

NASH

NUEVOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE NASH *pág. 217*

Puntos clave

La NASH se considera la manifestación hepática del síndrome metabólico, término que incluye obesidad, resistencia a la insulina, dislipemia e hipertensión.

La acumulación de ácidos grasos en el hígado se debe tanto a una llegada excesiva de éstos desde el tejido adiposo visceral, como a una disregulación entre la síntesis de novo de lípidos y su catabolismo en los hepatocitos.

La resistencia a la insulina, debida a la inflamación crónica asociada a la obesidad, es la alteración metabólica más común asociada a la patogénesis de la esteatosis hepática.

El modelo llamado "dos estímulos" sugiere que la condición "benigna" de esteatosis hepática (primer estímulo) aumenta la sensibilidad del hígado ante la llegada del segundo estímulo (estrés oxidativo, disfunción mitocondrial, lipoperoxidación y síntesis de citocinas) que induciría inflamación (NASH), muerte celular y fibrosis.

Avances en la fisiopatología de la NASH

MARTA VARELA-REY, NURIA MARTÍNEZ-LÓPEZ Y MARÍA LUZ MARTÍNEZ-CHANTAR

Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (Ciberehd)-CICbioGUNE. Parque Tecnológico de Bizkaia. Derio, Bizkaia. España.

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA o NAFLD) es una de las causas más frecuentes de daño hepático en los países desarrollados, con una prevalencia del 13 al 15% en la población¹. La NAFLD incluye un espectro de alteraciones que van desde la acumulación de triglicéridos en los hepatocitos o esteatosis (cuando la grasa hepática excede el 5-10% del peso del hígado) hasta la esteatosis hepática con inflamación (esteatohepatitis, EHNA o NASH). Mientras que la esteatosis es una lesión estable que sólo evoluciona hacia estadios más graves en el 3% de los casos, la NASH evoluciona a cirrosis en el 15 al 25% de los casos e incluso a un hepatocarcinoma celular. Se calcula que el riesgo a 10 años de desarrollo de hepatocarcinoma en una cirrosis debida a NASH es de alrededor del 10%².

Síndrome metabólico y esteatosis

Hoy en día, existen muchos estudios dirigidos a entender los mecanismos implicados en el desarrollo NAFLD y su progresión hacia NASH. La NASH se considera la manifestación hepática del síndrome metabólico. El síndrome metabólico incluye a un conjunto de características clínicas relacionadas entre sí, como la obesidad, la resistencia a insulina (RI), la dislipemia y la hipertensión. De hecho, el 90% de los pacientes con NAFLD tiene al menos una característica del síndrome metabólico y alrededor del 33% posee el diagnóstico completo³⁻⁵.

La RI es la alteración metabólica más común asociada con la patogénesis de la esteatosis hepática⁵. La insulina induce la fosforilación en el residuo de tirosina de su receptor y de las proteínas IRS-1 y -2 (*insulin receptor substrate*), controlando el metabolismo de glúcidos y

lípidos en tejidos como el músculo esquelético, el tejido adiposo y el hígado. La RI se define como una disminución en la capacidad celular de responder a la acción de la insulina^{6,7} y se debe principalmente a: *a)* deficiencias en la fosforilación en tirosina de las proteínas IRS; *b)* su desfosforilación acelerada, o *c)* una fosforilación inhibitoria en sus residuos de serina⁸.

En el tejido adiposo, la RI produce un aumento de la actividad de la lipasa sensible a hormonas (LSH), aumentando la lipólisis y la liberación de ácidos grasos libres (AGL) a la sangre. En el músculo esquelético, la RI, genera una disminución en la absorción de glucosa (fig. 1). Por otro lado, la RI hepática reduce tanto el efecto inhibitorio de la insulina en la producción de glucosa hepática (gluconeogénesis), como el efecto activador de la insulina sobre la síntesis de glucógeno (glucogenosíntesis).

En conjunto, se produce un aumento de los valores de glucosa circulantes que activan la secreción de más insulina. Finalmente, estos estadios de hiperglucemia e hiperinsulinemia inducen, en el hepatocito, la activación de factores de transcripción que conducen a un aumento en la glucólisis y de la síntesis de lípidos (lipogénesis)⁹. En concreto, los valores altos de glucosa activan el factor de transcripción ChREBP (*carbohydrate response element-binding protein*), que activa la transcripción de la enzima limitante en la glucólisis L-piruvato quinasa (L-PK). La insulina aumenta la actividad del factor de transcripción SREBP (*sterol regulatory element-binding protein*) que, junto con ChREBP, aumenta la transcripción las enzimas implicadas en la lipogénesis ACC (acetil-CoA carboxilasa) y SAG (sintasa de ácidos grasos)^{10,11}.

En condiciones normales, los AGL que llegan al hígado se metabolizan mediante dos rutas, una de oxidación, generalmente mitocondrial que genera ATP, y otra de esterificación, para producir triglicéridos que serán incorporados

Lectura rápida



La enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA o NAFLD) es una de las causas más frecuentes de daño hepático en los países desarrollados.

La EHGNA incluye un espectro de alteraciones que van desde la simple acumulación de triglicéridos en los hepatocitos (esteatosis) hasta la esteatosis hepática con inflamación (esteatohepatitis o NASH).

La NASH se considera la manifestación hepática del síndrome metabólico (obesidad, resistencia a la insulina, dislipidemia e hipertensión).

La resistencia a la insulina se define como una disminución en la capacidad celular de responder a la acción de la insulina y es la alteración metabólica más común asociada a la patogénesis de la esteatosis hepática.

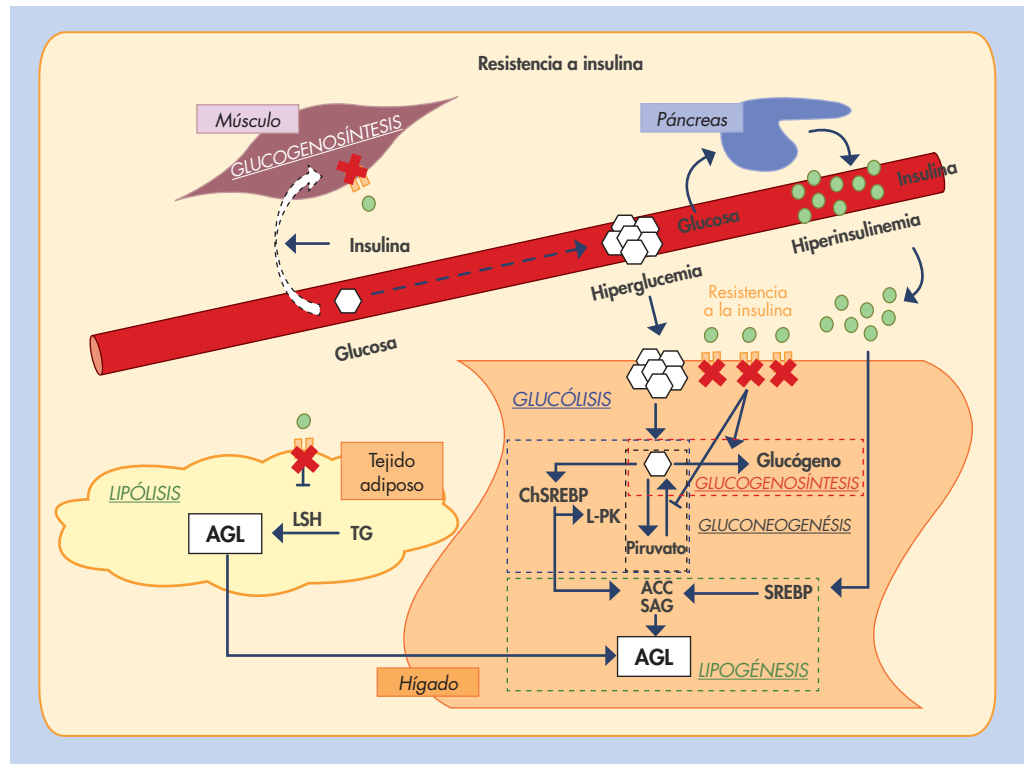


Figura 1. Resistencia a insulina (RI) como mediador del desarrollo de la esteatosis hepática. La RI contribuye a la esteatosis hepática induciendo un aumento en la llegada de ácidos grasos libres desde el tejido adiposo, una disminución en la absorción de glucosa en el músculo esquelético y un aumento en la síntesis de lípidos en el hígado.

en partículas de VLDL para ser exportados o almacenados en los hepatocitos. Aunque alteraciones en esta exportación podrían dar lugar a esteatosis hepática, sólo un estudio en humanos describe que el tráfico de VLDL se ve afectado en la NASH¹².

En la actualidad, se considera que tanto los AGL como la inflamación crónica asociada a la obesidad visceral desempeñan un papel clave en la inducción de la RI hepática. Estudios recientes sugieren que la proteína MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*) aumenta, en el tejido adiposo, la infiltración de macrófagos que secretan moléculas inflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e interleucina 6 (IL-6)¹³ (fig. 2). De hecho, se ha observado una sobreexpresión de ambas moléculas en este tejido de individuos obesos. El TNF- α sintetizado estimula en el propio tejido adiposo la LSH, aumentando de este modo la lipólisis y la liberación de AGL. Por otro lado, el TNF- α secretado reduce la sensibilidad a insulina en el tejido hepático, induciendo la actividad de las cinasas JNK, IKK y PKC, que activan la fosforilación inhibitoria en los residuos de serina de las proteínas IRS¹⁴. También se ha observado que tanto el TNF- α como la IL-6 inducen RI por vía SOCS-1 y 3 (*suppressors of cytokine signalling*). Las proteínas SOCS compiten con las

proteínas IRS por su unión al receptor, aumentan la degradación vía proteosoma de la proteína IRS-1 y disminuyen la expresión del ARN mensajero (ARNm) de IRS-2 por vía SREBP-1c¹⁵. Por último, la actividad de las fosfatasa PTP1B y PTEN también se ha asociado a la RI hepática mediante la desfosforilación acelerada de las proteínas IRS¹⁶.

Además de las moléculas inflamatorias TNF- α e IL-6, los adipocitos secretan péptidos bioactivos llamados adipocinas (leptina, adiponectina y resistina). Aunque existen muchos datos en la literatura científica que apuntan a un papel clave tanto de la leptina como de la resistina en el desarrollo de NAFLD en modelos animales, su biología en humanos no está bien definida¹⁷. Sin embargo, se han observado disminuciones en los valores plasmáticos de adiponectina en individuos obesos y se ha sugerido que la inflamación del tejido adiposo contribuye a reducir la secreción de adiponectina¹⁸. La adiponectina es un hormona antilipogénica que ejerce sus funciones en el hígado a través de la activación de la AMPK y que mejora la señalización de la insulina inhibiendo la proteína fosfatasa PTP1B. Además, la adiponectina posee propiedades antiinflamatorias porque bloquea la secreción de TNF- α e IL-6, y estimula la síntesis de citocinas antiinflamatorias, como

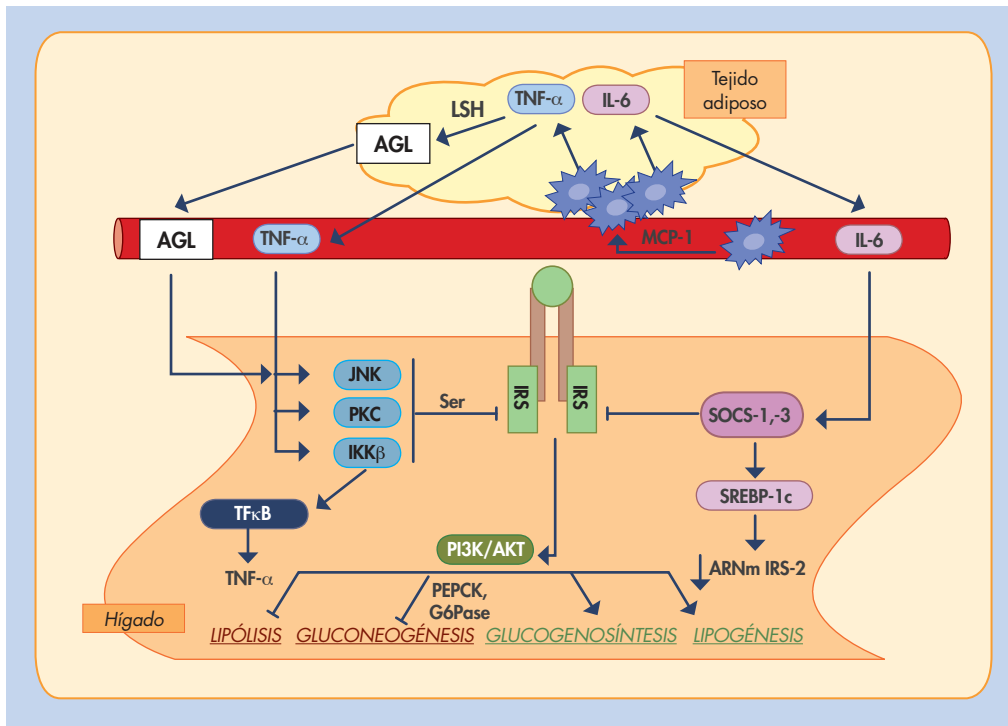


Figura 2. Mecanismos moleculares implicados en la resistencia a insulina hepática. Los ácidos grasos y las citocinas proinflamatorias secretadas por el tejido adiposo contribuyen a la disminución en la capacidad celular de responder a la acción de la insulina.

la IL-10¹⁷, por lo que la disminución de sus concentraciones plasmáticas en situaciones de obesidad contribuiría al desarrollo de la esteatosis hepática.

Progresión de la enfermedad: de esteatosis a esteatohepatitis (NASH)

En 1998, se propuso que la patogénesis de la NASH podía explicarse con el modelo denominado “dos estímulos”. Este modelo sugiere que la condición “benigna” de esteatosis hepática (primer estímulo) aumenta la sensibilidad del hígado ante la llegada del segundo estímulo que induciría inflamación (NASH), muerte celular y fibrosis, principalmente mediada por un aumento del estrés oxidativo, la disfunción mitocondrial, la lipoperoxidación y la síntesis de citocinas¹⁹.

La mitocondria desempeña un papel fundamental en el desarrollo de NASH, ya que lleva a cabo la mayor parte de la oxidación del exceso de AGL y de la síntesis de ATP y de especies reactivas de oxígeno (ROS) (fig. 3). Los AGL de cadena larga necesitan de la carnitina

palmitoiltransferasa I (CPT-I) para entrar en la mitocondria, mientras que los AGL de cadena corta y media entran de manera libre. La expresión de la CPT-I se activa por el factor de transcripción nuclear proliferador de peroxisoma activado por receptores α (PPAR α , *peroxisome proliferator-activated receptor α*). Cuando la cantidad de ácidos grasos excede la capacidad oxidativa de la mitocondria, el PPAR α activa enzimas implicadas en rutas alternativas de oxidación (la β -oxidación y la ω -oxidación) en los peroxisomas y microsomas, respectivamente, que a su vez generan más ROS^{20,21}. De hecho, el tratamiento con fibratos (agonistas de PPAR α) disminuye los valores séricos de triglicéridos, pero no han mostrado efectos en la esteatosis hepática o esteatohepatitis²¹.

Este aumento de ROS disminuye las defensas antioxidantes de la célula, reduciendo el contenido de glutatión (GSH) e induce la peroxidación lipídica. A su vez, la peroxidación de los lípidos de las membranas mitocondriales y del ADN mitocondrial contribuye al daño mitocondrial y a perpetuar la generación de ROS²². De hecho, pacientes con NASH muestran alteraciones ultraestructurales mitocondriales y un aumento en la producción de ROS²³.

Por otro lado, se ha sugerido que el aumento de PPAR α también contribuye al aumento en los valores de expresión de la proteína mitocondrial

Lectura rápida



La inflamación crónica asociada a la obesidad visceral induce tanto un aumento en la secreción de moléculas inflamatorias (factor de necrosis tumoral alfa o interleucina 6), como una disminución en la secreción de hormonas antilipogénicas (la adiponectina), que desempeñan un papel clave en la inducción de resistencia a la insulina hepática.

La resistencia a la insulina periférica y hepática produce un aumento de los valores circulantes de ácidos grasos libres, hiperglucemia e hiperinsulinemia que inducen, en el hepatocito, un aumento en la síntesis de lípidos.

En condiciones normales, los ácidos grasos libres que llegan al hígado se metabolizan mediante la oxidación y esterificación.

La esteatosis hepática se considera una condición benigna que hace al hígado más susceptible de desarrollar inflamación (NASH) tras un insulto.



Lectura rápida



La mitocondria desempeña un papel fundamental en el desarrollo de NASH. Los pacientes con NASH muestran alteraciones ultraestructurales mitocondriales junto con un aumento del estrés oxidativo.

Cuando la cantidad de ácidos grasos excede la capacidad oxidativa de la mitocondria, se activan rutas alternativas de oxidación que generarán más estrés oxidativo.

Los pacientes con NASH expresan valores altos de UCP-2, pero tienen comprometida su capacidad de respuesta a demandas adicionales de energía (ATP).

La efectividad de la activación farmacológica de AMPK (enzima clave en el control de los valores de ATP) en el tratamiento de pacientes con NASH es aún controvertida.

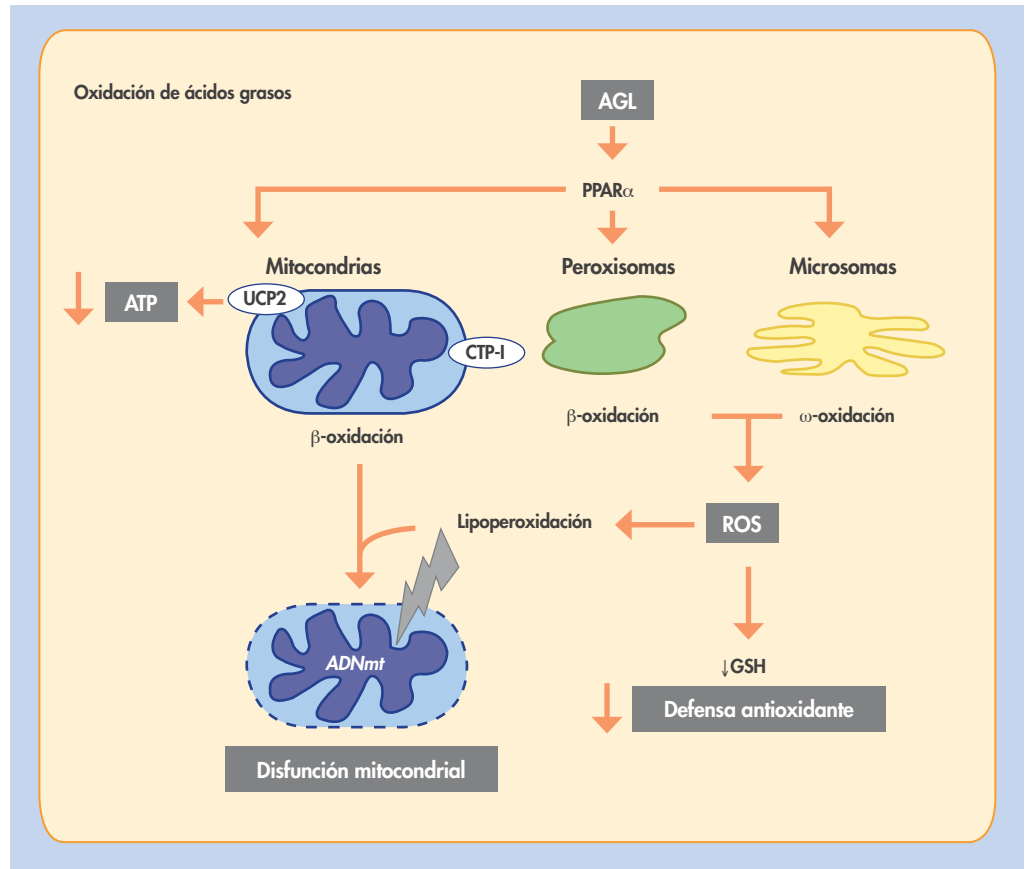


Figura 3. Oxidación de ácidos grasos libres. El aumento en el contenido de ácidos grasos libres en el hígado induce la activación de rutas de oxidación alternativas a la mitocondrial (peroxisomas y microsomas), que contribuyen a la generación de radicales de oxígeno, lipoperoxidación y disfunción mitocondrial.

UCP-2²⁴. UCP-2 reduce los valores de AGL, pero desacopla la oxidación de sustratos de la síntesis de ATP, comprometiendo la capacidad de respuesta hepática a demandas de energía adicionales. De hecho, se ha observado que pacientes con NASH tienen unos altos valores de expresión de UCP-2 y presentan una depleción de ATP tras la infusión de fructosa²⁵.

Otra enzima clave en la regulación de los valores de ATP y de la β -oxidación de AGL es la quinasa dependiente de AMP (AMPK), principal sensor energético de la célula (fig. 4). La enzima AMPK, que se expresa en hígado, músculo, cerebro y tejido adiposo, se activa cuando aumentan los valores de AMP, lo que indica un descenso en las reservas energéticas de la célula. La actividad de AMPK induce rutas catabólicas como la β -oxidación e inhibe procesos consumidores de ATP, como la lipogénesis y gluconeogénesis²⁶. Se ha explorado la efectividad de la activación farmacológica de AMPK en el tratamiento de pacientes de NASH mediante agonistas de PPAR α (tiazolidinadionas) que aumentan la adiponectina y de activadores de AMPK, como la metformina; sin embargo, su uso en humanos es aún controvertido²⁷.

Progresión de la enfermedad: de esteatohepatitis (NASH) a fibrosis

La lipoperoxidación y los ROS inducen inflamación, necrosis y apoptosis del hepatocito. La fagocitosis de estos cuerpos apoptóticos por las células estrelladas hepáticas (CEH) ha demostrado tener un papel en su activación y en el desarrollo de la fibrogénesis, tanto in vitro como in vivo. A su vez, este aumento de ROS produce, en las células inflamatorias, la activación del factor de transcripción nuclear kappa B (NF κ B), que conduce a la generación de citocinas inflamatorias (TNF- α) y la quimiotaxis de neutrófilos²⁸. Además, los ROS y los productos de la peroxidación lipídica pueden activar directamente las CEH y conducir al desarrollo de fibrosis.

En resumen, la identificación de los mecanismos moleculares involucrados en el desarrollo de NASH permite el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, además de las que ya se emplean actualmente dirigidas a corregir los factores de riesgo.

Bibliografía recomendada

Begrache K, Igoudjil A, Pessayre D, Fromenty B. Mitochondrial dysfunction in NASH: causes, consequences and possible means to prevent it. *Mitochondrion*. 2006;6:1-28.

Este artículo es una revisión donde se describe el papel de la mitocondria en la β -oxidación de los ácidos grasos en situaciones normales y en situaciones de NASH. El artículo presta especial atención a los mecanismos moleculares implicados en la disfunción mitocondrial relacionada con resistencia a la insulina en NAFLD.

Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest*. 2004;114:147-52.

Este artículo es una revisión de los mecanismos moleculares implicados en la acumulación de triglicéridos en el hígado en estados de resistencia a la insulina y de la progresión de la esteatosis a NASH, y describe el papel del estrés oxidativo, la disfunción mitocondrial y la peroxidación lipídica.

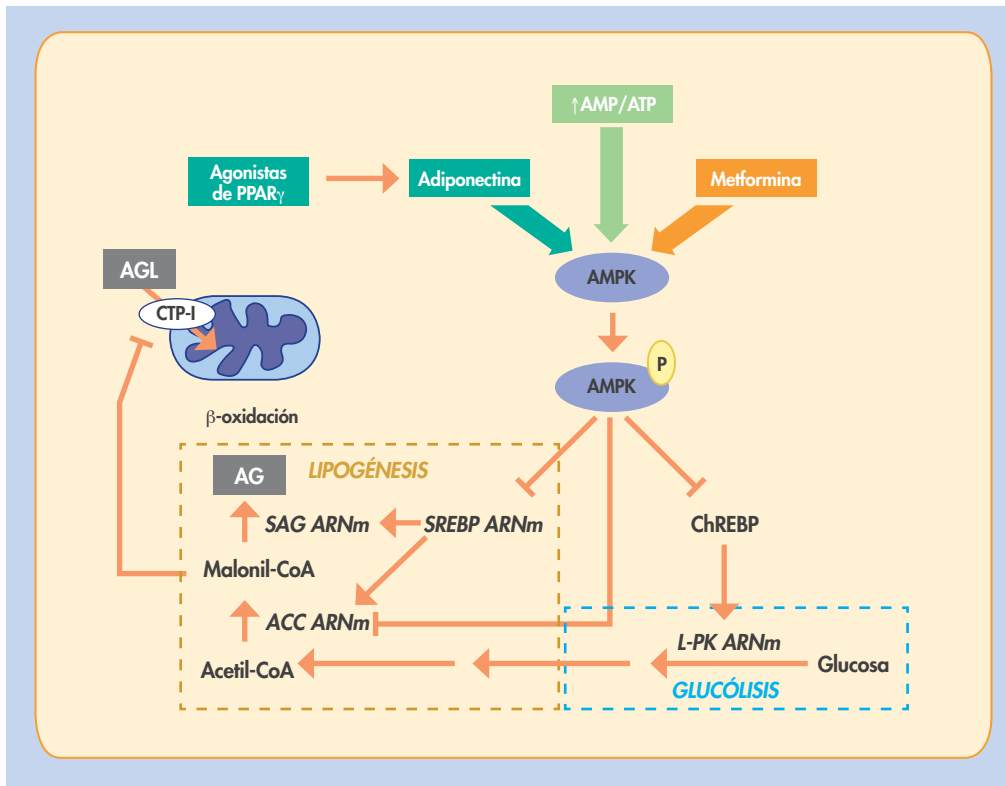


Figura 4. Mecanismos moleculares implicados en el aumento en la β -oxidación de ácidos grasos libres y disminución de la lipogénesis debida a la activación de la AMPK inducida por agentes farmacológicos (metformina o agonistas de PPAR α). El aumento en la actividad de la enzima AMPK bloquea los factores de transcripción ChREBP y SREBP, disminuyendo por un lado la lipogénesis y, por otro, los valores de malonil-CoA. Finalmente, esta reducción en los valores de malonil-CoA, inhibidor de la enzima CPT-1, permite la entrada de los ácidos grasos libres en la mitocondria para su oxidación.

Bibliografía

GH www.ghcontinuada.com
Encontrará enlaces a los resúmenes de esta bibliografía

- Importante ●● Muy importante
- Epidemiología

1. ●● Adams LA, Lindor KD. Nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Epidemiol*. 2007;17:863-9.
2. Dixon JB, Bhathal PS, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology*. 2001;121:91-100.
3. Schindhelm RK, Diamant M, Dekker JM, Tushuizen ME, Teerlink T, Heine RJ. Alanine aminotransferase as a marker of non-alcoholic fatty liver disease in relation to type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Diabetes Metab Res Rev*. 2006;22:437-43.
4. ●● Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology*. 2006;43:S99-112.
5. Rector RS, Thyfault JP, Wei Y, Ibdah JA. Non-alcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome: an update. *World J Gastroenterol*. 2008;14:185-92.
6. Herman MA, Kahn BB. Glucose transport and sensing in the maintenance of glucose homeostasis and metabolic harmony. *J Clin Invest*. 2006;116:1767-75.
7. Taniguchi CM, Emanuelli B, Kahn CR. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006;7:85-96.
8. ●● Meshkani R, Adeli K. Hepatic insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Clin Biochem*. 2009;42:1331-46.
9. Varela-Rey M, Embade N, Ariz U, Lu SC, Mato JM, Martínez-Chantar ML. Non-alcoholic steatohepatitis and animal models: understanding the human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2009;41:969-76.
10. ● Denechaud PD, Dentin R, Girard J, Postic C. Role of ChREBP in hepatic steatosis and insulin resistance. *FEBS Lett*. 2008;582:68-73.
11. Dentin R, Girard J, Postic C. Carbohydrate responsive element binding protein (ChREBP) and sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c): two key regulators of glucose metabolism and lipid synthesis in liver. *Biochimie*. 2005;87:81-6.
12. Charlton M, Sreekumar R, Rasmussen D, Lindor K, Nair KS. Apolipoprotein synthesis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2002;35:898-904.
13. Kanda H, Tateya S, Tamori Y, Kotani K, Hiasa K, Kitazawa R, et al. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J Clin Invest*. 2006;116:1494-505.
14. ●● Nieto-Vázquez I, Fernandez-Veledo S, Kramer DK, Vila-Bedmar R, García-Guerra L, Lorenzo M. Insulin resistance associated to obesity: the link TNF-alpha. *Arch Physiol Biochem*. 2008;114:183-94.
15. Kile BT, Schulman BA, Alexander WS, Nicola NA, Martin HM, Hilton DJ. The SOCS box: a tale of destruction and degradation. *Trends Biochem Sci*. 2002;27:235-41.
16. Elchebly M, Payette P, Michaliszyn E, Cromlish W, Collins S, Loy AL, et al. Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene. *Science*. 1999;283:1544-8.
17. Marra F, Bertolani C. Adipokines in liver diseases. *Hepatology*. 2009;50:957-69.
18. Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J. Beyond insulin resistance in NASH: TNF-alpha or adiponectin? *Hepatology*. 2004;40:46-54.
19. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology*. 1998;114:842-5.
20. Kallwitz ER, McLachlan A, Cotler SJ. Role of peroxisome proliferators-activated receptors in the pathogenesis and treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2008;14:22-8.

Bibliografía recomendada

Marra F, Gastaldelli A, Svegliati Baroni G, Tell G, Tiribelli C. Molecular basis and mechanisms of progression of non-alcoholic steatohepatitis. *Trends Mol Med.* 2008;14:72-81.

Este artículo es una revisión en la que se describen, además de los mecanismos moleculares implicados en la patogénesis de NASH, los modelos animales utilizados en el estudio de NAFLD y NASH, y sus limitaciones, y los mecanismos moleculares asociados al desarrollo de fibrosis en la NASH.

Torres DM, Harrison SA. Diagnosis and therapy of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology.* 2008;134:1682-98.

Este artículo es una revisión de los métodos de diagnosis y tratamientos de NASH. Describe los potenciales efectos fisiológicos de terapias en el tratamiento de la NASH, que se encuentran actualmente en investigación, relacionando los efectos bioquímicos de aquellas con los efectos histológicos y los mecanismos de acción.

21. ●● Leclercq IA. Pathogenesis of steatohepatitis: insights from the study of animal models. *Acta Gastroenterol Belg.* 2007;70:25-31.
22. ● Begriche K, Igoudjil A, Pessayre D, Fromenty B. Mitochondrial dysfunction in NASH: causes, consequences and possible means to prevent it. *Mitochondrion.* 2006 Feb;6:1-28.
23. ● Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology.* 2001;120:1183-92.
24. Nakatani T, Tsuboyama-Kasaoka N, Takahashi M, Miura S, Ezaki OJ. Mechanism for peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activator-induced up-regulation of UCP2 mRNA in rodent hepatocytes. *Biol Chem.* 2002;277:9562-9.
25. Cortez-Pinto H, Chatham J, Chacko VP, Arnold C, Rashid A, Diehl AM. Alterations in liver ATP homeostasis in human nonalcoholic steatohepatitis: a pilot study. *JAMA.* 1999;282:1659-64.
26. Zhang BB, Zhou G, Li C. AMPK: an emerging drug target for diabetes and the metabolic syndrome. *Cell Metab.* 2009;9:407-16.
27. Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest.* 2004;114:147-52.
28. ●● Marra F, Gastaldelli A, Svegliati Baroni G, Tell G, Tiribelli C. Molecular basis and mechanisms of progression of non-alcoholic steatohepatitis. *Trends Mol Med.*