

REVISIÓN

Hígado graso no alcohólico y diabetes tipo 2: epidemiología, fenotipo y fisiopatología del paciente con diabetes e hígado graso no alcohólico

Bruno Ramos-Molina^{a,b}, Manuel Macías-González^{a,b} y Francisco J. Tinahones^{a,b,*}

^a UGC Endocrinología y Nutrición, Hospital Clínico Virgen de la Victoria, Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA) y Universidad de Málaga, Málaga, España

^b CIBER Fisiopatología Obesidad y Nutrición (CIBEROBn), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

PALABRAS CLAVE

Esteatosis hepática;
Diabetes mellitus
tipo 2;
Resistencia
a la insulina;
Adipocinas;
Lipotoxicidad;
Disbiosis intestinal

Resumen El hígado graso no alcohólico (HGNA) se considera actualmente la enfermedad hepática más frecuente en el ámbito mundial, con una prevalencia del 25-30% en la población general y del 70% entre los diabéticos. El HGNA aumenta considerablemente el riesgo de sufrir diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y los pacientes con HGNA y DM2 corren mayor riesgo de desarrollar patologías hepáticas más graves, como esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), fibrosis, cirrosis o carcinoma hepatocelular. En el contexto de DM2, el HGNA se ha relacionado con ciertas alteraciones metabólicas, como resistencia a la insulina hepática, mayor hiperglucemia, hiperinsulinemia grave y dislipemia aterogénica. Asimismo, los pacientes diabéticos con HGNA corren mayor riesgo de sufrir enfermedad cardiovascular e insuficiencia renal crónica, así como mayor riesgo de mortalidad por complicaciones hepáticas. La patología del HGNA se ha asociado con diversos factores como la resistencia a la insulina y la lipotoxicidad hepática, valores alterados de adipocinas y disbiosis intestinal. Mientras que la resistencia a la insulina hepática está implicada en el desarrollo del HGNA al provocar una acumulación excesiva de lípidos en el hígado, ciertas especies lipídicas procedentes principalmente de la lipólisis del tejido adiposo pueden contribuir al desarrollo de EHNA al causar lipotoxicidad hepática. Además, la microbiota intestinal se ha asociado recientemente con el HGNA y su progresión a EHNA, principalmente a través del aumento de las concentraciones circulantes de metabolitos hepatotóxicos, como lipopolisacáridos o etanol.

© 2017 SEEN y SED. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Hepatic steatosis;
Type 2 diabetes
mellitus;
Insulin resistance;
Adipokines;
Lipotoxicity;

Non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus: epidemiology, phenotype and pathophysiology in patients with diabetes and non-alcoholic fatty liver disease

Abstract Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is currently the most common liver disease worldwide, with an estimated prevalence ranging from 25-30% in the general population and over 70% in patients with type 2 diabetes mellitus (DM2). The presence of NAFLD has been shown to significantly increase the risk of DM2, and patients with NAFLD and DM2 are at higher risk of developing more severe liver diseases, such as non-alcoholic steatohepatitis (NASH), fibrosis,

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: fjtinahones@uma.es (F.J. Tinahones).

Intestinal dysbiosis

cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. In the setting of DM2, NAFLD has been linked to several metabolic disorders including hepatic insulin resistance, higher hyperglycaemia, severe hyperinsulinemia, and atherogenic dyslipidaemia. In addition, patients with NAFLD and DM2 have an increased risk of cardiovascular disease and chronic kidney disease, and exhibit a higher liver-related mortality rate. NAFLD has been associated with various factors such as hepatic insulin resistance and hepatic lipotoxicity, altered adipokine levels, and intestinal dysbiosis. The development of NAFLD is influenced by hepatic insulin resistance by inducing excessive fat accumulation in the liver and by several lipid species mainly derived from adipose tissue lipolysis with lipotoxic effects in the liver. Furthermore, the gut microbiota has recently been linked to NAFLD and its progression to NASH, mainly through an increase in circulating levels of hepatotoxic metabolites such as lipopolysaccharides or ethanol.

© 2017 SEEN and SED. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La enfermedad por hígado graso no alcohólico (HGNA) es generalmente asintomática, si bien actualmente ya no se considera una afección benigna ya que en una proporción considerable de los pacientes con HGNA suele evolucionar a esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) y un porcentaje considerable de los pacientes con EHNA puede desarrollar cirrosis hepática, con el riesgo inherente del desarrollo de carcinoma hepatocelular. Además de estas complicaciones hepáticas, los pacientes con HGNA experimentan mayor riesgo de desarrollar otras patologías, como diabetes mellitus tipo 2 (DM2), enfermedad cardiovascular o insuficiencia renal crónica¹. Entre estas enfermedades extrahepáticas, la evidencia actual propone el HGNA como un factor de riesgo importante en el desarrollo de DM2, especialmente cuando el HGNA se presenta en combinación con obesidad y resistencia a la insulina (RI)².

En este capítulo se describirán distintos factores implicados en la epidemiología y fenotipo de HGNA y DM2, y se discutirán los mecanismos moleculares por los que diversos factores participan en el desarrollo de la fisiopatología del HGNA y la EHNA en el contexto de la DM2.

Epidemiología y fenotipo del hígado graso no alcohólico

Como resultado de la epidemia de obesidad, el HGNA se ha convertido en la enfermedad hepática crónica más frecuente en el ámbito mundial, con una prevalencia estimada del 25-30% en la población general. Asimismo, de acuerdo con distintas fuentes, la prevalencia de HGNA es aproximadamente del 80-90% entre adultos obesos, el 60% en pacientes con hiperlipidemia y el 70% en aquellos con DM2.

Por su parte, la existencia de DM2 en pacientes con HGNA se ha asociado con una progresión más rápida a EHNA y fibrosis avanzada³, e incluso se ha sugerido que el EHNA debería ser considerado una complicación de la DM2. Además, el EHNA se relaciona con mayor mortalidad tanto dependiente como no dependiente de complicaciones hepáticas, especialmente en pacientes con DM2⁴. De manera similar, existe mayor prevalencia de cirrosis y carcinoma hepatocelular en pacientes con DM2⁵.

El HGNA está fuertemente asociado con el desarrollo de RI hepática e hiperglucemia, probablemente como resultado

de una disminución en la supresión de la producción hepática de glucosa mediada por insulina. Además, los pacientes con HGNA presentan frecuentemente hiperinsulinemia grave, sobre todo por la incapacidad del hígado de depurar los elevados valores de insulina⁶.

Las consecuencias negativas del HGNA en el contexto de prediabetes o DM2 van más allá de las alteraciones relacionadas con el hígado. De esta manera, la existencia de HGNA se ha asociado con una serie de alteraciones metabólicas en pacientes con DM2⁷. Estos pacientes se caracterizan por mostrar una dislipemia aterogénica más grave, valores bajos de cHDL (colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad) y partículas de LDL (lipoproteínas de baja densidad) más pequeñas y más densas, lo que podría producirse debido a la incapacidad de la insulina de suprimir adecuadamente la secreción hepática de VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad).

Finalmente, como resultado de todas estas alteraciones metabólicas, así como de su fuerte asociación con otros factores típicos del síndrome metabólico, como la hipertensión o un elevado índice de masa corporal, algunos estudios han asociado el HGNA con mayor riesgo de enfermedad cardiovascular⁸. Asimismo, los pacientes con HGNA corren mayor riesgo de padecer enfermedad renal crónica y otras complicaciones relacionadas con la DM2, como la retinopatía⁹.

Fisiopatología

Resistencia a la insulina e hígado graso no alcohólico

Distintos mecanismos que implican RI se han asociado con el desarrollo de esteatosis hepática. Así, la RI periférica originaría un aumento en el flujo de ácidos grasos libres (AGL) al hígado, a través de la reducción del efecto supresor de la insulina sobre la lipólisis en el tejido adiposo, mientras que la RI hepática provocada por la acumulación de lípidos en el hígado favorecería la esteatosis y su progresión a EHNA¹⁰. Sin embargo, la relación entre HGNA y RI es compleja, y queda por dilucidar si el HGNA inicia la RI hepática o viceversa, ya que, aunque una acumulación excesiva de lípidos en el hígado puede interferir con la ruta de señalización de la insulina, la existencia de RI es también un factor de riesgo establecido para la progresión de enfermedades hepáticas¹¹. Además, se han descrito casos de esteatosis he-

pática en ausencia de RI, en particular en individuos con polimorfismos en el gen *PNPLA3*¹².

En el hígado, la insulina promueve la lipogénesis de novo y la gliceroneogénesis, procesos que están aumentados en el HGNA, lo que contribuiría a la síntesis hepática de triglicéridos (TG) y al desarrollo de esteatosis. Además, como consecuencia, la RI hepática asociada con el HGNA produce un aumento de la gluconeogénesis y la glucogenólisis, y de esta manera provoca la producción de glucosa hepática, lo que, junto con la menor captación de glucosa periférica, acentúa la hiperglucemia y estimula la secreción pancreática de insulina, con lo que aumenta todavía más la lipogénesis hepática. Por su parte, se ha descrito que la insulina podría estimular la fibrogénesis hepática en el contexto de RI¹³.

Lipotoxicidad hepática y esteatohepatitis no alcohólica

Como se ha comentado anteriormente, en ciertas condiciones, como RI hepática, se produce una acumulación de lípidos en el hígado. Asimismo, ciertas moléculas lipídicas pueden causar lipotoxicidad hepática y contribuir de esta manera al desarrollo de EHNA. Entre estas moléculas lipídicas se incluyen ciertos AGL, la lisofosfatidilcolina (LFC), las ceramidas, el colesterol libre y los ácidos biliares.

Los AGL circulantes representan la mayor fuente de lípidos que se acumulan en el hígado en pacientes con HGNA. Cuando los valores de AGL circulantes son elevados, como ocurre, por ejemplo, en el estado obeso, los hepatocitos tienden a captarlos para eliminarlos de la circulación sanguínea. Los AGL que llegan al hígado proceden principalmente de la lipólisis de TG en el tejido adiposo y representan el 60% de los AGL hepáticos en pacientes con HGNA, si bien una parte considerable también procede de la biosíntesis hepática de novo (26%) y de la hidrólisis de TG de la dieta (15%)¹⁴.

Distintos estudios apoyan la idea de que ciertos tipos de AGL que no están esterificados y compartimentados en gotas lipídicas podrían provocar lesión celular irreversible y disparar las rutas de señalización proinflamatorias. Por ejemplo, AGL saturados como el ácido palmítico o el ácido esteárico aumentan el porcentaje de apoptosis en hepatocitos^{15,16}. Por su parte, el ácido oleico tiende a provocar esteatosis a través de la formación de TG, lo que podría representar un sistema de protección frente a los efectos proapoptóticos de otros AGL, como el palmítico en hepatocitos¹⁵.

Asimismo, los AGL son la fuente principal de ciertos metabolitos lipotóxicos, como la LFC y las ceramidas. De esta manera, los valores de LFC y ceramidas circulantes se encuentran aumentados en pacientes con EHNA^{17,18}. Además, se ha descrito mayor acumulación hepática de LFC en pacientes con EHNA¹⁷. En este sentido, el tratamiento de células hepáticas con ácido palmítico provoca un aumento de la concentración de LFC intracelulares y, en consecuencia, de la toxicidad celular, lo que sugiere que su efecto lipotóxico podría estar mediado por la generación de LFC¹⁹. Por su parte, la acumulación hepática de ceramidas se ha asociado con el desarrollo de RI hepática²⁰. El papel que las ceramidas podrían tener en el desarrollo de EHNA no está totalmente claro, ya que se piensa que su efecto lipotóxico podría ser

específico del tipo celular. De hecho, mientras que en las células betapancreáticas las ceramidas provocan lesión celular y apoptosis, no parece que el efecto lipotóxico de los AGL saturados en hepatocitos esté mediado por ceramidas²¹.

Otra de las moléculas lipotóxicas que se han asociado con el desarrollo de EHNA es el colesterol libre. De esta manera, se ha observado una acumulación de colesterol libre sin un incremento similar en ésteres de colesterol, así como alteraciones en las rutas relacionadas con el metabolismo del colesterol tanto en pacientes con HGNA como con EHNA²². Se ha propuesto que los mecanismos proinflamatorios mediados por colesterol implicados en la lesión vascular también podrían estar implicados en la lesión hepática causada por exceso de colesterol en EHNA²³.

Adipocinas e hígado graso no alcohólico

Diversos trabajos han puesto de manifiesto un papel importante de ciertas adipocinas (hormonas secretadas por el tejido adiposo), como la adiponectina y la leptina en la patogénesis de HGNA/EHNA. La adiponectina se produce principalmente en los adipocitos y posee un efecto sensibilizador a la insulina, así como ciertas propiedades antiinflamatorias. En el hígado, la adiponectina disminuye la producción hepática de glucosa, así como el recambio de ácidos grasos. Numerosos estudios han mostrado que los valores plasmáticos de adiponectina son considerablemente más bajos en pacientes obesos, así como en individuos con RI o DM2. Además, los valores de adiponectina se correlacionan inversamente con el contenido de grasa en el hígado y con la RI hepática en pacientes diabéticos y con HGNA²⁴. Asimismo, se han asociado unos valores reducidos de adiponectina con mayor grado de necroinflamación y fibrosis en pacientes con EHNA²⁵.

Por otro lado, la mayoría de pacientes con obesidad y comorbilidades asociadas, como la DM2, presenta hiperleptinemia, presumiblemente por el desarrollo de resistencia a la leptina y aumento de su producción por el tejido adiposo. En condiciones normales, la leptina suprime la producción de glucosa y la lipogénesis hepática, y de esta manera proporciona un efecto sensibilizador de insulina y antiesteatótico. Sin embargo, se ha propuesto que, en condiciones de resistencia a la leptina, esta podría participar en la patogénesis del EHNA debido a sus propiedades proinflamatorias y profibróticas²⁶. En este sentido, un metaanálisis reciente sugiere que los valores circulantes de leptina son mayores en pacientes con HGNA y ha asociado concentraciones más elevadas de leptina con un aumento en la gravedad de HGNA²⁷.

Asimismo, también se han descrito alteraciones en los valores séricos de otras adipocinas, como resistina, visfatina o la proteína transportadora de retinol tipo 4 (RBP4) en pacientes con HGNA, si bien su implicación en la patogénesis de HGNA está por clarificar.

Hígado graso no alcohólico y disbiosis intestinal

El hígado está expuesto a múltiples metabolitos intestinales y productos procedentes de la dieta directamente a través de la circulación portal hepática. Estudios recientes

han indicado la existencia de una disbiosis intestinal en pacientes con HGNA y EHNA^{28,29}, sugiriendo de esta manera un papel importante de la microbiota intestinal en la patogénesis de HGNA. Por su parte, se ha sugerido una posible asociación entre la disbiosis intestinal y una mayor gravedad de HGNA/EHNA³⁰.

Como consecuencia de un cambio en la composición de bacterias gramnegativas o por una mayor permeabilidad intestinal, se produce un incremento en los valores séricos de lipopolisacáridos (LPS). Los LPS son factores inductores de RI, obesidad y diabetes, y pueden causar endotoxemia e inflamación³¹. Además, se ha descrito que pacientes con HGNA poseen valores más elevados de LPS y de ciertos marcadores inflamatorios³², y se ha demostrado una asociación entre valores elevados de LPS y mayor riesgo de desarrollo de HGNA³³.

Por otra parte, la microbiota intestinal es capaz de fermentar polisacáridos de la dieta en ácidos grasos de cadena corta (AGCC), como el acetato, el propionato y el butirato. Mientras que el butirato sirve principalmente como fuente de energía para los colonocitos, el acetato y el propionato son absorbidos y extraídos por el hígado, donde son usados como sustratos para la lipogénesis o la gluconeogénesis. Además de ser necesarios para un equilibrio de la población bacteriana intestinal y de sus efectos antiinflamatorios, los AGCC podrían tener efectos beneficiosos sobre el HGNA. Asimismo, recientemente se ha descrito que en pacientes con cirrosis la composición de la microbiota intestinal se caracteriza por menor abundancia de bacterias productoras de butirato en comparación con el grupo control de individuos sanos³⁴.

Otro de los mecanismos que se han sugerido para explicar la asociación entre HGNA y disbiosis intestinal incluye la producción bacteriana de etanol. De acuerdo con ciertos estudios, parece existir un aumento significativo de etanol en pacientes obesos con HGNA respecto a pacientes obesos o normopeso sin HGNA³⁵. Además, se ha descrito que entre las alteraciones de la composición bacteriana encontrada en individuos con EHNA, se incluían bacterias productoras de etanol²⁸ y se han detectado valores más elevados de etanol en correlación con EHNA³⁶. Estos resultados sugieren que la producción de alcohol por la microbiota intestinal podría servir como una hepatotóxina y contribuir al desarrollo de HGNA y su progresión a EHNA.

Conclusiones

Como consecuencia de la epidemia mundial de obesidad y DM2, un porcentaje considerable de los recursos sanitarios y de investigación de numerosos países se ha enfocado en el estudio y tratamiento de estos trastornos metabólicos de elevada prevalencia en la población. Sin embargo, dada la creencia de su carácter asintomático, durante años se le ha prestado mucha menos atención al diagnóstico y tratamiento del HGNA. La evidencia actual sugiere que el HGNA podría ser un factor de riesgo importante de desarrollo de enfermedad cardiovascular y de DM2, y que en paciente obesos y/o diabéticos el HGNA puede progresar a patologías hepáticas graves, como la cirrosis o el carcinoma hepatocelular y, consecuentemente, mayor mortalidad.

Numerosos estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado una asociación entre la RI hepática, el efecto hepatotóxico de concentraciones elevadas de ciertos lípidos circulantes, la microbiota intestinal y las adipocinas procedentes del tejido adiposo, y el desarrollo y la progresión del EHNA, si bien todavía queda bastante por descubrir sobre la fisiopatología de esta enfermedad. Actualmente se están realizando avances importantes en el desarrollo de nuevos fármacos específicos para la mejora de la función hepática en pacientes con HGNA/EHNA, así como en el perfeccionamiento de técnicas diagnósticas no invasivas, si bien estos avances se tratarán en los siguientes capítulos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Adams LA, Anstee QM, Tilg H, Targher G. Non-alcoholic fatty liver disease and its relationship with cardiovascular disease and other extrahepatic diseases. *Gut*. 2017;pii: gutjnl-2017-313884. doi: 10.1136/gutjnl-2017-313884.
- Ballestri S, Zona S, Targher G, Romagnoli D, Baldelli E, Nascimbeni F, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with an almost twofold increased risk of incident type 2 diabetes and metabolic syndrome. Evidence from a systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2016;31:936-44.
- Leite NC, Villela-Nogueira CA, Pannain VL, Bottino AC, Rezende GF, Cardoso CR, et al. Histopathological stages of nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes: prevalences and correlated factors. *Liver Int*. 2011;31:700-6.
- Rafiq N, Bai C, Fang Y, Srishord M, McCullough A, Gramlich T, et al. Long-term follow-up of patients with nonalcoholic fatty liver. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009;7:234-8.
- Wang C, Wang X, Gong G, Ben Q, Qiu W, Chen Y, et al. Increased risk of hepatocellular carcinoma in patients with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Int J Cancer*. 2012;130:1639-48.
- Bril F, Lomonaco R, Orsak B, Ortiz-Lopez C, Webb A, Tio F, et al. Relationship between disease severity, hyperinsulinemia, and impaired insulin clearance in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2014;59:2178-87.
- Ortiz-Lopez C, Lomonaco R, Orsak B, Finch J, Chang Z, Kochunov VG, et al. Prevalence of prediabetes and diabetes and metabolic profile of patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Diabetes Care*. 2012;35:873-8.
- Anstee QM, Targher G, Day CP. Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;10:330-44.
- Bril F, Cusi K. Nonalcoholic fatty liver disease: The new complication of type 2 diabetes mellitus. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2016;45:765-81.
- Perry RJ, Samuel VT, Petersen KF, Shulman GI. The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2014;510:84-91.
- Williams KH, Shackel NA, Gorrell MD, McLennan SV, Twigg SM. Diabetes and nonalcoholic fatty liver disease: a pathogenic duo. *Endocr Rev*. 2013;34:84-129.
- Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet*. 2008;40:1461-5.

13. Paradis V, Perlemuter G, Bonvoust F, Dargere D, Parfait B, Vidaud M, et al. High glucose and hyperinsulinemia stimulate connective tissue growth factor expression: a potential mechanism involved in progression to fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2001;34:738-44.
14. Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*. 2005;115:1343-51.
15. Ricchi M, Odoardi MR, Carulli L, Anzivino C, Ballestri S, Pinetti A, et al. Differential effect of oleic and palmitic acid on lipid accumulation and apoptosis in cultured hepatocytes. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009;24:830-40.
16. Malhi H, Bronk SF, Werneburg NW, Gores GJ. Free fatty acids induce JNK-dependent hepatocyte lipoapoptosis. *J Biol Chem*. 2006;281:12093-101.
17. Han MS, Park SY, Shinzawa K, Kim S, Chung KW, Lee JH, et al. Lysophosphatidylcholine as a death effector in the lipoapoptosis of hepatocytes. *J Lipid Res*. 2008;49:84-97.
18. Anjani K, Lhomme M, Sokolovska N, Poitou C, Aron-Wisniewsky J, Bouillot JL, et al. Circulating phospholipid profiling identifies portal contribution to NASH signature in obesity. *J Hepatol*. 2015;62:905-12.
19. Kakisaka K, Cazanave SC, Fingas CD, Guicciardi ME, Bronk SF, Werneburg NW, et al. Mechanisms of lysophosphatidylcholine-induced hepatocyte lipoapoptosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012;302:G77-84.
20. Pagadala M, Kasumov T, McCullough AJ, Zein NN, Kirwan JP. Role of ceramides in nonalcoholic fatty liver disease. *Trends Endocrinol Metab*. 2012;23:365-71.
21. Chaurasia B, Summers SA. Ceramides - Lipotoxic Inducers of Metabolic Disorders. *Trends Endocrinol Metab*. 2015;26:538-50.
22. Puri P, Baillie RA, Wiest MM, Mirshahi F, Choudhury J, Cheung O, et al. A lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2007;46:1081-90.
23. Ioannou GN. The role of cholesterol in the pathogenesis of NASH. *Trends Endocrinol Metab*. 2016;27:84-95.
24. Bajaj M, Suraamornkul S, Piper P, Hardies LJ, Glass L, Cersosimo E, et al. Decreased plasma adiponectin concentrations are closely related to hepatic fat content and hepatic insulin resistance in pioglitazone-treated type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:200-6.
25. 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.
26. Aleffi S, Petrai I, Bertolani C, Parola M, Colombatto S, Novo E, et al. Upregulation of proinflammatory and proangiogenic cytokines by leptin in human hepatic stellate cells. *Hepatology*. 2005;42:1339-48.
27. Polyzos SA, Aronis KN, Kountouras J, Raptis DD, Vasiloglou MF, Mantzoros CS. Circulating leptin in non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Diabetologia*. 2016;59:30-43.
28. Zhu L, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhoury R, Baker RD, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology*. 2013;57:601-9.
29. Mouzaki M, Comelli EM, Arendt BM, Bonengel J, Fung SK, Fischer SE, et al. Intestinal microbiota in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2013;58:120-7.
30. Boursier J, Mueller O, Barret M, Machado M, Fizanne L, Araujo-Perez F, et al. The severity of nonalcoholic fatty liver disease is associated with gut dysbiosis and shift in the metabolic function of the gut microbiota. *Hepatology*. 2016;63:764-75.
31. Moreno-Indias I, Cardona F, Tinahones FJ, Queipo-Ortuno MI. Impact of the gut microbiota on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Front Microbiol*. 2014;5:190.
32. Harte AL, Da Silva NF, Creely SJ, McGee KC, Billyard T, Youssef-Elabd EM, et al. Elevated endotoxin levels in non-alcoholic fatty liver disease. *J Inflamm (Lond)*. 2010;7:15.
33. Wong VW, Wong GL, Chan HY, Yeung DK, Chan RS, Chim AM, et al. Bacterial endotoxin and non-alcoholic fatty liver disease in the general population: a prospective cohort study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;42:731-40.
34. Qin N, Yang F, Li A, Prifti E, Chen Y, Shao L, et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. *Nature*. 2014;513:59-64.
35. Michail S, Lin M, Frey MR, Fanter R, Paliy O, Hilbush B, et al. Altered gut microbial energy and metabolism in children with non-alcoholic fatty liver disease. *FEMS Microbiol Ecol*. 2015;91:1-9.
36. Volynets V, Kuper MA, Strahl S, Maier IB, Spruss A, Wagnerberger S, et al. Nutrition, intestinal permeability, and blood ethanol levels are altered in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Dis Sci*. 2012;57:1932-41.