



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN IMPLICADOS EN LA ESTEATOSIS
HEPÁTICA NO ALCOHÓLICA**

Autor: Félix Ponce de León Guerrero

D.N.I.: 53414720A

Tutor: Dra. Elvira Lopez-Oliva Muñoz

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1. Resumen..... | 3 |
| 2. Introducción y antecedentes..... | 5 |
| 3. Objetivos..... | 7 |
| 4. Material y métodos..... | 7 |
| 5. Resultados y discusión..... | 8 |
| 5.1. Proteína de unión al elemento regulador del esteroI (SREBP-1c)..... | 8 |
| 5.2. Proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos (CREBP)..... | 11 |
| 5.3. Receptor X hepático (LXR) | 13 |
| 5.4. Receptor activado por el proliferador del peroxisoma gamma (PPAR γ)..... | 15 |
| 6. Conclusiones..... | 18 |
| 7. Bibliografía..... | 19 |

RESUMEN

La enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA) que incluye la esteatosis y la esteatohepatitis, en particular la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) es un problema de salud en aumento a nivel mundial que debe ser separado de la esteatohepatitis alcohólica. El hígado graso no alcohólico está considerado como una manifestación hepática del síndrome metabólico (MetSy), estrechamente relacionado con la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). El desarrollo de esteatosis, puede llevar a fibrosis hepática y cirrosis, que suele progresar hacia la carcinogénesis hepatocelular y con frecuencia conlleva que se tenga que realizar un trasplante hepático, lo que subraya la importancia clínica de este complejo de enfermedades. El trabajo en diferentes modelos murinos y varios estudios en pacientes humanos, han conducido a la identificación de los diferentes actores clave moleculares así como los factores epigenéticos como mRNAs y SNPs, que tienen una función en la promoción o protección de la esteatohepatitis alcohólica o de la esteatohepatitis no alcohólica. El grado en que podrían traducirse en la biología humana y la patogénesis sigue siendo cuestionable y necesita más investigación respecto a parámetros de diagnóstico, el desarrollo de fármacos y una mejor comprensión del impacto genético. En este trabajo se revisa la función de los factores de transcripción SREBP-1c, CHREBP, LXR y PPAR γ implicados en la lipogénesis hepática precursora del EGHNA y su progresión a HGNA. El estudio de los mecanismos de acción molecular de estos factores de transcripción permitirá desarrollar dianas terapéuticas que prevengan y curen la esteatosis hepática.

Abstract: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) which includes steatosis and steatohepatitis, in particular non-alcoholic steatohepatitis (NASH), is a rising health problem world-wide and should be separated from alcoholic steatohepatitis (ASH). NAFLD is regarded as hepatic manifestation of the metabolic syndrome (MetSy), being tightly linked to obesity and type 2 diabetes mellitus (T2DM). Development of steatosis, liver fibrosis and cirrhosis often progresses towards hepatocellular carcinogenesis and frequently results in the indication for liver transplantation, underlining the clinical significance of this disease complex. Work on different murine models and several human patients studies led to the identification of different molecular key players as well as epigenetic factors like miRNAs and SNPs, which have a promoting or protecting function in AFLD/ASH

or NAFLD/NASH. To which extent they might be translated into human biology and pathogenesis is still questionable and needs further investigation regarding diagnostic parameters, drug development and a better understanding of the genetic impact. In this paper the role of transcripción factors SREBP-1c, ChREBP, LXR and PPAR γ lipoénesis involved in hepatic precursor of NAFLD and NASH progression is reviewed. The study of the molecular mechanisms of action of these transcription factors will develop therapeutic targets to prevent and cure hepatic steatosis.

INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

La EGHNA se describió por primera vez hace más de 25 años (Ludwig y col., 1980) pero su significado e importancia en la clínica se ha empezado a reconocer desde hace poco tiempo. Aunque quedan muchas incógnitas por resolver, se ha avanzado bastante en el conocimiento acerca de la epidemiología, patogénesis y pronóstico desde la descripción inicial de esta entidad.

La enfermedad del hígado graso no alcohólica (EHGNA) puede desarrollar un amplio espectro de manifestaciones clínicas y patológicas, indistinguibles de las que se observan en los pacientes alcohólicos(1). La EHGNA es secundaria a la acumulación de grasa, principalmente triglicéridos (TG), en los hepatocitos, y los pacientes pueden presentar lesiones de esteatosis hepática simple (EH), esteatosis con inflamación (esteatohepatitis, EHNA), cirrosis y carcinoma hepatocelular (CHC) (2).

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y la obesidad son los principales factores asociados a la EHGNA que está considerada como la expresión hepática del síndrome metabólico, por lo que su prevalencia aumenta en paralelo con el de dichas dos entidades.

Los signos histológicos de EH son especialmente característicos con la población obesa y en los pacientes con DM2 (3). Estas dos entidades se han asociado con resistencia periférica a la insulina e intolerancia a la glucosa. La dislipemia, en especial la hipertrigliceridemia, también se asocia con esteatosis. Sin embargo, a pesar de que el sobrepeso y la obesidad están presentes en la mayoría de los pacientes, la EHGNA también puede ocurrir en sujetos con peso normal y constituir en estos un factor de riesgo cardiovascular independiente (4).

El mecanismo patogénico de la EHGNA se asocia con la resistencia a la insulina y se explica como la teoría del “doble impacto”(5). En el “primer impacto”, la disminución en la capacidad celular de responder a la acción de la insulina produce una hiperinsulinemia compensatoria. En el tejido adiposo actúa sobre la lipasa sensible a hormonas (LSH) favoreciendo la lipólisis con la consecuente liberación de ácidos grasos libres (AGL) al hígado. En el músculo esquelético disminuye la absorción de glucosa, mientras que en el hepatocito la hiperinsulinemia aumenta la gluconeogénesis, disminuye la glucogenosíntesis y aumenta la captación de los AGL, altera el transporte de triglicéridos como VLDL e inhibe su beta-oxidación. Estas alteraciones en el metabolismo de las grasas son la base de la aparición de esteatosis hepática(Fig. 1).

El “segundo impacto” es consecuencia del estrés oxidativo en hepatocitos que se compensa al principio por los mecanismos antioxidantes celulares; sin embargo, la sobrecarga hepática de AGL genera radicales libres de oxígeno en la cadena mitocondrial que actúan sobre los ácidos grasos de las membranas celulares causando peroxidación lipídica. Los radicales libres de oxígeno inducen la síntesis de citocinas proinflamatorias por las células Kupffer y los hepatocitos, tales como: a) factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) que conlleva la apoptosis de los hepatocitos; b) factor de crecimiento transformante beta-1 (TGF- β 1) que activa la síntesis de colágeno por las células estrelladas; c) ligandos Fas que ocasionan “muertes fratricidas” en los hepatocitos adyacentes; y d) interleuquina 8 (IL-8), potente quimiotáctico de neutrófilos. Los productos finales de la peroxidación lipídica, el 4-hidroxinonanal (HNE) y el malonildialdehído (MDA), también están implicados en la génesis de lesiones hepáticas por toxicidad directa, pueden intervenir en la formación de cuerpos de Mallory e incrementan la síntesis de colágeno por las células estrelladas; además el HNE tiene actividad quimiotáctica de neutrófilos (6).

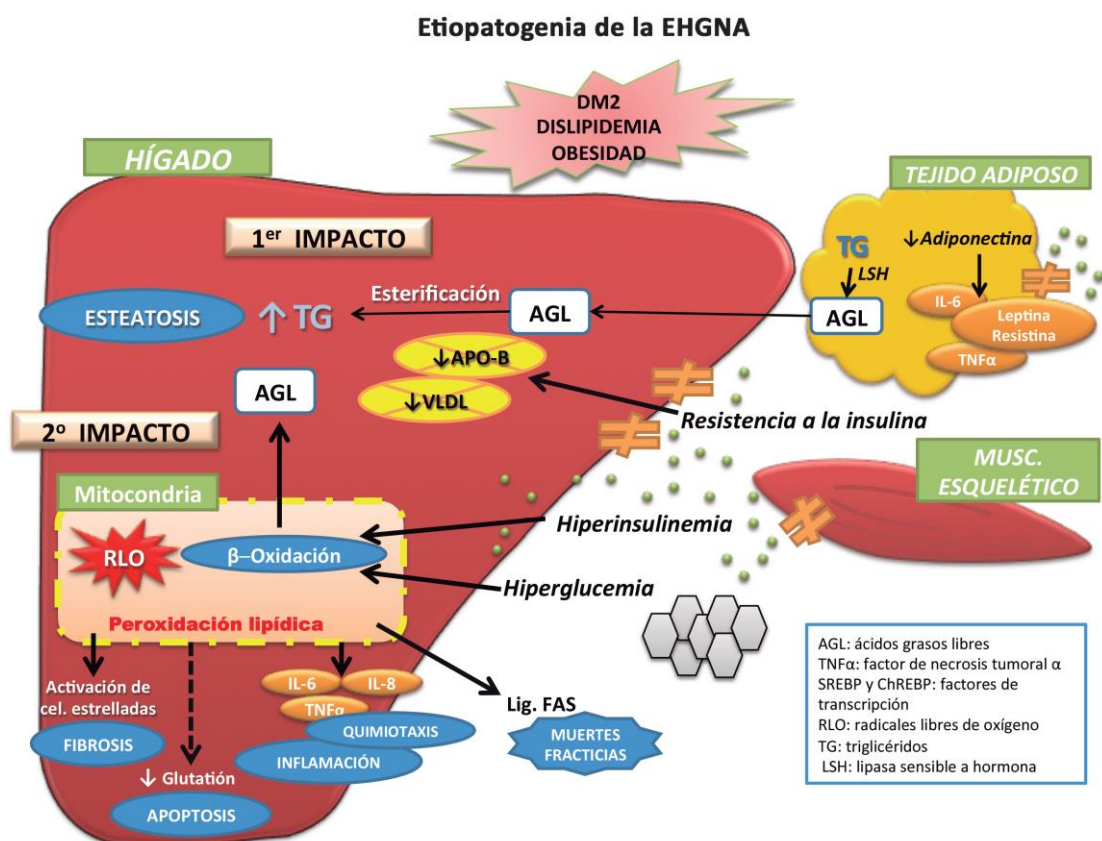


Figura 1: Etiopatogénesis de la EHGNA

Hasta ahora no existe ningún tratamiento farmacológico establecido para la EHNA, la terapia se dirige directamente al tratamiento de los factores de riesgo y a evitar los tóxicos hepáticos reconocidos.

Dado que la hiperlipidemia se encuentra frecuentemente asociada con la EHNA, y dado que la enfermedad coronaria es la causa mas común de muerte en pacientes con EHNA, las estatinas [inhibidores de la hidroximetil-glutaril coenzima A (HMG CoA) reductasa] son fármacos hipolipemiantes frecuentemente prescritos en pacientes con EHNA e hiperlipidemia con alto riesgo cardiovascular junto con otros agentes hipolipemiantes como son los derivados del ácido fibrico (fibratos), niacina, ezetimiba y ácidos grasos omega-3 poliinsaturados.

El uso de estatinas se relaciona con la elevación de enzimas hepáticas que pueden inducir el aumento de transaminasas. Por lo tanto, existe la preocupación de que los pacientes con hígado graso no alcohólico o EHNA y la hiperlipidemia que son tratados con estatinas podrían desarrollar un aumento de transaminasas.(7)

OBJETIVOS

En esta revisión definimos los mecanismos moleculares que originan y desarrollan la acumulación de lípidos en el hígado como un precursor del EGHNA. En particular, vamos a delinear los mecanismos individuales de la síntesis de los triglicéridos (TG) hepáticos que es un punto crítico en la mediación de la homeostasis de lípidos en el hígado, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas. La comprensión de las vías de señalización molecular y de los factores de transcripción que inducen lipogénesis podría arrojar la idea y el futuro desarrollo de los productos terapéuticos potenciales en el tratamiento de esta enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una búsqueda documental informatizada para la identificación y manejo de fuentes bibliográficas y recursos de información utilizando las bases de datos:

MEDLINE (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)

Las referencias bibliográficas fueron ordenadas y clasificadas mediante el programa de gestión de citas bibliográficas Mendeley Desktop 1.11 para dar formato a las citas y crear listados bibliográficos en Microsoft Office™ Word 2007.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La homeostasis del metabolismo lipídico requiere de sensores intracelulares que puedan sensibilizarse a cambios hormonales y metabólicos y coordinen las vías metabólicas implicadas. SREBP-1c, ChREBP, LXR y PPAR γ juegan un papel esencial como reguladores de la lipogénesis en respuesta a insulina, glucosa y oxisteroles (fig. 2) y, por ello, su disfunción condiciona la aparición y el desarrollo del HGNA.

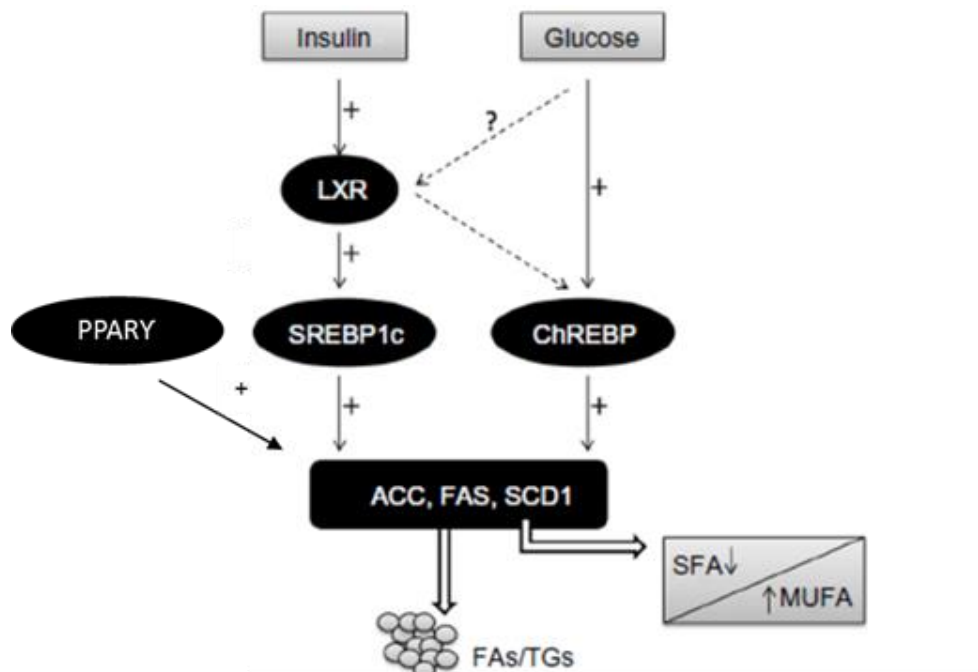


Figura 2: Influencia de la glucosa e insulina en la aparición y desarrollo de HGNA

5.1 Proteína de unión al elemento regulador del esterol (SREBPs)

Los factores de transcripción SREBP pertenecen a la familia de proteínas cuyo dominio N-terminal, con función de transcripción, presenta una estructura básica/hélice-bucle-hélice/cremallera de leucina (bHLH-LZ). Se han descrito tres miembros de esta familia,

SREBP-1a, SREBP-1c y SREBP-2. SREBP-1a, y SREBP-1c están codificados por el mismo gen (SREBP-1) a través de transcripción alternativa, diferenciándose en el exon 1, mientras que SREBP-2 procede del gen SREBP-2 y tiene un 50% de homología con SREBP-1. Ambas isoformas SREBP-1a y SREBP-1c, regulan perfectamente la síntesis de los ácidos grasos (AG) y de los triglicéridos (TG), aunque SREBP-1c es el subtipo predominante en el hígado y en el tejido adiposo blanco (TAB). En respuesta a insulina, SREBP-1c induce la expresión de los genes que codifican las enzimas lipogénicas (ACL, ACC, FAS, ELOVL6, SCD1, GPAT y lipina1) y glucolíticas (glucoquinasa (GK)), por su capacidad de interacción con los elementos de respuesta al esterol ubicados en su promotor. SREBP-2, por su parte, se expresa de forma ubicua y abundante y, preferentemente, controla genes del metabolismo del colesterol (8).

SREBP-1c, como todos los miembros de la familia, se sintetizan como proteínas de membrana del retículo endoplásmico (RE), cuyo emplazamiento deben ser liberados hacia el aparato de Golgi donde son activados por proteólisis. Ya en forma madura emigran al núcleo ejerciendo su función de transcripción. Una vez en el núcleo, varios cofactores cooperan con las proteínas SREBPs en la transcripción de sus genes blanco, entre ellos se encuentran los factores de transcripción NFY (nuclear transcription factor), Sp1 (specificity protein 1) y CBP (CREB-binding protein) (9)

Además de poder autorregularse induciendo su propia transcripción, SREBP-1c está controlado por factores hormonales y nutritivos, así como por el receptor LXR (Figura 3). La transcripción, el procesamiento proteolítico, la cantidad y la estabilidad de SREBP-1c están controlados por insulina. En hepatocitos aislados de ratón se ha observado que la insulina aumenta hasta 40 veces el ARNm de SREBP-1c, mientras que disminuye con el tratamiento con estreptozotocina, un inhibidor de la secreción de insulina. La vía de señalización PI3K/AKT-mTORC1 es fundamental en esta regulación, ya que la expresión y la maduración de SREBP-1c se bloquean con rapamicina, un inhibidor de mTORC1. Además, se requiere la activación de la p70S6quinasa (vía PI3K/Akt-mTORC1-p70S6K) para regular el procesamiento proteolítico de SREBP-1c, lo que favorece su maduración. Se ha demostrado además, que la insulina a través de la vía AKT/PKB incrementa la afinidad del complejo SCAP-SREBPs por las proteínas COPII, mientras decrece su afinidad por la proteína Insig, la cual retiene el complejo en la membrana del RE, favoreciendo el procesamiento proteolítico de las proteínas SREBPs. Este efecto se verifica mediante la fosforilación de la lipina-1 por

MTORC1, impidiendo su depósito en el núcleo, lo que elimina su efecto represor y aumenta la cantidad de nSREBPs.(10)

El estado nutritivo es también un importante regulador de SREBP-1c en hígado, TAB y músculo esquelético. Su expresión disminuye en el ayuno y se incrementa por realimentación con una dieta hidrocarbonada, a consecuencia del aumento de la glucemia y de la insulinemia. Se ha sugerido a este respecto que la glucosa tiene un efecto regulador sobre SREBP-1c mediante una acción directa a nivel transcripcional, aunque este concepto está en plena investigación.(11)

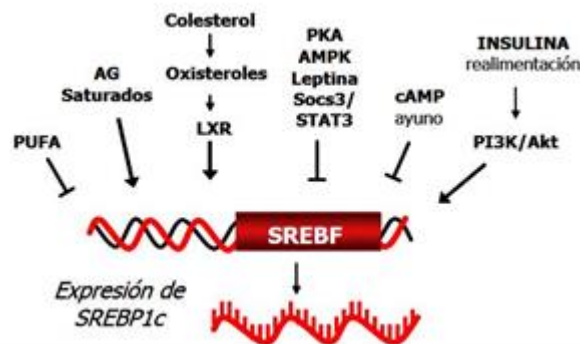


Fig3. Regulación de la transcripción de SREBP a núcleo

El factor SREBP-1c y el hígado graso no alcohólico (HGNA)

El factor SREBP-1c hepático juega un papel esencial en el desarrollo del HGNA. El aumento de la concentración del SREBP-1c es un mecanismo potencial para aumentar la síntesis de *novo* de los AG en el hígado, al regular al alza los genes glucolíticos (GCK) y lipogénicos (ACLY, ACACA, FASN, GPAT, ELOVL6, SCD1 Y LPIN1) en cooperación con LXR y ChREBP, en situaciones de hiperinsulinemia e hiperglucemia, como se ha observado en varios modelos animales de resistencia a la insulina y en clínica humana (12). Así, la esteatosis hepática desarrollada en ratones que sobreexpresan SREBP-1c y en ratones ob/ob leptina-deficientes, presenta dicho origen (13). De igual modo, en pacientes con VIH que sufren lipodistrofia, la sobreexpresión hepática de SREBP-1c, se ha asociado con el desarrollo de esteatosis (14), mientras que en pacientes obesos se ha encontrado el único polimorfismo del gen SREBP-1c, que predispone al hígado graso. Además, varios estudios experimentales han demostrado el papel fundamental que tiene SREBP-1c como inductor del HGNA, a consecuencia de la ingesta de un exceso de calorías procedentes de grasa o de carbohidratos (Fig. 4), mientras que por el contrario, la deficiencia hepática de SREBP-1c o la

administración de PUFA reducen muy significativamente la infiltración grasa del hígado. Por otra parte, la influencia que la alteración de las vías de activación y regulación de SREBP-1c tienen en el desarrollo del HGNA se ha puesto de manifiesto en varios modelos experimentales. Así, un efecto protector sobre la esteatosis desarrollada en el ratón ob/ob o la inducida por sobrealimentación se ha observado, respectivamente, por la deficiencia hepatoespecífica del Akt2, o por la de raptor (componente del complejo mTORC1), que elimina aparentemente toda la actividad de mTORC. En contraste, la delección de TSC1 (tuberous sclerosis protein complex), que funciona como un regulador negativo de mTORC1 en la vía Akt, da lugar al aumento de la actividad de mTORC1, lo que parece proteger de la esteatosis inducida por la dieta hidrocarbonada. Los autores atribuyen este efecto a la activación de una vía dependiente de Akt, pero resistente a rapamicina, que podría limitar la señal de insulina sobre SREBP-1c y por lo tanto disminuir la síntesis de AG. Asimismo, la delección de la proteína SCAP parece reducir la lipogénesis y proteger de la esteatosis hepática aún en condiciones de obesidad, hiperinsulinemia e hiperglucemia, debido a la disminución del proceso de migración y maduración de SREBP-1c (15).

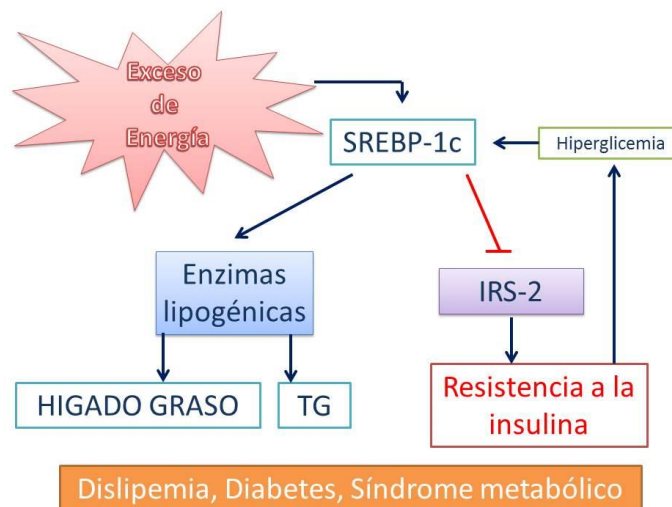


Fig.4: Contribución de SREBP-1c al desarrollo de patologías metabólicas

5.2 Proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos (ChREBP)

El factor de transcripción ChREBP, también conocido como MONDO A o MLXIPL, fue identificado en 2001 por el grupo de Uyeda en extractos nucleares de tejido hepático de ratas alimentadas con una dieta rica en hidratos de carbono, como un factor de transcripción que induce la expresión del gen que codifica a la enzima piruvato-quinasa (L-PK), en respuesta a

altas concentraciones de glucosa. La glucosa actúa como una molécula señal y, en sinergia con insulina, es necesaria para la inducción de la lipogénesis *de novo*, como se ha demostrado en el TAB y en el hígado, para lo que se requiere su metabolización vía GK.

ChREBP, como intermediario de LXR y actuando en sinergia con SREBP-1c, regula al alza la expresión de genes implicados en el metabolismo de glúcidos y lípidos, incrementando la lipogénesis *de novo*, por lo que el factor ChREBP puede considerarse como un mediador de la conversión de un exceso de carbohidratos en lípidos, cuya activación puede inducir el desarrollo del HGNA. Este efecto proesteatótico de la activación de ChREBP se ha confirmado en el hígado de pacientes con EHNA y en sujetos obesos, en los que se observa un aumento de la expresión del ARNm de ChREBP.

ChREBP y el hígado graso no alcohólico (HGNA)

Los datos actuales del papel jugado por ChREBP en el metabolismo de la glucosa y en especial sobre la RI y su relación con la lipogénesis durante el desarrollo del HGNA, son confusos y contradictorios. Así, mientras la deficiencia global de ChREBP, reduce la lipogénesis y mantiene la RI, su inhibición hepatoespecífica o la sobreexpresión de un antagonista mejora ambas, la esteatosis y la RI, lo que se asociado con un aumento de la actividad de la vía AKT/PKB y de las cinasa ERK1 y ERK2 hepáticas (16). Estos resultados confirman el papel diferencial y específico que el factor ChREBP parece tener en el hígado respecto al TAB, en donde se postula un efecto reductor de la lipogénesis *de novo* y la RI en la obesidad humana(17)

Teniendo en cuenta los dos fenotipos, Benhamed y col(18), ha propuesto que este efecto beneficioso de la deficiencia de ChREBP sobre el metabolismo de la glucosa, aumentando la sensibilidad a la insulina, solo puede producirse en el caso de una sobrecarga de lípidos. El trabajo realizado por este grupo, que puede cambiar el concepto actual del papel que ChREBP tiene en la esteatosis hepática y en la RI, muestra que la sobreexpresión de ChREBP en ratones sometidos a una dieta estándar desarrolla esteatosis hepática, pero permanecen insulín-sensibles.

El aumento de la expresión de la enzima SCD1, cuyo gen es blanco de ChREBP y que convierte los AGS en AG monoinsaturados (MUFAs), parece ser fundamental para implementar el efecto beneficioso que la activación de ChREBP tiene en la esteatosis hepática. Benhamed y col postulan que la estimulación de ChREBP parece disociar la

esteatosis hepática de la RI, generando efectos paliativos sobre ambos, el metabolismo glucídico y el lipídico, al tamponar los AG lipotóxicos y favorecer la partición de los lípidos en el tejido. Este resultado refuerza el concepto de que no todos los lípidos son perjudiciales para la sensibilidad a la insulina y que, almacenados en el espacio y en el tiempo en zonas adecuadas, pueden generar señales que modulen la adaptación al estrés. Entre las consecuencias que se pueden derivar de estos resultados, se encuentran en primer lugar, la reconsideración del concepto del factor ChREBP como promotor de la esteatosis hepática y de la RI y en segundo, la posibilidad de explorar la expresión de ChREBP como un posible blanco terapéutico del HGNA y de otras manifestaciones del síndrome metabólico(19)

5.3. Receptor X hepático (LXR)

Los receptores LXR son factores de transcripción activados por ligando que pertenecen a la superfamilia de receptores nucleares y cuya función es esencial en la regulación del metabolismo del colesterol y de los ácidos biliares y en el control de la hemeostasis lipídica y glucídica y de la inflamación, en respuesta a oxisteroles. Existen dos isoformas de LXR ($LXR\alpha$ y $LXR\beta$), que presentan entre sí un 78% de identidad y que son codificadas respectivamente por los genes NR1H3 y NR1H2(20). $LXR\alpha$ se expresa mayoritariamente en el hígado y en menor medida en intestino, tejido adiposo blanco, riñón y macrófagos y su función primordial es regular de forma específica de tejido, el metabolismo del colesterol y la lipogénesis *de novo*. Su función esencial en el metabolismo y en el aclaramiento del colesterol en respuesta a oxisteroles y a agonistas sintéticos, contribuye a la eliminación del exceso de colesterol en el organismo. También LXR incrementan la sensibilidad a la insulina y reducen la glucemia, aumentando utilización de la glucosa y reduciendo su producción hepática (figura 5)(22)

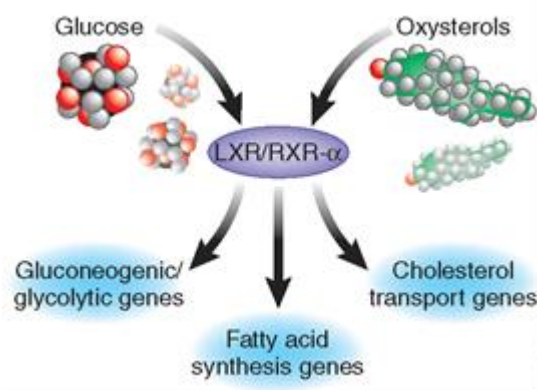


Figura 5: Función de LXR en el metabolismo y aclaramiento del colesterol

Su estructura, común para todos los RN, presenta un dominio activador funcional de la transcripción (AF-1) N-terminal, independiente de ligando; un dominio de interacción del ADN (DBD), que contiene dos dedos de zinc que interaccionan con los sitios DR4 en el promotor de los genes blanco; un dominio D, donde se produce la interacción con cofactores y un dominio de unión a ligandos C-terminal (LBD), que contiene una función activadora dependiente de ligando (AF-2), que media la activación de la maquinaria de transcripción(21)

El receptor LXR es el regulador fundamental de la biosíntesis de los AG en el hígado, función que lleva a cabo mediante un doble mecanismo: un efecto directo sobre los genes que codifican las enzimas lipogénicas ACC, FAS y SCD-1, por interacción con los LXREs funcionales contenidos en su promotor(22) y otro indirecto, ya señalado, que se efectúa mediante el control de la expresión génica de SREBP-1c y ChREBP, que son dianas de LXR. Por ello, la sobreexpresión de LXR en un modelo diabético de ratón o la administración del agonista T0901317(23), inducen una estosis hepática masiva, trigliceridemia y un incremento de la secreción de VLDL. En sentido opuesto, ratones *knockout* ($LXR\alpha^{-/-}$) muestran una disminución en la expresión de los genes lipogénicos indicados, lo que confirma su implicación en el desarrollo del HGNA. El mediador primordial del efecto prolipogénico de LXR es la isoforma $LXR\alpha$ (24).

Por lo tanto, LXR como regulador principal junto con SREBP-1c y ChREBP forman una red de factores de transcripción que, de forma coordinada, controlan la lipogénesis *de novo* hepática y cuya sobreexpresión media la infiltración grasa del hígado en respuesta a la hiperinsulinemia y la hiperglucemia desarrolladas en estados de RI, como en la HGNA.(23) (Fig. 6)

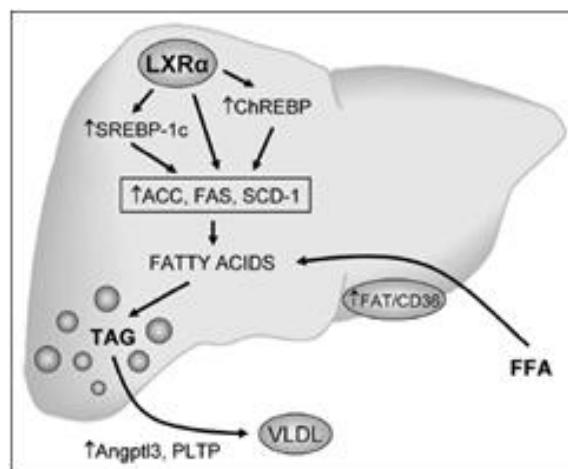


Figura 6: Influencia del factor LXR sobre la lipogénesis *de novo* en hígado

5.4 Receptor activado por el proliferador del peroxisoma gamma (PPAR γ)

El factor PPAR γ pertenece a la familia de los receptores activados por el proliferador de peroxisoma, una superfamilia de receptores nucleares que tienen una estructura similar a los receptores de hormonas tiroideas (THR), ácido retinoico (RAR), vitamina D₃ y hormonas esteroideas. Actúan como factores de transcripción interaccionando con elementos de respuesta, secuencias cortas de ADN, o a través de la regulación de la actividad de otras vías de transducción de señales regulando la expresión de genes implicados en el control de la homeostasis lipídica, metabolismo glucídico, inflamación, crecimiento y diferenciación celular (25).

PPAR γ presenta la estructura común de los receptores nucleares con cinco o seis regiones estructurales en cuatro dominios funcionales. Los PPARs deben formar un heterodímero con el receptor del ácido 9-cis retinoico (RXR) para ser transcripcionalmente activos. En ausencia del ligando, el heterodímero se encuentra unido a proteínas correpresoras como el mediador de silenciamiento para el receptor de hormona tiroidea y retinoide (SMRT) y el correpresor de receptor nuclear (NCoR), que impiden la transcripción génica al prevenir la acetilación de histonas. Tras la activación y unido a su ligando, pueden unirse a varios coactivadores como PGC-1, la histona acetiltransferasa p300, la proteína de unión a CREB y el coactivador del receptor de esteroides (SRC-1), que promueven la iniciación de la transcripción(27)(Fig. 7)

En condiciones normales se expresa a niveles muy bajos en hígado, sin embargo, la expresión hepática de PPAR γ se encuentra elevada en modelos animales de obesidad y diabetes y en pacientes obesos que desarrollan HGNA. Varios estudios atribuyen un papel pro-esteatótico a PPAR γ por mecanismos que implican la activación de los genes lipogénicos y la lipogénesis *de novo*. Se ha demostrado que la sobreexpresión de PPAR γ en el hígado graso en el ratón *ob/ob*, aunque agrava la diabetes, debido a la disminución de la sensibilidad a la insulina. También, en el tratamiento de ratones *ob/ob* con rosiglitazona, agonista de PPAR γ , no ejerce ningún efecto beneficioso sobre la esteatosis y regula al alza los genes hepáticos lipogénicos en este modelo de ratón. Por el contrario, un efecto protector de PPAR γ en el desarrollo de HGNA se ha observado en varios estudios por tratamiento de rosiglitazona, por sobreexpresión hepática de PPAR γ mediada por adenovirus y en ratones sometidos a dietas deficientes en metionina, en los que se atenúa la esteatosis, la inflamación y la fibrosis (26)(Fig. 7).

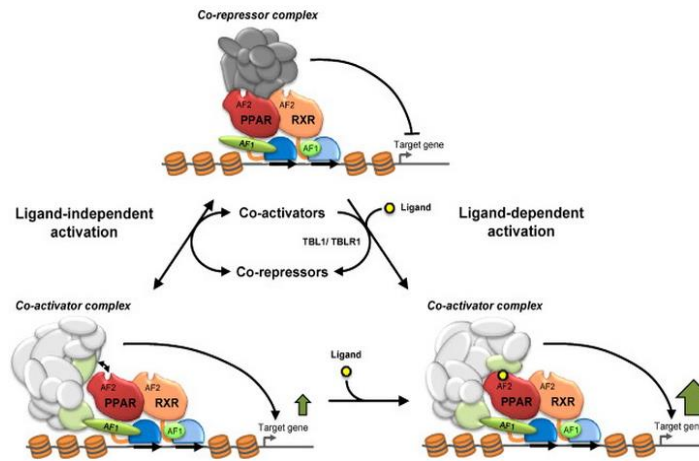


Figura7. Receptor PPAR (a) Heterodímero PPAR-RXR. (b) Activación dependiente e independiente de ligando de PPAR

PPAR γ está implicado en la adipogénesis y el metabolismo lipídico mediante su activación, tanto por ligando endógenos como exógenos. Más concretamente, promueve la diferenciación de adipocitos y el transporte, la síntesis y la captación de ácidos grasos en el tejido adiposo blanco(19)

En el proceso de diferenciación de los adipocitos PPAR γ activa casi todos los factores de transcripción requeridos para este proceso como CCAT/EBPs y ADD1/SREBP-1, que promueven la diferenciación del adipocito y perilipina, proteína que cubre la superficie de las gotitas de lípidos en los adipocitos maduros. De igual forma, regula la lipoproteína lipasa (LPL), la acil-CoA sintetasa (ACS), la acetil-CoA acetil transferasa (ACAT), varias fosfolipasa A (PLA), SREBP-1 y SCD-1 (reguladores de la síntesis de esteroides y ácidos grasos, respectivamente) y la glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (GPDH), implicados en el metabolismo de lípidos. Por otro lado, la activación de PPAR γ en adipocitos incrementa la secreción de adipocitoquinas, con la adiponectina y disminuye la expresión de citocinas proinflamatorias como el TNF α (factor de necrosis tumoral alfa) estabilizando así el desarrollo de la resistencia a insulina.

PPAR γ en esteatosis hepática

En condiciones normales se expresa a niveles muy bajos en hígado, sin embargo, la expresión hepática de PPAR γ se encuentra elevada en modelos animales de obesidad y diabetes y en pacientes obesos que desarrollan HGNA. Varios estudios atribuyen un papel pro-esteatótico a PPAR γ por mecanismos que implican la activación de los genes lipogénicos y la lipogénesis *de novo*. Se ha demostrado que la sobreexpresión de PPAR γ en el hígado graso en el ratón ob/ob, aunque agrava la diabetes, debido a la disminución de la sensibilidad a la insulina. También, en el tratamiento de ratones ob/ob con rosiglitazona, agonista de PPAR γ , no ejerce ningún efecto beneficioso sobre la esteatosis y regula al alza los genes hepáticos lipogénicos

en este modelo de ratón. Por el contrario, un efecto protector de PPAR γ en el desarrollo de HGNA se ha observado en varios estudios por tratamiento de rosiglitazona, por sobreexpresión hepática de PPAR γ mediada por adenovirus y en ratones sometidos a dietas deficientes en metionina, en los que se atenúa la esteatosis, la inflamación y la fibrosis(26)

Los efectos de dicho receptor en la modulación de las características del HGNA podrían deberse a su acción en distintos tejidos y vías(27):

- Su activación aumenta la sensibilidad a la insulina en los tejidos periféricos tales como tejido adiposo y músculo esquelético, disminuyendo de este modo el flujo de los AG al hígado. También se incrementan los niveles de adiponectina, que está asociada con la mejora de la sensibilidad a la insulina. La hiperadiponectinemia además influye directamente en la acumulación de grasa hepática mediante el aumento de la actividad de PPAR α y la regulación al alza de los genes de la β -oxidación de AG.
- En segundo lugar PPAR γ se expresa en las células estrelladas hepáticas y su expresión y actividad transcripcional se reducen durante el proceso de activación desde el fenotipo quiescente a un fenotipo altamente proliferativo y fibrótico. A su vez, PPAR γ inhibe la activación y la proliferación de células estrelladas hepáticas, e induce la apoptosis.
- Además, el receptor se expresa en macrófagos, tales como células de Kupffer, donde se muestran efectos antiinflamatorios. En particular, la activación de PPAR γ transforma monocitos humanos hacia un fenotipo antiinflamatorio M2. Incluso, PPAR γ en los macrófagos regula beneficiosamente la obesidad, resistencia a la insulina y la tolerancia a la glucosa en ratones, lo que puede afectar indirectamente las características de HGNA.
- Por último, PPAR γ podría desempeñar un papel antiinflamatorio en las células endoteliales del hígado, como en otros lechos vasculares, a pesar de la relativamente baja expresión de PPAR γ en células endoteliales y células de Kupffer en comparación con las células parenquimales en ratas.

Debido a estas acciones y a pesar de los mecanismos controvertidos sobre lipogénesis hepática, los ligandos exógenos PPAR γ como las tiazolidindionas (TZD) se utilizan en el tratamiento de HGNA como agentes sensibilizadores de insulina con efectos beneficiosos. Sin embargo, en los estudios realizados también se manifiestan numerosos efectos adversos y, por

ello, actualmente se continua investigando nuevos fármacos moduladores selectivos de estos receptores.

CONCLUSIONES

- 1- El HGNA puede ser considerado como la manifestación hepática del síndrome metabólico cuya primera causa es la RI. El acúmulo de TG en los hepatocitos es básicamente el resultado del aumento del aporte de AGL circulantes y de la lipogénesis *de novo*.
- 2- Los factores de transcripción SREBP-1c, ChREBP y LXR forman una red funcional interactiva que regula al alza la transcripción de genes que codifican enzimas de la biosíntesis del AG y de los TG en respuesta a insulina, glucosa y oxisteroles y que están implicados en el desarrollo del HGNA.
- 3- Los PPAR γ son receptores nucleares que regulan la expresión de genes implicados en la homeostasis lipídica, el metabolismo glucídico, la inflamación y la diferenciación celular. Sus agonistas endógenos y exógenos se utilizan en el tratamiento de patologías relacionadas con el síndrome metabólico y HGNA.

El mayor conocimiento de la interrelación funcional y diferencial de los factores de transcripción SREBP-1C, ChREBP, LXR y PPAR γ en el hígado permitirán conocer los mecanismos de la lipogénesis *de novo* y de la RI en alteraciones metabólicas y HGNA. Es posible que en un futuro próximo se describan aplicaciones terapéuticas novedosas que permitan desarrollar moléculas selectivas que modulando estos factores de transcripción, sin efectos secundarios, puedan tener efectos terapéuticos específicos sobre el HGNA y su progresión a la EHNA.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bellentani S, Saccoccio G, Masutti F, Croce LS, Brandi G, Sasso F, et al. Prevalence of an risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Ann Intern Med* 2000; 132:112-7
2. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesisni G, Brunello F, Carucci P, et al. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: From cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2002;123:134-40
3. Medina J. Fernández-Salazar I.I., García-Buey L., Moreno-Otero R. Approach to the pathogenesis and treatmente of nonalcoholic steatohepatitis. *Diabetes Care* 2004;27:2057-66
4. Targher G, Marra F, Marchesini G. Increased risk of cariovascular disease in non-alcoholic fatty liver disease: causal effect or epiphenomenon? *Diabetologia* 2008;51:1947-53
5. Solís Herruzo JA, García Ruiz I, Pérez Carreras M, Muñoz Yagüe MT. Non-alcoholic fatty liver disease. From insulin resistance to mitochondrial dysfunction. *Rev. Esp Enferm Dig* 2006;98:844-74
6. Medina J, Moreno-Otero R. Pathophysiological basis for antioxidant therapy in chronic liver disease. *Drugs* 2005;65:2445-61
7. National Cholesterol Education Program. Second repor of the expert panel on detection, evaluationm, an treatmente of high blood cholesterol in adults. *Circulation*. 1994;89:1333-1445.
8. Horton, J.D., Goldstein, J.L., Brown, M.S., 2002. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest* 109, 1125-1131.
9. Lin, J., Yang, R., Tarr, P.T. y col. 2005. Hyperlipidemic effects of dietary saturated fats mediated through PGC-1beta coactivation of SREBP. *Cell* 120, 261-273
10. Peterson, T.R., Sengupta, S.S., Harris, T.E. y col. 2011. mTOR complex 1 regulates lipin 1 localization to control the SREBP pathway. *Cell* 146, 408-420.

11. Hasty, A.H., Shimano, H., Yahagi, N., Amemiya-Kudo, M. y col. 2000. Sterol regulatory element-binding protein-1 is regulated by glucosa at the transcriptional level. *J Biol Chem* 275, 31069-31077
12. Bécard, D., Hainault, I., Azzout-Marniche, D. y col. 2001. Adenovirus-mediated overexpression of sterol regulatory element binding protein-1c mimics insulin effects on hepatic gene expression and glucose homeostasis in diabetic mice. *Diabetes* 50, 2425-2430.
13. Shimomura, I., Bashmakov, Y., Horton, J.D., 1999. Increased levels of nuclear SREBP-1c asociated with fatty livers in two mouse models of diabetes mellitus. *J Biol Chem* 274, 30028-30032
14. Lemoine, M., Barby, V., Girard, P.M. y col. 2006. Altered hepatic expressio of SREBP-1c and PPARgamma is associated with liver injury in insulin-resistant lipodystrophic HIV-infected patients. *AIDS* 20, 387-395
15. Moon, Y.A., Liang, G., Xie, X. y col., 2012. The Scap/SREBP pathway is essential for developing diabetic fatty liver and carbohydrate-induced hypertriglyceridemia in animals. *Cell Metab* 15, 240-246
16. Robinchon, C., Girard, J., Postic, C., 2008. Can the hyperactivity of lipogenesis cause hepatic steatosis? A role for ChREBP. *Med Sci (Paris)* 24, 841-846
17. Eissing, L., Scherer, T., Tödter, K y col. 2013. De novo lipogenesis in human fat and liver is linked to ChREBP- β and metabolic health. *Nat. Commun* 4, 1528-1549.
18. Benhamed, F., Denechaud, P.D., Lemoine, M. y col. 2012. The lipogenic transcription factor ChREBP dissociates hepatic steatosis from insulin resistance in mice and humans. *J Clin Invest* 122, 2176-2194.
19. Charlton, M.R., 2013. ChREBP in NASH – a liver transcription factor comes in from the cold. *J Heptatol* 59, 178-179
20. Willy, P.J., Umesono, K., Ong, E.S. y col. 1995. LXR, a nuclear receptor that defines a distinct retinoid response pathway. *Genes Dev* 9, 1033-1045
21. Viennoi, E., Pommier, A.J., Mouzat, K. y col. 2011. Both liver-X receptor (LXR) isoforms control energy expenditure by regulatin brown adipose tissue activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 108, 403-408.

22. Joseph, S.B., Laffitte, B.A., Patel, P.H. y col. 2002. Direct and indirect mechanisms for regulation of fatty acid synthase gene expression by liver X receptors. *J Biol Chem* 277, 11019-11025
23. Grefhors, A., Elzinga, B.M., Voshol, P.J. y col. 2002. Stimulation of lipogenesis by pharmacological activation of the liver X receptor leads to producing of large, triglyceride-rich very low density lipoprotein particles. *J Biol Chem* 277, 34182-34190
24. Repa, J.J., Liang, G., Ou, J. y col. 2000. Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene (SREPB-1C) by oxysterol receptors, LXRalpha and LXRbeta. *Genes Dev* 14, 2819-2830.
25. Aranda, A., Investigaciones, I. De, & Alberto, B. (2010). La superfamilia de los receptores nucleares.
26. Nan, Y.M., Han, F., Kong, L.B., Zhao, S.X., Wang, R.Q., Wy, W.J., Yu, J. (2011). Adenovirus-mediated PPAR γ overexpression prevents nutritional fibrotic steatohepatitis mice. *Scand J Gastroenterology*, 46 (3), 358-69
27. Poulsen, L.L.C., Siersbaek, M., & Mandrup, S. (2012). PPARs: Fatty acid sensors controlling metabolism. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 23(6), 631-639.