

Nuevas perspectivas en el estudio de las alteraciones lipídicas en la enfermedad del hígado graso no alcohólico: consecuencias de la comunicación entre el hígado y el tejido adiposo

New perspectives in lipid disorders evaluation in non alcoholic fatty liver disease: consequences of liver and adipose tissue cross-talk

Dra. María Florencia Bermejo¹, Dra. Magalí Barchuk¹, Dr. Nahuel Fernandez Machulsky¹, Dra. Laura Schreier¹, Dra. Gabriela Berg^{1,2}

¹ Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC), Departamento de Bioquímica Clínica, Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

² Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, CONICET, Buenos Aires, Argentina

Resumen

Definida por la presencia de esteatosis en hepatocitos en ausencia de otras causas de enfermedad hepática crónica, la enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) es la afección hepática más frecuente en la población adulta alrededor del mundo. Está asociada principalmente con la presencia de obesidad, y está identificada como un factor de riesgo para distintas entidades clínicas, como la diabetes tipo 2 y la enfermedad cardiovascular. La hipertrigliceridemia, con acumulación de remanentes lipoproteicos, es la característica saliente de la dislipidemia de esta afección; sin embargo, los mecanismos implicados no están completamente esclarecidos.

Debido a la preeminencia de la EHGNA, su asociación con la enfermedad cardiovascular y la actual investigación de nuevos actores en la dislipidemia relacionada, esta revisión se propone actualizar los mecanismos subyacentes a esta última, enfocándose en la comunicación existente entre dos órganos protagónicos de este acto: el hígado y el tejido adiposo. Nos explayaremos acerca del papel de distintos mediadores de dicha comunicación, como son los reguladores de las enzimas lipolíticas y las vesículas extracelulares, entre otros. El protagonismo de estos nuevos mediadores abre el camino hacia el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas o su utilización como posibles biomarcadores de la enfermedad.

PALABRAS CLAVE: EHGNA, tejido adiposo, remanentes lipoproteicos, lipoproteína lipasa, vesículas extracelulares, miARN, apolipoproteínas, ANGPTL

Abstract

Defined by the presence of steatosis in hepatocytes, in the absence of other causes of chronic hepatic diseases, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most frequent hepatic pathology in the adult population worldwide. It is associated with obesity, and identified as well as a risk factor for different pathologies, such as type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. Hypertriglyceridemia and remnant lipoproteins accumulation is the main feature of this pathology, yet the underlying mechanisms are not completely identified.

Given the importance of NAFLD, its association with cardiovascular diseases and the emerging research about new actors involved in the development of hypertriglyceridemia, this review aims to provide an update in the underlying mechanisms of dyslipidemia, focusing on the cross-talk between two protagonic tissues: hepatic and adipose tissue. The role of different mediators of this cross-talk, such as lipolytic enzymes regulators and extracellular vesicles, are reviewed as well. The crucial contribution of these new mediators sheds light to the development of new therapeutic alternatives or their use as biomarkers in the pathology.

KEYWORDS: NAFLD, adipose tissue, remnant lipoproteins, lipoprotein lipase, extracellular vesicles, miRNA, apoproteins, ANGPTL

INTRODUCCIÓN

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) es la enfermedad hepática crónica más común en el mundo, afecta hasta el 25% de la población adulta, con mayor prevalencia en las personas obesas y diabéticas, alcanzando hasta 50% y 22%, respectivamente.¹

La EHGNA se define por la presencia de esteatosis, en al menos el 5% de los hepatocitos, en ausencia de otras causas de enfermedad hepática crónica y/o de esteatosis, como consumo de alcohol mayor de 20 g/día, uso prolongado de medicación esteatogénica o trastornos monogénicos hereditarios; por lo tanto, el diagnóstico de esta enfermedad es un diagnóstico por exclusión.²

La EHGNA abarca un amplio espectro histológico, desde la esteatosis simple hasta la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), la cual se caracteriza por la presencia de lesión hepatocitaria (balonización), con fibrosis o sin ella.³ Si bien un alto porcentaje de pacientes con esteatosis simple no presentan formas

graves de la enfermedad, la esteatohepatitis puede progresar tanto a cirrosis como a insuficiencia hepática o hepatocarcinoma celular. La falta de biomarcadores para diagnosticar las diferentes etapas de la EHGNA mediante estrategias no invasivas es, por el momento, un desafío dentro de la comunidad científica, en la que la biopsia hepática es el método de referencia (*gold standard*) diagnóstico a nivel global.² La necesidad de facilitar el tamizaje y el diagnóstico de esta afección ha conducido a la propuesta de alternativas secundarias a la biopsia en la práctica clínica; una revisión muy reciente profundiza en estas propuestas.⁴

Dado el papel crucial del hígado en el metabolismo de los hidratos de carbono y de los lípidos, la frecuente presencia de EHGNA en individuos con obesidad refleja un factor de riesgo para muchas enfermedades metabólicas como la diabetes tipo 2 (DBT2),⁵ y otros trastornos extrahepáticos como la enfermedad renal crónica y diversas neoplasias malignas. Esta evidencia permite pensar la EHGNA como un trastorno metabólico multisistémico.

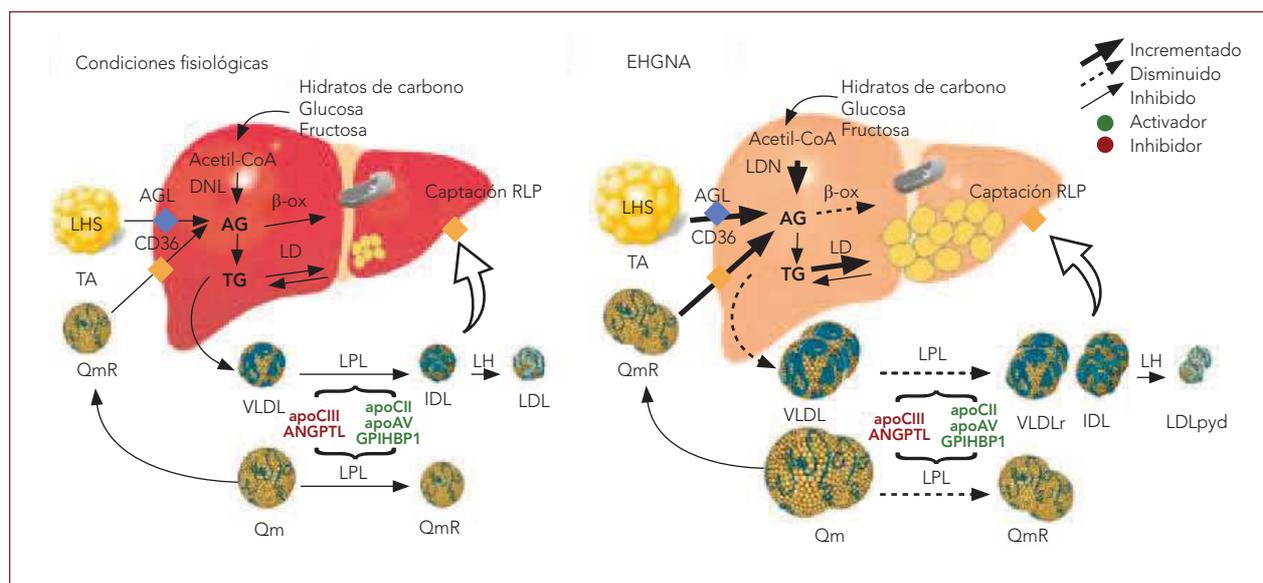


Figura 1. Metabolismo lipídico y mecanismos subyacentes a la dislipidemia de la EHGNA.

A. En condiciones fisiológicas, el ingreso de AG al hígado proveniente de los QmR y la lipólisis del TA se encuentra compensado con el catabolismo a nivel mitocondrial y su salida como TG en las VLDL. Estos procesos se equilibran con la acumulación de TG dentro de las LD, que proveen la mayor parte de sustrato para la síntesis de las VLDL. Las enzimas lipolíticas ajustan finamente su actividad de acuerdo con el tejido y con el estado de ingesta-ayuno mediante el balance entre sus activadores e inhibidores.

B. En la EHGNA, el TA insulinoresistente experimenta lipólisis exacerbada, lo que provoca mayor flujo de AGL hacia el hígado. Este presenta insulinoresistencia selectiva, en la que coexisten tanto gluconeogénesis como LDN. En este contexto, la esteatosis hepática resulta de la acumulación de AG como TG mediante la disminución en la β-oxidación mitocondrial, el aumento en la captación de RLP y la disminución de la salida de TG en las VLDL. El exceso de lípidos se acumula dentro de LD, de tipo macrovesicular, producto de su coalescencia por la inestabilidad asociada con cambios en su perfil fosfolipídico. El catabolismo de LPL sobre los QmR y las VLDL enriquecidas en TG disminuye, causando hipertrigliceridemia. El grado de contribución que tienen los reguladores de la actividad de LPL, muchos de ellos de síntesis hepática, en la EHGNA aún se encuentra en estudio.

AG, ácidos grasos; AGL, ácidos grasos libres; ANGPTL, proteínas similares a las angiopoyetinas; apoAV, apoproteína AV; apoCII, apoproteína CII; apoCIII, apoproteína CIII; β-ox, β-oxidación mitocondrial; CD36, transportador de AG; EHGNA, enfermedad de hígado graso no alcohólico; GPIHBP1, *glycosylphosphatidylinositol anchored high density lipoprotein binding protein 1*; IDL, lipoproteína de densidad intermedia; LDN, lipogénesis de novo; LD, gotas lipídicas; LDL, lipoproteínas de baja densidad; LDLpyd, LDL pequeñas y densas; LH, lipasa hepática; LHS, lipasa hormonosensible; LPL, lipoproteína lipasa; Qm, quilomicrones; QmR, quilomicrones remanentes; RLP, remanentes lipoproteicos; TA, tejido adiposo; VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad; VLDL-R, lipoproteínas de muy baja densidad remanentes.

Dentro del espectro de afecciones asociadas con la EHGNA, una de las más estudiadas es la enfermedad cardiovascular (ECV);⁶ la mayoría de los estudios observacionales asocian la morbimortalidad de la EHGNA con esta causa. Sin embargo, en vista de estudios recientes de aleatorización mendeliana, la evidencia es controvertida,⁷ por lo que no se puede aseverar si la EHGNA representa un mero epifenómeno en el marco del riesgo cardiovascular tradicional o un actor activo e independiente en el desarrollo de la misma.

Tradicionalmente se consideraba la EHGNA como la manifestación hepática del síndrome metabólico (SM), debido a su alta asociación con obesidad abdominal, DBT2, hipertensión y dislipidemia aterogénica. Esta última se caracteriza por la presencia de hipertrigliceridemia, acumulación de remanentes lipoproteicos (RLP), niveles disminuidos de colesterol asociado con lipoproteínas de alta densidad (HDLc) y predominio de partículas de lipoproteínas de baja densidad (LDL) pequeñas y densas. Sin embargo, los mecanismos subyacentes a esta dislipidemia no se encuentran completamente dilucidados y nuevos factores emergentes han sido propuestos para explicarlos.

Dada la relevancia actual de la EHGNA y su clara asociación con la ECV, el objetivo de la presente revisión es realizar una actualización sobre los mecanismos subyacentes a la hipertrigliceridemia característica de esta enfermedad, profundizando en el papel de la comunicación entre el hígado y el tejido adiposo, y el protagonismo de los actores emergentes en este diálogo.

FISIOPATOLOGÍA

El mecanismo subyacente para la aparición y progresión de la EHGNA es complejo y multifactorial. Se han formulado diferentes teorías que condujeron inicialmente a la hipótesis de los dos “hitos”. De acuerdo con esto, la acumulación hepática de lípidos secundaria al estilo de vida sedentario, la dieta alta en grasas, la obesidad y la resistencia a la insulina (RI), actúan como el primer golpe, sensibilizando al hígado a más agresiones. El “segundo golpe” activa las cascadas inflamatorias y la fibrogénesis.⁸ Sin embargo, rápidamente se hizo evidente que este punto de vista es demasiado simplista y, en consecuencia, una hipótesis de

impactos múltiples ha sustituido a la anterior, en la que diversos factores paralelos actúan de forma insidiosa y sinérgica en individuos genéticamente predispuestos.⁹

En ambos casos, la RI es uno de los factores clave, dando como resultado, en el hígado, un aumento de la lipogénesis *de novo* (LDN), y en el tejido adiposo (TA), una alteración en la lipólisis y en la producción de adipocitoquinas proinflamatorias.¹⁰ Como consecuencia, se produce un aumento del flujo de ácidos grasos libres (AGL) al hígado, los cuales se acumulan en forma de triglicéridos (TG). Paralelamente, aumenta la lipotoxicidad por niveles altos de AGL y otros metabolitos lipídicos, con la consecuente disfunción mitocondrial, estrés oxidativo y producción de especies reactivas de oxígeno.⁹

La visión actual considera también el impacto de factores como la flora intestinal alterada, que conduce al aumento en la absorción de AGL y en los niveles circulantes de citoquinas proinflamatorias como la interleuquina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α).⁹ A su vez, el contenido de grasa y el ambiente inflamatorio hepático podrían verse alterados en personas genética o epigenéticamente predispuestas.

El papel del tejido adiposo

En los individuos en los que se establece un desequilibrio en el aporte energético en forma crónica, el TA sufre un proceso de remodelamiento para mejorar su capacidad de almacenamiento mediante hipertrofia e hiperplasia.^{11,12} Si estos procesos no se acompañan de una correcta angiogénesis, los adipocitos sufren hipoxia, necrosis, infiltración, inflamación y alteración en el perfil de adipocitoquinas, generando *metainflamación*, que se desarrolla gradualmente sin resolución.¹³ Este proceso se ve incrementado con la participación de otros tipos celulares presentes en el TA inflamado, principalmente macrófagos de tipo proinflamatorio (M1). Debido a la alteración en las vías de señalización que provoca la cascada inflamatoria, entre otros factores, los adipocitos son resistentes a la insulina, lo que provoca una lipólisis exacerbada, principalmente a expensas de la mayor actividad de la lipasa hormonosensible, promoviendo el flujo de AGL hacia sitios ectópicos, sobre todo el hígado. Un

papel fundamental en la interacción entre el TA y el hígado es llevado a cabo por mediadores derivados del TA, como la leptina y la adiponectina. Esta última actúa principalmente como sensibilizante a la insulina y antiinflamatoria; su concentración disminuida en pacientes con obesidad tiene impacto directo en el deterioro de la función hepática y en la dislipidemia de los pacientes con EHGNA.¹⁴

LA COMUNICACIÓN ENTRE EL HÍGADO Y EL TEJIDO ADIPOSO EN LA HIPERTRIGLICERIDEMIA

Los componentes de la dislipidemia aterogénica que acompañan a la EHGNA no son fenómenos aislados, sino que se encuentran metabólicamente relacionados de una forma muy estrecha, y resultan de una compleja interacción, principalmente entre el hígado y el TA.

Más allá del indiscutible papel aterogénico de las LDL, hoy en día es reconocido el papel de las lipoproteínas ricas en TG (LRT) y sus remanentes como factores de riesgo que contribuyen a la aparición de ECV.¹⁵ En este sentido, el papel de los TG plasmáticos y la medida del colesterol asociado con LRT ha cobrado gran interés en la predicción del riesgo aterogénico residual de los pacientes con DBT2 y EHGNA,¹⁶ dada su permanencia elevada, aun luego de tratamientos farmacológicos destinados a disminuir el colesterol asociado con LDL.¹⁷

El aumento de LRT y sus remanentes en la circulación de los pacientes con EHGNA es el resultado tanto de una sobreproducción hepática como de un catabolismo disminuido.

La acumulación de TG intrahepáticos depende, en parte, de la oferta de AGL a los hepatocitos, siendo esta acumulación dependiente de la dosis.¹⁸ Estos AGL provienen principalmente de la lipólisis del TA y, en menor medida, de la hidrólisis de quilomicrones (Qm), la captación de RLP mediante receptores específicos, y la LDN. Esta última contribuye, aproximadamente, solo al 5% de los AG contenidos en las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).¹⁹ Sin embargo, en la hiperinsulinemia característica del estado de RI, este proceso se ve estimulado conjuntamente con una disminución de la beta oxidación. En el estado

posprandial, este proceso, así como el aumento en la captación hepática de RLP, se ve incrementado,¹⁹ contribuyendo significativamente a la acumulación de TG intrahepáticos en la EHGNA.

En condiciones fisiológicas, el exceso de grasa se almacena en gotas lipídicas o “*lipid droplets*” (LD); estos orgánulos funcionan como depósitos energéticos y, a la vez, protegen a las células de la lipotoxicidad.²⁰ Las LD de mayor tamaño se han hallado en hígado y TA,²¹ de manera que estas LD macrovesiculares son la marca distintiva de la esteatosis hepática. Estas proveen la mayoría de los TG para la síntesis y el ensamblaje de las VLDL, en un complejo proceso de cesión de lípidos entre orgánulos en el que intervienen numerosas proteínas y de cuya regulación dependería el balance entre el almacenamiento y la secreción de lípidos hepáticos.²⁰ Tanto las LD como las VLDL se caracterizan por ser sintetizadas a partir del retículo endoplasmático, por tener un *core* de lípidos neutros y estar rodeadas por fosfolípidos y proteínas específicas asociadas con su superficie.²¹ El contenido relativo de distintos fosfolípidos es uno de los factores que podría determinar, por un lado, la coalescencia de las LD, y por otro, la degradación parcial de VLDL dentro del hepatocito, resultando en una disminución en su secreción y la consiguiente esteatosis hepática.²⁰

En estas circunstancias, en la EHGNA, el proceso de síntesis de VLDL es complejo, y en lugar de responder linealmente al contenido hepático de TG, suele observarse una meseta (*plateau*), responsable de una capacidad disminuida de exportar TG-VLDL.²² Se ha descrito la producción de partículas grandes y ricas en TG como alternativa para la secreción de lípidos por parte del hígado, principalmente en EHGNA sin fibrosis.¹⁴ Sin embargo, a medida que avanza el grado de fibrosis, las VLDL presentan menor masa y contenido de TG, probablemente consecuencia de la menor eficiencia en la síntesis de la lipoproteína,¹⁵ asociado con el efecto inhibitorio de la insulina sobre la síntesis de apolipoproteína (apo) B.²³

Sin embargo, la sobreproducción de partículas enriquecidas en TG solo explica una pequeña parte de la variación en la trigliceridemia de los pacientes con EHGNA,¹⁹ mientras que el camino catabólico de las lipoproteínas explica aproximadamente

un 50%. En este sentido, un catabolismo alterado de las LRT es el principal determinante de la hipertrigliceridemia en pacientes obesos e insulinoresistentes con EHGNA.¹⁹

¿Cuál es la respuesta del TA en este escenario?

El TA adquiere su papel protagónico en los mecanismos que llevan a la dislipidemia, y es manifiesta su comunicación con el hígado.

Tanto los TG exógenos como endógenos, contenidos en Qm y VLDL, respectivamente, son hidrolizados por la enzima lipoproteína lipasa (LPL), es entonces esta la principal responsable del catabolismo de estas LRT. La LPL se expresa en numerosos tejidos, y presenta niveles muy altos en el TA.²⁴ El resultado de la acción de la LPL sobre las LRT da como productos AGL y remanentes lipoproteicos, y está regulada por la acción de la insulina. Se ha demostrado que, en situaciones de RI, la expresión y actividad de esta enzima se encuentra disminuida, tanto en la circulación^{25,26} como en el TA y el miocardio,¹² lo que contribuiría al menor catabolismo de las LRT y, en consecuencia, a la hipertrigliceridemia y acumulación de RLP. La actividad de esta enzima y su efecto final sobre el catabolismo de las LRT en los pacientes con EHGNA será el resultado del comportamiento de sus reguladores en esta enfermedad.

La interacción entre el hígado y el TA en la síntesis y el catabolismo de las LRT en los pacientes con EHGNA es aún más compleja, y no totalmente esclarecida. En este sentido, numerosos factores podrían ser propuestos como mediadores de este diálogo.

LOS MEDIADORES DE LA COMUNICACIÓN HÍGADO-TA: LOS REGULADORES DE LAS LIPASAS

La actividad de la LPL es el resultado de una fina regulación que resulta del equilibrio entre moduladores positivos y negativos. Entre los primeros cabe destacar la apoAV y la apoCII, y la proteína *glycosylphosphatidylinositol anchored high density lipoprotein binding protein 1* (GPIHBP1); entre los reguladores negativos se destacan las proteínas similares a las angiopoyetinas (ANGPTL) y la apoCIII.

En qué medida influye cada uno de estos actores en la actividad de LPL en la EHGNA, es aún motivo de estudio.

Apolipoproteínas (apoCII/apoCIII/apoAV)

Las apoC son polipéptidos pequeños que circulan formando parte de Qm, VLDL y HDL, y participan activamente de su metabolismo.

La principal función de la apoCII es promover la actividad de LPL en la hidrólisis de los TG de VLDL y Qm para almacenamiento o utilización; esta apolipoproteína es un factor necesario para la actividad enzimática.²⁷

Por otra parte, la apoCIII, de síntesis principalmente hepática y en menor medida intestinal, es un inhibidor bien conocido de la actividad de LPL y se propone como un factor de riesgo cardiovascular emergente. Se ha informado que la apoCIII promueve la hipertrigliceridemia al obstaculizar la captación hepática de los RLP, a través del receptor LRP1,¹⁹ y por otro lado, favorecer la síntesis y secreción de VLDL.²⁸

La sobreexpresión de apoCIII en modelos murinos promueve la aparición de esteatosis hepática, independientemente del tipo de dieta,²⁹ mientras que se ha reportado una disminución concomitante de apoCIII y TG plasmáticos en pacientes con EHGNA y obesidad bajo dietas restringidas en hidratos de carbono.³⁰ Se propone entonces que la actividad final de la LPL resultaría del equilibrio entre la relación apoCII/apoCIII.²⁷

La apoAV es una apolipoproteína de síntesis hepática, asociada en la circulación con HDL y VLDL, con un papel fundamental en el metabolismo de los TG. Se ha demostrado *in vitro* que la apoAV se vincula con el activador de LPL GPIHBP1, facilitando la hidrólisis llevada a cabo por la enzima sobre las LRT.³¹ Por otro lado, esta apolipoproteína podría estar relacionada con el metabolismo lipídico intracelular de los TG, a partir de su asociación con LD, demostrada en líneas celulares.³² En este sentido, la apoAV participaría en el ensamblaje y estabilidad de las LD, así como en el almacenamiento y la secreción de TG hepatocitarios, encontrándose aumentada en estados de obesidad y RI.³³ Explorando esta

relación entre apoAV y la secreción de TG desde el hígado, estudios en roedores demostraron que la sobreexpresión de apoAV reduce la secreción de TG mediada por VLDL, no así la de apoB, lo que resulta en la formación de partículas de VLDL más pequeñas, sin afectar su número.³⁴

En vista de lo complejo que resulta el papel de esta apolipoproteína, estudios *in vitro* demostraron recientemente que la sobreexpresión de apoAV en líneas de hepatocitos insulinoresistentes, previene la aparición y progresión de RI mediante la regulación de distintos genes.³⁵ Sin embargo, todavía no está claro si la apoAV participa activamente en la fisiopatología de la enfermedad o si solo es un mero biomarcador de la acumulación de TG en el hígado.³⁶

ANGPTL

Las ANGPTL 1-8 pertenecen a una familia de glucoproteínas de secreción que comparten su arquitectura molecular; sin embargo, llevan a cabo diferentes funciones fisiológicas. En el metabolismo lipídico se destaca la función de ANGPTL 3, ANGPTL 4 y ANGPTL 8 con un patrón específico de tejido, variando su expresión frente a condiciones de ingesta-ayuno, lo que permite direccionar el flujo de AG para su almacenamiento u oxidación, respectivamente.³⁷ La ANGPTL 3 y la ANGPTL 8 son de producción hepática e inducidas por la ingesta; ambas modularían principalmente los niveles de TG circulantes, a partir de la inhibición de LPL y la consecuente disminución en la depuración (*clearance*) de Qm y VLDL. Se ha reportado que ANGPTL 3 induce lipólisis en el TA, liberando AGL y glicerol, con el consiguiente incremento del aporte de estos hacia el hígado, contribuyendo así a la esteatosis hepática. Por su parte, la ANGPTL 4 no solo presenta producción hepática, sino también en otros tejidos, entre ellos el TA.³⁸ De esta forma, su acción puede ser no solamente endocrina, sino también autocrina sobre el tejido que la produce. Además de su conocido rol en la inhibición de la actividad de LPL,³⁸ la ANGPTL 4 previene la captación de TG en el TA durante el ayuno y estimula

la lipólisis, permitiendo la movilización de los AG hacia otros tejidos para su utilización como fuente de energía.^{37,38}

Con referencia al comportamiento de estas proteínas en la EHGNA, se ha demostrado que los niveles de ANGPTL 8 se correlacionan positivamente con el contenido lipídico hepatocelular, de manera independiente de la presencia de obesidad y del índice HOMA-IR, lo que podría posicionarla como un nuevo predictor de gravedad en esta enfermedad,³⁹ hallándose asociada con la incidencia de esta última.⁴⁰

Por otra parte, los niveles séricos de ANGPTL 3 en pacientes con EHGNA se han vinculado con estadios avanzados de la enfermedad y el grado de RI de los pacientes, evaluado a partir del índice HOMA-IR.⁴¹

Si bien aún no existe evidencia sobre el papel de la ANGPTL 4 en la EHGNA, no debe descartarse su contribución a la hipertrigliceridemia en estos pacientes, dado su rol en la modulación negativa de la LPL en el TA.

GPIHBP1

La proteína GPIHBP1 es una molécula expresada en numerosos tejidos, entre los que se destacan músculo esquelético, cardíaco y TA, y presenta un patrón de expresión similar al de LPL,²⁴ y altamente vinculado con el equilibrio energético y el metabolismo lipídico.⁴² La GPIHBP1 funciona como transportador de LPL desde el compartimento basolateral del endotelio hacia el lumen, donde lleva

Tabla 1. MicroARN estudiados en la EHGNA asociados con el metabolismo lipídico.

	miR-122	miR-34a	miR-33a miR-33b	miR-21
Expresión	Hepática (70%)	Hepática (débil)	Hepática	Hepática suprimida en condiciones fisiológicas
Actividad relacionada	Captación AG Lipogénesis β-oxidación	β-oxidación	Eflujo COL Lipogénesis β-oxidación	Captación AG Lipogénesis β-oxidación Inflamación
Detección	EHGNA EHNA	EHNA	EHGNA EHNA	EHNA
Utilidad	Biomarcador	Biomarcador	Blanco terapéutico	

Alteraciones de miR-122, miR-33, miR-34a, miR-34b y miR-21, tanto de expresión como de actividad, contribuyen a la aparición y progresión de la EHGNA a estadios más graves. Se indican los miR vinculados con la esteatosis hepática en la EHGNA, con las funciones en el metabolismo lipídico, sin ser las únicas reportadas.

a cabo su función de lipasa. A su vez, se propone a la GPIHBP1 como un factor necesario para la actividad de LPL, junto a la apoCII, dado que contribuye a la actividad de la enzima, reduciendo por un lado la tasa de inactivación espontánea de su dominio catalítico, e impidiendo, por el otro, la inhibición de LPL por ANGPTL 3 y ANGPTL 4.⁴²

Dado que hasta la fecha no se ha profundizado en el estudio del comportamiento de la GPIHBP1, particularmente en la EHGNA, y considerando su papel crucial en el metabolismo lipídico, resulta de especial interés su evaluación en esta enfermedad, con el fin de conocer su función como mediador de la comunicación entre el hígado y el TA y como potencial blanco terapéutico.

EHGNA Y OTROS ELEMENTOS REGULADORES (microARN Y VESÍCULAS EXTRACELULARES)

La EHGNA está asociada con una completa reprogramación de los mecanismos fisiológicos involucrados en el metabolismo hepático, lo que resulta en la desregulación de vías de señalización y expresión génica. Surgen como objeto de estudio innovadores elementos como los microARN (miARN) y las vesículas extracelulares (VE).

Entre los primeros se destacan los indicados en la Tabla 1, involucrados en el metabolismo lipídico y estudiados como posibles biomarcadores del grado de progresión de la EHGNA.⁴³

Por otra parte, las VE son estructuras membranosas, sintetizadas en todos los tipos celulares y liberadas al espacio extracelular, pudiéndose encontrar en diferentes fluidos biológicos. Mediante su carga, que consiste en lípidos, proteínas y material genético (mARN, miARN, ADN, entre otros), pueden proporcionar comunicación entre los diferentes tipos celulares y entre órganos, creando una red que permite mantener la homeostasis. La carga de las VE refleja el estado de la célula de origen en el momento de la liberación, a la vez que tiene la capacidad de regular las funciones celulares.

Es reconocido su rol en la fisiopatología de varias afecciones hepáticas, incluida la EHGNA, a partir de cambios cuantitativos y cualitativos, lo que brinda oportunidades y desafíos en su evaluación como

biomarcadores, dianas terapéuticas o vehículos para la administración farmacológica.⁴⁴

Tanto la EHGNA como la EHNA se caracterizan no solo por un aumento de VE circulantes, sino también por cambios en su composición asociados con lipotoxicidad, promoción de esteatohepatitis y fibrosis.⁴⁴ Reciente evidencia sugeriría que las VE derivadas de hepatocitos cargados de TG podrían influir en la señalización en otros órganos, como el TA, favoreciendo la adipogénesis y la remodelación del tejido.⁴⁵

Los cambios dinámicos de la generación de VE en condiciones patológicas y la accesibilidad para medirlos y analizarlos en muestras biológicas las convierten en buenos candidatos para ser utilizados como biomarcadores de enfermedades. La accesibilidad relativa de las pruebas y la capacidad de realizar mediciones repetidas a lo largo del tiempo podrían facilitar el diagnóstico temprano, el seguimiento de enfermedades y el desarrollo de la medicina personalizada. Además, el perfeccionamiento de las técnicas que permiten el aislamiento y la caracterización en profundidad de las cargas de VE podría conducir a la identificación de perfiles moleculares específicos de la enfermedad, proporcionando amplias oportunidades para que las VE se utilicen como biomarcadores no invasivos adecuados, restando aún la estandarización de los procesos para su análisis.⁴⁴

UN ENFOQUE LIPIDÓMICO DE LA EHGNA

El estudio de las especies lipídicas individuales, más allá de su concentración, ha recibido especial atención en los últimos años, dadas las propiedades bioactivas que presentan. En este sentido, la EHGNA no ha sido la excepción.

Un trabajo muy reciente ha abordado el uso de las diferentes *ómicas* en el estudio de la fisiopatología de la EHGNA, así como en las perspectivas diagnósticas y terapéuticas.⁴⁶ Entre estas, la lipidómica, como estudio de todas las especies lipídicas celulares o circulantes, reviste gran importancia y es una de las más analizadas en esta afección.

Se han demostrado cambios en el lipidoma hepático de pacientes con EHGNA, que incluyen aumento

en el contenido de AG saturados, colesterol y esfingolípidos, entre otros, con disminución en el contenido de AG insaturados, especialmente omega 3.⁴⁷ Mientras que el contenido de AG saturados se incrementa con la gravedad del cuadro,⁴⁶ la acumulación de especies bioactivas, como fosfolípidos o lisofosfolípidos, ha demostrado tener efectos deletéreos, como la estimulación de la liberación de VE que desencadenan procesos proinflamatorios,⁴⁸ inducción de la apoptosis, disminución de la secreción de VLDL y formación de LD alteradas.⁴⁹ Se ha demostrado, además, un incremento de ceramidas en el hígado de pacientes con EHGNA, induciendo RI,⁴⁷ hepatotoxicidad y fibrosis.⁵⁰ Este último hallazgo se encuentra en concordancia con los trabajos de Mucinski y colaboradores,⁵¹ quienes demostraron menor contenido de ceramidas y diglicéridos en las VLDL aisladas de pacientes insulinoresistentes con mayor contenido de TG intrahepáticos, lo que sugiere, entonces, una acumulación intrahepática de estos lípidos, en parte responsables de la lipotoxicidad.⁵¹

El estudio del lipidoma hepático y circulante en la EHGNA ha permitido a numerosos grupos de investigación desarrollar modelos que, incluyendo entre sus variables las especies lipídicas más importantes y los parámetros bioquímicos circulantes, permiten no solamente diferenciar los pacientes con EHGNA de los sanos, sino también diferenciar los diversos espectros de la enfermedad, con sensibilidad y especificidad aceptables.⁴⁶

Finalmente, numerosos fármacos aún en desarrollo buscan, entre otros efectos beneficiosos, a nivel tanto hepático como sistémico, modular el lipidoma del hepatocito, disminuyendo las concentraciones de lípidos deletéreos con el fin de mejorar la EHGNA.⁴⁶

CONCLUSIONES

La alta prevalencia de la EHGNA y su indiscutible asociación con la ECV hacen imperativo conocer los mecanismos subyacentes y los actores involucrados, tanto en esta asociación como en la progresión de la enfermedad. En el contexto de la visión actual de la fisiopatología de la EHGNA, el protagonismo de factores como VE, miARN y lípidos bioactivos debe ser contemplado con el fin de clarificar puntos clave en la evolución de la enfermedad. Sumada a

estos últimos, la comunicación entre el hígado y el TA es fundamental en los fenómenos mencionados, y los mediadores de este diálogo, implicados en la aparición de la hipertrigliceridemia característica, deben ser motivo de estudio de trabajos futuros, con el objetivo de esclarecer la complejidad de la EHGNA. Finalmente, hasta la fecha no existe un consenso sobre la acción terapéutica adecuada a seguir en pacientes con EHGNA. Según el ClinicalTrial.gov del *National Health Institute* (en su actualización de agosto de 2020), existen 99 estudios farmacológicos en desarrollo en distintas fases (f1 a f4). Teniendo esto en cuenta, y el emergente papel de los mediadores abordados en la presente revisión, no deben descartarse estos últimos como posibles blancos terapéuticos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *AASLD* 64(1):73-84, 2016.
2. EASL-EASD-EASO. Clinical practice guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 64:1388-1402, 2016.
3. Brunt EM. Pathology of fatty liver disease. *Mod Pathol* 20(1):S40-S48, 2007.
4. Graffigna MN. Actualización en el diagnóstico de la enfermedad hepática grasa no alcohólica. *Rev Arg de Lípidos* 3(1):16-30, 2019.
5. Tilg H, Moschen AR, Roden M. NAFLD and diabetes mellitus. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 14(1):32-42, 2017.
6. Lonardo A, Sookoian S, Pirola CJ, Targher G. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of cardiovascular disease. *Metabolism* 65(8):1136-1150, 2016.
7. Lauridsen BK, Stender S, Kristensen TS, Kofoed KE, Køber L, Nordestgaard BG, et al. Liver fat content, non-alcoholic fatty liver disease, and ischaemic heart disease: Mendelian randomization and meta-analysis of 279 013 individuals. *Eur Heart J* 39(5):385-393, 2018.
8. Peverill W, Powell LW, Skoien R. Evolving concepts in the pathogenesis of NASH: beyond steatosis and inflammation. *Int J Mol Sci* 15:8591-638, 2014.
9. Tilg H, Adolph TE, Moschen AR. Multiple parallel hits hypothesis in NAFLD. Revisited After a Decade. *Hepatology* 2020.

10. Cusi K. Role of insulin resistance and lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis* 13(4):545-563, 2009.
11. Sun K, Kusminski CM, Scherer PE. Adipose tissue remodeling and obesity. *J Clin Invest* 121(6):2094-2101, 2011.
12. Barchuk M, Miksztowicz V, Zago V, Cevey A, López G, Goren N, et al. Endothelial lipase is an alternative pathway for fatty acid release from lipoproteins: evidence from a high fat diet model of obesity in rats. *Lipids* 53(10):993-1003, 2018.
13. Caputo T, Gilardi F, Desvergne B. From chronic overnutrition to metaflammation and insulin resistance: adipose tissue and liver contributions. *FEBS Lett* 591(19):3061-3088, 2017.
14. Lucero D, Miksztowicz V, Gualano G, Longo C, Landeira G, Álvarez E, et al. Nonalcoholic fatty liver disease associated with metabolic syndrome: Influence of liver fibrosis stages on characteristics of very low-density lipoproteins. *Clin Chim Acta* 473:1-8, 2017.
15. Varbo A, Nordestgaard BG. Remnant lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 28(4):300-307, 2017.
16. Varbo A, Freiberg JJ, Nordestgaard BG. Remnant cholesterol and myocardial infarction in normal weight, overweight, and obese individuals from the Copenhagen General Population Study. *Clin Chem* 64(1):219-230, 2018.
17. Gæde P, Oellgaard J, Carstensen B, Rossing P, Lund-Andersen H, Parving HH, et al. Years of life gained by multifactorial intervention in patients with type 2 diabetes mellitus and microalbuminuria: 21 years follow-up on the Steno-2 randomised trial. *Diabetologia* 59(11):2298-2307, 2016.
18. Azzu V, Vacca M, Virtue S, Allison M, Vidal-Puig A. Adipose tissue-liver cross talk in the control of whole-body metabolism: implications in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 158(7):1899-1912, 2020.
19. Björnson E, Adiels M, Taskinen MR, Borén J. Kinetics of plasma triglycerides in abdominal obesity. *Curr Opin Lipidol* 28(1):11-18, 2017.
20. Seebacher F, Zeigerer A, Kory N, Kraemer N. Hepatic lipid droplet homeostasis and fatty liver disease. *Semin Cell Dev Biol* 2020, disponible en <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2020.04.011>
21. Gluchowski NL, Becuwe M, Walther TC, Farese RV Jr. Lipid droplets and liver disease: from basic biology to clinical implications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 14(6):343-355, 2017.
22. Mato JM, Alonso C, Nouredin M, Lu SC. Biomarkers and subtypes of deranged lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 25(24):3009-3020, 2019.
23. Choi SH, Ginsberg HN. Increased very low density lipoprotein (VLDL) secretion, hepatic steatosis, and insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab* 22(9):353-363, 2011.
24. Dallinga-Thie GM, Franssen R, Mooij HL, Visser EM, Hassing HC, Peelman F, et al. The metabolism of triglyceride-rich lipoproteins revisited: new players, new insight. *Atherosclerosis* 211(1):1-8, 2010.
25. Miksztowicz V, Schreier L, McCoy M, Lucero D, Fassio E, Billheimer J, et al. Role of SN1 lipases on plasma lipids in metabolic syndrome and obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 34(3):669-675, 2014.
26. Barchuk M, Nagasawa T, Murakami M, López G, Baldi J, Miksztowicz V, et al. The antagonistic behavior of GPIHBP1 between EAT and circulation does not reflect lipolytic enzymes levels in the tissue and serum from coronary patients. *Clin Chim Acta* 510:423-429, 2020.
27. Wolska A, Dunbar RL, Freeman LA, Ueda M, Amar MJ, Sviridov DO, et al. Apolipoprotein C-II: New findings related to genetics, biochemistry, and role in triglyceride metabolism. *Atherosclerosis* 267:49-60, 2017.
28. Yao Z. Human apolipoprotein C-III - a new intrahepatic protein factor promoting assembly and secretion of very low density lipoproteins. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 12(2):133-140, 2012.
29. Paiva AA, Raposo HF, Wanschel AC, Nardelli TR, Oliveira HC. Apolipoprotein CIII overexpression-induced hypertriglyceridemia increases nonalcoholic fatty liver disease in association with inflammation and cell death. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Europe PMC, 2017, disponible en <https://europepmc.org/article/med/28163820>.
30. Mardinoglu A, Wu H, Bjornson E, Zhang C, Hakkarainen A, Räsänen SM, et al. An integrated understanding of the rapid metabolic benefits of a carbohydrate-restricted diet on hepatic steatosis in humans. *Cell Metab* 27(3):559-571.e5, 2018.
31. Gin P, Yin L, Davies BS, Weinstein MM, Ryan RO, Bensadoun A, et al. The acidic domain of GPIHBP1 is important for the binding of lipoprotein lipase and chylomicrons. *J Biol Chem* 283(43):29554-29562, 2008.

32. Shu X, Ryan RO, Forte TM. Intracellular lipid droplet targeting by apolipoprotein A-V requires the carboxyl-terminal segment. *J Lipid Res* 49(8):1670-1676, 2008.
33. Forte TM, Ryan RO. Apolipoprotein A5: extracellular and intracellular roles in triglyceride metabolism. *Curr Drug Targets* 16(12):1274-1280, 2015.
34. Schaap FG, Rensen PC, Voshol PJ, Vrins C, Van der Vliet HN, Chamuleau R, et al. ApoAV reduces plasma triglycerides by inhibiting very low density lipoprotein-triglyceride (VLDL-TG) production and stimulating lipoprotein lipase-mediated VLDL-TG hydrolysis. *J Biol Chem* 279(27):27941-27947, 2004.
35. Zhao W, Liu Y, Liao X, Zhao S. The role of overexpressed apolipoprotein AV in insulin-resistant hepatocytes. *Biomed Res Int*, 2020, disponible en: <https://doi.org/10.1155/2020/3268505>.
36. Sharma V, Ryan RO, Forte TM. Apolipoprotein A-V dependent modulation of plasma triacylglycerol: a puzzlement. *Biochim Biophys Acta* 1821(5):795-799, 2012.
37. Zhang R. The ANGPTL3-4-8 model, a molecular mechanism for triglyceride trafficking. *Open Biol* 6(4):150272, 2016.
38. Dijk W, Kersten S. Regulation of lipid metabolism by angiopoietin-like proteins. *Curr Opin Lipidol* 27(3):249-256, 2016.
39. Hong BS, Liu J, Zheng J, Ke W, Huang Z, Wan X, et al. Angiopoietin-like protein 8/betatrophin correlates with hepatocellular lipid content independent of insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease patients. *J Diabetes Investig* 9(4):952-958, 2018.
40. Lee YH, Lee SG, Lee CJ, Kim SH, Song YM, Yoon MR, et al. Association between betatrophin/ANGPTL8 and non-alcoholic fatty liver disease: animal and human studies. *Sci Rep* 6:24013, 2016.
41. Yilmaz Y, Ulukaya E, Atug O, Dolar E. Serum concentrations of human angiopoietin-like protein 3 in patients with nonalcoholic fatty liver disease: association with insulin resistance. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 21(11):1247-1251, 2009.
42. Liu C, Li L, Guo D, Lv Y, Zheng XL, Mo Z, et al. Lipoprotein lipase transporter GPIHBP1 and triglyceride-rich lipoprotein metabolism. *Clin Chim Acta* 487:33-40, 2018.
43. Gjorgjieva M, Sobolewski C, Dolicka D, Correia de Sousa M, Foti M. miRNAs and NAFLD: from pathophysiology to therapy. *Gut* 68(11):2065-2079, 2019.
44. Szabo G, Momen-Heravi F. Extracellular vesicles in liver disease and potential as biomarkers and therapeutic targets. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 14(8):455-466, 2017.
45. Zhao Y, Zhao MF, Jiang S, Wu J, Liu J, Yuan XW, et al. Liver governs adipose remodelling via extracellular vesicles in response to lipid overload. *Nat Commun* 11(1):719, 2020.
46. Perakakis N, Stefanakis K, Mantzoros CS. The role of omics in the pathophysiology, diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Metabolism* 23:154320, 2020.
47. Musso G, Cassader M, Paschetta E, Gambino R. Bioactive lipid species and metabolic pathways in progression and resolution of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 155:282-302 e8, 2018.
48. Hirsova P, Ibrahim SH, Krishnan A, Verma VK, Bronk SF, Werneburg NW, et al. Lipid-induced signaling causes release of inflammatory extracellular vesicles from hepatocytes. *Gastroenterology* 150:956-67, 2016.
49. Kaffe E, Katsifa A, Xylourgidis N, Ninou I, Zannikou M, Harokopos V, et al. Hepatocyte autotaxin expression promotes liver fibrosis and cancer. *Hepatology* 65:1369-83, 2017.
50. Moles A, Tarrats N, Morales A, Dominguez M, Bataller R, Caballeria J, et al. Acidic sphingomyelinase controls hepatic stellate cell activation and in vivo liver fibrogenesis. *Am J Pathol* 177:1214-24, 2010.
51. Mucinski JM, Manrique-Acevedo C, Kasumov T, Garrett TJ, Gaballah A, Parks EJ. Relationships between very low-density lipoproteins-ceramides, -diacylglycerols, and -triacylglycerols in insulin-resistant men. *Lipids* 55(4):387-393, 2020.