas. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. 2015;Vol 107:686-96.
14. Arnedo M G, Poniachik C R, Jiménez H A, Poniachik T J. Microbiota e hígado graso: potencial terapéutico. *Patología Hepática*. 2016;Vol 27:S 47-S 50.
15. Kirpich IA, Marsano LS, McClain CJ. Gut-liver axis, nutrition, and non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Biochem*. 2015;48(13-14):923-30.
16. Saltzman E, Palacios T, Thomsen M, Vitetta L. Intestinal Microbiome Shifts, Dysbiosis, Inflammation, and Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9.
17. Guadarrama-Ortíz P, Flores-Vázquez JC, Carnalla-Cortés M, Choreño-Parra JA. Probióticos ¿coadyuvantes en el tratamiento médico? *Medicina interna de México*. 2018;34(4):574-81.
18. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis E. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism-Clinical and Experimental*. 2016;65(8):1038-48.
19. Rodriguez J, Sobrino O, Marcos A, Collado M, Perez-Martinez G, Martinez-Cuesta M, et al. IS THERE A RELATIONSHIP BETWEEN GUT MICROBIOTA, PROBIOTICS AND BODY WEIGHT MODULATION? *Nutricion Hospitalaria*. 2013;28:3-12.
20. Aragonés G, Gonzalez-Garcia S, Aguilar C, Richart C, Auguet T. Gut Microbiota-Derived Mediators as Potential Markers in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Biomed Research International*. 2019.
21. Teixeira T, Moreira A, Souza N, Frias R, Peluzio M. Intestinal permeability measurements: general aspects and possible pitfalls. *Nutricion Hospitalaria*. 2014;29(2):269-81.
22. Sawada Y, Kawaratani H, Kubo T, Fujinaga Y, Furukawa M, Saikawa S, et al. Combining probiotics and an angiotensin-II type 1 receptor blocker has beneficial effects on hepatic fibrogenesis in a rat model of non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatology Research*. 2019;49(3):284-95.
23. Soderborg T, Friedman J. Imbalance in gut microbes from babies born to obese mothers increases gut permeability and myeloid cell adaptations that provoke obesity and NAFLD. *Microbial Cell*. 2019;6(1):102-4.
24. Shen T, Pylsopoulos N, Rustgi V. Microbiota and the liver. *Liver Transplantation*. 2018;24(4):539-50.
25. Milosevic I, Vujovic A, Barac A, Djelic M, Korac M, Radovanovic Spurnic A, et al. Gut-Liver Axis, Gut Microbiota, and Its Modulation in the Management of Liver Diseases: A Review of the Literature. *Int J Mol Sci*. 2019;20(2).
26. Wong VW, Won GL, Chim AM, Chu WC, Yeung DK, Li KC, et al. Treatment of nonalcoholic steatohepatitis with probiotics. A proof-of-concept study. *Ann Hepatol*. 2013;12(2):256-62.
27. Brandi G, De Lorenzo S, Candela M, Pantaleo M, Bellentani S, Tovoli F, et al. Microbiota, NASH, HCC and the potential role of probiotics. *Carcinogenesis*. 2017;38(3):231-40.
28. M. R, L. M. Probióticos: nuevas líneas de investigación y aplicaciones terapéuticas en patología digestiva. *Nutr Hosp* [Internet]. 2013;28:46-8.
29. Wiest R, Albillos A, Trauner M, Bajaj JS, Jalan R. Targeting the gut-liver axis in liver disease. *J Hepatol*. 2017;67(5):1084-103.
30. Gao X, Zhu Y, Wen Y, Liu G, Wan C. Efficacy of probiotics in non-alcoholic fatty liver disease in adult and children: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Hepatol Res*. 2016;46(12):1226-33
31. Eslamparast T, Poustchi H, Zamani F, Sharafkhah M, Malekzadeh R, Hekmatdoost A. Synbiotic supplementation in nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Am J Clin Nutr*. 2014;99(3):535-42.