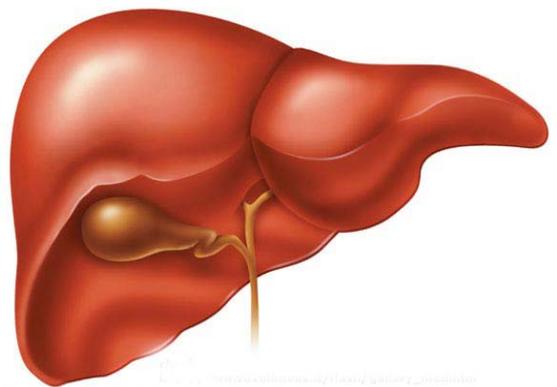


# INTRODUCCIÓN



© 2015 Pearson Education, Inc. All rights reserved. This image is a trademark of Pearson Education, Inc. and is used here under license.



La Enfermedad grasa del hígado no alcohólica (EGHNA) engloba un amplio espectro de lesión hepática que comprende desde la forma más leve de presentación como la esteatosis hepática simple, caracterizada por la presencia de vacuolas grasas en el parénquima hepático, la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), en la que además del depósito graso se observa infiltrado inflamatorio, lesión hepatocelular y en algunas ocasiones fibrosis, hasta la cirrosis, a menudo filiada como criptogénica por haber perdido sus características específicas y que se sitúa en el extremo del espectro. Powel y col. (1990) para poder realizar el diagnóstico preciso de EHNA exigen la presencia de los hallazgos histopatológicos característicos indistinguibles de la hepatopatía alcohólica (esteatosis macrovesicular, necroinflamación, degeneración balonizante de los hepatocitos y fibrosis), elevación persistente de aminotransferasas sin antecedentes de ingesta significativa de alcohol (<30g a la semana confirmado por la familia) y ausencia de otro tipo de hepatopatía.

En 1980 Ludwig y col. acuñan por primera vez el término de EHNA para describir un patrón morfológico de lesión hepática en 20 pacientes evaluados en la Clínica Mayo durante un periodo de 10 años, el 90% eran obesos, un 65% mujeres y un 25% tenían hiperlipidemia, diabetes o ambas. Estos pacientes tenían evidencias histológicas de hepatitis alcohólica en la biopsia hepática, pero no historia de consumo de alcohol. Basándose en la revisión de estos 20 pacientes propusieron un sistema de clasificación para la esteatohepatitis y se reconoció la existencia de una entidad que no estaba descrita previamente y que era idéntica histológicamente a la hepatitis alcohólica pero con un perfil clínico y epidemiológico distinto.

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. Ahora se admite que:

1. La EGHNA es el diagnóstico histológico más común entre los pacientes con una elevación crónica inexplicada de las aminotransferasas, estando presente en un 40-70% de los casos (Skelly y col., 2001; Torezan-Filho y col., 2004).
2. La EGHNA se considera la manifestación hepática del síndrome metabólico (Pagano y col., 2002; Marchesini y col., 2003). Una de las preocupaciones más alarmantes es que la EGHNA llega a afectar hasta un 70% de las personas que lo padecen junto con aumento de aminotransferasas (Sorrentino y col., 2004).
3. Aunque la esteatohepatitis es una enfermedad indolente con pocas manifestaciones clínicas, en aproximadamente la mitad de los casos puede ser progresiva, de los cuales, la mitad, es decir, la cuarta parte del total pueden desarrollar cirrosis hepática (Bacon y col., 1994). Algunos estudios epidemiológicos han sugerido que la EGHNA es la causa más importante de la llamada cirrosis criptogénica (Caldwell y col., 1999) lo que estaría implicado además en la patogénesis del carcinoma hepatocelular (Ratziu y col., 2002).
4. Basándose en estas observaciones se ha sugerido que en los países donde los factores de riesgo para el síndrome metabólico son muy prevalentes, la EGHNA es probablemente la causa más común de enfermedad crónica hepática (Clark y col., 2002)

Tiene por tanto una importancia crítica el ser capaces de hacer un diagnóstico correcto y optimizar las estrategias terapéuticas.

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.

Se ha demostrado en ensayos angiográficos y metanálisis que las estatinas o inhibidores específicos de la enzima 3-OH-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) reductasa obstaculizan la progresión de la arteriosclerosis reduciendo los infartos de miocardio y la mortalidad coronaria (La Rosa y col., 1999). Dado el alto riesgo de cardiopatía coronaria y enfermedad cerebro vascular asociado al síndrome metabólico, es frecuente el empleo de las estatinas en pacientes que presentan más de dos de los cinco factores de riesgo reconocidos (obesidad, hiperlipemia, hiperglucemia, hipertensión arterial y niveles bajos de HDL-c) y EGHNA. Se ha publicado que los pacientes con enzimas hepáticos elevados basalmente no tienen mayor riesgo de hepatotoxicidad al ser tratados con estatinas (Chalasani y col., 2004). En dos estudios pilotos realizados en pacientes con EHNA se muestra un descenso de las enzimas hepáticas sin valorar la histología en siete pacientes tratados con atorvastatina (Kiyici y col., 2003) y una regresión de la lesión hepática en cinco pacientes tras seis meses de tratamiento con pravastatina (Rallidis y col., 2003). Se ha publicado recientemente que su empleo en 17 pacientes con EHNA durante un periodo de 6 años tuvo un efecto positivo sobre la histología hepática (Ekstedt y col., 2007).

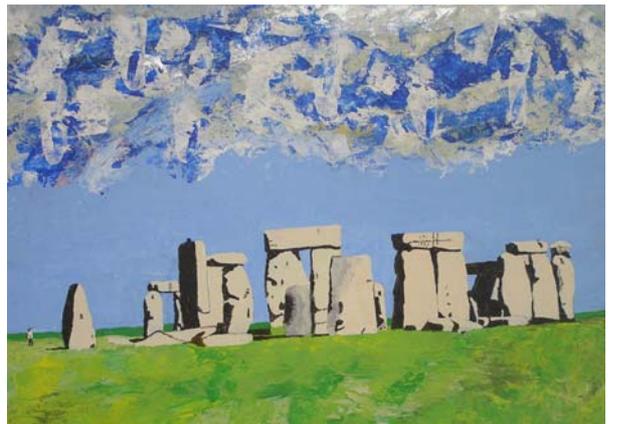
Un ensayo llevado a cabo con pivastatina en ratas con esteatohepatitis muestra mejoría de la lesión histológica inducida (Egawa y col., 2003).

En este trabajo se evalúa el efecto de la atorvastatina en el biomodelo animal del pollo al que se le induce la enfermedad mediante una dieta hiperlipémica. El sistema linfático del pollo es rudimentario y el hígado es el primer lugar expuesto a una dieta grasa. Los quilomicrones absorbidos llegan directamente a la sangre del sistema portal depositándose en el hígado, de aquí que las aves estén especialmente predispuestas a esta patología y son muchos los trabajos que estudian la enfermedad grasa del hígado en aves (Cherian y col., 2002; Cherian y George, 2004).

Dada la alta prevalencia de EGHNA, su potencial evolución a cirrosis, su asociación con enfermedades con alto riesgo arteriosclerótico en las que existe un amplio uso de estatinas, la actual controversia sobre la posible

toxicidad hepática de las estatinas, unido a la escasez de trabajos en experimentación animal y humana sobre el uso de las estatinas en la esteatosis hepática y la predisposición de las aves al desarrollo del hígado graso, hemos creído de interés estudiar el efecto de la atorvastatina en la enfermedad grasa del hígado inducida en el pollo.

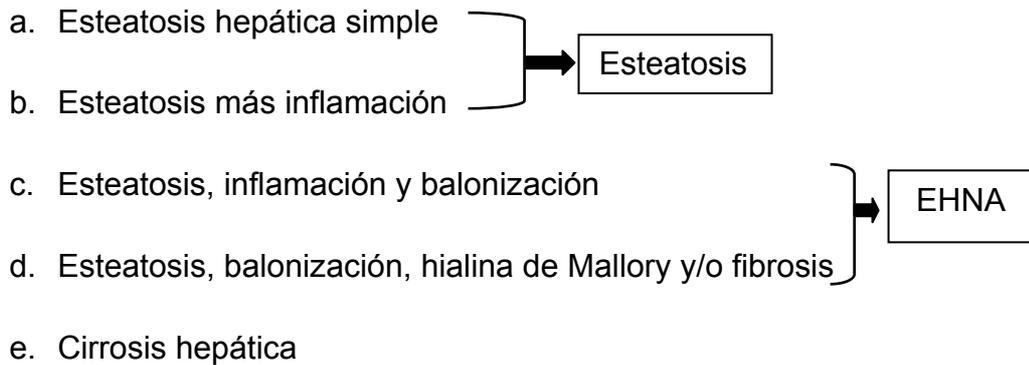
# ANTECEDENTES





## 2. DEFINICIÓN DE ENFERMEDAD GRASA DEL HÍGADO NO ALCOHÓLICA (EGHNA)

La Enfermedad Grasa del Hígado No Alcohólica (EGHNA) abarca un gran espectro de lesión hepática que podemos subdividir en base a los hallazgos histológicos y por orden creciente de gravedad en:



La trascendencia pronóstica de todas estas lesiones no es homogénea. Sólo los tipos c y d se denominan Esteatohepatitis no Alcohólica (EHNA) y tienen mayor potencial de evolución a cirrosis.

La EGHNA está definida por un patrón de lesión histológica específico similar al de la hepatopatía alcohólica en individuos que no consumen alcohol.

Distinguimos dos formas atendiendo a su etiología:

**EGHNA Primaria** de etiología desconocida, en relación con el síndrome metabólico y la resistencia a la insulina objeto de este estudio por su alta prevalencia e impacto social.

**EGHNA Secundaria** de etiología conocida en asociación con un gran número de condiciones metabólicas, quirúrgicas y tóxicas.

### 2.1) Diagnóstico diferencial con la esteatohepatitis alcohólica (EHA)

Es fundamental en todos los estudios el concepto de “no alcohólica,” como indica su propia definición el diagnóstico de EGHNA no puede realizarse en el contexto de un consumo “significativo” de alcohol; aunque la definición exacta de este término no se aplica uniformemente en la

literatura médica (Falck-Ytter y col., 2001). Estudios publicados antes de 1990 (Ludwig y col., 1980; Lee, 1989) hacen referencia en su definición a ausencia de consumo de alcohol, mientras que otros publicados posteriormente incluyen consumos de hasta 140 (Bonkovsky y col., 1999) ó 210 gr. por semana (Matteoni y col., 1999).

Es importante excluir el consumo de alcohol porque se ha estimado que un consumo de 20 gr. diario puede causar esteatosis hepática (Coates y col., 1986); esta dosis hepatotóxica es variable en la población general que oscila de 20-30 gr./día en mujeres a 40 gr./día en hombres (Bird y Williams, 1988; Becker y col., 1996). La esteatosis hepática es además un factor de riesgo para la lesión hepática inducida por el alcohol (Naveau y col., 1997). Además se desconoce la dosis tóxica de alcohol en el contexto de una esteatosis hepática preexistente (McCullough y Falck-Ytter, 1999). Faltan estudios por determinar cual es esta dosis, pero mientras tanto, es importante conseguir la abstinencia del consumo de alcohol en cualquier paciente con EGHNA. Hoy en día se acepta generalmente hasta un consumo de 140 gr./semana o menos de 20-30 gr./día en hombres y menos de 10-20 gr./día en mujeres.

La separación entre EHA y EHNA es difícil. Se ha señalado que la EHNA es más frecuente en mujeres que están asintomáticas, son obesas y/o diabéticas con función hepática conservada y un cociente ALT/AST mayor de 1 (Falck-Ytter y col., 2001). Sin embargo existe un solapamiento de la lesión histológica, características clínicas y datos de laboratorio entre las dos poblaciones de pacientes. Histológicamente comparten las siguientes características: esteatosis macrovesicular, balonización hepatocelular, inflamación lobular con componente de leucocitos polimorfos nucleares (PMN), fibrosis perisinusoidal en zona centrolobulillar e hialina de Mallory (Ludwig y col., 1997). Algunos hepatólogos reconocen que contrariamente a lo mencionado en la literatura las lesiones pueden no ser necesariamente idénticas, hay lesiones en la EHA no descritas en la EHNA que incluyen la necrosis hialina esclerosante, la lesión venooclusiva de la enfermedad hepática alcohólica, proliferación ductular, colangiolititis y colestasis aguda (Brunt, 2002; Brunt y Tiniakos, 2002); la

esteatohepatitis con necrosis e hialina de Mallory es más frecuentemente de origen alcohólico y la vacuolización nuclear aparece más frecuentemente en la EHNA (Burt y col., 1998). De entre los marcadores de consumo de alcohol investigados el índice transferrina desialilada/transferrina total mayor de 0,013 tiene una alta exactitud diagnóstica en identificar el consumo continuado de alcohol de 40-60 gr. diarios en periodos prolongados de tiempo, pero al igual que otros (aspartato-aminotransferasa (AST), alanina-aminotransferasa (ALT), gamma-glutamilttransferasa (GGT) y volumen corpuscular medio de los hematíes (VCM), tiene baja sensibilidad para el diagnóstico de cantidades de consumo de alcohol consideradas como peligrosas (20-40 gr./día), no habiendo ningún test simple para averiguar esta cantidad en pacientes que niegan el abuso de alcohol (Stibler, 1998; Rosman y Lieber, 1994).

También se ha sugerido que la producción endógena de alcohol derivada del intestino puede participar en los eventos celulares que conllevan a las manifestaciones hepáticas de la EHNA (Wigg y col., 2001).

## **2.2) Enfermedad grasa del hígado no alcohólica (EGHNA) secundaria**

La EGHNA puede ser de causa primaria causada por las condiciones asociadas de resistencia a la insulina o de causa secundaria que debe ser excluida pues su pronóstico y tratamiento es distinto.

Las entidades etiologicamente asociadas con la EGHNA secundaria son (Chitturi y Farrell, 2001):

- Técnicas quirúrgicas relacionadas con la obesidad:
  - *Bypass* yeyuno-ileal, *bypass* yeyuno-cólico, gastroplastia y derivación bilio-pancreática (Grimm y col., 1992)
  - Otras técnicas quirúrgicas con rápida pérdida de peso como la resección intestinal masiva.
- Trastornos alimentarios y otras anomalías de la nutrición:
  - Anorexia, ayuno, bulimia

- Nutrición parenteral total
- Enfermedad celiaca
- Diverticulosis yeyunal y otros sobrecrecimientos bacterianos
- Hepatopatías inducidas por fármacos y ambiental:
  - Amiodarona
  - Maleato de perhexilina
  - Bloqueadores de los canales del calcio
  - Glucocorticoides a altas dosis
  - Estrógenos sintéticos, tamoxifeno
  - Cloroquina
  - Síndrome del aceite tóxico
  - Toxicidad por dimetilformamida
- Enfermedades metabólicas:
  - Enfermedad de Wilson
  - Glucogenosis tipo 1
  - Abetalipoproteinemia
- Síndromes de severa resistencia a la insulina:
  - Lipodistrofia (general, parcial)
  - Mutaciones de receptores de insulina.
- Enfermedad de Weber-Christian

Dado que la obesidad es el factor más comúnmente asociado a la EGHNA, resulta paradójico que fuera inicialmente reconocida después de una intervención de *Bypass* yeyunoileal (BYI) realizada para perder peso (Drenick y col., 1970). La esteatohepatitis se desarrolla durante el periodo

de máxima pérdida de peso, pero el riesgo de fibrosis hepática se va incrementando durante el seguimiento (Hocking y col., 1998). Dentro de los factores más relevantes en la patogénesis después de un BYI se incluye, una enfermedad hepática preexistente, déficit nutricionales y el sobrecrecimiento bacteriano en el intestino desfuncionalizado que más tarde podría conducir a la absorción de toxinas bacterianas particularmente lipopolisacáridos o endotoxinas, las cuales estimulan la liberación del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) de las células Kupffer y otros tipos celulares. El TNF- $\alpha$  puede participar directamente o indirectamente en el reclutamiento de células inflamatorias hacia el hígado y bajo ciertas circunstancias especialmente con la depleción del glutatión mitocondrial ser hepatotóxico. El potencial papel del sobrecrecimiento bacteriano en la patogénesis se apoya además en la asociación entre la diverticulosis yeyunal y la EHNA (Nazim y col., 1989). Sin embargo el tratamiento de pacientes sometidos a un BYI con doxiciclina, que es efectiva en corregir la malabsorción en el sobrecrecimiento bacteriano, no mejora la lesión histológica al cabo de un año de seguimiento (Yost y col., 1979). En modelos animales experimentales con BYI, se cree que la enfermedad es favorecida por el déficit de micronutrientes, especialmente de vitaminas y aminoácidos esenciales que son requeridos para la síntesis de glutatión y VLDL que en forma de triglicéridos son exportadas desde el hígado (Vanderhoof y col., 1980). En pacientes sometidos a BYI la malabsorción de vitamina B<sub>12</sub> es común y se correlaciona con la severidad histológica de la EHNA (Whelan y Wood, 1980).

A pesar de que una gradual pérdida de peso mejora la bioquímica hepática en sujetos obesos, una rápida alteración en el peso corporal, puede conducir a la EGHNA (Angulo y Lindor, 2001); con la gastroplastia y el *bypass* gástrico, el índice de pérdida de peso es más lento y las complicaciones metabólicas son menos severas que después del BYI (Halsted, 1999).

Mientras que los niños con nutrición parenteral total durante un largo periodo de tiempo desarrollan síndrome colestásico, los adultos

desarrollan más comúnmente esteatosis y EGHNA (Quigley, 1993). No existen datos consistentes acerca del mecanismo causante aunque se implica el déficit de colina, taurina y fosfato, la litotoxicidad para la vía biliar o el sobrecrecimiento bacteriano en el intestino desfuncionalizado.

Entre los fármacos hepatotóxicos destaca la amiodarona que puede causar elevación asintomática de las enzimas hepáticas, granulomas hepáticos, fallo hepático agudo, colestasis hepática, fosfolipidosis, esteatohepatitis y a veces cirrosis; se ha visto que en el 1% de los pacientes tratados, no estaban presentes signos de hipersensibilidad como fiebre, erupción cutánea y eosinofilia. La duración del tratamiento parece ser un factor de riesgo pues casi todas las personas afectadas en estudios realizados estaban tomando la medicación durante un periodo mayor de un año (Farrell, 1994).

El estilbestrol (Seki y col., 1983) usado a altas dosis para el tratamiento de las metástasis en el cáncer de próstata puede inducir EHNA y el tamoxifeno (Cortez-Pinto y col., 1995) ligando receptor de los estrógenos con acción agonista parcial en modelos animales y sobretodo antagonista en humanos que se usa en el tratamiento del cáncer de mama puede causar hepatotoxicidad; así, se han publicado casos de colestasis, peliosis, hepatitis aguda, necrosis hepática masiva y esteatosis. La asociación entre los corticoides y EHNA podría explicarse por la capacidad de estos de inducir resistencia a la insulina.

La amiodarona, el maleato de perhexilina, el dietilaminoetoxihexestrol y el tamoxifeno (Pessayre y col., 2000) por sus propiedades lipofílicas atraviesan fácilmente la membrana externa de la mitocondria y desde el espacio intermembranoso son “empujados” dentro de la mitocondria por el alto potencial electroquímico existente a nivel de la membrana interna, alcanzando altas concentraciones intramitocondriales. De esta forma inhibirían la  $\beta$ -oxidación (causando esteatosis) y bloquearían la transferencia de electrones a lo largo de la cadena respiratoria. Esto conlleva la transferencia de sus electrones al oxígeno formándose el anión radical superóxido, generando así radicales libres de oxígeno.

La exposición ocupacional a hepatotoxinas industriales como la dimetilformamida, un disolvente ampliamente utilizado en la industria petroquímica se ha asociado a esteatosis y necrosis hepatocelular (Redlich y col., 1990).

En Brasil, en un estudio de función hepática realizado a 1500 trabajadores de una planta petroquímica, se encontraron anomalías en 110. En 32 de ellos no se encontró ningún diagnóstico etiológico claro, la biopsia realizada a 20 de ellos era compatible con EGHNA y 10 mejoraron su bioquímica hepática tras ser trasladados del lugar del trabajo (Cotrim y col., 1999).

La EGHNA también ha sido descrita entre las secuelas del síndrome del aceite tóxico debido al consumo de aceite de cocina adulterado en España en 1981 (Solis-Herruzo y col., 1987).

La resistencia a la insulina es el factor predisponente más reproducible en la EGHNA, su significado etiopatogénico queda patente por la alta frecuencia de EHNA en los síndromes familiares de resistencia a la insulina severa, como el síndrome lipodistrófico y el síndrome de hiperandrogenismo, insulin-resistencia y acantosis nigricans o la lipodistrofia parcial en asociación con hiperinsulinemia (Powell y col., 1989).

La EGHNA también ha sido descrita en la Enfermedad Celiaca (Naschitz y col., 1987), en la enfermedad de Weber-Christian (Wasserman y col., 2001) caracterizada por una paniculitis nodular no supurativa con distribución lobular en el tejido celular subcutáneo que cursa en forma de brotes y a veces con afectación sistémica incluyendo también el hígado, en la abetalipoproteinemia, enfermedad autosómica recesiva del metabolismo lipídico caracterizada por bajos niveles de triglicéridos y de colesterol por fallo en su excreción; la abetalipoproteinemia B conduce a la retención de triglicéridos en el intestino delgado y el hígado y se han publicado casos de EHNA en esta enfermedad (Patrin y col., 1974; Tarugi y col., 1996).

En la enfermedad de Wilson es característico, la esteatosis y los cuerpos de Mallory, y resulta importante reconocerlo y distinguirlo puesto que el pronóstico mejora con quelantes del cobre (Stromeyer y col, 1980).

En adelante solo nos referiremos a la EGHNA primaria.

### 3. FACTORES DE RIESGO DE LA EGHNA PRIMARIA

Los factores de riesgo asociados a la EGHNA primaria son la diabetes méllitus (DM), la obesidad y la hiperlipemia; en los humanos estos factores de riesgo generalmente referidos como síndrome metabólico (Tabla 1) se asocian con la edad e incrementan el riesgo de patología cardiovascular a lo largo de la vida. En un estudio publicado (Ford y col., 2002) la prevalencia del síndrome metabólico se incrementó en los adultos de EEUU a un 6,7% entre los individuos de 20 a 29 años y a un 43,5% entre los individuos de 60 a 69 años con una prevalencia similar ajustada a la edad entre hombres (24%) y mujeres (23,4%). Ahora se admite que la EGHNA es la manifestación hepática del síndrome metabólico (Pagano y col., 2002; Marchesini y col., 2003).

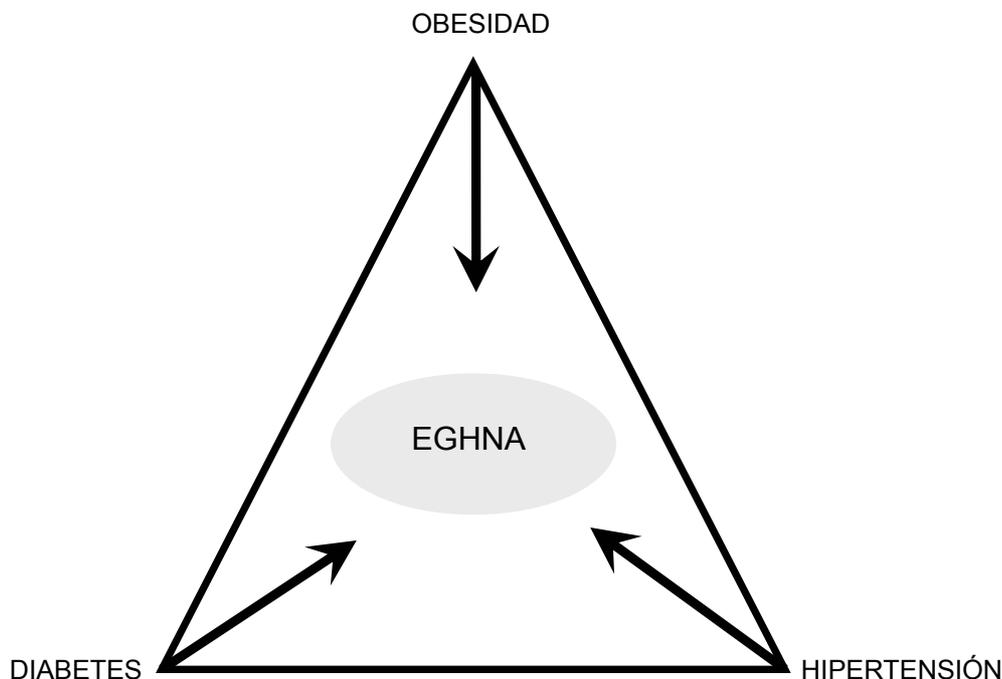
**Tabla 1.** Identificación clínica del síndrome metabólico

1. Obesidad abdominal (circunferencia de la cintura )	$\left\{ \begin{array}{l} \text{♂} > 102 \text{ cm} \\ \text{♀} > 88 \text{ cm} \end{array} \right.$
2. Triglicéridos $\geq 150$ mg/dl.	
3. HDL-c	$\left\{ \begin{array}{l} \text{♂} < 40 \text{ mg/dl} \\ \text{♀} < 50 \text{ mg/dl} \end{array} \right.$
4. Tensión arterial $\geq 130/\geq 85$ mmHg.	
5. Glucosa en ayunas $\geq 110$ mg/dl	

Necesarios al menos 3 de los factores de riesgo (HDL-c: Colesterol de las lipoproteínas de alta densidad). Tomado del Nacional Cholesterol Education Program Expert Panel, 2001.

La prevalencia de esteatosis hepática es mayor entre hombres mayores y ciertos grupos étnicos como los hispanos pudiendo alcanzar en EEUU hasta un 45% (Shen y col., 2003; Ruhl y Everhart, 2003; Clark y col., 2003; Browning y col., 2004) también se incrementa con la edad desde un 2,6% en niños a un 26% entre personas de 40-59 años (Nomura y col., 1988; Tominaga y col., 1995).

La EGHNA es más frecuente en personas diabéticas (50%) y en obesos (75%), siendo casi universal entre personas diabéticas que son además obesos mórbidos (Bellentani y col., 2000; Gupte y col., 2004; Del Gaudio, 2002).



**Fig. 1** EGHNA como manifestación del síndrome metabólico.

(Tomado de AGA Technical review on nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; 123:1705)

### 3.1) Diabetes

Un estudio concluye que un tercio de los pacientes tienen diabetes o hiperglucemia en ayunas en el momento del diagnóstico de la EHNA (James y Day, 1998) y esta puede preceder al inicio de una intolerancia a la glucosa durante varios años (Batman y Scheuer, 1985).

La asociación es mayor o más fuerte con la DM tipo 2, aunque la esteatonecrosis ha sido descrita en DM insulín dependiente con pobre control glucémico (Lenanerts y col., 1990); aparte de la edad, la DM es un fuerte predictor independiente de fibrosis hepática severa en EHNA (Angulo y col., 1999).

Por otro lado la intolerancia a la glucosa se da secundariamente a la cirrosis en el 60-80% de estos pacientes, desarrollando eventualmente DM en un 10-30% (Petrides y col., 1994).

### **3.2) Obesidad**

La EHNA está presente en un 18,5% de sujetos obesos (comparado con un 2,7% entre personas sin sobrepeso) y en un 50% de las personas con obesidad severa y diabetes (Silverman y col., 1989). En un estudio necrópsico se encuentra un incremento seis veces mayor en la prevalencia de EHNA entre sujetos obesos frente a individuos delgados (Wanless y Lentz, 1990).

La biopsia hepática muestra esteatosis en un 75% de los sujetos obesos mórbidos, esteatohepatitis en un cuarto de ellos y cirrosis en un 3-11%; además, la obesidad se correlaciona con la severidad de la fibrosis independientemente de la edad y la DM (Ratziu y col., 2000). La distribución de la grasa corporal puede ser más importante en el desarrollo de la esteatosis hepática que la masa adiposa total; así se ha mostrado una correlación significativa entre el grado de esteatosis hepática y el índice cintura/cadera puntualizando la importancia de la grasa intraabdominal o visceral como predictor de hígado graso (Kral y col., 1993; Matsuzawa y col., 1995)

Los varones delgados raramente presentan fibrosis hepática significativa; así Ratziu y col. (2000) nunca detectan fibrosis o cirrosis en pacientes de menos de 50 años, con un índice de masa corporal menor de 28 Kg/m<sup>2</sup> y triglicéridos normales.

Entre las personas que no son obesas o diabéticas los factores de riesgo para la EGHNA son alteración de la glucosa en ayunas (odds ratio (OR) 2,8, 95% intervalo de confianza (IC) 1,5-5,2), hipertrigliceridemia (OR 2,6, 95% IC 1,6-4,1), obesidad central (OR 2,4, 95% IC 1,7-3,4), hipertensión (OR 1,7, 95% IC 1,2-2,4) y niveles bajos de HDL-c (OR 1,4, 95% IC 1,1-2) (Kim y col., 2004).

El síndrome metabólico confiere una odds ratio (OR) para la EHNA de 3,2 (95% con un intervalo de confianza (IC) 1,2-8,9) y una OR para una fibrosis avanzada del 3,5 (95% IC 1,1-11,2) (Marchesini y col., 2003).

### **3.3) Hiperlipemia**

Entre el 20 y el 80% de pacientes con EGHNA tienen hiperlipemia (James y Day, 1998). Aunque se observa una elevación de los triglicéridos y/o del colesterol total séricos, hay una mayor asociación con los triglicéridos, sobre todo en la hiperlipemias 2b y 4, más que en la 2a (Cortez-Pinto y col., 1999). Se ha sugerido un papel relevante de la hipertrigliceridemia en la patogenia de la EGHNA porque la corrección de esta anomalía lipídica se asocia a una mejoría de las pruebas funcionales hepáticas (Fiatarone y col., 1991).

Se ha estimado que la prevalencia de la EGHNA entre la población de obesos y diabéticos es de un 50-90% de estos con esteatosis simple, un 20-30% progresará a EHNA y un 2-5% desarrollarán cirrosis.

Diferentes estudios han sugerido una alta prevalencia de cirrosis (10-30%) entre los pacientes sometidos a una biopsia hepática para diagnóstico de EGHNA.

#### **4. PREVALENCIA EN LA POBLACIÓN GENERAL DE LA EGHNA PRIMARIA**

La prevalencia real de la EGHNA en la población general no se conoce con exactitud por la ausencia de un test de laboratorio específico y las diferentes definiciones de esta enfermedad, cantidad de alcohol permitida, nivel de corte de aminotransferasas entre los distintos estudios y la dificultad para establecer una confirmación histológica (Brunt, 2004).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) (2004) describe “una escalada global epidémica de la obesidad “ y a día de hoy el más evidente y aún descuidado problema de salud pública.

La obesidad está aumentando entre la población norteamericana pudiendo alcanzar el 40% hacia el año 2025 (Kopelman, 2000) y concomitantemente el incremento de resistencia a la insulina y diabetes que alcanzará hasta un 10% de los sujetos obesos (Youssef y McCullough, 2002; Marchesini y col., 2003) por lo que se puede esperar que la prevalencia de la EGHNA incluyendo la EHNA también aumente. Este aumento es común en los distintos grupos étnicos y en países como India, China, Malasia, Singapur y Japón en relación con el emergente ascenso de la obesidad. La carga que este incremento va a suponer en el futuro a largo plazo para la sociedad y en la práctica médica, obliga a realizar estudios para determinar su prevalencia y patogénesis.

El cambio de hábitos entre los niños por aumento en el uso de los ordenadores, formas sedentarias de entretenimiento, dietas con mayor contenido graso y azúcares refinados están implicadas en el dramático aumento del índice de prevalencia de la obesidad y la diabetes tipo 2 en la población pediátrica, sobre todo en las minorías étnicas de los Estados Unidos donde la prevalencia y severidad de la obesidad se ha incrementado entre los niños; según las encuestas estadounidenses desde 1960 a 1990 de un 5% a un 11%, y con ello otros problemas relacionados con la obesidad infantil que incluyen la hipertensión, diabetes mellitus tipo 2, dislipemia, hipertrofia del ventrículo izquierdo,

EHNA, síndrome de apnea obstructiva del sueño, problemas ortopédicos y problemas psicosociales (Ogden y col., 1997).

Ludwig y col. describieron la EHNA en adultos en 1980, la primera publicación en niños se realizó tres años más tarde (Moran y col., 1983).

La experiencia clínica en la población pediátrica con EHNA es limitada, parece ser más común en niños que en niñas y tiene una mayor incidencia en niños de origen hispano. Estos niños suelen estar asintomáticos detectándose casualmente por una elevación de aminotransferasas (Kerkar, 2004). La acantosis nigricans se aprecia hasta en un tercio de los niños con EHNA y es un marcador de resistencia a la insulina que debe ser indagado (Rashid y Roberts, 2000). El impacto que va a tener la enfermedad hepática en estos niños y sus complicaciones puede ser significativo y la magnitud de este problema ha sido abordado en distintos estudios (Roberts, 2002; Manton y col., 2000).

Tanto la EHNA como la esteatosis simple pueden ser formas clínicamente silentes y con una progresión indolente, por lo que el número de afectados puede estar subestimado.

El reconocimiento de que la EGHNA pueda ser la causa de un gran número de cirrosis criptogénicas fue introducido por Caldwell y col. (1999), pero la prevalencia real de esta asociación se desconoce por las dificultades inherentes para documentarla.

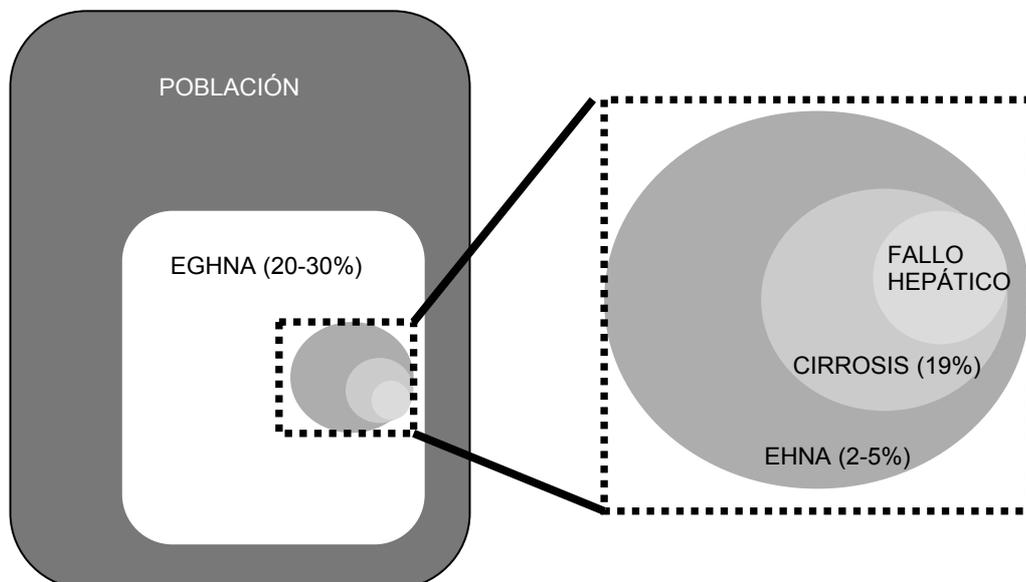
Sin un índice serológico para confirmar la existencia de EGHNA o EHNA, los estudios prevalentes más comúnmente citados usan una gran variabilidad de base de datos: estudio ecográfico de muestreo en la población general, datos clínicos, estudios histológicos...etc.

Las estimaciones más precisas proceden de las obtenidas en estudios que investigan pacientes que han tenido una muerte accidental (Hilden y col., 1977; Ground, 1982) y estudios de muestreo llevados a cabo en la población general (Lonardo y col., 1997; Bellantani y col., 2000; Browning y col., 2004). El análisis de los hígados de pacientes que murieron en accidente de coche (Hilden y col., 1977) o avión (Ground, 1982) muestran

unos índices de prevalencia de EGHNA del 24% y 16% respectivamente y de EHNA del 2,4 y 2,1%. Debido a que en el accidente de avión sólo se incluyó a miembros de la tripulación se presuponía por los autores que un consumo significativo de alcohol podría ser excluido como causa de EGHNA en estos pacientes.

Estudios llevados a cabo mediante ultrasonografía en la población general de Japón e Italia (Nomura y col., 1988; Lonardo y col., 1997; Bellantani y col., 2000) sitúan la prevalencia de la enfermedad en un 23 y 16% respectivamente. Dos estudios mediante resonancia magnética espectroscópica detectan esteatosis hepática en un 31% de los adultos (Browning y col., 2004) y en un 33% de los potenciales donantes vivos sometidos a una biopsia hepática en Estados Unidos (Ryan y col., 2002).

Por tanto las actuales estimaciones sitúan la prevalencia de la EGHNA en un 20-30% y la EHNA en un 2-5% de la población general, estimándose que un 19% de estos últimos evolucionan a cirrosis. (Youssef y McCullough, 2002; Marchesini y col., 2003; Falck y col., 2001; McCullough, 2002). (Fig. 2)



**Fig. 2** Muestra una estimación de la prevalencia de EGHNA en la población occidental que la sitúa en torno a un 30% de la población adulta. Cuando se considera la prevalencia de la EHNA con criterios

histológicos estrictos como balonización o fibrosis, esta es mucho menos frecuente (2-5%) pero tiene una gran importancia en el pronóstico, pues casi un 20% de los pacientes pueden progresar a cirrosis.

La EGHNA es la causa más común de elevación crónica de aminotransferasas en los Estados Unidos y es probablemente más común que la hepatitis C (1,3-2,0%), hepatitis alcohólica (1%), hepatitis B (0,3-0,4%), hemocromatosis hereditaria (1:200 a 1:400 de descendientes del norte de europea) y otras enfermedades crónicas de baja prevalencia como la hepatitis autoinmune, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria, déficit de alfa1-antitripsina, y enfermedad de Wilson (Ruhl y Everhart, 2003; Yu y Keefe, 2003; Clark y Diehl 2003; Kim y col., 2002).

## 5. FACTORES DE RIESGO DE PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD E HISTORIA NATURAL

La obesidad, la diabetes y el síndrome metabólico son factores de riesgo para la EHNA y la aparición de fibrosis en la biopsia hepática (Angulo y col., 1999; Mofrad y col., 2003; Dixon y col., 2001).

Numerosos estudios clínico-patológicos han evaluado marcadores pronósticos en pacientes con EHNA. Un reciente estudio identifica la edad, la diabetes y el cociente AST/ALT > 1 como marcadores de fibrosis avanzada. Dos estudios obtienen una puntuación de valores clínicos y de laboratorio para predecir la fibrosis: el BAAT (Body Mass Index, ALT, AGE y TG) y el HAIR (Hipertensión, ALT, Insulin resistance) en sujetos obesos (Dixon y col., 2001; Ratzu y col., 2000).

En la tabla 2 se exponen la odds ratio ajustada de los factores de riesgo encontrados para la fibrosis severa (fibrosis septal o cirrosis) (Angulo y col., 1999).

**Tabla 2.** Odds ratio ajustada para la fibrosis severa (fibrosis septal o cirrosis)

Factor de riesgo	Odds ratio (IC 95%)
Edad $\geq$ 45 años	5,6 (1,5-21,7)
Obesidad (IMC $\geq$ 30)	4,3 (1,4-13,8)
AST/ALT > 1	4,3 (1,5-12)
Diabetes mellitus tipo 2	3,5 (1,2-9,8)

Esta información puede ser útil como guía clínica para determinar la necesidad de realizar biopsia y proporciona la probabilidad de fibrosis a nivel individual.

La historia natural de la EGHNA no está bien definida, pero parece determinada por la severidad de la lesión histológica. Los pacientes que tienen una esteatosis simple o pura en la biopsia en el momento del

diagnóstico parecen tener un curso benigno sin progresión histológica durante un tiempo de seguimiento de 19 años (Teli y col., 1995) mientras que los que presentan esteatohepatitis o formas avanzadas de fibrosis tienen peor pronóstico (Powell y col., 1990; Matteoni y col., 1999; Ratziu y col., 2000).

Diferentes estudios han sugerido una alta prevalencia de cirrosis (10-30%) entre los pacientes sometidos a una biopsia hepática en la EGHNA (Mofrad y col., 2003; Ong y Younossi, 2003).

En una revisión de cuatro series publicadas previamente se describe que de 30 pacientes con EGHNA a los que se les había realizado dos biopsias hepáticas en un intervalo de 1 a 9 años, 14 mostraron progresión a fibrosis, 6 de ellos cirrosis. Entre los otros 16 uno mostró mejoría de la histología hepática mientras que los otros 15 no mostraron cambios. (Ong y Younossi, 2003).

Otros estudios han sugerido que la fibrosis podía permanecer estable o mejorar en un 60-70% de los casos (Harrison y col., 2003; Adams y col., 2005).

En cinco series de 54 a 257 pacientes con EGHNA que fueron sometidos a una biopsia hepática durante un seguimiento medio de 3,5 a 11 años (Lee y col., 1989; Powell y col., 1990; Teli y col., 1995; Bacon y col., 1994; Ratziu y col., 2000) un 28% tenían progresión de la lesión histológica, un 59% no tenían cambios y un 13% habían mejorado o resuelto la lesión inicial. Algunas de las muertes que ocurrieron entre los 257 pacientes estaban relacionadas con el hígado, incluido el carcinoma hepatocelular (CHC). La combinación de obesidad, EGHNA y CHC es una nueva triada emergente no descrita antes de 1999.

Se ha documentado que la edad y la fibrosis avanzada son factores de riesgo para el CHC en la EGHNA, así que el seguimiento regular del CHC es importante en pacientes con estos factores de riesgo (Yatsuji y col., 2005).

El CHC se ha reconocido como complicación de la cirrosis en la EGHNA (Ratziu y col., 2002; Marrero y col., 2002) aunque se desconoce el riesgo relativo en la cirrosis secundaria a EGHNA respecto a otras formas de hepatopatía crónica. Los factores carcinogénicos asociados a la cirrosis en general son además factores de riesgo específicamente asociados al hígado graso. Entre los pacientes con cirrosis criptogénica (presumiblemente relacionada con al EGHNA) la presencia de obesidad y diabetes está significativamente asociada con el desarrollo de CHC.

En un estudio poblacional caso-control la diabetes se asociaba con el riesgo de CHC (Davila y col., 2005). La esteatosis hepática está relacionada con una lenta replicación y la apoptosis de los hepatocitos, estímulo este para el factor de proliferación celular (Yang y col., 2004) identificado por su potencial en la carcinogenesis hepatocelular (Libbrecht y col., 2000). Los productos derivados de la peroxidación lipídica y las especies reactivas del oxígeno (ROS) que han sido formados en la progresión de esteatosis a esteatohepatitis causan lesiones en el DNA y mutaciones genéticas (Pessayre y Fromenty, 2005).

Así pues, algunos pacientes con EGHNA tienen un curso relativamente benigno, mientras que en otros la enfermedad progresa a cirrosis y sus complicaciones. En una de las series (Ratziu y col, 2000) la progresión a fibrosis hepática aparece sólo en pacientes con necrosis e infiltrado inflamatorio en la biopsia hepática. En otro estudio (Matteoni y col., 1999) el 36% de los pacientes con EGHNA fallecieron después de un tiempo de seguimiento de 8,3 años; las enfermedades relacionadas con el hígado fueron la segunda causa más común de fallecimiento después del cáncer. La historia natural de la cirrosis secundaria a EGHNA, no ha sido completamente definida aunque se estima que un 20% de los pacientes con EHNA desarrollan cirrosis en un periodo de 10 años (Younossi y col., 2002). En otro estudio (Charlton y col., 2001) sólo un 2,9% de los 546 transplantes hepáticos (TOH) llevados a cabo en un centro de referencia fueron debidos al estadio final de una esteatohepatitis. Esto sugiere que aunque la EHNA es común solo una minoría de pacientes requerirá un TOH.

Uno de los inconvenientes de estos estudios es que los pacientes estudiados sometidos a una biopsia hepática y seguidos durante un periodo de tiempo estaban muy seleccionados. Se necesitan estudios más amplios basados en la población general y mejor definidos para conocer la historia natural.

## **6. PRESENTACIÓN CLÍNICA**

### **6.1) Signos y síntomas**

La mayor parte de los pacientes con EGHNA no tienen signos ni síntomas de enfermedad hepática en el momento del diagnóstico, aunque algunos refieren astenia, molestias y una plenitud o disconfort en el cuadrante superior derecho del abdomen. La hepatomegalia es el único hallazgo físico en la mayoría de los pacientes. La acantosis nigricans aparece sobre todo en niños con EGHNA (Rashid y Roberts, 2000; Manton y col., 2000). Los hallazgos de enfermedad hepática crónica y disminución del número de plaquetas sugieren una enfermedad avanzada y que la cirrosis está presente. Una alta proporción de pacientes con cirrosis criptogenética comparten algunas características clínicas y demográficas de pacientes con EGHNA, sugiriendo que su cirrosis criptogenética es una EGHNA no reconocida (Cadwell y col., 1999; Angulo, 2002).

### **6.2) Pruebas de laboratorio**

Una leve o moderada elevación de aspartato aminotransferasa (AST) y de alanina aminotransferasa (ALT) o ambas es lo más común y con frecuencia la única alteración de laboratorio encontrada en pacientes con EGHNA. El índice AST/ALT es usualmente menor de 1 pero este índice se incrementa en la fibrosis avanzada conduciendo hacia una pérdida de su exactitud diagnóstica en pacientes con cirrosis por EGHNA. La fosfatasa alcalina (FA) y la gamma glutamil transpeptidasa (GGT) o ambas están por encima del rango normal en algunos pacientes, aunque su rango de elevación es menor que el observado en la hepatitis alcohólica (Dielh y col., 1989).

Otras alteraciones incluida la hipoalbuminemia, tiempo prolongado de protrombina e hiperbilirrubinemia, pueden encontrarse en pacientes en estadio cirrótico de la enfermedad. En la mitad de los pacientes existe aumento de la ferritina y aumento del índice de saturación de la transferrina (IST) en un 6 a 11% de estos pacientes (Angulo y col., 1999). Sin embargo los niveles de hierro hepático son usualmente normales

(Ratziu y col., 2000). Se ha sugerido que la heterozigosidad para el gen de la hemocromatosis (HFE) puede estar incrementada en la EHNA y que la sobrecarga de hierro hepático se asocia a formas más severas de la enfermedad (George y col., 1998), aunque otros datos clínicos con un gran número de pacientes han mostrado que esto no es siempre así.

### **6.3) Pruebas de imagen**

El estudio ultrasonográfico (US) muestra que la infiltración grasa del hígado produce un incremento difuso de la ecogenicidad al compararlo con los riñones. Independientemente de la causa, la cirrosis tiene una apariencia similar en la US. La ecografía tiene una sensibilidad del 89% y una especificidad del 93% en la detección de la esteatosis y una sensibilidad y especificidad del 77% y 89% respectivamente para detectar fibrosis (Joseph y col., 1991). Saadeh y col. (2002) señalan que los procedimientos de imagen no detectan esteatosis por debajo del 33% y son incapaces de detectar procesos necroinflamatorios. La infiltración grasa del hígado produce una disminución de la densidad del parénquima hepático en la Tomografía Axial Computerizada (TAC). La esteatosis es difusa en casi todos los pacientes con EGHNA, pero ocasionalmente es focal y la US y el TAC pueden malinterpretar como una lesión hepática maligna (Debaere y col., 1998); en estos casos, la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) puede distinguir la lesión ocupante de espacio de la infiltración grasa focal (Mitchell, 1992). La resonancia magnética espectroscópica permite una evaluación cuantitativa de la infiltración grasa del hígado (Longo y col., 1995).

### **6.4) Papel de la biopsia hepática en la EGHNA**

Aunque el diagnóstico de EGHNA puede ser realizado mediante métodos no invasivos, la distinción entre esteatosis simple y esteatohepatitis solo puede realizarse mediante el estudio histológico (Reid, 2001; Saadeh y col, 2002; Joy y col., 2003). Los métodos de imagen son también poco fiables en el diagnóstico de estadios precoces de fibrosis. Dada la pobre correlación que existe en general entre la clínica, la bioquímica y los hallazgos histológicos en la EGHNA se podría argumentar que la biopsia

debería realizarse entre todas las personas con sospecha clínica de esta enfermedad; sin embargo, por razones logísticas y de seguridad el uso de la biopsia hepática está generalmente restringido a los pacientes con factores de riesgo para las formas más severas de la enfermedad.

Así pues la biopsia hepática es útil para:

1. Establecer el diagnóstico morfológico, incluyendo la distinción entre esteatosis simple y esteatohepatitis.
2. Proporcionar indicadores sobre la etiología, sobre todo, en los casos en los que puede haber otro factor etiológico añadido.
3. Evaluar la severidad de la enfermedad usando los sistemas de gradación y estadificación histológicos.
4. Confirmar la presencia de la enfermedad, particularmente en los casos donde los factores de riesgo para el síndrome metabólico están ausentes.
5. Monitorizar la respuesta al tratamiento mediante biopsias repetidas, y en la evaluación de nuevas aproximaciones terapéuticas en el contexto de ensayos clínicos.

### **6.5) Diagnóstico**

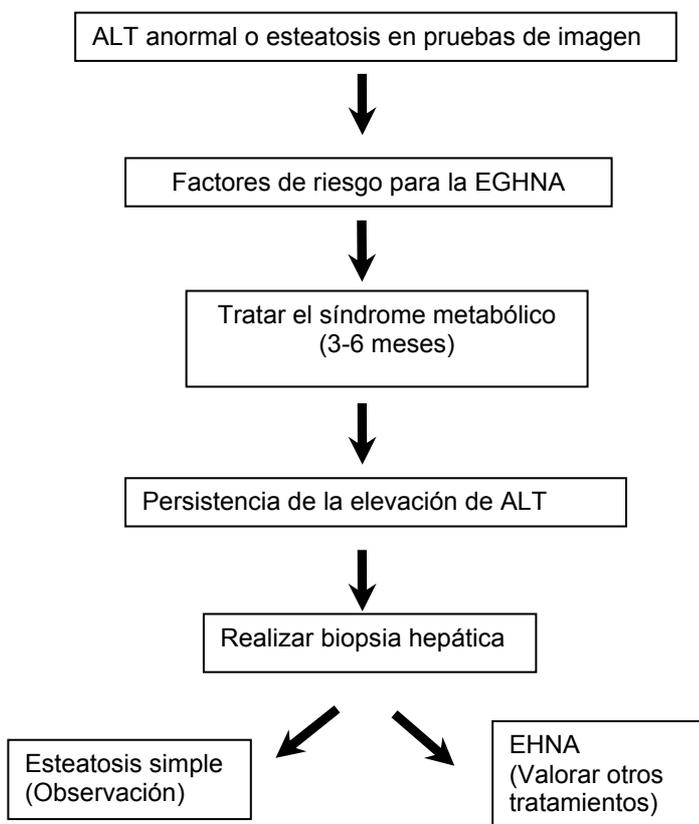
El diagnóstico se sospecha usualmente en una persona con una elevación asintomática persistente de los niveles de aminotransferasas, hallazgos radiológicos de grasa en el hígado o una hepatomegalia inexplicable. La clínica y la bioquímica hepática tienen un pobre valor predictivo con respecto a la afectación histológica (Van Ness y Diehl, 1989). Los estudios de imagen aunque ayudan en la determinación de la presencia de cierta infiltración grasa en el hígado no pueden ser usados con exactitud para determinar la severidad del daño hepático. La suposición clínica de EGHNA y su severidad solo puede confirmarse con la biopsia hepática. El diagnóstico de EGHNA requiere la exclusión de abuso de alcohol como causa de enfermedad hepática. Un consumo diario de 20 gr en mujeres y de 30 gr en hombres pueden ser suficientes para causar una enfermedad del hígado inducida por el alcohol en algunos pacientes, (350 ml de cerveza, 120 ml de vino ó 45 ml de licor contienen 10gr de alcohol) (Bird y Williams, 1988; Becker y col., 1996;

Bellantini y col., 1997). Otras causas como virus, respuesta autoinmune, factores metabólicos o hereditarios, drogas, tóxicos...etc. deberían ser excluidos.

Las pruebas específicas de laboratorio y el número de hallazgos histológicos característicos en la biopsia hepática, pueden hacer el diagnóstico de otras causas en la mayor parte de los casos.

Cuando los análisis de laboratorio y pruebas de imagen sean compatibles con la EGHNA y el paciente presente factores de riesgo para la enfermedad estos deben ser tratados; si no hay una mejoría evidente se sugiere la realización de una biopsia hepática que confirme el diagnóstico y proporcione datos sobre el grado y estadio de la enfermedad. Si el resultado es una esteatosis simple se aconseja observación y si existe confirmación histológica de EHNA se deben valorar otros tratamientos, aunque actualmente no hay ningún tratamiento específico aprobado (Fig.

3)



**Fig 3.** Aproximación práctica en el diagnóstico de la EGHNA.

## **7. PATOGENIA DE LA EGHNA**

### **7.1) Funciones del hígado**

Una de las actividades principales del hígado es proveer de energía a todo el organismo. El hígado regula el flujo de nutrientes durante el periodo de absorción (ingesta), cuando los nutrientes son metabolizados y depositados en el hígado y el tejido graso y los hace disponibles para el resto de los órganos como fuente de metabolismo energético durante los períodos de no absorción (ayuno), cuando los requerimientos metabólicos necesitan ser mantenidos a partir de los depósitos de combustible o por síntesis. La función metabólica hepática se halla sujeta a la modulación hormonal y neuronal.

En conjunto las células hepáticas constituyen una gran reserva química reactiva con un metabolismo muy elevado, comparten substratos y energía, procesan y sintetizan múltiples sustancias que se transportan hacia otras regiones del cuerpo, es almacén de vitaminas sobre todo A, pero también conserva grandes cantidades de vitamina D, B<sub>12</sub> y excepto por el contenido en la hemoglobina de la sangre, la mayor parte del hierro suele estar almacenado en el hígado en forma de ferritina; el hígado forma gran parte de las sustancias que intervienen en la coagulación como fibrinógeno, protrombina o factor VII, forma la bilis que participa en los procesos de digestión y absorción intestinal y muchas sustancias, como hormonas y fármacos, son detoxificadas por el hígado y excretadas a la bilis junto con la bilirrubina.

El hígado tiene una función imprescindible en el metabolismo de las proteínas como: 1) participar en la desaminación de aminoácidos y así poder ser utilizados para proporcionar energía o convertirse a carbohidratos y grasas; 2) formación de urea para suprimir el amoníaco de los líquidos corporales; 3) formación del 90% de las proteínas plasmáticas en cantidad máxima de 15-50gr al día; el hígado sintetiza todas las proteínas plasmáticas, a excepción de las globulinas gamma formadas por las células plasmáticas del tejido linfoide; 4) interconversión

de aminoácidos y otros compuestos para los procesos metabólicos (Lazarow, 1994).

La glucosa es la principal fuente de energía para el cerebro, los eritrocitos, el músculo y la corteza renal. El hígado cumple un papel clave en el mantenimiento total del depósito de carbohidratos por su capacidad de almacenar glucógeno y de sintetizar glucosa a partir de compuestos precursores. El almacenamiento de glucógeno permite que el hígado suprima un exceso de glucosa en sangre, la almacene y la devuelva al torrente vascular cuando la concentración sanguínea empiece a disminuir. La gluconeogénesis tiene lugar cuando la concentración sanguínea de glucosa empieza a caer por debajo de los valores normales. En tales circunstancias, grandes cantidades de aminoácidos son convertidos en glucosa. La glucosa es un componente central de la vía metabólica porque puede ser convertida a aminoácidos, ácidos grasos o glucógeno. El hígado también puede convertir grandes cantidades de carbohidratos y proteínas en grasa. El exceso de glucosa puede ser convertido en ácidos grasos para su futuro uso, transportados por lipoproteínas y depositados en sitios dístales como el tejido adiposo.

Los ácidos grasos (AG) desempeñan un importante papel como fuente de energía para el hígado y como forma de depósito de combustible dentro y fuera del hígado (Seilter y Englard, 1994). Para interpretar mejor las hipótesis emergentes de la EGHNA conviene recordar el metabolismo normal de los ácidos grasos. La producción y el metabolismo de los AG están regulados por múltiples factores, entre los cuales el hígado tiene una función central en la regulación de la necesidad total de AG del organismo.

El hígado presenta un ritmo muy fuerte de oxidación de AG, para producir energía. La  $\beta$ -oxidación puede realizarse en todas las células del organismo pero ocurre con especial rapidez en las hepáticas. Primero las grasas neutras se separan en sus componentes glicerol y ácidos grasos, estos se rompen por  $\beta$ -oxidación en radicales acetilo de dos carbonos, que forman el acetilcoenzima A, que a su vez ingresa en el ciclo de Krebs

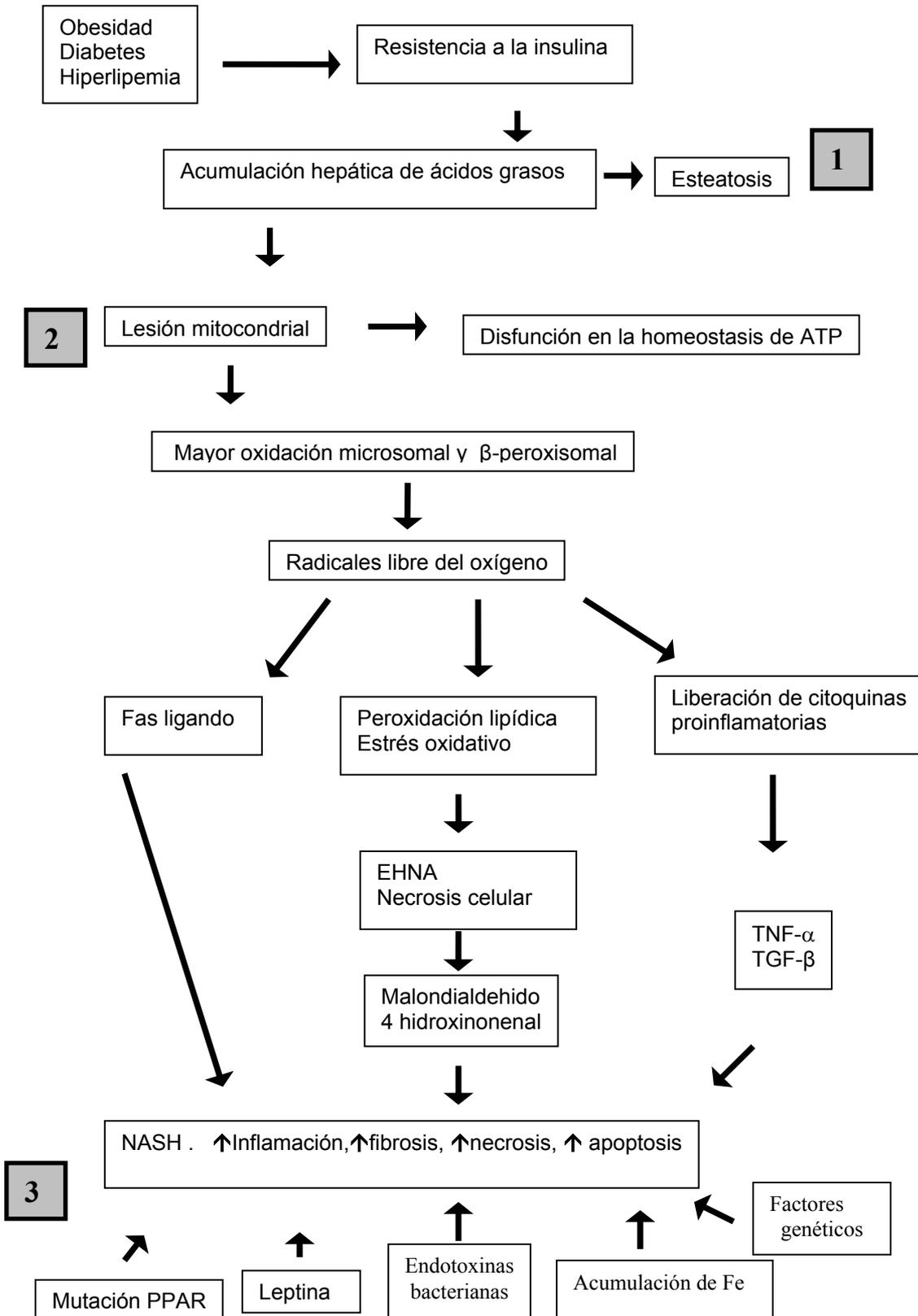
y puede oxidarse liberando enormes cantidades de energía. Sin embargo el hígado no puede aprovechar toda la coenzima A formada; ésta es convertida por condensación de dos moléculas, en ácido acetoacético, que es muy soluble y pasa desde el interior de la célula a los líquidos extracelulares, desde donde es transportado a todo el organismo para ser absorbido por los demás tejidos. Estos tejidos a su vez, vuelven a convertir el ácido acetoacético en acetilcoenzima A, y luego lo oxidan en la forma acostumbrada. La oxidación de AG a dióxido de carbono y agua rinde la más alta producción de ATP de cualquier combustible metabólico, y por ello son la forma más eficiente de depósito energético a largo plazo (Davidson y Sitman, 1994).

El hígado ejerce una función central en la síntesis de AG, colesterol y fosfolípidos, de depósito en sitios dístales y en el intercambio de lípidos dentro del organismo. Para que los lípidos sean transferidos entre diferentes localizaciones dentro de la circulación, el hígado sintetiza y concentra gran número de apolipoproteínas. Las apolipoproteínas (apo), en combinación con triglicéridos, fosfolípidos, colesterol, sus ésteres y lecitinas, constituyen las lipoproteínas circulantes. Además de esta función de síntesis de proteínas y lípidos, el hígado produce receptores celulares de superficie para las lipoproteínas circulantes y modula los niveles intravasculares de estas importantes macromoléculas.

## **7.2) Teoría del doble impacto**

La patogénesis de la EGHNA, no está claramente dilucidada pero la teoría mas aceptada en general es la hipótesis del “doble impacto” propuesta por Day y James en 1998; el “primer impacto” consiste en la acumulación de grasa específicamente AG y triglicéridos en el citoplasma de los hepatocitos dando lugar a la esteatosis hepática y quedando así los hepatocitos más susceptibles a los eventos celulares del “segundo impacto” en los que intervendrían factores adicionales como el estrés oxidativo y la peroxidación lipídica, produciendo inflamación, necrosis celular y fibrosis, características histológicas de la EHNA. Recientes estudios en modelos animales de EGHNA han permitido esclarecer las

alteraciones a nivel molecular y fisiológico que contribuyen al primer y segundo impacto en la progresión de la EGHNA hacia la enfermedad hepática terminal. La Fig. 4 muestra una visión global de los mecanismos patogénicos de la EHNA según esta teoría.



**Fig. 4** Esquema de la patogenia de la EGHNA.

*Primer impacto (1)*: Como consecuencia de la resistencia a la insulina asociada a DM, obesidad e hiperlipemia se produce acúmulo de AG en el hígado e incremento de la  $\beta$ -oxidación, alteración en la homeostasis de ATP, lesión mitocondrial y aumento de los radicales libres de oxígeno (RLO); todo ello da lugar al estrés oxidativo y con ello al *Segundo impacto (2)*: Las consecuencias del estrés oxidativo sobre las células son múltiples. Determinan la peroxidación de los lípidos de las membranas celulares, la degeneración y necrosis de las células, la muerte de estas por apoptosis, la expresión de citoquinas proinflamatorias y la activación de las células estrelladas del hígado que dan lugar a la fibrogénesis. *Otros factores (3)* entre los que se encuentran las endotoxinas bacterianas procedentes del intestino, la leptina, la mutación de los PPAR y factores genéticos también participan en la lesión hepática. PPAR (receptores del peroxisoma proliferante activado), TNF- $\alpha$  (factor de necrosis tumoral  $\alpha$ ), ATP (adenosín trifosfato)

**7.2.1) Primer impacto. Desde la resistencia a la insulina al hígado graso****• Resistencia a la insulina**

La resistencia a la insulina, concepto englobado dentro del denominado síndrome metabólico, parece ser un factor patogénico clave y el más reproducible en la EHNA (Sanyal y col., 2001). Se define como la disminución de la capacidad de la insulina para ejercer sus funciones biológicas en tejidos diana típicos, tales como el músculo esquelético, el hígado o el tejido adiposo.

La insulina es la principal hormona anabolizante del organismo. Bajo su efecto se produce un aumento de la síntesis de proteínas, de glucógeno y de lípidos, se facilita la entrada de glucosa en las células y disminuye la gluconeogénesis y la lipólisis. La resistencia hepática a la insulina da lugar a los efectos contrarios; disminuye la síntesis de glucógeno y

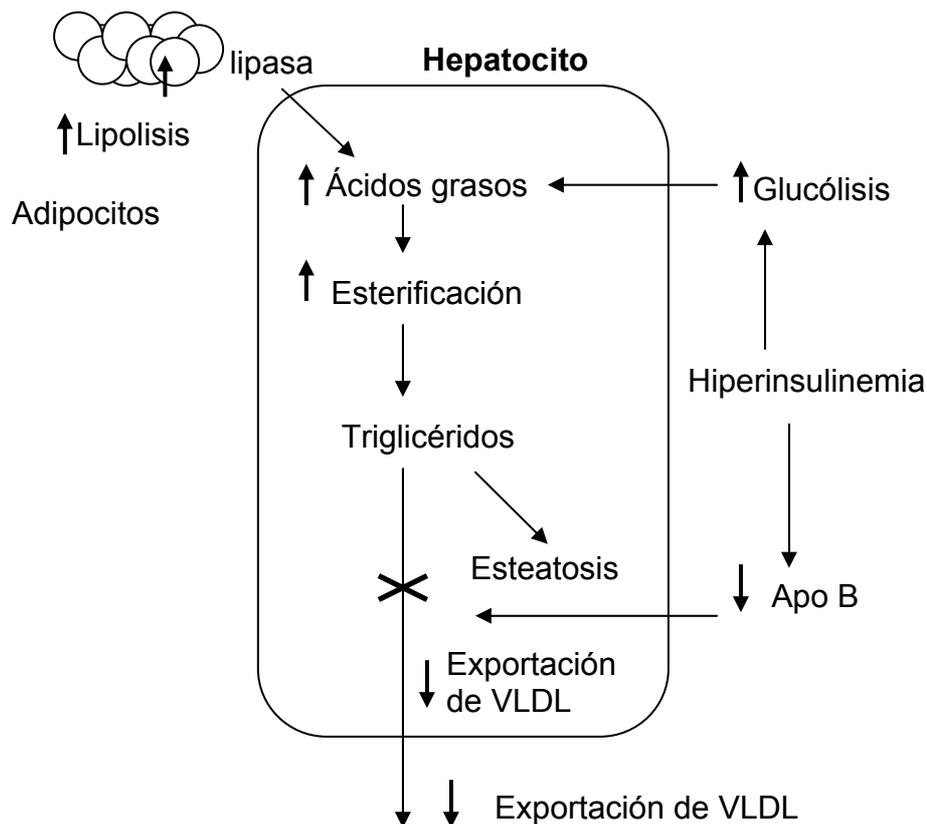
aumenta la glucólisis, la gluconeogénesis y la liberación de glucosa a la sangre. Además la insulina estimula la expresión de genes lipogénicos que determinan la síntesis de AG en el hígado (López y col., 1996).

- **Síntesis de novo de ácidos grasos**

Durante la digestión, los enterocitos convierten los triglicéridos de la dieta en quilomicrones que serán transportados por la linfa y posteriormente hidrolizados en AG por la lipasa localizada en el endotelio capilar del tejido adiposo y hepático. Los ácidos grasos libres (AGL) así generados son muy miscibles con las membranas celulares, de modo que se dirigen de inmediato a los adipocitos donde se esterifican para convertirse en triglicéridos o bien penetran en el hígado para ser sometidos a la  $\beta$ -oxidación mitocondrial y generar adenosíntrifosfato (ATP), ser esterificados y almacenados como triglicéridos en el citosol o incorporarse a las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y ser exportados fuera del hígado. En situaciones de ayuno, los AG que se suministran al hígado provienen de la hidrólisis de los triglicéridos almacenados en el tejido adiposo. Así, esta hidrólisis mediada por la lipasa será en condiciones normales estimulada por las catecolaminas, el glucagón y la hormona de crecimiento e inhibida por la insulina. Sin embargo, en situaciones de resistencia a la insulina, como ocurre en la mayoría de pacientes con EGHNA, el aumento de la misma en sangre afecta al adipocito y al hepatocito de forma distinta. En el adipocito a pesar de la hiperinsulinemia, no se produce la supresión que normalmente ésta ejerce sobre la lipólisis, sino que hay un aumento de la producción de AG por parte de los adipocitos, secundaria a una hidrólisis incrementada de los triglicéridos por una mayor actividad de la lipasa con la consiguiente mayor liberación de AG al hígado; en el hepatocito aumenta la esterificación de AG y formación de triglicéridos, pero también se estimula la glicolisis y la síntesis de AG y se inhibe la  $\beta$ -oxidación mitocondrial de los mismos (Kaplan, 1998).

Además los niveles altos de insulina pueden inhibir la síntesis de las apolipoproteína B100, componente de las VLDL, dificultando que los

triglicéridos sean transportados fuera del hígado (Fig. 5) Este es el presunto mecanismo de desarrollo de esteatosis en el marco de la obesidad, la DM tipo 2, consumo excesivo de grasas y carbohidratos. El mayor aflujo de ácidos grasos al hígado desde el intestino o el tejido adiposo que excede a la cantidad necesaria para la oxidación mitocondrial, síntesis de fosfolípidos y de ésteres de colesterol, combinado con alteraciones potenciales de su metabolización hepática (incluyendo una mayor síntesis de triglicéridos, una disminuida eliminación de triglicéridos y una disminuida  $\beta$ -oxidación de los AG) ocasiona esteatosis hepática; estos mecanismos se han considerado como el “primer impacto” en la génesis de la EGHNA.



**Fig. 5** Alteración del metabolismo lipídico en situación de resistencia a la insulina. VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad. Apo B: apolipoproteína B. (Adaptado de Chitturi y Farrell, 2001)

La lipólisis de la grasa abdominal es de especial importancia en la patogenia de la EGHNA. Se ha comprobado que casi dos tercios de la grasa acumulada en el hígado en la EGHNA proceden de los AGL circulantes (Donnelly y col., 2005) y que la gravedad de la esteatosis hepática se correlaciona con la cantidad de tejido adiposo visceral y no con la grasa subcutánea o periférica (Kelley y col., 2003). La grasa visceral es particularmente resistente a la acción de la insulina, y en consecuencia es hidrolizada con más facilidad. Además el hígado al ocupar un lugar estratégico en el curso de la sangre portal, recibe directamente los AGL liberados durante la lipólisis de la grasa abdominal. En los pacientes y animales con EGHNA se puede comprobar que las concentraciones plasmáticas de estos ácidos grasos y del glicerol están muy aumentadas y que la insulina tiene una capacidad reducida para impedir la liberación de estos productos de la lipólisis (Sanyal y col., 2001).

Es importante señalar que el concepto de que la síntesis de novo de ácidos grasos contribuye significativamente a la esteatosis hepática está basada en datos procedentes de estudios en ratones; estudios con isótopos estables en humanos sugieren que los ácidos grasos hepáticos sintetizados de novo contribuyen solo modestamente en el desarrollo de esteatosis hepática (Hellerstein y col., 1996), y aunque es evidente que la síntesis hepática de novo de ácidos grasos está incrementada en humanos con resistencia a la insulina (Diraison y col., 2002), la total importancia de esta ruta en el desarrollo de la esteatosis hepática debe ser determinada.

- **Receptores del peroxisoma proliferante activado (PPAR)**

El tercer factor que participa en el desarrollo de esteatosis hepática son los receptores del factor de transcripción del peroxisoma proliferante activado (PPAR), pertenecientes a la superfamilia de receptores nucleares. Existen tres isotipos que controlan diversas funciones celulares como el metabolismo de los lípidos y lipoproteínas, la oxidación de los ácidos grasos, el metabolismo de la glucosa, la adipogénesis, la

diferenciación celular y también la inflamación vascular asociada con la aterogénesis. Los PPAR- $\gamma$  (Tontonoz y col., 1994) se expresan sobre todo en el tejido adiposo, músculos, corazón, hígado y riñones, y parecen regular muchos genes involucrados en la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos y varios citocromos como el P450. Los PPAR son activados por AGL, lo que facilita su entrada en el hepatocito y su catabolismo al aumentar la  $\beta$ -oxidación de estos, disminuyendo la reserva de ácidos grasos disponibles para la síntesis de triglicéridos y su incorporación a las VLDL. También incrementan la expresión de las apolipoproteínas, induce la adiponectina que es una citoquina sensibilizante a la insulina y tienen un importante efecto antiinflamatorio. En modelos de ratones con resistencia a la insulina e hígado graso la delección genética del PPAR- $\gamma$  hepático aumenta marcadamente el desarrollo de esteatosis hepática. Los eventos moleculares precisos mediados por PPAR- $\gamma$  que producen depósito de triglicéridos en el hígado no han sido totalmente definidos en humanos con esteatosis.

- **AMPK**

La AMPK (adenosin-monofosfato proteinquinasa activada) es una proteína celular que actúa como sensor de los niveles de energía celular. La AMPK se activa por el incremento del adenosin-monofosfato celular (AMPc), un marcador de la disminución de la reserva energética celular. La activación de AMPK estimula las vías catabólicas de producción de ATP, como la  $\beta$ -oxidación de AG e inhibe los procesos que consumen ATP, como la lipogénesis (Hardie, 2003).

La metformina y las tiazolidinedionas (TZDs) activan la AMPK en el hígado, esta activación da lugar a una reducción de la síntesis de ácidos grasos e incremento de la oxidación.

El tratamiento de los ratones ob/ob con metformina reduce marcadamente la esteatosis hepática y su administración en humanos con EHNA mejoran las pruebas de función hepática (Marchesini y col., 2001; Fryer y col., 2002). Las tiazolidinedionas también activan la PPAR- $\gamma$  y estudios piloto en humanos usando pioglitazona (Bajaj y col., 2003) y rosiglitazona

(Neuschwander-Tetri y col., 2003) han demostrado la eficacia de estos agentes en reducir la esteatosis hepática.

La esteatosis no es siempre quiescente, pues las grandes concentraciones intrahepáticas de AGL y la saturación de la  $\beta$ -oxidación mitocondrial de los mismos, los haría susceptibles a un “segundo impacto” en el que intervendrían factores adicionales que condicionarían el estrés oxidativo y la peroxidación lipídica, originando un alto aflujo de electrones a la cadena respiratoria mitocondrial y un aumento de producción de radicales libres del oxígeno (RLO) que causan lesiones hepáticas de la EHNA.

### **7.2.2) Segundo impacto. desde la esteatosis a la esteatohepatitis.**

#### **Estrés oxidativo**

Si la resistencia a la insulina juega un papel fundamental en la patogenia de hígado graso, el estrés oxidativo es probablemente definitivo en la evolución desde la esteatosis a EHNA y a las lesiones más avanzadas de la EGHNA (James y Day, 1999; Chittury y Farrell, 2001).

El estrés oxidativo se debe al resultado de un desequilibrio entre los mecanismos pro y antioxidantes que conduce a un daño oxidativo de las macromoléculas celulares. El predominio de pro-oxidantes químicos en el hígado graso entre los que se encuentran los radicales libres del oxígeno (RLO), tales como el radical superóxido ( $O_2^-$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), y el radical hidróxilo ( $OH^-$ ) provienen mayoritariamente de las mitocondrias y de otros orgánulos como los microsomas y peroxisomas. Entre los antioxidantes se hallan las enzimas superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa, y sustancias exógenas como la vitamina E, los carotenos y la vitamina C.

La oxidación de los ácidos grasos es una importante fuente de radicales libres del oxígeno (RLO) en el hígado graso (Robertson y col., 2001; García-Ruiz y col., 1995). Los RLO por contener un electrón impar en su órbita exterior, son átomos o moléculas muy inestables y reactivas, con

gran avidez por los ácidos grasos no saturados de las membranas celulares, lo que comporta alteraciones en su estructura y función; este proceso se denomina peroxidación lipídica. El incremento de RLO en presencia de exceso de AGL ha sido validado en modelos animales con esteatohepatitis (Hensley y col., 2000). El hígado con EHNA en humanos tiene incrementado los niveles de productos derivados de la peroxidación lipídica y una disminución de los factores antioxidantes proporcionando una fuerte evidencia del incremento del estrés oxidativo en esta entidad (Seki y col., 2005).

### **7.2.2 A) Origen del estrés oxidativo**

- **Papel de las mitocondrias**

Aunque el origen del estrés oxidativo es múltiple, la disfunción de las mitocondrias parece jugar un papel predominante. Diversos estudios han mostrado que las mitocondrias de los pacientes con EHNA son anormales tanto morfológica como funcionalmente. En estos enfermos las mitocondrias son grandes, están hinchadas, presentan escasas crestas y frecuentemente contienen inclusiones paracristalinas (Caldwell y col., 1999; Bennett y col., 2003). Se trata de cambios muy parecidos a los que se encuentran en las miopatías mitocondriales causadas por alteraciones de la cadena respiratoria mitocondrial (CRM) (Zeviani y col., 1998).

La  $\beta$ -oxidación mitocondrial de los AG representa la vía oxidativa predominante en condiciones fisiológicas, consiste en una serie de sucesivas  $\beta$ -oxidaciones que conducen a la formación de acetyl-CoA, de ácidos grasos cortos-CoA y a la conversión de  $\text{NAD}^+$  a NADH (nicotinamida adenina dinucleótido) (Fromenty y Pessayre, 1995).

Utilizando métodos indirectos, se ha deducido que la  $\beta$ -oxidación está aumentada en estos pacientes con EHNA (Miele y col., 2003). Este aumento ha sido atribuido a la resistencia a la insulina y en consecuencia,

al aumento de la lipólisis y a la mayor llegada de AGL al hígado (Senyal, 2005; Sanyal y col., 2001).

La NADH formada durante la  $\beta$ -oxidación se reoxida a  $\text{NAD}^+$  a lo largo de un proceso conocido como fosforilación oxidativa que conduce a la formación de ATP. Este último representa la única fuente de energía que pueden aprovechar las células. En esta fosforilación interviene una serie de complejos enzimáticos situados en la membrana mitocondrial interna (complejos I a IV) que se conoce como cadena respiratoria mitocondrial (CRM). En ella los electrones del  $\text{NAD}^+$  y del  $\text{FADH}_2$  (dinucleótido de flavina adenina) pasan de un complejo a otro de esta cadena hasta que finalmente son combinados con el oxígeno y los protones para formar agua. Este proceso está acoplado con otro simultáneo, por el que los protones de la matriz mitocondrial son enviados al espacio intermembranoso de las mitocondrias generando un gradiente electroquímico entre la matriz y este espacio. Cuando estos protones regresan a la matriz mitocondrial a través de la ATP sintetasa (complejo V) determinan la conversión a ADP en ATP y con ello, que la energía electroquímica acumulada en el espacio intermembrana sea empleada en la formación de una energía utilizable por las células.

El paso de electrones a lo largo de la cadena respiratoria mitocondrial está asociado a la síntesis de ATP, de modo que a partir de una molécula de glucosa se generan 36 moléculas de ATP, y a partir de un ácido graso libre, 146 moléculas de ATP. Por ello la mitocondria convierte las grasas y demás nutrientes en dióxido de carbono y  $\text{H}_2\text{O}$  y genera energía en forma de ATP.

Normalmente, a lo largo del proceso de fosforilación oxidativa, se pueden escapar algunos electrones que tras unirse al oxígeno de la matriz mitocondrial, dan lugar a la formación de los RLO, principalmente de  $\text{O}_2^-$  (Wallace, 1999). Este hecho puede darse en condiciones basales, dado que suele producirse una fuga de electrones en los complejos mitocondriales I, II y III. Sin embargo, en condiciones basales las células pueden afrontar tal formación de RLO, puesto que se mitigan sus efectos

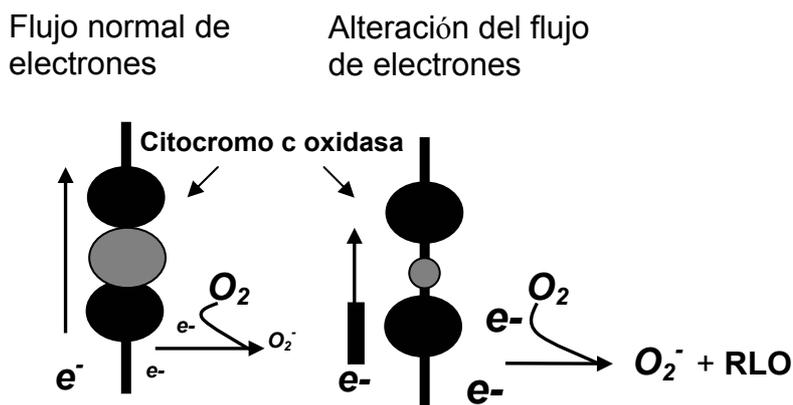
nocivos gracias a las sustancias antioxidantes. Cuando la fosforilación oxidativa es deficiente como consecuencia de la baja actividad de la CRM, no sólo se forma menos ATP, sino que la cuantía de electrones que se escapan del sistema es mayor y aumenta la formación de RLO (Fromenty y Pessayre, 1995).

Esta formación de RLO estaría potenciada en la EHNA porque la llegada de AGL al hígado y su  $\beta$ -oxidación están aumentadas.

A más actividad de la cadena respiratoria, mayor será la cantidad de  $O_2^-$  producido, desencadenando una reacción en cadena que origina más RLO, tales como  $H_2O_2$  y  $OH^-$  (García-Ruiz y col., 1995; Hensley y col., 2000) (Fig. 6).

En la EHNA se ha visto una disminución de la actividad de los complejos enzimáticos que forman la CRM de causa no explicada y se ha observado que la actividad de esos complejos se correlaciona de forma inversa con las tasas en sangre de  $TNF-\alpha$ , con el índice de masa corporal y con el índice de resistencia a la insulina (Pérez-Carreras y col., 2003).

En modelos animales con criterio histológico de EHNA se ha descrito un defecto similar al de los pacientes con EHNA en la actividad enzimática de la CRM. Los animales enfermos presentaban una reducción del 40-60% respecto a los animales sanos (García-Ruiz y col., 2006). Esto permite predecir que en estos animales debe estar aumentado tanto el escape de electrones de esta cadena como la formación de RLO (Paradies y col., 2000), hallazgos concordantes con los ya mencionados que indican la existencia de un estrés oxidativo en el hígado de los pacientes con EHNA.



**Fig. 6** Flujo de electrones.

Si el flujo de electrones se interrumpe aunque sea parcialmente en algún punto de la cadena respiratoria, se reducen los componentes dístales y se transfieren electrones al oxígeno lo que incrementa la formación de RLO. (Tomado de Pessayre y col., 2001)

- **Mecanismos de disfunción mitocondrial**

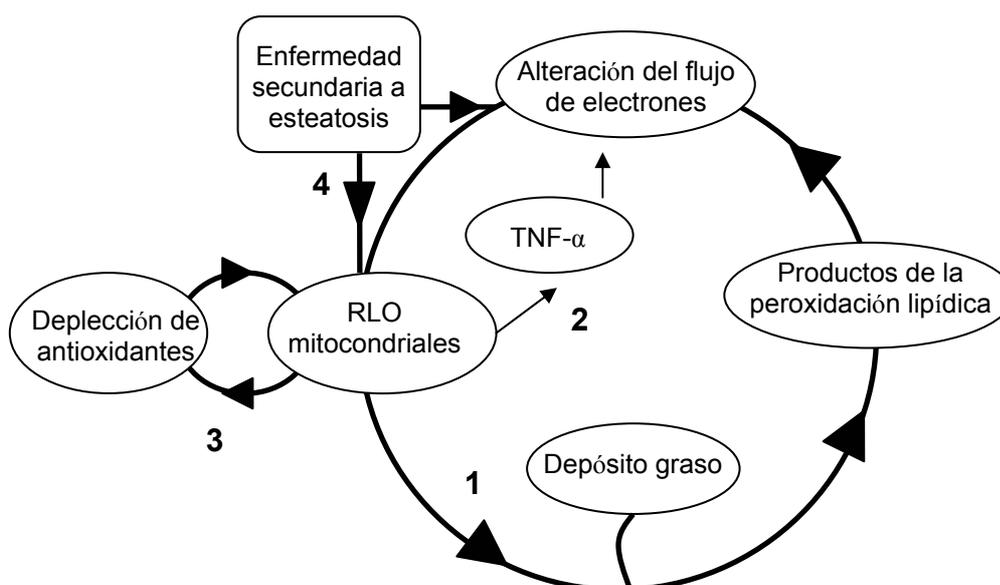
En ello participa el propio estrés oxidativo, pues se sabe que el MDA y el 4-HNA, dos productos resultantes de la peroxidación lipídica son capaces de inhibir la actividad de la citocromo c oxidasa (complejo IV de la CRM) tras formar con los péptidos de este complejo diversos conjugados (Chen y col., 2000).

Además los RLO pueden lesionar el DNA mitocondrial (DNAm<sub>t</sub>) y tales lesiones del DNAm<sub>t</sub>, de difícil reparación en las mitocondrias, repercuten sobre la expresión de los complejos de la CRM (Ide y col., 2001; Demeilliers y col, 2002).

Se ha comprobado que las altas tasas de TNF- $\alpha$  en pacientes con EHNA formarían parte de un estado de inflamación crónica hepática que existe en la esteatosis hepática, que produce un aumento de la necrosis/apoptosis de los hepatocitos. Los estímulos potenciales para la liberación de TNF- $\alpha$  son variados (citoquinas de los adipocitos, fagocitosis de lipoperóxidos, endotoxinas). Además los mismos AGL durante la

lipólisis de la grasa abdominal pueden inducir su expresión tanto en el tejido adiposo como en los hepatocitos (Nguyen y col., 2005). Esta citoquina produce importantes cambios morfológicos y funcionales sobre las mitocondrias y puede interferir con el flujo de electrones a nivel de los complejos de la CRM, (Sanchez y col., 2000); además aumenta la resistencia de las células a la insulina y provoca la expresión genética de diversas citoquinas proinflamatorias.

El incremento de RLO en el hígado ocasiona depleción de ATP y de nicotinamida, lesión del DNA mitocondrial, alteración en la estabilidad de las proteínas, desestructuración de las membranas lipídicas (peroxidación) y liberación de citoquinas proinflamatorias (Robertson y col., 2001; Bergamini y col., 2004) (Fig 7).



**Fig. 7** Posible papel de los radicales libres del oxígeno (RLO) mitocondriales en la EHNA.

1. La formación basal de RLO conlleva oxidación de los depósitos grasos hepáticos dando lugar a la peroxidación lipídica que altera el DNA mitocondrial y componentes de la cadena

respiratoria, lo que obstaculiza la transferencia de electrones e incrementa la formación de RLO.

2. Los RLO inducen TNF- $\alpha$  que daña aún más el flujo de electrones de la CRM.
3. Los RLO y la peroxidación lipídica pueden depleccionar los antioxidantes hepáticos, dando lugar a mayor acumulación de RLO.
4. Por si misma la esteatosis incrementa la formación de los RLO bien directamente o por lesión en el flujo de electrones de la CRM (Tomado de Pessayre y col., 2001).

### **7.2.2. B) Otras fuentes de estrés oxidativo**

Los AGL pueden ser oxidados por vías alternativas: la oxidación  $\beta$ -peroxisómica catalizada por la acil-CoA oxidasa, con la formación  $H_2O_2$  mediante la donación de electrones al oxígeno molecular y oxidación  $\omega$ -microsómica por parte del citocromo P450 (CYP2E1, CYP4A) (Koo y col., 2001). Es conocido que el incremento en la expresión de CYP2E1 contribuye a la patogénesis de la hepatitis alcohólica, a través de la generación de reactivos del oxígeno (Ingelman-Sundberg y col., 1988).

Se ha documentado un incremento hepático de CYP2E1 en humanos con EGHNA (Weltman y col., 1998). En este estudio el patrón de distribución del CYP2E1 era similar al encontrado en la hepatitis alcohólica y en el modelo de las ratas la localización inmunohistoquímica del CYP2E1 se corresponde con la distribución lobular de la esteatosis.

Además, los ácidos dicarboxílicos, otro producto de la oxidación  $\omega$ -microsómica de los ácidos grasos, también pueden alterar la función mitocondrial al bloquear el flujo de electrones en la cadena respiratoria (Koo y col., 2001).

La oxidación peroxisómica de los AG se diferencia de la oxidación mitocondrial en que la mitocondria tiene mucha mayor capacidad que los peroxisomas para la  $\beta$ -oxidación.

En la oxidación peroxisomal se transfieren dos electrones a la flavina-adenina-dinucleótido (FAD) para formar FADH<sub>2</sub> que, luego son translocados al oxígeno con la formación de peróxido de hidrógeno; este es detoxificado por una catalasa y en la reacción se forma agua y oxígeno. En la mitocondria, los electrones son aceptados por el sistema de transporte de electrones, que finalmente genera agua y ATP. El NADH generado en las reacciones necesita ser eliminado del peroxisoma, mientras que en la mitocondria el NADH puede entrar en el ciclo de transporte de electrones y generar moléculas adicionales de ATP.

La oxidación en los peroxisomas es menos eficiente que en la mitocondria y representa un medio de eliminación de ácidos grasos con pérdida de energía, puesto que produce menos ATP que la  $\beta$ -oxidación mitocondrial. La función fisiológica de la  $\beta$ -oxidación de los peroxisomas es desconocida.

### **7.2.2. C) Consecuencias del estrés oxidativo**

Los RLO son moléculas con una vida media relativamente corta que ejercen un efecto local. Sin embargo, pueden atacar los ácidos grasos no saturados de las membranas celulares e iniciar la peroxidación lipídica dentro de la célula dando lugar a la formación de aldehidos mediante productos como 4-hidroxinonenal (HNE) y malondialdehído (MDA) (Esterbauer y col., 1991). Estas moléculas tienen una vida media más larga que los RLO y tienen el potencial de difusión desde su lugar de origen hasta alcanzar distancias intracelulares y objetivos extracelulares y por tanto amplificar los efectos del estrés oxidativo. La formación de HNE y MDA aparece solo a través de la peroxidación de ácidos grasos no saturados los cuales son preferentemente oxidados debido a una disminución de la fuerza de enlace carbono-hidrógeno en los grupos

metilo entre los pares de carbonos insaturados, según el número de dobles enlaces, su índice de peroxidación se incrementa exponencialmente. La peroxidación de los ácidos grasos no saturados estimula la proteólisis en el retículo endoplásmico de las apolipoproteínas B y por tanto atenúa la secreción de VLDL, lo que contribuye en gran medida a la acumulación de triglicéridos en el hígado (Wagner y col., 1994).

Las consecuencias de esta agresión son variadas (Fig. 8):

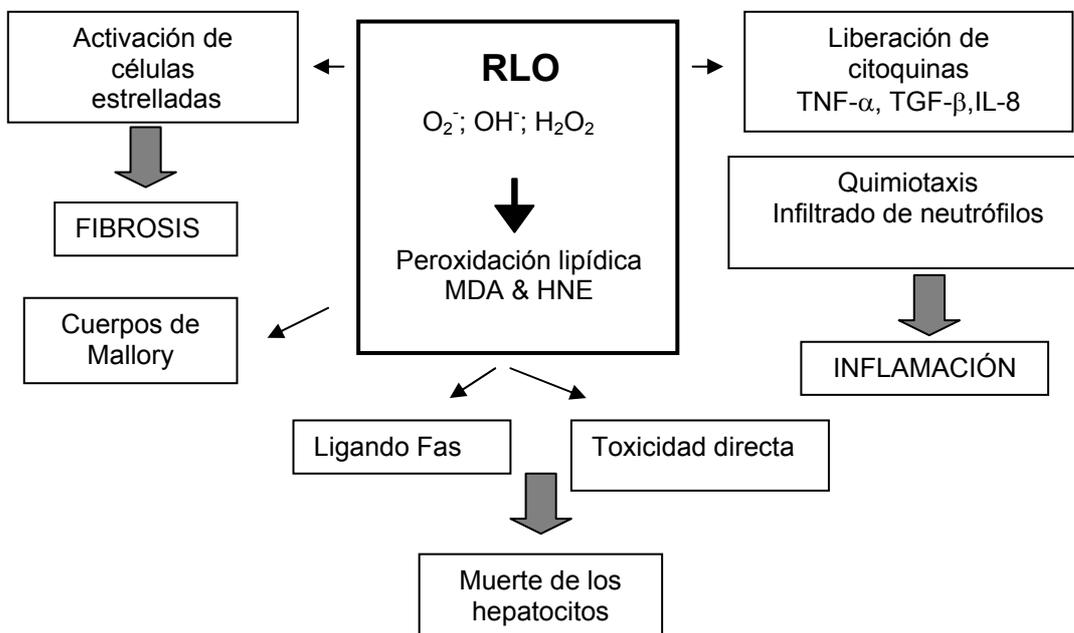
1. Repercute sobre las propiedades fisicoquímicas de las membranas y sobre la actividad de las enzimas y receptores situados en ella, la expresión de antígenos, las interacciones intercelulares y la permeabilidad de las membranas; ello produce cambios que comprometen la viabilidad de las células como el paso de calcio a las células que determinan su muerte por necrosis (Masumoto y col., 1990).
2. Una de las lesiones que caracteriza a la EHNA es la fibrosis hepática. Inicialmente tiene una distribución pericelular y pericentral, en la zona centrolobulillar, pero en fases avanzadas altera la arquitectura lobulillar y adopta la distribución propia de la cirrosis micronodular. Las células que principalmente están implicadas en la producción de esa fibrosis son las células estrelladas del hígado (CEH). En el hígado normal, las CEH se encuentran en un estado latente, sin capacidad para producir los componentes de la matriz extracelular, pero cuando el hígado sufre una agresión estas células se activan, cambian su morfología y función y sintetizan los diversos componentes de la matriz extracelular (Solís-Herruzo y col., 2003). En la EHNA humana y experimental se ha mostrado que estas células están activadas y existen en mayor número (Cortez-Pinto y col., 2001). Los mecanismos que conducen a la fibrosis hepática en la EHNA son probablemente múltiples:
  - a) El estrés oxidativo puede inducir la activación de las CEH y la expresión genética del factor c-Myb y su unión al ADN (Lee y col., 1995). Este factor de transcripción participa en la expresión

de la actina del músculo liso y en la diferenciación y proliferación de las CEH (Lee y col., 1995).

- b) El MDA participa en la fibrosis hepática aumentando de forma significativa la expresión del RNA mensajero (mRNA) del colágeno  $\alpha 1$  en cultivos de fibroblastos humanos (Chojkier y col., 1989).
  - c) Otras hormonas del tejido adiposo pueden comportarse como fibrogénicas: Angiotensina II y la noradrenalina pueden actuar directamente sobre las CEH y provocar su activación (Bataller y col., 2003).
  - d) La propia esteatosis es un factor estimulante de la fibrogénesis. En la EGHNA se puede encontrar fibrosis en ausencia de actividad necroinflamatoria (Corte-Pinto y col., 2001)
  - e) La insulina desempeña un papel en la progresión de la fibrosis. De hecho Hickman y cols (2003), encontraron una asociación significativa entre los niveles de insulina en sangre y el aumento de la fibrosis. Las CEH poseen receptores para la insulina, por lo que esta hormona pudiera contribuir a la proliferación de estas células.
  - f) La activación de las CEH y con ello de la fibrogénesis puede ser consecuencia indirecta de la apoptosis de los hepatocitos. Resultado de este tipo de muerte celular es la formación de cuerpos apoptóticos los cuales tras ser fagocitados por los macrófagos o por las propias CEH, determinan la activación de las propias CEH (Canbay y col., 2003).
3. Aunque no se conocen bien los mecanismos que conducen a la formación de la hialina de Mallory es probable que también se encuentren implicados los aldehídos reactivos formados durante el estrés oxidativo y el factor de crecimiento tumoral beta (TGF- $\beta$ ); este activa la transglutaminasa y esta da lugar a la formación de polímeros de citoqueratina al crear uniones transversales entre las moléculas de

lisina de unas cadenas de citoqueratinas con las de glutamina de otras (Pessayre y col., 2001).

4. En la EHNA la muerte celular se produce, no solo por necrosis sino también por apoptosis (Feldstein y col., 2003). Son varias las vías y factores que pueden conducir a esta muerte programada, incluyendo al propio estrés oxidativo, al TNF $\alpha$  y a los AGL. Los RLO aumentan la expresión de los ligandos Fas en la superficie de los hepatocitos y de esta manera pueden inducir la muerte por apoptosis. La fijación del ligando Fas al receptor Fas pone en marcha una cascada de acontecimientos como activación de las caspasas con la degradación y muerte por apoptosis de las células (Feldmann y col., 2000); en este último proceso se producen la degradación del ADN, la fragmentación de los núcleolos y de las células y la formación de cuerpos apóptóticos que son fagocitados por los macrófagos y degradados completamente en sus lisosomas.



**Fig. 8** Efectos del estrés oxidativo.

Al desencadenar los radicales libres del oxígeno (RLO) la peroxidación lipídica, la liberación de malondialdehído (MDA) y de 4-hidroxinonal (HNE) causa toxicidad directa pues ambos se acoplan directamente a

proteínas, lo que ocasiona reacciones inmunitarias. MDA y HNE pueden intervenir en la formación de los cuerpos de Mallory, constituidos por la agregación de monómeros de citoqueratina. MDA y HNA también incrementan la síntesis de colágeno por las células estrelladas y el HNA tiene actividad quimiotáctica por los neutrófilos. Los RLO inducen la formación de citoquinas por las células Kupffer y por los hepatocitos. El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y el factor de crecimiento tumoral beta (TGF- $\beta$ ) activan las caspasas y la muerte de los hepatocitos. El TGF- $\beta$  también activa la síntesis de colágeno por las células estrelladas, mientras que la interleucina 8 (IL-8) es un potente quimiotáctico sobre los neutrófilos. Los RLO causan la expresión de ligandos Fas en los hepatocitos; los ligandos Fas de un hepatocito pueden interaccionar con los de otros hepatocitos causando “asesinatos fratricidas” entre ellos (Adaptado de Browning y Horton, 2004).

### 7.3) Otros mecanismos potencialmente implicados

- **Hierro:** La mayoría de los pacientes con sobrecarga primaria de hierro no debida a hemocromatosis presentan resistencia a la insulina (Tuomainen y col., 1997; Fernandez y col., 1998). Las tasas elevadas de ferritina sérica no reflejan necesariamente un incremento del hierro hepático, sino que pueden ser debidas a la propia EHNA como reactantes de fase aguda. El hierro ferroso es un poderoso generador de radicales hidroxilos (OH $\cdot$ ), por lo que puede contribuir a la acumulación de RLO, al daño y muerte celular a la activación de las CHE y a la fibrogénesis. Hay una controversia evidente acerca del papel que juega el hierro hepático en la patogénesis de la EHNA. Bacon y col. (1994) documentaron ferritina y/o saturación de transferrina anormal en un 58% de los pacientes con EGHNA, algunos de los cuales tenían ligeramente elevado la concentración de hierro hepático. Sin embargo, no había evidencia histológica de hemocromatosis en ninguno de estos pacientes. En este estudio, no estaba claro si la inflamación hepática y la esteatosis conducía a un incremento de los niveles de

ferritina y hierro, si la acumulación de hierro estaba causada por la heterocigosis para los genes de la hemocromatosis, o un suave incremento de hierro hepático contribuía a la lesión hepática en la EGHNA.

- **Endotoxinas bacterianas:** Otro factor con probable implicación en la patogenia de la EHNA podría ser la liberación de productos bacterianos desde el intestino hacia la sangre que irriga la grasa mesentérica y el hígado, tales como los lipopolisacáridos, que son un potente factor activador de macrófagos. Éstos podrían inducir la expresión de TNF- $\alpha$  en el tejido adiposo y en el hígado.
- **Leptina:** La leptina es una citoquina que además de regular la ingesta alimentaria y el gasto energético, modula las respuestas inmunitaria e inflamatoria (Siegmund y col., 2002). Al parecer, las concentraciones séricas elevadas de leptina se relacionan con la gravedad de la esteatosis hepática, por lo que se ha planteado que podría tener un papel patogénico en la resistencia a la insulina hepática y/o a un fallo de su actividad antiesteatósica. Su producción por las células estrelladas puede desempeñar un papel importante en la fibrosis hepática (Ikejima y col., 2001) contribuyendo a la progresión de la esteatosis a EHNA y ulteriormente a cirrosis, dada su actividad profibrogénica y moduladora de la respuesta inflamatoria en el hígado (Shimomura y col., 1999).

## **8. EVALUACIÓN HISTOLÓGICA DE LA EGHNA**

### **8.1) Anatomía e histología hepática**

El hígado es la mayor glándula del cuerpo humano y pesa unos 1500 gr en el adulto. Funciona como glándula exocrina segregando bilis a través del sistema de conductos biliares que la llevan al duodeno y como glándula endocrina, sintetizando muchas sustancias que son liberadas directamente al torrente circulatorio.

La vena porta hepática transporta alrededor del 75% de la irrigación sanguínea hepática, recibe sangre poco oxigenada de los principales órganos abdominales; la sangre portal que llega al hígado contiene todo el material absorbido del tubo intestinal excepto la mayor parte de las grasas, que son transportadas con el quilo por los vasos linfáticos mesentéricos hacia el conducto torácico, también lleva células sanguíneas y sus productos de degradación desde el bazo. La arteria hepática, rama del tronco celiaco, transporta sangre oxigenada hacia el hígado, proporcionando el 25% restante de la irrigación sanguínea hepática. La sangre de las dos fuentes se mezcla a medida que perfunde los hepatocitos del parénquima hepático por lo que las células hepáticas nunca están expuestas a sangre totalmente oxigenada. La sangre es evacuada por las venas hepáticas hasta la vena cava inferior. Así pues el hígado está interpuesto entre el tubo intestinal y la circulación general.

Los componentes estructurales hepáticos incluyen a:

- Los hepatocitos organizados en trabéculas celulares.
- Un estroma de tejido conectivo.
- Vasos sanguíneos y linfáticos, nervios y conductos biliares que transcurren por el estroma.
- Capilares sinusoidales (sinusoides) entre las trabéculas de hepatocitos.

Dentro del hígado, las ramas de distribución de la vena porta y la arteria hepática, que irrigan los capilares sinusoidales que bañan a los hepatocitos y las ramas de drenaje del sistema de conductos biliares, que conducen al conducto hepático común, transcurren juntas en una relación denominada tríada portal. Los sinusoides se encuentran en íntimo contacto con los hepatocitos y permiten el intercambio de sustancias entre la sangre y las células hepáticas. Los sinusoides desembocan en una red venosa mediante la cual la sangre abandona el hígado por las venas hepáticas.

El árbol biliar es el sistema de conductos de diámetro creciente por el cual la bilis fluye desde los hepatocitos hasta la vesícula biliar y el intestino. Las ramas más pequeñas son los canaliculos a los cuales los hepatocitos secretan la bilis, el canalículo biliar es un pequeño canal formado por hendiduras en las células adyacentes. El canalículo contiene microvellosidades irregulares, está sellado mediante zónulas ocludentes que impiden que escape su contenido hacia el espacio intercelular adyacente. Los canaliculos biliares forman un anillo alrededor del hepatocito, se fusionan y forman pequeños conductillos, los colangiolos ó conductos de Hering, revestidos por células cuboides que no son hepatocitos; estos a su vez drenan a los conductos biliares de los espacios portales. Estos conductos están revestidos por un epitelio cúbico cerca de los lobulillos y gradualmente se transforma en cilíndrico a medida que los conductos se acercan al hilio. Las células cilíndricas tienen microvellosidades bien desarrolladas al igual que las de las vías biliares extrahepáticas. Los conductos interlobulillares se fusionan para formar los conductos lobulillares derecho e izquierdo, que a su vez se unen en el hilio y forma el conducto hepático común. El flujo biliar del canalículo es centrífugo, es decir, de la región de la vena central hacia el espacio portal, en dirección opuesta al flujo sanguíneo.

La estructura hepática como unidad funcional se puede describir de tres maneras: el lobulillo "clásico", el lobulillo portal y el ácino hepático (Fig. 9).

- **Lobulillo hepático clásico** (Fig. 9 A)

El lobulillo hepático clásico es la descripción tradicional de la organización del parénquima hepático, es un bloque de tejido casi hexagonal que se visualiza con relativa facilidad. Se basa en la distribución de las ramas de la vena portal y de la arteria hepática dentro del órgano y en las vías por las que transcurre la sangre al perfundir las células del hígado. Se considera que el lobulillo clásico consiste en pilas de trabéculas de hepatocitos que se anastomosan, de 1-2 células de espesor, separadas por los sinusoides que perfunden el tejido con la sangre portal y arterial mezcladas. Mide alrededor de 2,0 x 0,7 mm. En el centro del lobulillo se encuentra la vénula hepática terminal (vena central), a la cual drenan los sinusoides. En los ángulos del hexágono se encuentran los espacios portales compuestos por estroma de tejido conectivo laxo y la presencia de la triada portal.

- **Lobulillo portal** (Fig. 9 B)

El lobulillo portal destaca las funciones exocrinas hepáticas. El eje morfológico del lobulillo portal lo constituye el conducto biliar interlobulillar de la triada portal del lobulillo clásico. Sus márgenes externos son líneas imaginarias trazadas entre las venas centrales más cercanas a la triada portal. Esto define un bloque de tejido triangular que incluye las porciones de tres lobulillos clásicos, que secretan la bilis que drena al conducto biliar axial.

- **Ácino hepático** (Fig. 9 C)

El ácino hepático descrito por Rappaport (1954) proporciona la mejor correlación entre perfusión sanguínea, actividad metabólica y patología hepática. Es la unidad funcional más pequeña del parénquima hepático drenado por una rama terminal del conducto biliar. El eje menor está definido por las ramas terminales de la triada portal localizada a lo largo del límite de dos lobulillos “clásicos”. El eje mayor es la línea trazada entre las dos venas centrales más cercanas

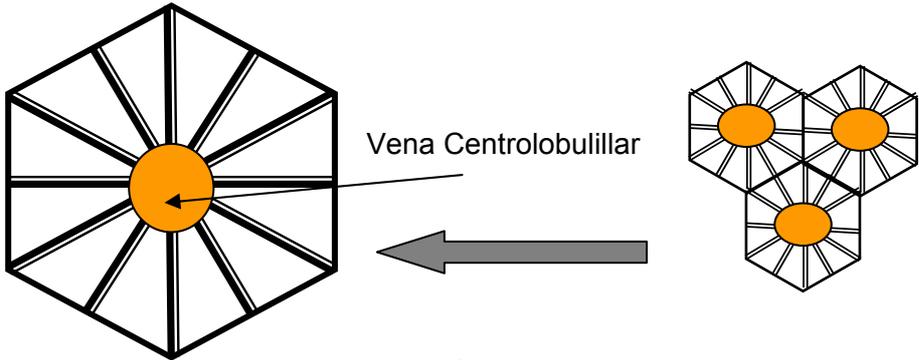
al eje menor. En cada ácino hepático se pueden distinguir tres zonas elípticas concéntricas que rodean al eje menor: la zona 1 (periportal), la más cercana al eje, la zona 3 (centrolobulillar) más alejada del eje y la más cercana a la vena terminal hepática y la zona 2 (mediolobulillar) que se encuentra entre las zonas 1 y 3 pero no tiene límites definidos.

La sangre fluye unidireccionalmente en los sinusoides desde la zona 1 a la zona 3.

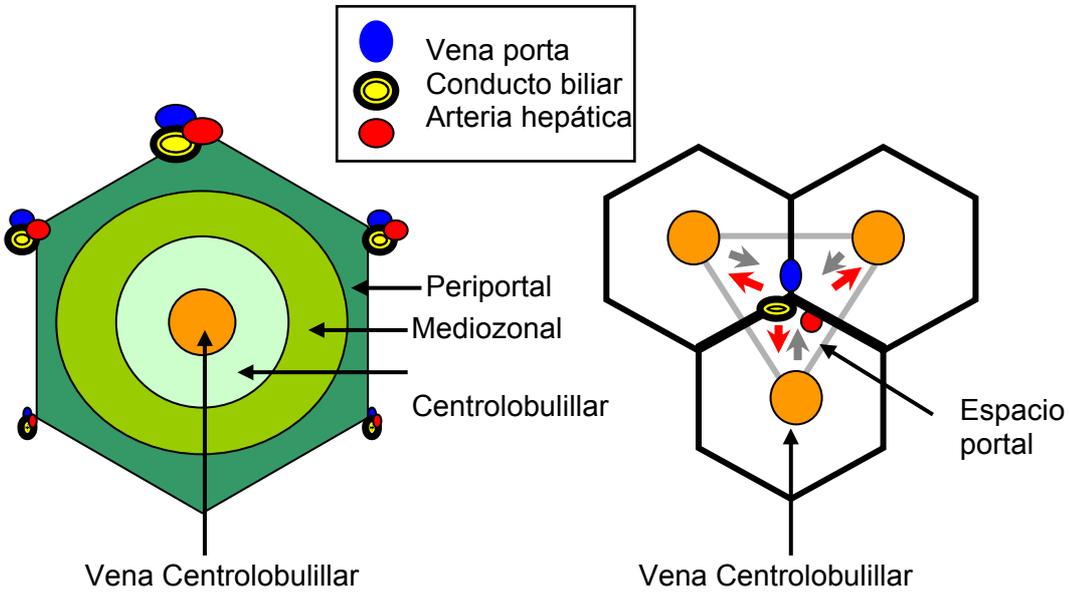
Los hepatocitos de la zona 1 son los primeros en recibir nutrientes y toxinas por la sangre, son las últimas en morir cuando se deteriora la circulación y las primeras en regenerarse y después de la oclusión de los conductos biliares son los primeros en mostrar cambios morfológicos,

Los hepatocitos de la zona 3 son las primeras en mostrar necrosis isquémica (necrosis centrolobulillar), en situaciones de disminución de la perfusión y las primeras en presentar acumulación de lípidos; son las últimas en responder a sustancias tóxicas y la estasis biliar. (Fig. 9)

**Fig. 9** Organización histológica del hígado. Comparación entre las diferentes interpretaciones de los lobulillos hepáticos. Modificado de Weiss (1983).

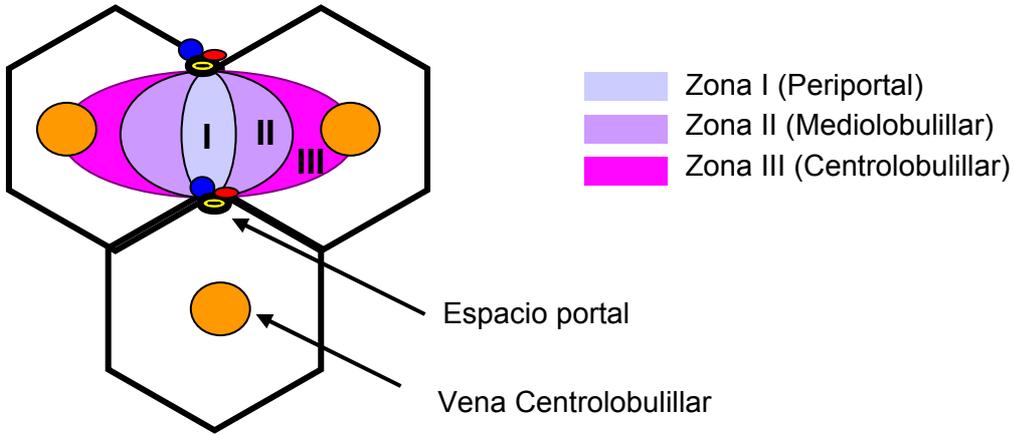


**LOBULILLO HEPÁTICO Y CONJUNTO DE LOBULILLOS HEPÁTICOS**



**A) LOBULILLO HEPÁTICO Y SUS ZONAS**

**B) LOBULILLO PORTAL**  
Flecha gris: dirección del flujo de la bilis;  
Flecha roja: dirección del flujo de la irrigación sanguínea



**C) ACINO HEPÁTICO de Rappaport**

## **8.2) Ultraestructura del hígado**

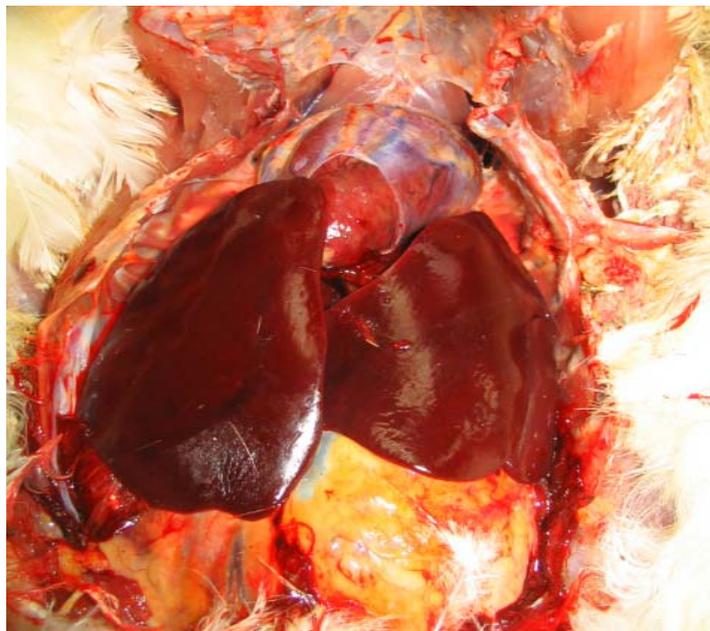
Los hepatocitos de los mamíferos son células poligonales que miden 20-30  $\mu\text{m}$ . Constituyen alrededor del 80% de la población hepática. Los núcleos de los hepatocitos son grandes y esféricos, ocupan el centro de la célula. En el nucleoplasma se encuentran grumos dispersos de heterocromatina. En cada núcleo se encuentran dos o más nucleolos bien desarrollados. Por lo general el citoplasma del hepatocito es acidófilo, se pueden identificar regiones basófilas que representan el retículo endoplasmático rugoso y liso, abundantes mitocondrias, de 800 a 1.000 por célula, peroxisomas y también existen hasta 50 unidades Golgi por cada hepatocito; el aparato de Golgi se compone de 3 a 5 cisternas estrechamente agrupadas, muchas vesículas y lisosomas asociados. Se cree que los elementos del complejo de Golgi se concentran cerca del canalículo biliar y están relacionados con la secreción "exocrina" de la bilis. Los lisosomas concentrados cerca del canalículo biliar corresponden a los cuerpos densos peribiliares que se observan en los cortes histológicos, pueden contener gránulos de pigmento, mielina, organelas parcialmente digeridas o almacenar hierro.

Los sinusoides hepáticos están revestidos por un delgado endotelio discontinuo y contienen los macrófagos o células de Kupffer pertenecientes al sistema fagocítico mononuclear. El espacio perisinusoidal (espacio de Disse) es el sitio de intercambio de materiales entre la sangre y las células hepáticas. Se encuentra entre las superficies basales de los hepatocitos y las superficies basales de las células endoteliales y las células de Kupffer. Desde la membrana basal de los hepatocitos se proyectan prolongaciones irregulares con microvellosidades hacia este espacio que aumentan hasta seis veces la superficie disponible para el intercambio de materiales entre los hepatocitos y el plasma. Debido a las grandes fenestraciones de la capa endotelial y a la ausencia de una lámina basal continua, no hay una barrera significativa entre el plasma sanguíneo del sinusoides y la membrana plasmática del hepatocito que forma el límite parenquimatoso

del espacio perisinusoidal. Las proteínas y las lipoproteínas sintetizadas por el hepatocito son transferidas a la sangre del espacio perisinusoidal, siendo esta la vía de las secreciones endocrinas hepáticas. En el espacio perisinusoidal se encuentra el lipocito o también llamada célula de Ito, principal sitio de almacenamiento de vitamina A.

### **8.3) Histología hepática en las aves**

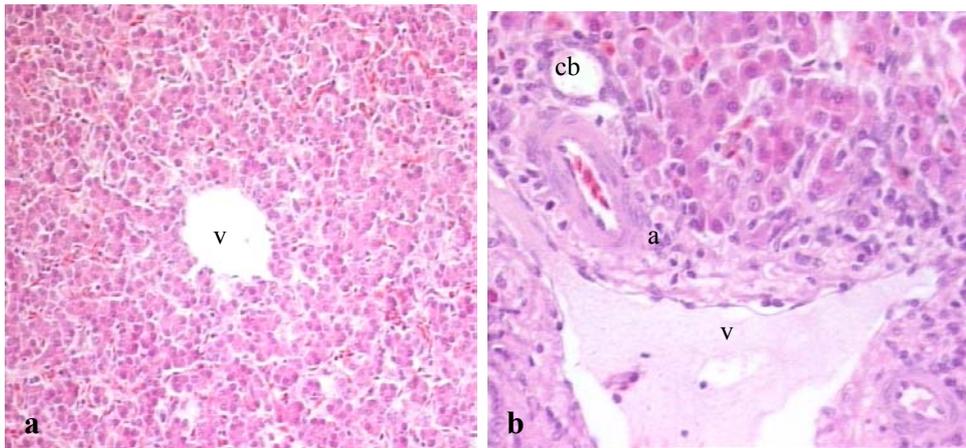
El hígado de las aves es de color oscuro, tiene dos lóbulos derecho e izquierdo que se unen cranealmente en la línea media. El lóbulo izquierdo es normalmente más pequeño que el derecho (Fig. 10). Los vasos sanguíneos aferentes del hígado son las arterias hepáticas derecha e izquierda, ramas de la arteria celiaca, y las ramas porta hepáticas derecha e izquierda que drenan sangre del duodeno, páncreas, íleon y ciego a través de la vena pancreatoduodenal, del yeyuno, íleon y ciego por la mesentérica craneal y del recto por la mesentérica caudal. El hígado está drenado por las venas hepáticas que se unen a la vena cava caudal.



**Fig. 10** Aspecto macroscópico del hígado del pollo

El hígado de las aves es similar en su estructura básica al de los mamíferos, pero difiere en pequeños detalles estructurales.

La tradicional unidad de la estructura hepática, el lobulillo que se ve claramente en los mamíferos como el cerdo, no es tan evidente en las aves debido a que el tejido conectivo interlobular es menos aparente cuando se observa al microscopio (Fig 11).



**Fig. 11 a)** parénquima hepático del pollo región centrolobulillar donde se muestra la vena centrolobulillar (v) y el parénquima hepático. **b)** Espacio portal donde se muestra la vena portal (v), arteria hepática (a) y conducto biliar (cb). Hematoxilina-eosina.

El parénquima hepático está formado por láminas anastomosadas de células hepáticas en estrecha proximidad con la red sinusoidal. Al contrario de lo que sucede en las placas hepáticas de los mamíferos, que están formadas por una célula, en las aves los hepatocitos se disponen formando una red de cordones en forma de malla tridimensional; cada cordón (de unos 30  $\mu\text{m}$  de diámetro) consta de 4-6 células dispuestas alrededor de un canalículo biliar. Los hepatocitos tienen más o menos la forma de una cuña y presentan un gran área de superficie hacia el sinusoides, y una pequeña área de superficie hacia el centro del canalículo biliar. Con propósito descriptivo se divide la membrana celular hepática en

tres partes: la vertiente lateral, vascular y biliar. La membrana lateral limita con el hepatocito contiguo y no tiene microvellosidades. La membrana del polo vascular tiene microvellosidades largas y delgadas (700 nm de longitud y 50 nm de anchura) y la membrana del polo biliar también tiene microvellosidades que protuyen hacia la luz del canalículo biliar pero a diferencia de las anteriores son más cortas y anchas (30 nm de longitud y 85 nm de anchura).

La malla de cordones de hepatocitos se entrelaza de forma similar a la malla de sinusoides. Esto asegura que cada hepatocito tenga una gran superficie de su membrana en contacto con el endotelio sinusoidal a través de sus microvellosidades que se extienden hacia el endotelio sinusoidal llenando prácticamente el espacio extravascular entre el hepatocito y el sinusoides, este es el espacio de Disse de aproximadamente 1µm. Suele ser frecuente la presencia de vesículas asociadas a la base de estas microvellosidades.

El endotelio sinusoidal es fenestrado y de forma irregular, estas fenestraciones están a veces cerradas por una fina membrana aunque otras veces son grandes y están lo suficientemente abiertas para que una parte del leucocito pase parcialmente a su través hacia el espacio de Disse.

Las células de Küpffer son poco numerosas y muy difíciles de encontrar, pueden identificarse porque son más grandes que las células endoteliales, están en continuidad con ellas contribuyendo en la formación de la línea sinusoidal. No tienen microvellosidades pero tienen prolongaciones citoplasmáticas que penetran hacia el espacio de Disse y a la luz sinusoidal.

La sangre entra en el hígado procedente de la arteria hepática y vena porta, estos vasos se ramifican y junto con los conductos biliares transcurren por los espacios porta y se subdividen para formar la red sinusoidal; la sangre pasa desde los sinusoides hacia la vena hepática

centrolobulillar, desde donde drena hacia las venas hepáticas que se unen a la vena cava caudal, craneal al hígado (Abdelwahab, 1987).

El canalículo biliar es un espacio extracelular angosto rodeado por los hepatocitos del polo biliar con fuertes uniones entre ellos. El canalículo biliar hace su recorrido entre los hepatocitos adyacentes siguiendo el mismo patrón de ramificaciones que los cordones de hepatocitos y drena en el canalículo central. Estas ramificaciones son fácilmente conocidas por las microvellosidades que protruyen hacia ellos.

La ultraestructura del hepatocito de las aves, se parece en muchos aspectos a la de los mamíferos. Quizás la característica más distintiva de los hepatocitos de las aves y que no se encuentran en los mamíferos es la tendencia del retículo endoplasmático rugoso de rodear a la mitocondria y su estrecha proximidad a la membrana celular (Purton, 1969). Cada célula tiene un diámetro de 12  $\mu\text{m}$  siendo estas células bastante más pequeñas que los hepatocitos de los mamíferos.

La existencia de zonas electrodensas y electrolúcidas en el citoplasma de los hepatocitos de las aves ha sido señalada por Purton (1969). Estas zonas no existen en los mamíferos pero son extraordinariamente obvias en las aves; la zona más electrodensa es rica en organelas como mitocondrias y retículo endoplasmático rugoso y se suele localizar en torno a la membrana plasmática y alrededor del núcleo.

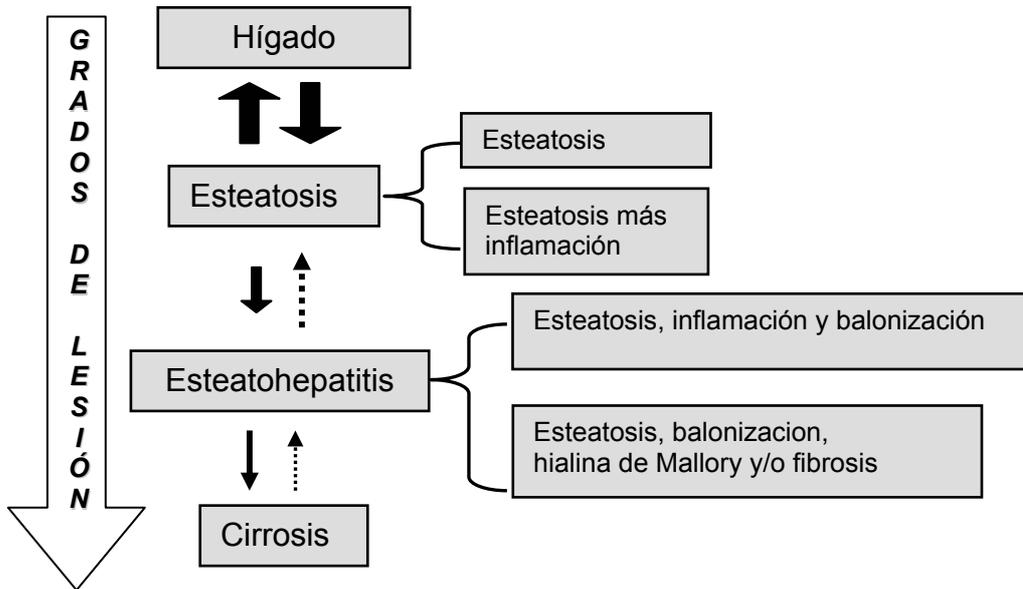
El hepatocito tiene un gran núcleo esférico dispuesto basalmente, los orgánulos más numerosos en el citoplasma son las mitocondrias de forma y tamaño variable.

El complejo de Golgi está próximo al canalículo biliar por su vinculación a la secreción de bilis.

#### **8.4) Características histológicas de la EGHNA**

En 1980 se publicaron dos estudios que describieron hallazgos histológicos indistinguibles de la esteatohepatitis alcohólica en pacientes no alcohólicos (Ludwig y col., 1980; Falchuk y col., 1980). Estos cambios histológicos característicos de la hepatitis alcohólica incluían lesión hepatocelular en la zona 3 con degeneración balonizante e hialina de Mallory, inflamación lobular, esteatosis de marcada a moderada y fibrosis perisinusoidal, centrolobular o septal. La inflamación portal y periportal era usualmente leve. Se acuñó el término de esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) para describir esta constelación de hallazgos y distinguirla de la hepatitis alcohólica histológicamente idéntica (Powel, 1990).

En la EGHNA pueden identificarse tres grados de lesión: la esteatosis (con o sin inflamación), la esteatohepatitis y la cirrosis, existiendo áreas de solapamiento entre estos tres patrones que se consideran parte integrante del amplio espectro de la lesión histológica. Se ha estimado que entre la población diabética y/o obesa aproximadamente del 50-90% presenta esteatosis simple de los cuales un 20-30% de los casos pueden evolucionar a esteatohepatitis y de estos un 2-5% a cirrosis (Dixon y col., 2001; Reid, 2001). Los cambios histológicos son con frecuencia reversibles sobre todo en estadios iniciales pero a medida que la enfermedad progresa a fibrosis y a cirrosis el potencial de reversibilidad disminuye. (Fig. 12).



**Fig. 12** Espectro histológico de lesión en EGHNA. La mayor parte de los pacientes con factores de riesgo para EGHNA desarrollarán esteatosis simple que es reversible. Una pequeña proporción progresará hacia formas más severas de la enfermedad, cada vez menos reversibles (Hübscher, 2006).

Uno de los hallazgos más importantes en la EHNA es que la lesión predomina inicialmente en la región perivenular (zona 3 del acino). Esta zona tiene diferencias metabólicas, enzimáticas y distinto nivel de oxigenación. Se ha observado que la peroxidación lipídica, daños en la reparación del DNA, así como el incremento del CYP-2E1 predominan en la zona 3 (Seki y cols., 2002). Sin embargo cada vez se reconoce más las lesiones portales y periportales en la EHNA.

### **8.4.1) Lesión parenquimatosa en la EGNA**

- **Esteatosis**

La esteatosis es la única entidad encontrada en todas las biopsias de pacientes con EHNA. Es típicamente macrovacuolar, se observa como una gran vacuola dentro del citoplasma del hepatocito causando desplazamiento del núcleo a la periferia. Los hepatocitos afectados son usualmente más grandes que los otros. La esteatosis macrovacuolar es fácilmente reconocida en hematoxilina-eosina y no suele requerir un procesamiento o tinción especial para su evaluación, aunque a veces se emplean tinciones especiales para lípidos en cortes en criostato.

En algunos casos hay además una mezcla de esteatosis hepatocitaria macro y microvacuolar. Los hepatocitos afectados pueden o no estar aumentados de tamaño. Comúnmente los hepatocitos pueden contener ambas formas de esteatosis simultáneamente.

En la hepatopatía alcohólica la esteatosis mixta se asocia con un mayor riesgo de progresión a fibrosis (Teli y col., 1995).

En el examen histológico de un hígado con esteatohepatitis el patrón de lesión, está típicamente concentrado, aunque no limitado, a la zona acinar 3, con escasa afectación de la zona 1. Una excepción a esto la constituyen los niños (Baldrige y col., 1995), en los que el patrón de lesión hepática puede manifestarse, como una distribución difusa lobular. Más de un 50% de las biopsias descritas por Nagore y Scheuer (1988) en diabéticos con esteatohepatitis muestran esteatosis, balonización y cuerpos de Mallory en la zona 1 de los hepatocitos.

Cuando la arquitectura hepática está alterada por el remodelamiento cirrótico los hepatocitos esteatósicos pueden comprender el nódulo entero. En la esteatohepatitis inactiva con cirrosis la esteatosis puede no ser importante y los patólogos únicamente pueden especular sobre su causa.

La severidad de la esteatohepatitis ha sido determinada estimando la proporción de hepatocitos con depósito de vacuolas grasas:  $<1/3$ = leve,  $1/3-2/3$ = moderadas,  $>2/3$ = severa (Brunt, 1999). Se ha sugerido que afectaciones leves  $<5\%$  no son representativas de una alteración patológica (Adams y Angulo, 2005).

Las características de la esteatohepatitis, más allá del simple depósito graso incluyen lesión hepatocelular, inflamación y fibrosis (Tabla 3).

Estos cambios se localizan sobre todo en la zona 3.

El criterio más importante para distinguir la esteatohepatitis de la simple esteatosis es la presencia de balonización hepatocitaria.

**Tabla 3.** Afectación lobular en EHNA

Lesión hepatocelular	Balonización
	Apoptosis / necrosis
	Hialina de Mallory
	Megamitocondrias
Inflamación	Neutrófilos polimorfonucleares
	Otras células (Macrófagos, linfocitos T)
Fibrosis	Perisinusoidal
	Pericelular

- **Balonización hepatocitaria**

Es la principal característica de la esteatohepatitis y está típicamente asociada a la formación de hialina de Mallory. La degeneración balonizante resulta de la acumulación de fluido intracelular y se caracteriza por el hinchamiento del hepatocito y finalmente la granulación y rarefacción del citoplasma. Los grupos de hepatocitos balonizados son típicos de la zona 3, cerca de los hepatocitos esteatósicos. Existen formas

de hepatocitos balonizados menos severas difícil de diagnosticar con seguridad, incluso pueden ser debidos a artefactos durante el procesamiento. En los casos donde existen dudas acerca de la presencia de balonización, las tinciones inmunohistoquímicas pueden ayudar a demostrar pequeñas cantidades de hialina de Mallory que no pueden ser diagnosticadas con seguridad en las secciones de tinción convencional. No es sorprendente por tanto que el diagnóstico histológico de hepatocitos balonizados esté asociado con una mayor tasa de variabilidad interobservador que otras características de la EGHNA como la fibrosis y esteatosis (Kleiner y col., 2005). La lisis resultante de los hepatocitos balonizados que se pierden de la lámina hepática y los depósitos de fibrina aparecen como focos marginales en el parénquima.

La muerte de los hepatocitos puede ocurrir por apoptosis o necrosis, los cuerpos apoptóticos no son usualmente demasiado visibles a nivel histológico. La EGHNA está asociada al incremento en la expresión de la membrana hepatocelular del receptor Fas, haciendo a estas células más susceptibles a la apoptosis por la expresión de los Fas-ligando expresados en las células inflamatorias (Feldstein y col., 2003). La severidad de la esteatosis parece ser importante en determinar la extensión de la apoptosis. Por otro lado la formación de especies reactivas del oxígeno (ROS) está asociada a la expresión de Fas-ligando expresado en los hepatocitos dando lugar a una vía para la apoptosis fraticida.

- **Cuerpos acidófilos**

Resultan de la muerte apoptótica de la célula y se ven como pequeños fragmentos de citoplasma refringente eosinófilo en el sinusoides. La tinción PAS-d (Tinción ácido Periódico-Schiff tras digestión con diastasa) destaca las células Kupffer fagocitando estos detritus celulares.

- **Hialina de Mallory**

La hialina de Mallory es una inclusión citoplasmática perinuclear que consiste en agregados bien caracterizados de péptidos del citoesqueleto,

a menudo en hepatocitos balonizados que son pálidos e hinchados; con tinción de hematoxilina-eosina se aprecia una masa irregular intensamente eosinófila. Wanless y col. (1989) discuten la hipótesis de que el incremento intracelular de ácidos grasos libres en la esteatohepatitis y ácidos biliares en la colestasis pueden actuar como detergente, de manera que cause ruptura del sistema de unión de los filamentos del citoesqueleto que lleve a la formación de agregados en forma de inclusión. La hialina de Mallory conlleva una quimiotaxis de los neutrófilos alrededor de las células afectadas, proceso que se conoce como "Satelitosis". Varios estudios señalan que la hialina de Mallory observada en la EHNA no está tan bien formada o es tan fácilmente reconocible como en la esteatohepatitis alcohólica (Itoh y col., 1987; Pinto y col., 1996). Como ocurre en la hepatitis alcohólica, la hialina de Mallory es más obvia cuanto más se incrementan los grados de severidad de la EHNA (Hall y col., 1994). Según Ludwig y col. (1980) la presencia de abundante hialina de Mallory con satelitosis lleva a considerar un origen más alcohólico de la hepatopatía.

Aunque la hialina de Mallory es un hallazgo característico de la hepatitis alcohólica y común en EHNA no está uniformemente señalado en todos los estudios histopatológicos de EHNA. Estos cambios están notablemente ausentes en la población pediátrica con EHNA, lo que es llamativo dada su similitud en la etiopatogenia con respecto a la del adulto (Rashid y Roberts, 2000). En los estudios con adultos, la incidencia de este hallazgo oscila entre un 9,5% (Powell y col., 1990) y el 90% (Dielh y col., 1989). Cuando está presente se localiza en los hepatocitos balonizados de la zona 3, con notable excepción en la afectación de la zona 1 que normalmente se implica en la enfermedad hepática crónica, enfermedad colestásica, en algunos casos de diabetes mellitus tipo 2 y en la esteatohepatitis asociada a amiodarona (Nagore y Scheuer, 1988; Burt y col., 1998; Denk y col., 2000). La presencia de hialina de Mallory es una evidencia adicional de EHNA pero su presencia no se considera necesaria para el diagnóstico histológico.

- **Megamitocondria**

El aumento del tamaño de la mitocondria, conocido como megamitocondria, puede aparecer en la EHNA (Brunt y col., 1999). En un estudio (Caldwell y col., 1999) ultraestructural de las megamitocondrias en la EHNA se demuestran inclusiones paracristalinas en 8 de 10 biopsias de EHNA, comparada con 1 de cada 7 biopsias procedentes de enfermedad hepática alcohólica, en el análisis del estudio se especula que las inclusiones en la mitocondria podrían representar una forma de lesión hepática o un cambio adaptativo.

- **Inflamación Intra-acinar (lobulillar)**

Un rasgo característico del infiltrado lobulillar que distingue a la EHNA de otras formas de enfermedad crónica hepática es la presencia de leucocitos polimorfonucleares en el sinusoides, sobre todo, junto a células balonizadas. Se observan mayor número de neutrófilos alrededor de los hepatocitos con agregados intracitoplasmáticos de hialina de Mallory fenómeno conocido como “satelitis” (Baptista y col., 1981; MacSween and Burt, 1986) o también pueden verse dentro del citoplasma de los hepatocitos (Takahashi y col., 1987) ó estar diseminados por todo el lobulillo, siendo sólo reconocidos tras una cuidadosa exploración.

La inflamación de la esteatohepatitis es típicamente leve y predominantemente lobulillar, más que portal; se caracteriza por ser mixta e incluye neutrófilos, linfocitos (principalmente linfocitos T CD3) y macrófagos/células Kupffer, predominan los neutrófilos, y las células Natural Killer pueden estar presentes. Existe una fuerte correlación entre el infiltrado de leucocitos neutrófilos y la apoptosis en la EHNA; esto apoya el concepto de que los leucocitos son dependientes de la apoptosis o que la apoptosis es un evento inicial en la inflamación en la EHNA (Ziol y col., 2001; Natori y col., 2001). La inflamación crónica puede ser más aparente en los casos de resolución de la EHA y EHNA (Lee, 1994). La inflamación portal en el adulto no está siempre presente, suele ser leve y compuesta por células mononucleares, sin embargo la inflamación

intensa portal con interfase activa puede verse en distintos procesos como hepatitis crónica viral, autoinmune y hepatitis inducida por drogas.

- **Lipogranuloma**

Corresponde a grasa que puede llegar a afectar a todo el hepatocito, rodeándose de células mononucleares, células Kupffer y ocasionalmente eosinófilos. Los lipogranulomas, son un componente de la inflamación en el hígado esteatósico. Han sido específicamente analizados o mencionados en varios estudios histológicos de esteatohepatitis (Nagore y Scheuer, 1988; Bacon y col., 1994; Baldrige y col., 1995; Brunt y col., 1999). Aunque por si mismos no son diagnósticos de EHNA son una característica bastante notable. Los lipogranulomas se localizan a nivel intraacinar; los localizados a nivel portal y perivenular son menos específicos y pueden aparecer en la enfermedad hepática no esteatósica. Estas lesiones pueden estar cubiertas de fibras de colágeno y no deben ser confundidas con fibrosis perisinusoidal o esteatohepatitis.

- **Fibrosis**

El patrón de fibrosis reconocido en la EHNA es uno de los hallazgos más característicos de esta entidad. Inicialmente el depósito de colágeno, se observa en la zona perivenular del espacio perisinusoidal de la zona 3 y usualmente en asociación con otras lesiones de esteatohepatitis. Se recomiendan tinciones de colágeno para la detección de estas sutiles y finas fibras de colágeno en los estadios más iniciales. En algunas áreas, el colágeno parece revestir las células en un patrón de fibrosis referido cómo pericelular o “ chicken-wire “ como está comúnmente descrito en la enfermedad hepática alcohólica (Baptista y col., 1981). Este patrón de fibrosis distingue la esteatohepatitis alcohólica y no alcohólica de otras formas necroinflamatorias, colestásicas y enfermedades hepáticas metabólicas en las cuales, la fibrosis es inicialmente portal.

#### **8.4.2) Lesión portal / periportal de la EGHNA**

Pueden aparecer cambios inflamatorios similares a los que se ven en las hepatitis crónica y alteraciones biliares parecidas a las de la obstrucción biliar de bajo grado. Ambos patrones de lesión proporcionan un mecanismo para el desarrollo de fibrosis periportal progresiva.

- **Inflamación portal**

Pueden estar presentes grados leves de inflamación portal asociada a hepatitis de la interfase y fibrosis periportal como en otras formas de hepatopatías crónicas (Brunt, 2001). Esto ocurre usualmente en combinación con las características típicas de la esteatohepatitis en el parénquima hepático, aunque a veces puede aparecer como un fenómeno aislado (fibrosis portal aislada) (Dixon y col., 2004); esto se aplica particularmente a la EGHNA que aparece en la población pediátrica, en el adulto este patrón de lesión se ve en pacientes con obesidad mórbida donde aparece en un 18-33% de los casos (Dixon y col., 2001). La fibrosis portal puede persistir tras el tratamiento y a pesar de la mejoría de otras alteraciones histológicas, sugiriendo que pueden estar implicados mecanismos patogénicos diferentes que median la lesión portal en la EGHNA (Dixon y col., 2004). La inflamación portal y la fibrosis pueden llegar a ser más marcadas en las fases avanzadas. En otros casos estos cambios pueden ser debidos a otra enfermedad concurrente, esta posibilidad debe considerarse si la severidad de la inflamación portal es desproporcionada respecto a los cambios típicos lobulares de esteatohepatitis o si hay alguna característica atípica como folículos linfoides (sugestivo de hepatitis C) o aumento del componente de células plasmáticas (sugestivo de hepatitis autoinmune).

- **Lesión biliar**

La reacción ductular es frecuente y puede dar lugar a una lesión parecida a la de otras enfermedades del tracto biliar que parece estar relacionada con la respuesta del progenitor celular como consecuencia del daño en la replicación hepatocelular inducido por la esteatosis (Yang y col, 2004). Sin

embargo la lesión y la pérdida ductal no son características típicas en la EHNA debiendo sospechar otras patologías como la cirrosis biliar primaria o la colangitis esclerosante.

#### **8.4.3) Otros hallazgos histológicos en la EGHNA**

- **Núcleos glucogenados**

Consiste en la presencia de vacuolas con contenido de glucógeno en el núcleo, es común aunque no diagnóstica de EHNA, no siendo una característica notable en la enfermedad hepática alcohólica. Pinto y col. (1996) observaron la glucogenización del núcleo en el 75% de 32 biopsias en enfermos con EHNA con clínica de diabetes y obesidad y en el 10% de 21 biopsias de pacientes con esteatohepatitis alcohólica. Estos cambios nucleares se han visto en las biopsias de niños independientemente de la enfermedad hepática subyacente (Baldrige y col., 1995), en la enfermedad de Wilson y es una lesión característica de la enfermedad hepática asociada a la diabetes (Nagore y Scheuer, 1988). La vacuolización nuclear se puede ver en la cirrosis secundaria a EGHNA incluso cuando no son manifiestas otras características de la esteatohepatitis (Contos y col., 2001).

- **Depósito de Hierro**

La elevación del hierro en la biopsia hepática se correlaciona con el grado y estadio de la enfermedad (George y col., 1998). La interacción entre un metabolismo anormal del hierro, la esteatosis hepática y la esteatohepatitis son áreas de investigación activa (Blendis y col., 2000). Un estudio publicado en Japón mostraba una alta proporción de pacientes con EHNA y aumento del hierro hepatocelular (Yamauchi y col., 2001).

- **Metaloproteinasas**

La remodelación del tejido hepático con la síntesis nueva de colágeno y una disminución en la degradación del mismo es un evento que aparece en las hepatopatías crónicas (Boker y col., 2000) y está estrechamente

relacionado con la acción de las metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs) (Arthur, 1990). Su papel en la progresión de la enfermedad crónica y su función en el tejido normal no se conoce totalmente. En la EGHNA se ha visto que existe un incremento notable en la expresión de MMP9 y MMP10 (Ljumovic y col., 2004).

#### **8.4.4) Diferencias entre esteatosis y esteatohepatitis**

Un número de estudios han indicado que una esteatosis simple es una lesión reversible no progresiva, mientras que la presencia de características de esteatohepatitis indica potencial para la progresión de la lesión hepática, en algunos casos hacia la cirrosis (Teli y col., 1995; Matteoni y col., 1999; Dam-Larsen y col., 2004). En dos estudios con una población de 149 pacientes con esteatosis simple ninguno desarrolló signos de progresión clínica e histológica de la enfermedad hepática durante un periodo de seguimiento mayor a 11 años (Teli y col., 1995; Dam-Larsen y col., 2004). En un tercer estudio de 132 pacientes sometidos a una biopsia hepática durante un periodo de seguimiento de 8,3 años solo 2 de 59 (3%) con esteatosis simple sola o esteatosis e inflamación lobulillar progresaron a cirrosis, mientras que 18 de 73 pacientes (25%) cuyas biopsias mostraban cambios adicionales de esteatohepatitis (balonización, hialina de Mallory o fibrosis) desarrollaron cirrosis (Matteoni y col., 1999). Este estudio indica la necesidad e importancia de utilizar criterios más rígidos en el diagnóstico de la esteatohepatitis que la simple inflamación y el depósito graso.

Pero el concepto de que la esteatosis simple se asocia a un resultado favorable está recientemente cambiando. Tres estudios han mostrado que hasta un 10% de pacientes con esteatosis simple progresaron a esteatohepatitis con fibrosis o cirrosis (Saksena, 2003; Harrison y col., 2003); sin embargo en uno de ellos el riesgo de progresión fue significativamente mayor en pacientes con un diagnóstico inicial de esteatohepatitis (20%) que en los que tenían esteatosis simple (3%) (McCullough, 2004). En otro estudio se sugiere que otros factores de

riesgo como la diabetes y la obesidad son predictores más fiables de progresión a fibrosis que los hallazgos en la biopsia basal (Fassio y col., 2004; Adams y col., 2005). Incluso en muchos casos se desarrolla fibrosis a pesar de la mejoría de la bioquímica hepática y en otras alteraciones histológicas que incluyen la esteatosis, la balonización o la hialina de Mallory. Esto confirmaría las observaciones previas de que las características distintivas de la EHNA se pierden frecuentemente en los casos de progresión a cirrosis.

#### **8.4.5) Criterios mínimos requeridos para hacer el diagnóstico histológico de EHNA**

Las características histológicas de la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) han sido bien definidas e individualmente analizadas (Lee, 1989; Diehl y col., 1989; Bacon y col., 1994) aunque estas lesiones pueden coincidir con las de otras formas de enfermedad hepática.

No existe un criterio universalmente aceptado para realizar el diagnóstico histológico de la EHNA (Neuschwander-Tetri y Caldwell, 2003). Algunos estudios han definido la esteatohepatitis como depósito de grasa e inflamación de cualquier tipo; esta aproximación pierde especificidad y puede dar lugar a que otras enfermedades no relacionadas incluyendo enfermedades sistémicas asociadas a "hepatitis reactiva no específica" sean clasificadas erróneamente como EGHNA (Lee, 1995).

El uso de un criterio diagnóstico rígido incluye la presencia de balonización hepatocitaria con hialina de Mallory y/o fibrosis pericelular o perisinusoidal lo que mejora el diagnóstico de especificidad pero pierde sensibilidad en detectar los casos en los que predominan cambios portales/peroportales. Con la intención de solventar este problema Brunt (2001) y el grupo de trabajo integrado en la Asociación Americana para el estudio del hígado ha publicado un documento de consenso en el que se identifican un número de características esenciales y no esenciales de EHNA que se exponen en la siguiente tabla 4.

**Tabla 4.** Características histológicas en el diagnóstico de EHNA

<b>Necesarias</b>
Esteatosis, macro > microvacuolar
Inflamación mixta lobulillar leve; escasos polimorfos y mononucleares
Balonización de hepatocitos; Próxima a células hepáticas esteatóticas en zona 3
<b>Usuales pero no necesarias</b>
Fibrosis perisinusoidal en Zona 3;
Núcleos glucogenados en Zona 1
Lipogranulomas generalmente pequeños
Cuerpos acidófilos o células de Kupffer d-PAS + ocasionalmente
<b>Pueden estar presentes, pero no necesarias</b>
Hialina de Mallory en los hepatocitos balonizados de la zona 3; típicamente mal constituida, puede requerir tinción inmunohistoquímica para ubiquitina, p62 y citoqueratinas 7, 18,19
Siderosis leve (hepatocitos y/o células sinusoidales)
Megamitocondrias
<b>Inusuales: Considerar otras etiologías</b>
Esteatosis microvacuolar pura o predominante
Esteatosis macrovacuolar que afecta a < del 30% del parénquima o de distribución azonal.
Necrosis hialina esclerosante; lesiones veno-oclusivas; fibrosis perivenular; fleboesclerosis
Inflamación portal mayor que inflamación lobulillar, agregados linfoides o células plasmáticas
Eosinofilia significativa en la inflamación portal o lobulillar, granulomas epitelioides
Fibrosis portal/periportal en ausencia de, o marcadamente mayor que la fibrosis perisinusoidal de la Zona 3; fibrosis en puentes interportales
Distorsión lobulillar con mucha inflamación. Endoflebitis. Necrosis confluyente o en puentes
Colestasis aguda, tapones biliares
Colestasis crónica +/- lesión ductal florida, ductopenia, proliferación ductular, gránulos de cobre en hepatocitos periportales.
Aumento del depósito de hierro significativo en los hepatocitos con gradiente en zona 1 >3.

(Adaptado de Brunt, 2001 y La Asociación Americana para el Estudio del Hígado, Single Topic Conference on NASH, Atlanta, GA September 2002)

### **8.5) Evaluación de la severidad de la enfermedad: Gradación y Estadificación**

La gradación ó actividad de la hepatitis crónica es una medida de la gravedad de la enfermedad y puede ser evaluada mediante la sintomatología clínica, los niveles de aminotransferasas y la histopatología de la biopsia hepática que atiende al daño hepatocelular, la necrosis y la inflamación (Desmet y col., 1994).

La estadificación es una medida de la progresión de la enfermedad y su evaluación histológica está basada en la extensión de la fibrosis y el desarrollo de cirrosis (Bianchi y col., 1994).

Tanto la gradación como la estadificación tienen implicaciones pronósticas y terapéuticas significativas. La estadificación y gradación de la enfermedad crónica hepática fue un concepto introducido a mediados de 1990 como parte de la reevaluación de la manera en que las hepatitis crónicas y autoinmunes eran informadas. Representaba un cambio en la manera de ver los patólogos y clínicos las hepatitis crónicas. De acuerdo con este nuevo paradigma, en ambos la severidad de la progresión de la lesión y el grado de progresión hacia el estadio final de la lesión hepática fueron evaluados y presentados separadamente.

Las características histológicas de la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) fueron bien definidas e individualmente analizadas, sin embargo no existía ningún sistema para evaluar la actividad inflamatoria (grado) o la extensión de la fibrosis con o sin remodelación de la arquitectura (estadio), como los usados para otras formas de enfermedad hepática crónica, como hepatitis viral y autoinmune (Knodell y col., 1981; Scheuer, 1991; Desmet y col., 1994; French METAVIR Cooperative study Group; Ishak y col., 1995), cirrosis viral primaria (Sheuer, 1967; Ludwig y col., 1978) o para la colangitis esclerosante primaria (Ludwig y col., 1986). En 1999, Brunt y col. hacen la propuesta de extender este sistema de estadificación y gradación a la EHNA, analizan material de biopsias de enfermos con EHNA para desarrollar un sistema de gradación y estadificación de los cambios morfológicos con el propósito de realizar una descripción más estandarizada de las lesiones presentes y el grado de lesión hepática asociado a ellas.

Analizan 51 biopsias de 50 pacientes con esteatohepatitis (28 mujeres y 22 hombres, con edades entre 18-72 años) excluyéndose previamente otras formas de enfermedad hepática, tratamiento con esteroides o un consumo de alcohol mayor a 20 gr /día, durante un periodo de cinco años. Evaluaron 10 variables histológicas comúnmente descritas en EHNA, con el propósito de determinar cuales de ellas eran significativas para evaluar la actividad necroinflamatoria.

### 8.5.1) Gradación de la EGHNA

La evaluación del grado de actividad de la esteatohepatitis, no se basa en una única variable histológica, sino en la combinación de distintas variables entre las que se incluyen la esteatosis hepatocelular, balonización de los hepatocitos y la inflamación portal y lobulillar (Tabla 5). El resto de las variables que fueron analizadas, no se incluyen en el sistema de gradación, por no tener un valor suficientemente discriminativo para la determinación de los distintos grados. Estas variables son hialina de Mallory, cuerpos acidófilos, Células de Kupffer PAS-d, glucogenización del núcleo, lipogranulomas y depósito de hierro. Como con las hepatitis crónicas, el estadio es definido por el grado de fibrosis. Así pues se propone el primer sistema de gradación y estadificación de la EHNA.

**Tabla 5.** Gradación de la EHNA

Grado	Esteatosis	Balonización (zona 3)	Inflamación
Leve	1-2	Mínimo	Lobulillar 1-2 Portal 0-1
Moderado	2-3	Presente	Lobulillar 2 Portal 1-2
Grave	3	Marcado	Lobulillar 3 Portal 1-2

Características individuales valoradas semicuantitativamente en una escala de:

0 = ausente, 1 = leve, 2 = moderado, 3 = severo.

Severidad de la esteatosis según la proporción de hepatocitos afectados:

1 = < 33%, 2 = 33 - 66%, 3 = > 66%

Severidad de la inflamación lobulillar basada en el número de focos inflamatorios en campos 200X:

1 = 1-2, 2 = más de 4, 3 = > 4

Tomada de Brunt 1999 y Neuschwander-Tetri and Caldwell 2003.

**El grado 1 ó leve** en la biopsia mostraría el criterio mínimo para el diagnóstico de la esteatohepatitis, con algún grado de esteatosis hepatocelular más infiltrado lobulillar. La inflamación lobulillar es dispersa y leve, consiste en pequeñas colecciones de polimorfonucleares con ó sin linfocitos, ocasionalmente pueden verse microgranulomas y lipogranulomas. Aunque la esteatosis usualmente es inferior al 33%, puede llegar al 66% pero solo se consideraría grado 1 junto a un infiltrado inflamatorio leve. El hepatocito esteatótico puede verse disperso en el lobulillo o estar concentrado en la zona 3. Existen pocos hepatocitos balonizados que suelen detectarse ocasionalmente también en zona 3. No existe inflamación portal o si la hay esta es leve y nunca en ausencia de inflamación lobulillar.

**El grado 2 ó moderado** mostraría una combinación de los cambios morfológicos descritos entre los grados leve y severo. La esteatosis es más evidente y puede llegar a afectar a más del 66% de los hepatocitos, frecuentemente mezcla de macro y microvesicular. La balonización está siempre presente sobre todo en la zona 3, muy próxima a los hepatocitos distendidos por la esteatosis. La inflamación intralobulillar es más evidente y los neutrófilos pueden asociarse a los hepatocitos balonizados y la fibrosis de la zona 3 perisinusoidal, también puede haber ligera inflamación crónica. Los microgranulomas y lipogranulomas, a veces bastante pequeños, están casi siempre presentes. La inflamación portal puede ser de leve a moderada con interfase activa.

**En el grado 3 ó severo** la esteatosis es usualmente panacinar (más del 66%) pudiendo afectar a todo el nódulo regenerativo en el parénquima hepático, generalmente de tipo mixto (macro y microvesicular). La balonización es manifiesta y está presente en la zona 3. La inflamación lobulillar es parcheada aguda y crónica; los neutrófilos suelen concentrarse también en áreas de balonización de la zona 3 y en la fibrosis perisinusoidal. La inflamación portal es ligera o moderada y mayor que en el grado 2.

La gradación de la esteatohepatitis no era tan fiable como para la hepatitis crónica porque no estaba claro (ni aún lo está) que características son las más importantes y como combinarlas juntas para decidir la severidad en la progresión de la lesión. Este sistema estaba propuesto principalmente para la evaluación de la esteatohepatitis clásica como se describe arriba y no consideraba los casos de EGHNA que no reunían los criterios generalmente aceptados para la EHNA y no hace mención al patrón de fibrosis que había sido visto en algunos casos pediátricos; otra crítica a esta aproximación es la incorporación de la esteatosis, balonización e inflamación a un mismo grado, lo que implica que estas tres características histológicas se incrementen en paralelo unas a otras. Por ejemplo una biopsia puede mostrar depósito graso severo (grado 3) pero solo inflamación y balonización leve (grado 1) y no está claro que grado debe de ser aplicado globalmente al conjunto de la muestra, no obstante este sistema ha sido usado con éxito para documentar cambios en la histología dentro de ensayos clínicos de pacientes adultos con EHNA tratados con diversas terapias (Neuschwander-Tetri, 2003; Promrat y col., 2004).

### **8.5.2) Estadificación de la EGHNA**

El sistema de estadificación refleja el patrón de fibrosis, el incremento de depósito de tejido conectivo y el remodelamiento arquitectural. La zona 3 perisinusoidal o pericelular, es el sitio de inicio de la fibrosis en la esteatohepatitis, este tipo y progresión de la fibrosis observada es la base para proponer el sistema de estadificación. A la fibrosis en la zona 3 perisinusoidal se le asigna el estadio 1, esta forma de esteatosis persiste en todos los estadios. El estadio 2 suma al anterior distintos grados de fibrosis portal y en el estadio 3 la afectación es mayor al presentar puentes de fibrosis entre las zonas 3 y entre las zonas 1-3. (Tabla 6).

**Tabla 6.** Estadificación de la fibrosis en la EHNA

<b>Estadio 1:</b>	Fibrosis perivenular, perisinusoidal/pericelular en Zona 3, focal o extensa
<b>Estadio 2:</b>	Como la anterior con fibrosis periportal focal o extensa
<b>Estadio 3:</b>	Fibrosis en puentes, focal o extensa
<b>Estadio 4:</b>	Cirrosis

Tomada de Brunt 1999 y Neuschwander-Tetri and Caldwell 2003

### 8.5.3) Sistema de puntuación histológica de la EGHNA

El cuadro clínico, la elevación de aminotransferasas en suero y los estudios de imagen del hígado pueden mostrar cambios sugestivos de hígado graso pero no son adecuados solos o en combinación para distinguir la esteatosis simple de la esteatohepatitis. Estas consideraciones hacen que sea difícil de evaluar la historia natural de la EGHNA o delimitar mejor la necesidad de tratamiento o intervención.

La ausencia de un claro conocimiento en la patogénesis de la EHNA, su historia natural, características pronósticas y de tratamiento, todo ello subraya la necesidad para la investigación clínica y básica en esta importante enfermedad hepática. En respuesta a esta necesidad, en 2002, el “National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease” en EEUU estableció una Red Clínica de Investigación (Clinical Research Network) para el estudio de la EHNA (NASH CRN) que implicaba a ocho centros clínicos académicos y al “National Institute of Health”.

Entre los objetivos del grupo de trabajo estaban:

1. Formar una base de datos para el estudio a largo plazo de la historia natural de la EGHNA en pacientes afectados.
2. Reunir muestras clínicas para el estudio metabólico, inmunológico, molecular y genético de la EGHNA centrado en definir la etiología de la enfermedad.

3. Evaluar terapias prometedoras para la EHNA en la población pediátrica y adulta.
4. Los patólogos implicados en el NASH CRN estaban encargados de la tarea de validar un sistema de puntuación que pudiera ser usado para describir las biopsias hepáticas de adultos y niños afectados por el espectro entero de la EGHNA/EHNA y que pudiera ser utilizado para evaluar los cambios histológicos en los ensayos clínicos y estudios sobre la historia natural de la enfermedad. El sistema desarrollado se basaba en un sistema de puntuación e incluía una evaluación que cubría todo el rango de características vistas en niños y adultos (Kleiner y col., 2005). El comité acordó que solo la tinción de hematoxilina y eosina y el tricrómico de Masson eran suficientes para la evaluación. Las características histológicas tras la evaluación de un total de 50 biopsias, 32 adultos y 18 casos pediátricos valoradas por nueve patólogos con un total de 576 observaciones fueron agrupadas en cinco grandes categorías: esteatosis, inflamación, lesión hepatocelular, fibrosis y miscelánea. La tabla 7 define las puntuaciones para cada característica.

**Tabla 7.** Sistema de puntuación histológico para adultos y niños con EGHNA

Característica	Definición	Puntuación
<b>ESTEATOSIS</b>		
<b>Grado</b>	<5%	0
	5-33%	1
	33-66%	2
	>66%	3
<b>Localización</b>	Zona 3	0
	Zona 1	1
	Azonal	2
	Panacinar	3
<b>Esteatosis microvesicular</b>	Ausente	0
	Presente	1

<b>INFLAMACIÓN</b>		
<b>Inflamación lobular</b>	0 focos	0
	<2 focos por campo 200x	1
	2-4 focos por campo 200x	2
	>4 focos por campo 200x	3
<b>Microgranulomas</b>	Ausentes	0
	Presentes	1
<b>Lipogranuloma</b>	Ausente	0
	Presente	1
<b>Inflamación portal</b>	Ninguna o mínima	0
	Mayor a la anterior	1
<b>LESIÓN CELULAR</b>		
<b>Balonización</b>	Ninguno	0
	Pocas células balonizadas	1
	Muchas células afectadas	2
<b>Cuerpos acidófilos</b>	Ninguno o raro	0
	Varios	1
<b>Macrófagos pigmentados</b>	Ninguno o raros	0
	Varios	1
<b>Megamitocondria</b>	Ninguna o rara	0
	Varias	1
<b>OTROS HALLAZGOS</b>		
<b>Hialina de Mallory</b>	Ninguna o rara	0
	Varias	1
<b>Núcleo glucogenado</b>	Ninguno o raro	0
	Varios	1
<b>FIBROSIS</b>		
<b>Estadio</b>	Ninguna	0
	Leve, zona 3, perisinusoidal	1 A
	Moderada, zona 3, perisinusoidal	1 B
	Portal/perportal	1 C
	Perisinusoidal y portal/perportal	2
	Fibrosis en puentes	3
	Cirrosis	4

Kleiner y col., 2005, Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network, NASH CRN

Este sistema de puntuación está basado en el sistema original ideado por Burt y col. (1998) y valora las mismas tres principales características histológicas para la actividad de la enfermedad pero en lugar de

incorporarlas dentro de un mismo grado se valoran separadamente y la puntuación individual se suma para dar lugar a un índice de actividad general (NASH activity score).

A la esteatosis macrovesicular se le asigna un grado de 0-3, en base al porcentaje de hepatocitos afectados en la biopsia (0 si es inferior al 5%; 1 si existe entre un 5%-33% de afectación; 2 si es del 33-66% y 3 si es mayor al 66%). En este nuevo sistema se asigna una puntuación de 0 a una afectación menor al 5%, separándolo del grado 1 ó leve de Burt que asignaba un valor de 0 si no había esteatosis, 1 si existía una afectación del 5-33%, 2 si era del 33-66% y 3 si era mayor del 66%, así se evita dar tanto peso a una característica que está poco presente. Se describe su distribución en el lobulillo y la presencia de esteatosis microvesicular.

La Inflamación lobulillar o intraacinar se evalúa de forma semicuantitativa, al igual que la anterior, contabilizando el número de focos inflamatorios en campos de observación al microscopio con el objetivo de 200x. Se asigna un valor de 0 cuando no existen focos, 1 si existen menos de dos focos por campo, 2 cuando existen de dos a cuatro focos y 3 si existen más de cuatro focos por campo. Se señala la presencia o ausencia de microgranulomas, lipogranulomas e inflamación portal.

La balonización hepatocitaria se evalúa en base al número de hepatocitos que mostraban estos cambios: 0 si no existe balonización, 1 cuando es escasa y 3 cuando es muy frecuente. Los cuerpos acidófilos, macrófagos pigmentados y megamitocondrias se puntúan entre 0 si no existen o se ven raramente y 1 si son frecuentes.

Otros hallazgos como la hialina de Mallory y los núcleos glucogenados se valoran de igual forma entre 0 si están ausentes o son raros y 1 si se ven con frecuencia.

El estadio 1 de fibrosis se subdivide en fibrosis perisinusoidal en zona 3 leve (1A), densa (1B) y fibrosis portal o periportal sola sin afectación perisinusoidal (1C), los estadios 2, 3 y 4 de fibrosis son similares a la clasificación de Burt y col. (1999)

#### **8.5.4) Índice de actividad de la EGHNA (NAS)**

Muchas de las características histológicas son presentadas como ausentes o presentes permitiendo al patólogo recoger una considerable información descriptiva sin una complejidad innecesaria. Las principales características de la esteatohepatitis que incluye fibrosis, inflamación lobular, esteatosis y lesión balonizante se estratifican con más detalle.

Debido a que el sistema fue diseñado para documentar todo el espectro de lesión observado en la EGHNA se incluyen algunas características que podrían no entrar en el diagnóstico ordinario para la evaluación de la EGHNA. Solo cuatro elementos son absolutamente esenciales: esteatosis, inflamación lobular, balonización y fibrosis. Además para validar este sistema para su reproducibilidad, Kleiner y col. (2005) proponen un índice de actividad para la EHNA, el NASH Activity Score (NAS) (tabla 8) que podría ser usado en ensayos clínicos para evaluar globalmente los cambios histológicos de igual forma al índice de actividad histológico (HAI) usado en la hepatitis crónica viral. El NAS es la suma de los índices de puntuación para el grado de esteatosis (0-3), inflamación lobular (0-3) y balonización (0-2) y tiene un rango que va de 0 a 8. Estas tres características además de la fibrosis fueron asociadas con el diagnóstico de esteatohepatitis en un análisis multivariante.

Sin embargo el índice de fibrosis no estaba incluido en el NAS para mantener la separación entre las características consideradas para el estadio de la enfermedad de aquellas que son indicativas del grado de actividad de la enfermedad.

En la validación del estudio los casos que fueron diagnosticados como esteatohepatitis definitiva tenían una puntuación de 5 a 8. La relación del NAS con la actividad real de la enfermedad es aún desconocida y es una de las cuestiones que el NASH CRN tratará de esclarecer (Tabla 8).

**Tabla 8.** Evaluación de la puntuación de la actividad de la EGHNA (NAFLD Activity Score (NAS)).

Puntuación	
<b>Esteatosis (0-3)</b>	
<5% de hepatocitos afectados	0
5-33% de hepatocitos afectados	1
33-66% de hepatocitos afectado	2
> 66% de hepatocitos afectados	3
<b>Inflamación lobulillar (0-3)</b>	
ningún foco	0
< 2 focos por campo 200x	1
2-4 focos por campo 200x	2
> 4 focos por campo 200x	3
<b>Hepatocitos balonizados (0-2)</b>	
ninguno	0
pocas células balonizadas	1
muchas células afectadas	2
NAS (0-8) = suma de las puntuaciones para la esteatosis, inflamación lobulillar y balonización hepatocelular	
Correlación entre la puntuación general de la EGHNA y el diagnóstico histológico de EHNA.	

NAS (NAFLD activity score)

≥ 5

3-4

≤ 2

Diagnóstico histológico de EHNA

EHNA probable o definida

Dudoso diagnóstico de EHNA

No diagnóstico de EHNA

(Kleiner y col, 2005)

El NASH CRN como otros sistemas de puntuación son herramientas de investigación y no pueden reemplazar el diagnóstico estándar de evaluación del patólogo. No hay datos que apoyen el uso de ningún sistema de puntuación en el manejo de pacientes con EGHNA en la práctica rutinaria del día a día. Para este propósito se recomienda que el patólogo señale el estadio y el grado descriptivamente e incluya globalmente el grado de inflamación, el grado de esteatosis, el grado de

balonización y el estadio de fibrosis. El patólogo debe señalar si la biopsia muestra el patrón de lesión de esteatohepatitis.

Uno de los problemas inherentes a todos los sistemas de puntuación histológicos que han sido usados en la evaluación de la enfermedad hepática se relacionan con la reproducibilidad interobservadores y la variabilidad de la muestra. Entre las características evaluadas existe coincidencia entre los observadores para la esteatosis, la balonización moderada y menos para la inflamación lobulillar e hialina de Mallory (Keiner y col., 2005)

El uso de los métodos de análisis de imagen ha cuestionado la exactitud de la tradicional aproximación de evaluar la severidad de la enfermedad de acuerdo con la estimación del porcentaje de hepatocitos que contienen vacuolas grasas (Franzen y col., 2005), otros estudios de pares de biopsias señalan que la variabilidad de la muestra también es un problema (Ratziu y col., 2005); aunque el depósito graso tenga una distribución uniforme, existe una considerable variación en la severidad de otras características histológicas, particularmente la fibrosis; la heterogeneidad de la puntuación de la fibrosis está incrementada sobre todo en las biopsias pequeñas (< 16 mm long) (Goldstein y col., 2005).

En resumen, la esteatohepatitis es un patrón específico de lesión hepática que está compuesto de varias características y es parte del espectro de cambios vistos en la EGHNA. La biopsia hepática distingue la esteatosis simple de la esteatohepatitis y determina la severidad de la enfermedad dentro del amplio espectro de lesión hepática (esteatohepatitis/fibrosis) y en algunos casos con sospecha clínica de EGHNA puede revelar otra etiología de la lesión hepática o establecer que el paciente presenta una etiología dual y cual de las dos es la causa predominante de la lesión hepática. Mientras algunos casos de esteatosis parecen progresar a esteatohepatitis, los factores que rigen la progresión no están aún claros y no se sabe aún si todos los pacientes con esteatohepatitis tienen el potencial de progresión o si solo un subgrupo de ellos está en riesgo. Existen varios sistemas para la estadificación, gradación y evaluación

sistemática de la esteatohepatitis pero este sistema (NASH CRN) recientemente propuesto ha sido presentado como beneficioso para los ensayos clínicos de adultos y niños con EGHNA.

### **8.6) EGHNA en los niños**

La EGHNA es la causa más frecuente de enfermedad hepática en niños (Clark y col., 2002). La EHNA en los niños tiene características diferentes respecto a la forma típica de presentación en el adulto (Reid, 2001; Schwimmer y col., 2005). La inflamación y fibrosis portal/periportal es más prominente que los cambios lobulillares incluyendo balonización de los hepatocitos, hialina de Mallory, inflamación y fibrosis pericelular que son menos manifiestos. En un reciente estudio (Schwimmer y col., 2005) de 100 niños con EGHNA se identificaron dos formas diferentes de esteatohepatitis. Tipo 1, caracterizada por esteatosis, degeneración balonizante y fibrosis perisinusoidal (parecida al adulto) que estaba presente en un 17%.; tipo 2, caracterizada por esteatosis, inflamación y fibrosis portal en el 51% de los casos. Un 60% de las biopsias tenían superposición de los dos tipos y menos de un 16% mostraban esteatosis simple.

### **8.7) Diferencias histológicas según su etiología:**

#### **8.7.1) Esteatohepatitis alcohólica (EHA) vs EHNA**

En la gran mayoría de los casos la distinción entre EHNA y EHA no puede hacerse únicamente en base a la histología y el diagnóstico final está basado en una correlación clinicopatológica, generalmente se acepta como criterio diagnóstico de exclusión de EGHNA un consumo de alcohol menor a 20-40 gr/día (Ramesh y Sanyal, 2005). Generalmente la EHNA se asocia a mayor depósito de grasa, mientras que las características de la esteatohepatitis como la balonización, cuerpos de Mallory, infiltrado de neutrófilos y la fibrosis pericelular son generalmente menos severas que en la enfermedad alcohólica (Nonomura y col., 2005).

Otras características histológicas de la EHA severa son la necrosis hialina central, la bilirrubinoestasis, fibrosis que afecta a la zona 3 asociada a

obliteración sinusoidal, lesiones hepáticas veno-oclusivas (Brunt, 2002) y se ha observado un patrón de fibrosis más denso en la EHA que en la EHNA (Nakano y Fukusato, 2005).

### **8.7.2) Con otras formas secundarias de EGHNA**

En la gran mayoría de los casos la EGHNA ocurre en el contexto del síndrome metabólico. En los casos en los que no existen factores de riesgo para la EGHNA primaria y se ha excluido un consumo significativo de alcohol, deben considerarse otras causas menos comunes en el diagnóstico diferencial, de ellas la principal es la EHNA relacionada con fármacos, en estos casos la hialina de Mallory suele estar presente en gran cantidad independientemente del grado de esteatosis y su distribución es preferentemente periportal más que perivenular (Farrell, 1994).

## **9. MODELOS ANIMALES DE ESTEATOSIS HEPÁTICA.**

Los estudios en animales constituyen una valiosa herramienta para comprender la fisiopatología de la enfermedad, sus características histológicas y ensayar nuevos tratamientos. La mayor parte de los trabajos se desarrollan en roedores. Las formas de inducir la enfermedad son muy variadas. A continuación se exponen los principales modelos de esteatosis hepática en animales.

### **9.1) Alteraciones genéticas que incrementan la lipogénesis**

#### **A) Sobre-expresión de genes que promueven la lipogénesis**

- Ratones PEPCK-NSREBP-1 $\alpha$

El SREBP-1 es un factor que activa la transcripción de varios genes implicados en la biosíntesis de ácidos grasos y colesterol. Ratones transgénicos que sobreexpresan nSREBP-1 $\alpha$  de manera específica en los hepatocitos desarrollan hígado graso (Shimano y col., 1996).

#### **B) Mutaciones ocurridas naturalmente que producen lipogénesis hepática**

- Ratones OB/OB

Estos ratones presentan una mutación natural que impide la síntesis de leptina, una hormona saciante que inhibe la conducta alimentaria e incrementa el gasto energético. La leptina es sintetizada predominantemente por el tejido adiposo blanco y ejerce su mayor efecto anorexígeno actuando sobre las neuronas del núcleo ventral medial del hipotálamo. Debido a que los ratones ob/ob pierden la leptina tienen hiperfagia y se hacen obesos (Pelleymounter y col., 1995). Los ratones ob/ob obesos presentan además hiperinsulinemia, hiperglucemia (ejemplo de resistencia a la insulina) e hiperlipidemia. Desarrollan hígado graso espontáneamente cuando se alimentan con dieta normal.

## **9.2) Factores ambientales que causan incremento de los ácidos grasos**

### **A) Dietas que inducen obesidad**

#### **A.1) Dietas ricas en fructosa y sacarosa.**

Las ratas macho Wistar son muy vulnerables al hígado graso inducido por la fructosa. Cuando se alimentan con fructosa 10% la síntesis hepática de ácidos grasos y la esterificación se incrementan significativamente (Kok y col., 1996). Otras manipulaciones dietéticas, tales como la reducción en colina, cobre o selenio potencian la severidad del hígado graso inducido con fructosa. Por ejemplo con la alimentación de dietas ricas en sacarosa (54%) que sean además deficitarias en colina (0,05%) durante seis meses aparecen en la mayor parte de las ratas adultas degeneración grasa perivenosa y fibrosis hepática. Los suplementos de colina no revierten estos cambios completamente pero parecen mejorar la lesión perivenosa (Poulsom, 1986).

#### **A.2) Dietas ricas en grasas.**

Cuando las ratas jóvenes Sprague-Dawley son alimentadas con una dieta que contiene un 60% de grasa durante seis semanas se hacen obesos, al ser comparados con ratones alimentados con dieta normal en grasas; presentan un incremento de, además de la masa grasa total, de siete veces los niveles circulantes de leptina, dos veces la insulina y un 40% de los niveles de triglicéridos. Los niveles hepáticos de triglicéridos se incrementan cerca del doble y la expresión hepática de SREBP-1c se incrementa unas tres veces con inducción de las enzimas lipogénicas. Así pues la hiperleptinemia y secundariamente la leptín resistencia y la hiperinsulinemia parecen contribuir al hígado graso que se desarrolla durante el uso de dietas que inducen obesidad (El-Haschimi y col., 2000).

### **B) Dietas que inducen lipogénesis hepática sin obesidad**

#### **B.1) Dietas deficitarias en arginina.**

Las ratas macho Sprague-Dawley alimentados con una dieta deficitaria en arginina durante 21 días tienen significativamente disminuida la ganancia de masa corporal pero aumentado el índice de biosíntesis lipídica hepática y la excreción urinaria de ácido orótico y desarrollan

marcadamente hígado graso independientemente de su edad (Milner y Hassan, 1981). Las dietas deficitarias en arginina producen una gran reducción del contenido hepático de ATP en las ratas (52%), hamsters (38%) o conejos (27%). Los investigadores especulan que los mecanismos por los cuales el déficit de arginina conduce a esteatosis hepática en los ratones son debidos a un anormal metabolismo del ácido orótico.

### **B.2) Dietas ricas en sacarosa/grasas.**

Ratones adultos macho CD1 alimentados con una dieta aterogénica e hipercolesterolémica (20% de grasas de origen animal, 53% de sacarosa y 2% de colesterol) ganan menos peso que el control pero desarrollan ampliamente hígado graso con acumulación de grasa (Loria y col, 1976). Debido a que el sistema linfático del pollo es rudimentario, la principal ruta de absorción de grasas es mediante la formación de micelas mixtas, los quilomicrones son absorbidos directamente hacia la sangre portal para ser transportados al hígado lugar para la síntesis y posterior depósito en los tejidos; por tanto el hígado, es el primer tejido expuesto a una dieta grasa. Esta es una característica que predispone a las aves a una condición patológica denominada síndrome del hígado graso (FLS).

Entre las distintas estrategias para aumentar el valor nutricional de los alimentos se ha estudiado el efecto de la alimentación de las aves de corral mediante una dieta rica en ácido linoleico y ácidos grasos polinsaturados sobre la histopatología hepática, nivel de lípidos en plasma, en el tejido muscular y en la yema de huevo, observándose un aumento de la lipidosis hepática asociada a esta dieta por un mecanismo no conocido en relación con un aumento de la actividad metabólica del hígado o estrés crónico (Cherian y col., 2002). En base a esta predisposición utilizamos el pollo como modelo de hígado graso.

### **C) Toxinas que inducen lipogénesis hepática como el etanol**

La ingesta crónica de etanol causa esteatosis hepática en ratones, ratas, babuinos y humanos. El mecanismo por el cual el etanol induce hígado graso se debe a la disminución hepática del índice redox  $NAD^+ / NADH$  resultado del metabolismo del etanol. La relativa acumulación de NADH

estimula la actividad de las enzimas lipogénicas favoreciendo la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos. Además la exposición crónica al etanol inhibe la liberación de triglicéridos VLDL desde el hígado. La edad y el sexo influyen en los índices de eliminación del etanol. En ratones F344 machos, pero no en hembras, los índices de eliminación de etanol disminuyen significativamente con la edad. La edad se relaciona con la disminución hepática citoplasmática (pero no mitocondrial) del índice  $NAD^+ / NADH$  que limita la disponibilidad de  $NAD^+$ , un cofactor para la alcohol deshidrogenada (Seitz y col., 1992).

### **9.3) Causas genéticas que dificultan la eliminación de grasa hepática**

#### **A) Delección de genes que regulan la oxidación de ácidos grasos**

##### **A.1) Ratones PPAR $\alpha$ -/-**

El PPAR $\alpha$  es un factor hepático que regula la transcripción de genes implicados en la  $\beta$ -oxidación mitocondrial y peroxisomal, por ello modula la producción de ATP en tejidos tales como el corazón y el hígado que se libera en la oxidación de ácidos grasos en forma de energía. Se han generado ratones con disrupción genética del PPAR- $\alpha$ . Cuando estos animales se someten al estrés como por ejemplo un ayuno de 24 horas o ingesta de una dieta rica en grasas que incrementa la liberación de ácidos grasos hacia el hígado, estos desarrollan esteatosis hepática masiva. Esto ocurre a pesar de la disminución de la entrada hepática de ácidos grasos y secreción de VLDL normal y es más frecuentemente resultado de una disminución en la oxidación de ácidos grasos hepática (Kersten y col., 1999).

##### **A.2) Ratones Acetil CoA oxidasa -/-**

La acetil CoA oxidasa es la primera enzima que participa en la  $\beta$ -oxidación peroxisomal de los ácidos grasos. Se han producido ratones con la delección genética de esta enzima que desarrollan esteatosis hepática masiva y hepatomegalia a los dos meses del nacimiento (Fan y col., 1996).

### **A.3) Ratones con déficit de aromatasa**

Aunque la aromatasa no está directamente implicada en la oxidación de los ácidos grasos, una delección en el gen de la aromatasa (*cyp19*) por recombinación homóloga en ratones hembra C57BL/6J da lugar a un fenotipo que incluye la esteatosis hepática (Nemoto y col., 2000). La aromatasa es una enzima clave en la síntesis de estrógenos, por ello los ratones hembra aromatasa *-/-* tienen una pérdida intrínseca de la producción de estrógenos. Los ratones crecen normalmente durante los primeros dos meses y entonces aparece una acumulación gradual de grasa abdominal y esteatosis hepática microvesicular en la zona 2 y 3, los hepatocitos de la zona periportal suelen estar preservados. El mecanismo de la esteatosis hepática en ratones hembra aromatasa *-/-* implica una alteración en la  $\beta$ -oxidación hepática de los ácidos grasos.

### **B) Mutaciones ocurridas naturalmente que inhiben la $\beta$ -oxidación de ácidos grasos**

Como la esteatosis visceral juvenil en ratones (SVJ). La carnitina es requerida para el transporte de ácidos grasos hacia la mitocondria para la  $\beta$ -oxidación mitocondrial. Los ratones con SVJ son un modelo de déficit sistémico de carnitina que desarrollan esteatosis hepática (Miyagawa y col., 1995).

### **9.4) Causas ambientales que disminuyen la eliminación de grasa hepática**

#### **A) Dietas que inhiben la oxidación de ácidos grasos.**

Como las dietas deficitarias en colina y metionina, que inducen lesión de la betaoxidación mitocondrial en ratones normales y sobregulan la expresión del citocromo 2E1 (Leclercq y col., 2000).

#### **B) Inhibición hormonal de la oxidación de ácidos grasos**

##### **B.1) Estrógenos**

Los estrógenos y la progesterona inhiben la  $\beta$ -oxidación mitocondrial en ratones Swiss CD-1 BR (Grimbert y col., 1995).

### **B.2) Glucocorticoides**

La administración de glucocorticoides a ratones BR Swiss inhibe en la matriz mitocondrial la acetil-CoA deshidrogenasa de cadena corta, media y larga causando esteatosis microvesicular, lesiones mitocondriales ultraestructurales, inhibición de la  $\beta$ -oxidación mitocondrial y supresión de la secreción de triglicéridos hepáticos (Letteron y col., 1997).

### **C) Toxinas que inducen inhibición de la oxidación de ácidos grasos**

El Etoxomir produce inhibición irreversible de la carnitina palmitil transferasa (CPT-1) que transporta ácidos grasos hacia la mitocondria para la  $\beta$ -oxidación (Koteish y Diehl, 2001).

## 10. TRATAMIENTO ACTUAL DE LA EGHNA Y ESTATINAS

La resistencia a la insulina, las adipocinas como el TNF- $\alpha$ , la leptina, la adiponectina, la disfunción mitocondrial o las endotoxinas bacterianas forman parte del desarrollo de la inflamación y fibrosis en la EHNA y son objetivos potenciales de la terapia de la EGHNA. Las posibilidades terapéuticas de las que se disponen actualmente son limitadas, lo más asequible es corregir los factores de riesgo conocidos que inducen y favorecen la progresión de la enfermedad.

Los tratamientos específicos orientados hacia la patogenia de la EGHNA mejor estudiados se centran en la resistencia a la insulina y el estrés oxidativo (tabla 9).

**Tabla 9.** Estrategias de tratamiento en la EHNA

<b>Reducir la esteatosis</b>		
<b>Reducir consumo de grasa</b>	<b>Hipolipemiantes</b>	<b>Sensibilizadores a la insulina</b>
Dieta y ejercicio	Estatinas	Metformina
Fármacos: Orlistat Sibutramina Phentermine Cirugía bariátrica	Clofibrato Gemfibrocilo Benzafibrato	Tiazolindinedionas
<b>Reducir la inflamación</b>		
<b>Antioxidantes</b>	<b>TNF-<math>\alpha</math>/citoquinas</b>	<b>Citoprotectores</b>
Vitamina E Betaina N-Acetilcisteína S-Adenosilmetionina	Pentoxifilina Losartán	Ácido ursodeoxicólico Esteroides

Muchas estrategias terapéuticas tratan de evitar los factores que predisponen a la esteatosis como el control de la obesidad mediante dieta y ejercicio, fármacos y cirugía bariátrica o terapia dirigida específicamente al tratamiento de la hiperglucemia e hipertrigliceridemia.

Una segunda estrategia ha sido la de reducir la inflamación, modulando el hipotético segundo impacto mediante el uso de antiinflamatorios, anticitoquinas o terapia antioxidante como se muestra en la tabla 9.

### **10.1) Tratamiento del sobrepeso y de la obesidad**

La pérdida de peso, sobre todo en la obesidad de tipo central, que es la que se ha relacionado con más frecuencia con la esteatohepatitis y el síndrome metabólico (Ruhl y Everhart, 2004), sigue siendo el objetivo fundamental de las intervenciones no farmacológicas. Se ha demostrado que la pérdida del 10% del peso del individuo con actividad física, mejora significativamente los niveles de aminotransferasas (Palmer y Schaffner, 1990). Se considera suficiente un descenso de 500-1500 gr/semana, mientras que una reducción más rápida puede exacerbar el daño hepático (Ueno y col., 1997). El tratamiento farmacológico se considera indicado en los pacientes con un IMC > 30, o > 27 si hay comorbilidad asociada (Ramesh y Sanyal, 2005). En la tabla 9 se exponen los fármacos que tienen la indicación aceptada por la Food and Drug Administration (FDA) para adelgazar.

El fármaco que mejor ha sido estudiado es el orlistat que establece un enlace covalente con la lipasa, produciendo su inhibición irreversible sin bloquear otras enzimas intestinales, como la tripsina y la fosfolipasa A2. La absorción intestinal de orlistat es menor del 1%, por lo que no tiene acciones sistémicas.

Un estudio con orlistat (Harrison y col., 2004) realizado en 10 pacientes obesos con EHNA demostrada histológicamente antes del tratamiento, mostró en la biopsia hepática a los 6 meses del tratamiento una disminución del grado de fibrosis en tres pacientes; no se encontró

variación significativa en la actividad inflamatoria y mejoría de la esteatosis en seis de ellos.

La sibutramina es un inhibidor de la recaptación de serotonina y noradrenalina que provoca un aumento de la saciedad y, por tanto, una disminución del consumo de energía. El phetetermine que también ha sido aprobado por la FDA para el tratamiento de la obesidad actúa como inhibidor de la recaptación adrenérgica, aumentando la señalización adrenérgica cerebral y en los tejidos periféricos, promueve la activación del sistema nervioso simpático, provocando una disminución de la ingesta y un aumento del gasto energético basal. Ambos pueden producir taquicardia e hipertensión arterial.

La mayor parte de los estudios realizados en pacientes que han reducido su peso parecen sugerir mejoras bioquímicas, además de la disminución de otros riesgos, como los cardiovasculares (Andersen y col., 1991). Una alternativa para la pérdida de peso con tratamiento médico es el tratamiento quirúrgico. En un estudio aleatorizado, el tratamiento quirúrgico (cirugía bariátrica) ayudó en la mayor parte de los pacientes a que remitan los cambios asociados a la EHNA, como la disminución de la glucosa, colesterol, triglicéridos o aminotransferasas (Luycks y col., 1998). Un trabajo de Dixon y col. en 2004 muestra una mejoría bioquímica e histológica de los pacientes tras perder peso con la realización de una técnica restrictiva, como bandas gástricas colocadas por cirugía laparoscópica.

## **10.2) Tratamiento de la hiperlipidemia**

Debido a que la hiperlipidemia es común en la EGHNA los fármacos hipolipemiantes se consideran como un posible tratamiento.

Las estatinas por tanto, constituyen una opción potencial de tratamiento que se desarrollará más ampliamente en el apartado 10.7.

El tamoxifeno, tratamiento coadyuvante estándar para las mujeres con cáncer de mama (Gail y col., 1999), induce EHNA y cirrosis hepática. La rápida progresión a cirrosis fue documentada en un 36% de las pacientes

no obesas, no diabéticas tratadas, donde un IMC ( $\text{Kg}/\text{m}^2$ ) mayor a 23 se asoció a un mayor riesgo para la progresión a esteatosis hepática (Oien y col., 1999; Ogawa y col., 1998). Todavía se aconseja que las pacientes con cáncer de mama tomen tamoxifeno durante al menos 5 años (Cuzick y col., 2003). Estas pacientes necesitan una medicación que bien disminuya el depósito de grasa en el hígado o prevenga el desarrollo de esteatosis hepática. Los fibratos son la medicación de primera línea porque han mostrado disminuir la esteatosis hepática masiva en pacientes tratados con tamoxifeno mediante la activación de la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos en el hígado a través de los PPAR- $\alpha$  (Nemoto y col., 2000; Saibara y col., 1999; Yoshikawa y col., 2002).

En un estudio (Laurin y col., 1996) en el que se utilizó el clofibrato en 16 pacientes que fueron tratados durante 12 meses, sólo disminuyó significativamente la fosfatasa alcalina sobre los datos basales sin presentar mejoría en los niveles de aminotransferasas ni cambios histológicos respecto a la fibrosis, esteatosis o inflamación.

El genfibrocilo reduce la producción de lipoproteínas de muy baja densidad. En un estudio (Basaranoglu y col., 1999) con 46 pacientes con EGHNA, los niveles de AST disminuyeron significativamente en un 75% del grupo tratado con genfibrocilo comparado con el 30% del grupo control después de cuatro semanas de tratamiento. La biopsia post-tratamiento no se llevó a cabo y la duración de la respuesta bioquímica no fue evaluada.

### **10.3) Tratamiento de la resistencia a la insulina**

Se ha demostrado una asociación independiente entre la esteatosis hepática y la resistencia a la insulina (Bugianesi y col., 2005) confirmada porque la presencia de hígado graso influye en la gravedad de la resistencia a la insulina tanto en obesos como en pacientes con DM tipo 2.

La metformina es una biguanida que reduce la hiperinsulinemia y mejora la resistencia a la insulina. Su punto de actuación parece ser la

mitocondria, estimulando la enzima piruvatoquinasa y la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos, a la vez que suprime la expresión de enzimas lipogénicas (Comar y Sterling, 2006).

En pacientes con EHNA se han comparado los efectos de la metformina junto con una dieta pobre en grasas durante 6 meses con un grupo de individuos que sólo tenía dieta baja en grasas. Cuando se asoció metformina y dieta, mejoraron las aminotransferasas y los niveles de resistencia a la insulina, aunque al final del tratamiento no se encontró ninguna mejoría significativa en los niveles de fibrosis (Uygun y col., 2004). En otro estudio con sólo 15 pacientes evaluados a los 12 meses de tratamiento, se encontraron mejoría significativa en la bioquímica hepática; de los diez pacientes a los que se realizó la biopsia post-tratamiento tres mejoraron la esteatosis, dos la inflamación y solo uno la fibrosis (Nair y col., 2004).

Las tiazolindinedionas son compuestos orales del grupo de las glitazonas que mejoran la sensibilidad a la insulina y actúan como agonistas selectivos de los PPAR- $\gamma$ , por lo que se utilizan como antidiabéticos orales (Yki.Järvinen, 2004). El prototipo de este grupo de fármacos es la troglitazona, que tuvo que retirarse del mercado porque provocaba toxicidad hepática.

Se han comercializado rosiglitazona y pioglitazona, fármacos que incrementan los depósitos de glucosa y disminuyen el bloqueo de la liberación de glucosa hepática. Estos fármacos inhiben también la expresión de los genes de la resistina y TNF- $\alpha$  en los adipocitos, y también estimulan la expresión de adiponectina y su incremento en plasma. Un estudio con rosiglitazona en individuos con sobrepeso durante 48 semanas (Neuschwander-Tetri y col., 2003) mostró una mejoría significativa tanto en la bioquímica hepática como en la histología y otro estudio con pioglitazona en 18 pacientes en el que se realizó un control histológico mostró que la fibrosis, la esteatosis, la hialina de Mallory y la inflamación parenquimatosa mejoraron de forma significativa y que las

aminotransferasas se normalizaron en el 72% de los pacientes (Promrat y col., 2004).

La toxicidad es la gran preocupación de estos fármacos. Con rosiglitazona el porcentaje de pacientes que presentó un aumento de 10 veces los valores de las aminotransferasas fue del 0,02%, mientras que con pioglitazona se han observado casos con una elevación de 3 veces las aminotransferasas. También se ha descrito algún caso de fallo hepático agudo. Los mecanismos que inducen toxicidad se desconocen, aunque probablemente estén inmunomediados. Como la toxicidad es impredecible, es recomendable vigilar las transaminasas y suspender el fármaco si éstas se elevan (Reynaert y col., 2005). Otro de los problemas que conlleva el uso de glitazonas es el aumento de peso que invariablemente experimenta un porcentaje importante de pacientes durante el tratamiento.

#### **10.4) Tratamiento del estrés oxidativo**

La vitamina E es un conocido antioxidante, en la EHNA se producen especies reactivas de oxígeno como consecuencia de la oxidación incrementada de ácidos grasos en la mitocondria, peroxisomas y citocromo peroxisomal, deplecionando de antioxidantes el hepatocito (Day, 2002). Estas especies reactivas del oxígeno pueden contribuir al estrés oxidativo de la célula. Un estudio (Hasegawa y col., 2001) mostró mejoría bioquímica sin cambios en los parámetros histológicos en pacientes que recibieron vitamina E. En otro estudio (Harrison y col., 2003) en el que la vitamina E se asoció a vitamina C, se evaluaron 45 pacientes con EHNA durante 6 meses, observándose una mejoría de la fibrosis respecto a los valores basales, pero no de la necroinflamación.

La betaína es un metabolito que pertenece al ciclo de la metionina y que incrementa los niveles de S-adenosilmetionina. Diez pacientes con EHNA tratados durante un año, presentaron mejoría de los parámetros clínicos e histológicos (Abdelmalek y col., 2001).

### **10.5) Otros fármacos**

La pentoxifilina es un fármaco que inhibe el TNF- $\alpha$ . En un estudio de Satapathy y col. (2004), 18 pacientes tratados con este fármaco durante 6 meses mejoraron tanto en los resultados bioquímicos como en la resistencia a la insulina. En otro estudio (Adams y col., 2004) con 20 pacientes tratados con este fármaco también se constató una mejoría bioquímica.

La angiotensina desempeña un papel en la fibrogénesis hepática a través de la activación de las células estrelladas. Un trabajo realizado con un inhibidor del receptor de la angiotensina 2, losartán, tomado durante un año, ha mostrado la disminución tanto de los marcadores hepáticos de fibrosis como de las aminotransferasas. Este tratamiento podría ser apropiado para pacientes con EHNA e hipertensión arterial (Yokohama y col., 2004).

### **10.6) Citoprotectores**

El ácido ursodeoxicólico (AUDC) se ha evaluado como agente citoprotector, estabiliza la membrana hepatocitaria, disminuye la expresión de moléculas HLA de tipo II y tiene efecto antiapoptótico. Un estudio controlado con placebo realizado en 166 pacientes tratados durante 48 semanas con una dosis de 13-15 mg/kg/día, no mostró un beneficio histológico significativo frente a placebo, por lo que no puede recomendarse como tratamiento definitivo en la EHNA (Lindor y col., 2004).

El trasplante ortohepático (TOH) puede ser requerido cuando se desarrolla la cirrosis. Actualmente cerca de un 3% de todos los TOH en EEUU son realizados por una EHNA que además puede explicar un importante número de los pacientes con cirrosis criptogenética muchos de los cuales son sometidos a TOH. La esteatosis ocurre comúnmente después del trasplante y puede progresar a EHNA e incluso muy rápidamente a la enfermedad hepática avanzada (Yatsuji y col., 2005).

**Tabla 10.** Ensayos de tratamiento en la EGHNA

Ensayo	Tratamiento	Nº de pacientes	Tipo de estudio	Duración (meses)	Nivel de enzimas	Esteatosis	Inflamación	Fibrosis
Andersen	Dieta baja en calorías	41	Abierto	4-23	Mejora	Mejora	Variable	Variable
Dixon	Cirugía bariátrica	36	Serie de casos	26	Mejora	Mejora	Mejora	Mejora
Luyckx	Cirugía bariátrica	69	Serie de casos	27	Mejora	Mejora	Empeora	Sin cambios
Harrison	Orlistat	10	Abierto	6	Mejora	Mejora	Sin cambios	Variable
Hasegawa	Vit. E	10	Abierto	12	Mejora	Variable	Variable	Variable
Harrison	Vit. E y C	45	CP	6	Sin cambios	Sin cambios	Sin cambios	Mejora
Laurin	Clofibrato	16	Abierto	12	Sin cambios	Sin cambios	Sin cambios	Sin cambios
Nair	Metformina	15	Abierto	12	mejora	Variable	Variable	Variable
Uygun	Metformina	34	CP	6	Mejora	Mejora	Sin cambios	Sin cambios
Promrat	Pioglitazona	18	Abierto	12	Mejora	Mejora	Mejora	Mejora
Neuschwander-Tetri	Rosiglitazona	30	Abierto	12	Mejora	Mejora	Mejora	Mejora
Abdelmalek	Betaina	10	Abierto	12	Mejora	Mejora	Variable	Mejora
Lindor	AUDC	126	CP	24	Sin cambios	Sin cambios	Sin cambios	Sin cambios

CP: Controlado con placebo. AUDC: Ácido ursodeoxicólico

Aunque existe un número de fármacos prometedores, la farmacoterapia para la EGHNA fuera del contexto de ensayos clínicos controlados no puede ser aún recomendada. Muchos de los estudios que han sido realizados en pacientes con EHNA han usado un tamaño de muestra pequeño, tenían una duración corta o el significado del objetivo conseguido era clínicamente cuestionable.

Hay una escasez de ensayos clínicos aleatorizados controlados con placebo y ninguna terapia ha mostrado beneficio hasta ahora para la EGHNA. Se puede concluir, como señalan Day y col. (2002) que no existe tratamiento definido para la EGHNA. Como primera línea se deben establecer medidas dietéticas y procurar un incremento de la actividad física para combatir la obesidad y la resistencia a la insulina (Cox y col., 2004), así como tratar el síndrome metabólico, este es el primer paso que se debe realizar para evitar la progresión a EHNA y a formas más avanzadas de la enfermedad. En la tabla 10 se recogen los estudios más representativos sobre los diferentes fármacos evaluados en la EHNA.

## **10.7) Estatinas**

### **10.7.1) Síntesis de colesterol y mecanismos de acción**

El colesterol es un compuesto alicíclico cuya estructura está compuesta por un núcleo ciclopentanofenantreno con cuatro anillos fusionados, un sólo grupo hidroxilo en posición C3 y una cadena hidrocarbonada ramificada de ocho carbonos unidos al anillo D en la posición 17. Es un lípido muy poco soluble en agua por lo que su altísima solubilidad en sangre se debe a la presencia de lipoproteínas plasmáticas que tienen la capacidad de fijar y por tanto de solubilizar grandes cantidades de colesterol. Solamente el 30 % del colesterol circulante se presenta de forma libre, el resto se presenta unido a las lipoproteínas en forma de ésteres de colesterol, en las que un ácido graso (normalmente el ácido linoleico) está unido al grupo hidroxilo en C3.

Aunque la biosíntesis *de novo* tiene lugar virtualmente en todas las células, esta capacidad es mayor en ciertos tejidos, especialmente el hígado, intestino, corteza suprarrenal y tejidos reproductores (ovarios, testículos y placenta).

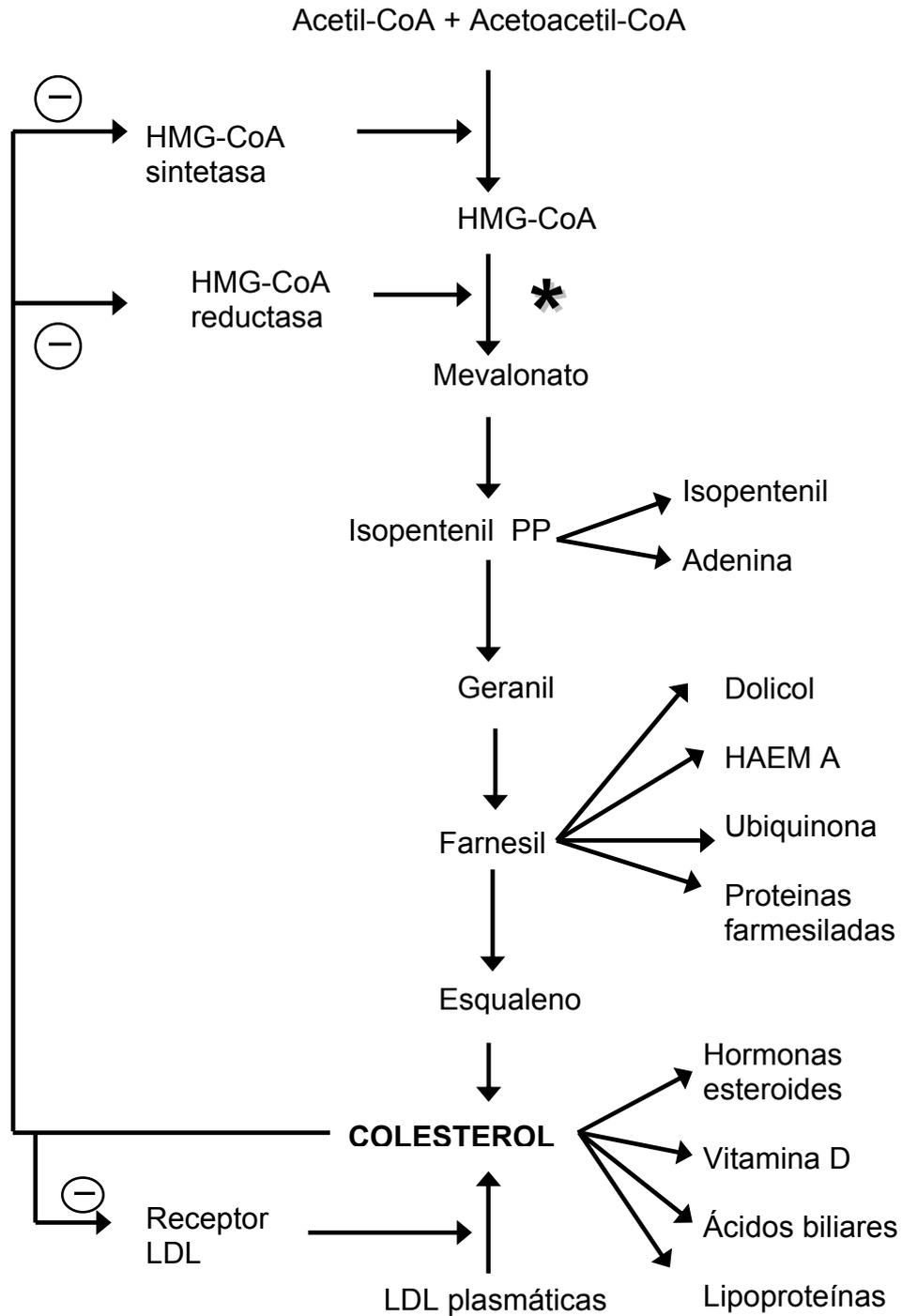
La cantidad de colesterol corporal proviene de dos fuentes: la absorción del colesterol de la dieta y la biosíntesis *de novo*, principalmente en el hígado e intestino. El colesterol sintetizado *de novo* se transporta desde el hígado a los tejidos periféricos en forma de lipoproteínas de muy baja

densidad (VLDL) y lipoproteínas de baja densidad (LDL) que son ricas en Apo B. La mayor parte de la Apoproteína B se secreta a la circulación en forma de VLDL que se transforma en LDL al eliminar los componentes triglicéridos y la Apoproteína C.

El primer compuesto exclusivo de la ruta de la biosíntesis del colesterol es el ácido mevalónico, que deriva del precursor bicarbonado acetil CoA que mediante dos enzimas (acetil CoA acetiltransferasa e Hidroxi-Metil-Glutaril-CoA sintasa) da origen al Hidroxi-Metil-Glutaril-CoA (HMG-CoA) (Fig. 13).

Desde el HMG-CoA se produce el ácido mevalónico, mediante la importante enzima microsomal Hidroxi-Metil-Glutaril-CoA reductasa. A través de distintos pasos enzimáticos se llega a la síntesis del Esqualeno y de aquí al colesterol.

El punto primario para el control de la biosíntesis de colesterol, que van a modular las estatinas, es la isoenzima citoplasmática de la Hidroxi-Metil-Glutaril-CoA reductasa, la modulación de la síntesis de colesterol por inhibidores específicos de la enzima 3-OH-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) reductasa, o estatinas, representa una de las innovaciones terapéuticas más importantes en el campo de los fármacos hipolipemiantes (Carmena, 1995). Esta inhibición se debe a que las estatinas contienen en su molécula un componente de estructura análoga a la HMG-CoA, el sustrato natural de la enzima reductasa. Dicho componente posee una afinidad por la enzima que es varias miles de veces superior a la del sustrato natural y es capaz de bloquearla competitivamente y de forma parcial, reversible, potente y dependiente de la dosis. En presencia de éstas, el sustrato natural es desplazado del centro catalítico de la enzima inhibiéndose de esta manera la síntesis de colesterol. Debido a la sencilla estructura molecular, el HMG-CoA que se acumula, es rápidamente degradado, evitándose la aparición de efectos secundarios, que sí se producían con otros inhibidores de la síntesis del colesterol (Fig. 13).



**Fig. 13.** Síntesis de colesterol, el punto marcado con el asterisco es el lugar donde actúan los inhibidores de la HMG-CoA reductasa o estatinas. (Modificado de Davigno y col, 1992)

Las estatinas no sólo inhiben la síntesis de colesterol, sino también su acumulación y esterificación; además, inhiben la secreción de lipoproteínas y su oxidación en los macrófagos, estimulan la captación y la degradación tisular de las LDL, aumentan moderadamente el cHDL y reducen las concentraciones séricas de triglicéridos de una forma moderada y variable.

Al bloquear la HMG-CoA reductasa, además de disminuir el colesterol sérico, las estatinas inhiben la producción de compuestos intermediarios de la síntesis de colesterol, como el mevalonato, el farnesilfarnesiol y el geranylgeraniol. Estos últimos, denominados en general isoprenoides, actúan como anclajes de membrana para receptores ligados con mecanismos intracelulares de transducción de señales implicados en la proliferación celular, la producción de especies oxidantes del oxígeno, la fibrinólisis y la respuesta local inflamatoria (Bult y col., 1999).

En diversos estudios recientes se ha demostrado que, además de sus efectos sobre las concentraciones plasmáticas de lípidos, las estatinas influyen sobre una amplia serie de fenómenos orgánicos, lo que ha llevado a hablar de los “efectos pleiotrópicos” de las estatinas (Vaughan y col., 1996). Así las estatinas actúan normalizando la disfunción endotelial asociada a la hipercolesterolemia, mejoran la función vasomotora y la perfusión miocárdica, inhiben la proliferación de las células musculares lisas, protegen a las LDL de las modificaciones oxidativas, normalizan la agregabilidad plaquetaria y de los hematíes y modulan la respuesta inmunológica.

En experimentos realizados *in vitro* se ha podido determinar la actividad del enzima HMG-CoA reductasa, comprobándose así la eficacia teórica del fármaco. *In vivo* también es posible, aunque indirectamente, determinar la actividad de la HMG-CoA reductasa, mediante la determinación de las concentraciones plasmáticas de ácido mevalónico. Como comprobó en 1996 Naoumova, se redujeron hasta un 59 % las concentraciones plasmáticas de ácido mevalónico en pacientes con

hipercolesterolemia familiar heterocigota tras la administración durante 6 semanas de 80 mg/día de atorvastatina.

La atorvastatina parece no modificar la actividad de otras enzimas claves del metabolismo lipídico, como la colesterol 7 $\alpha$ -hidroxilasa, lipoprotein-lipasa, lipasa hepática o diacilglicerol aciltransferasa, tanto en conejos normolipémicos como en cobayas hipercolesterolémicos (Conde y col., 1996).

La mayor parte del colesterol que circula en plasma proviene de la síntesis por la vía del mevalonato desarrollada en el hígado. El paso limitante de esta vía, como hemos mencionado anteriormente, está en la enzima HMG-CoA reductasa y está sometida a regulación metabólica.

Las estatinas inhiben la síntesis del colesterol en un punto muy precoz y limitante de la vía metabólica. La inhibición es competitiva y parcial, como lo demuestra que la excreción urinaria de mevalonato se reduce en un 30 %, quedando suficiente para atender las necesidades de las células. En algunos estudios se ha demostrado que puede reducir la concentración de la coenzima Q (ubiquinona), debido a que parte de esa vía engloba al mevalonato; esta coenzima es necesaria para el transporte de electrones en el metabolismo mitocondrial. Willis y colaboradores observaron que podía haber correlación entre la disminución de los niveles de ubiquinona y el empeoramiento de los síntomas de insuficiencia cardiaca congestiva en pacientes tratados con lovastatina (Willis y col., 1990). La inhibición es reversible y potente, la concentración necesaria para inhibir en un 50 % la síntesis de colesterol (IC<sub>50</sub>) es en cantidades nanomolares. Es dosis dependiente aunque con dosis elevadas alcanza una meseta de eficacia, a partir de la cuál sólo aumentan los efectos secundarios.

El efecto de las estatinas guarda relación también con la expresión de los receptores del hepatocito para las LDL. Como se demuestra en estudios con pacientes con hiperlipidemia familiar combinada, hipercolesterolemia poligénica e hipercolesterolemia familiar heterocigota, donde existe un gen normal para dicho receptor, las estatinas sí producen su efecto. En cambio en la forma homocigota, al no existir este gen y no poder expresar

el receptor para las LDL, la administración de estatinas no va seguida de un descenso de la colesterolemia.

### **10.7.2) Descubrimiento y desarrollo de las estatinas**

La enfermedad cardiovascular es por si sola la mayor causa de muerte en hombres y mujeres en el mundo. La Organización Mundial de la Salud estima que 16 millones de adultos mueren al año de una enfermedad cardiovascular. Por otro lado se estima que 32 millones de adultos al año tienen un nuevo o recurrente infarto de miocardio (Anónimo, integrado en el manejo del riesgo cardiovascular. OMS, 2002). En los EEUU se estima que los costes directos e indirectos asociados con la enfermedad cardiovascular exceden los 100 billones de dólares al año (McKenney, 2002). Los grandes estudios epidemiológicos realizados en distintos países informaron de la importancia de los niveles de colesterol en las enfermedades cardiovasculares. El riesgo coronario se eleva progresivamente con el aumento de los niveles de colesterol en sangre, particularmente cuando el colesterol se eleva por encima de 200 mg/dl. Existe también, evidencia suficiente de que la disminución en los niveles de colesterol total y LDL-colesterol reduce la incidencia de enfermedades coronarias (Stamler y col., 1986).

En la década de los 60, se empezó a investigar el ciclo de síntesis del colesterol, observándose que la enzima limitante del proceso era la HMG-CoA reductasa, por lo que si se descubría el inhibidor de esta enzima se podría disminuir la síntesis del colesterol desde el inicio de la cadena.

Endo y Kuroda (1976) comienzan las investigaciones en cultivos microbiológicos, ya que se observó que existían microorganismos que inhibían el crecimiento de otros que necesitaban para su subsistencia esteroides e isoprenoides con lo que se sospechaba que podrían sintetizar alguna sustancia que inhibía la síntesis de los esteroides.

Tras dos años de aproximadamente 6000 ensayos microbiológicos, se descubrió la posibilidad de bloquear la síntesis de lípidos. Se aisló el

antibiótico citrinina del molde de *Pythium ultimum* (Tanzawa y col., 1977), descubriéndose que era un inhibidor irreversible de la HMG-CoA reductasa. Posteriormente a este estudio, se realizó un ensayo con *Penicillium citrinum*, encontrándose otro compuesto que se consiguió aislar en 1973 denominado Mevastina (Endo y col., 1976), que en 1976 también sería publicado con el nombre de Compactina, aislada desde el *Penicillium brevicompactum* (Brown y col., 1976).

Desde el principio, llamó la atención la similitud estructural existente entre la mevastina (o Compactina) y la HMG-CoA, lo que permitía explicar la competición entre las dos moléculas y las relaciones estructura-actividad a la hora de inhibir la enzima reductasa. El potente efecto hipocolesteremiante de la mevastina en animales de experimentación quedó plenamente demostrado en 1974 y, a principios de 1976 se inició la fase experimental del tratamiento con dicho compuesto de pacientes japoneses heterocigotos con hipercolesterolemia familiar.

Desde que se aisló la mevastina se han realizado distintos estudios experimentales en animales y ensayos clínicos en humanos para descubrir el mecanismo de acción. En 1978 se aisló la Lovastatina desde el *Aspergillus terreus* (Endo y Monacolin, 1979), un inhibidor de la HMG-CoA reductasa más potente que la mevastina y más específico. En 1987, la “Food and Drug Administration” aprobó la lovastatina para su comercialización en EEUU. Después de aislar éste se siguió de otros naturales y sintéticos como la Simvastatina, Pravastatina, Fluvastatina, Atorvastatina y Cerivastatina, esta última retirada del mercado por el alarmante número de fallecimientos en relación con rabiomiolisis (Staffa y col., 2002).

Existen gran cantidad de datos para apoyar el uso de las estatinas tanto en prevención primaria y secundaria del infarto de miocardio, procedimientos de revascularización, en el ictus y en la enfermedad vascular periférica. Las estatinas tienen un efecto positivo sobre el perfil lipídico, todo ello favorecido por su seguridad y tolerabilidad. En los EEUU

en 2002 la prescripción de estatinas supuso cerca de un billón de unidades vendidas (Anónimo, Drug Top 2003).

### **10.7.3) Posible efecto de las estatinas sobre la EGHNA**

#### **Estudios en animales**

Los fibratos y las estatinas son los dos fármacos hipolipemiantes más comúnmente utilizados. Las estatinas reducen principalmente los niveles de colesterol intrahepático y promueven la expresión de los receptores de membranas de las apo B/E, lo que incrementa el aclaramiento de las apo B contenidas en las lipoproteínas reduciendo las LDL circulantes. (Moghadasian y col., 2000).

El efecto que las estatinas ejercen sobre la EGHNA ha sido estudiado en los trabajos de Egawa y col. (2003) y Sanguino y col. (2005).

El trabajo desarrollado por Egawa y col. (2003) investiga el efecto hipolipemiante de la pitavastatina y su capacidad de eliminar grasa en el hígado graso espontáneamente desarrollado en ratones con déficit de aromatasa (Ar<sup>-/-</sup>). Estos ratones tienen reducida la expresión de los genes de las enzimas del metabolismo de ácidos grasos en los hepatocitos y espontáneamente desarrollan esteatosis hepática masiva.

La pitavastatina es un nuevo y potente inhibidor sintético de la HMG-CoA reductasa, con un efecto intrínseco agonista sobre los PPAR- $\alpha$  (Martín y col, 2001; Noji y col., 2002) que ha mostrado efectos reductores sobre el colesterol plasmático total y triglicéridos (Aoki y col., 2002). Dos posibles mecanismos parecen cooperar en el descenso plasmático de los niveles de triglicéridos durante el tratamiento con pitavastatina (Martín y col., 2001). Uno de los mecanismos es una inhibición del ensamblaje y secreción de las VLDL, un mecanismo común observado en las estatinas y el otro es un aumento del reciclaje de los receptores hepáticos de los LDL. Esta vía contribuye a la eliminación en plasma de los triglicéridos pero da lugar a una acumulación hepática de triglicéridos a menos que

sean oxidados eficientemente. El análisis de Northern blot del hígado de ratones Ar<sup>-/-</sup> mostraba un restablecimiento significativo en la expresión de RNAm de los enzimas esenciales implicados en la  $\beta$ -oxidación regresando sustancialmente la esteatosis hepática severa observada en los ratones Ar<sup>-/-</sup>. Estos hallazgos demuestran que la pitavastatina es capaz de restaurar el daño de la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos *in vivo* a través de los PPAR- $\alpha$  (receptores del peroxisoma proliferante activado  $\alpha$ ) que media la señal y es bastante potente para aminorar la esteatosis hepática severa en ratones con déficit de estrógenos intrínseco además de los niveles de colesterol y triglicéridos en plasma. Esta fue la primera evidencia *in vivo* de que la pitavastatina activa la  $\beta$ -oxidación mitocondrial y peroxisomal.

Las ratas al igual que los humanos desarrollan muchas de las alteraciones metabólicas en relación con la edad. Así es que la incidencia de hiperlipemia, resistencia a la leptina asociada a la obesidad y la progresiva alteración en el metabolismo de la glucosa mediada por la insulina es común al envejecimiento en ratas y humanos (Grabiely y col., 2002). Se ha demostrado recientemente que con el envejecimiento se reduce la expresión y la actividad de los PPAR- $\alpha$  en el hígado de las ratas. Estos animales llegan a hacerse resistentes al efecto reductor de triglicéridos del gemfibrozilo, un ligando PPAR $\alpha$  vinculado a la clase de hipolipemiantes denominados fibratos (Sanguino y col., 2004b).

Roglans y col. (2002) han mostrado recientemente en un modelo experimental de hipertrigliceridemia en ratas alimentadas con fructosa, un incremento en los niveles de triglicéridos en plasma e hígado que está vinculado a una disminución de la expresión y actividad hepática de los PPAR $\alpha$ . Sin embargo el tratamiento con atorvastatina previno parcialmente estos cambios incrementando los niveles en el hígado de PPAR $\alpha$ -RNAm y la actividad de la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos hepática, lo que disminuyó la concentración de triglicéridos en plasma e hígado (Sanguino y col. 2005).

De acuerdo con los resultados previos en este artículo de Sanguino se evalúa si la atorvastatina es capaz además de prevenir la disminución hepática de PPAR $\alpha$  relacionada con la edad y algunos de sus genes diana como el *liver-carnitine palmitoyl transferase-1* (L-CPT-1) y *médium chain acyl-CoA dehydrogenase* (MCAD) observado en ratas de edad.

Se ha visto que las ratas presentan un perfil del fenotipo del metabolismo lipídico relacionado con el sexo y vinculado a la edad. Por tanto también se evalúa si este dimorfismo en el fenotipo influencia la respuesta a la administración de atorvastatina. También se determinan los efectos de la edad sobre varios factores hepáticos influenciados por la expresión de PPAR $\alpha$ , principalmente el factor hepático nuclear 4 (HNF-4) y el receptor del peroxisoma proliferante activado gamma coactivador-1 (PGC-1) y su respuesta a la administración de atorvastatina.

Las ratas Sprague-Dawley son hipercolesterolémicas e hipertrigliceridémicas presentando altas concentraciones en plasma de ácidos grasos monoesterificados, insulina y leptina y acumulan más ésteres de colesterol y triglicéridos en el tejido hepático (Sanguino y col. 2004). Estos cambios están parcialmente vinculados a una marcada disminución en la expresión hepática de PPAR $\alpha$  y su actividad, causada por el envejecimiento y ello justifica la reducción en la expresión de los genes diana del PPAR $\alpha$  que codifican las proteínas implicadas en la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos.

La administración de atorvastatina desde el día 21 hasta los 18 meses de edad en ratas macho previno parcialmente la disminución hepática de PPAR $\alpha$  relacionada con la edad. Cuando la expresión hepática de L-CPT-1 y el MCAD ambos diana del gen PPAR $\alpha$  fueron determinadas solo el RNAm de MCAD estaba significativamente incrementado (3,5 veces) en la ratas macho tratadas con atorvastatina comparados con el control. Sin embargo la atorvastatina incrementó significativamente (21%) la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos en la muestra hepática de las ratas macho tratadas, probablemente como consecuencia del aumento en la oxidación de ácidos grasos. La atorvastatina redujo marcadamente la concentración

hepática de ésteres de colesterol (-48%) y triglicéridos (-41%) en los machos tratados comparados con los controles. Además mostraban una disminución significativa de las concentraciones plasmáticas de glucosa (-18%), ácidos grasos no esterificados (-39%) y triglicéridos (-35%) comparados con el control. Estos cambios estaban relacionados con el incremento de la oxidación hepática de ácidos grasos (1,2 veces), del PPAR $\alpha$  RNAm (2,2 veces) de las proteínas PPAR $\alpha$  (1,6 veces) y de la actividad vinculada a ellas. El factor hepático nuclear 4 (HNF-4) participa en la regulación de la transcripción del gen PPAR $\alpha$ . La edad reduce el contenido hepático del HNF-4 (74%), exclusivamente en ratas macho la administración de atorvastatina aumenta la expresión y la actividad vinculada al HNF-4 (2 veces). En las hembras tratadas se incrementó la cantidad de proteínas PPAR $\alpha$  en un 42% comparada con el control pero no se modificó el PPAR $\alpha$ - RNAm ni su actividad vinculada.

Por tanto los cambios inducidos por la atorvastatina en el HNF-4 y PPAR $\alpha$  hepáticos pueden ser responsables de la mejoría en la expresión fenotípica del metabolismo lipídico producidos por la administración de atorvastatina en ratas machos seniles.

Aunque queda por determinar si el déficit hepático de PPAR $\alpha$  relacionado con la edad es parcialmente responsable de esta condición en humanos, estos resultados sugieren que la atorvastatina puede prevenir el déficit PPAR- $\alpha$  relacionado con la edad y así evitar algunos de los desórdenes asociados al síndrome metabólico como el hígado graso.

#### **10.7.4) Empleo de las estatinas en la EGHNA**

Se han llevado a cabo diversos trabajos para evaluar la eficacia de las estatinas en la EGHNA, se cree que las estatinas reducen la respuesta inflamatoria en la EHNA disminuyendo el estrés oxidativo (Rallidis y Drakoulis, 2004). Como se mencionó anteriormente la peroxidación lipídica mediada por especies reactivas del oxígeno (ROS) tiene un papel central en la lesión de las células hepáticas. Estudios *in vivo* e *in vitro* muestran una reducción de los ROS por las estatinas,

independientemente del efecto sobre los lípidos, que podría influir interrumpiendo la cascada de la peroxidación lipídica (Yamamoto y col., 1998). Además la estatinas inhiben la quimiotaxis de los neutrófilos y reducen la producción de citoquinas inflamatorias, lo que contribuiría a potenciar su efecto antiinflamatorio en el hígado (Duzendorfer y col., 1997).

Horlander y col. (2001) tratan a 7 pacientes con hiperlipemia y una biopsia inicial con diagnóstico de EHNA durante 12 meses con atorvastatina, realizándose una biopsia de control al finalizar este periodo; el estudio realizado por dos patólogos que desconocían la procedencia de las biopsias mostraban mejoría significativa post-tratamiento de inflamación, balonización e hialina de Mallory de las muestras. También mejoró la fibrosis y la esteatosis sin lograr significación estadística.

Un estudio con atorvastatina (Kiyici y col., 2003) ha mostrado mejoría en la bioquímica hepática sin que se valore la histología; se trata de un estudio prospectivo de 44 pacientes con EHNA confirmada en biopsia hepática, 17 pacientes eran normolipémicos y recibieron AUCD 13-15 mg/Kg/día y 27 pacientes hiperlipémicos recibieron tratamiento con atorvastatina 10 mg/día durante un periodo de seis meses. Antes y después del tratamiento se evaluó el IMC, niveles de lípidos plasmáticos, la bioquímica hepática y densidad hepática mediante tomografía axial. En el grupo de los pacientes tratados con AUCD los niveles de ALT, GGT se redujeron significativamente y en el grupo de pacientes tratados con atorvastatina los niveles de colesterol, AST, ALT, FA y GGT disminuyeron significativamente; también varió la densidad hepática en la tomografía, probablemente como resultado de la disminución del contenido graso hepático. La normalización de las aminotransferasas fue además más prevalente en el grupo tratado con atorvastatina. La conclusión de este estudio fue que el uso de atorvastatina en pacientes con EHNA e hiperlipidemia es efectiva y segura y que el beneficio de las estatinas y del AUCD en pacientes normolipémicos con EHNA requiere ser confirmada con otros ensayos controlados con placebo.

En otro estudio (Hatzitolios y col., 2004) se evalúa la eficacia y seguridad en la EHNA de tres fármacos: ácidos grasos omega-3, atorvastatina y orlistat en 72 pacientes con dislipemia mixta, asintomáticos y con aumento persistente de aminotransferasas en las 24 semanas previas al inicio del estudio. Todos tenían evidencia de infiltración grasa en el estudio ecográfico y en la biopsia hepática. Al grupo A de 23 pacientes con predominio de hipertrigliceridemia se les trató con ácidos grasos omega-3, el grupo B de 28 pacientes con predominio de hipercolesterolemia recibió atorvastatina y el grupo C de 21 pacientes con sobrepeso, recibió orlistat. Después de 24 semanas de tratamiento, los niveles de transaminasas disminuyeron significativamente en todos los grupos, pero el descenso fue más marcado en el grupo C y el estudio ecográfico mostró mejoría en todos los grupos. Al inicio del estudio se realizó biopsia hepática que confirmaba la enfermedad en todos los pacientes, sólo se repitió al final del estudio en 8 pacientes; 1 del grupo A, 3 del grupo B y 4 del grupo C. La inflamación mejoró en 6 pacientes sin observarse variación en el grado de fibrosis.

También se realizó un estudio prospectivo (Gómez y col., 2006) durante un periodo de seguimiento de un año a 22 pacientes con EHNA a los que se les administró atorvastatina, todos ellos presentaban hipertransaminasemia, hipercolesterolemia y/o hipertrigliceridemia y ecografía compatible con esteatosis. La eficacia del tratamiento se objetivó por la mejoría en las cifras de aminotransferasas y/o de parámetros semicuantitativos de esteatosis en ecografía. De los 22 pacientes tratados, 8 (36,3%) alcanzaron el objetivo final de normalización de transaminasas a los 6 meses, el resto continuó con atorvastatina durante 12 meses, normalizando o mejorando el colesterol y los enzimas hepáticos de forma estadísticamente significativa. Este objetivo se logró a pesar de no existir cambios profundos en los hábitos de vida ni en el IMC. Al final del estudio no se objetivó un cambio significativo en la esteatosis hepática mediante la prueba de imagen. El tratamiento con atorvastatina fue bien tolerado y no presentaron reacciones adversas durante el seguimiento.

En un estudio piloto (Rallidis y Drakoulis, 2004) con cinco pacientes no obesos ni diabéticos, diagnosticados de EHNA por biopsia con discreta hipercolesterolemia e hipertransaminasemia, recibieron pravastatina 20 mg/día durante 6 meses. Los niveles de transaminasas se normalizaron en todos ellos al final del estudio y la biopsia realizada en 4 pacientes tras los seis meses de tratamiento mostró que la actividad inflamatoria había mejorado en 3 de ellos y la esteatosis en 1. No se encontraron diferencias en la fibrosis. Esto sugiere un posible beneficio de la pravastatina en el tratamiento de la EGHNA en el subgrupo de pacientes con hipercolesterolemia no obesos ni diabéticos.

Se ha publicado recientemente un estudio (Ekstedt y col., 2007) en 68 pacientes diagnosticados de EGHNA, 15 de los cuales recibieron tratamiento con estatinas. Se realizó un seguimiento de dichos pacientes durante un periodo de 6 años obteniendo biopsia hepática al inicio y al final del estudio. Los pacientes que tomaban estatinas tenían basalmente mayor IMC y cifras superiores de hemoglobina glicosilada (HbA1c), no había diferencias respecto a la edad, niveles de lípidos en plasma, bioquímica hepática ni en la fibrosis hepática, aunque la esteatosis hepática si era más pronunciada. La biopsia hepática realizada a los 6 años del seguimiento mostró en los pacientes tratados con estatinas menor progresión a fibrosis y una reducción significativa de la esteatosis, constatándose un efecto positivo en la histología hepática en pacientes con EGHNA tratados con estatinas.

Georgescun y Georgescun (2007) también encontraron una disminución de las aminotransferasas y de la esteatosis hepática, sin encontrar cambios respecto a la fibrosis e inflamación en 10 pacientes tratados con atorvastatina durante 4 años.

La tabla 11 resume los tratamientos con estatinas anteriormente mencionados.

**Tabla 11.** Tratamiento de la EGHNA con estatinas

Ensayo	Tratamiento	Nº de pacientes	Duración (meses)	Nivel de enzimas	Esteatosis	Inflamación	Fibrosis
Horlander (2001)	Atorvastatina	7	12	Mejora	Sin cambios	Mejora	Sin cambios
Kiyici (2003)	Atorvastatina/ AUDC	44	6	Mejora	No valora	No valora	No valora
Hatzitolios (2004)	Atorvastatina/orlista t/ Ac.grasos $\omega$ 3	72	6	Mejora	Variable	Mejora	Sin cambios
Gómez (2006)	Atorvastatina	22	12	Mejora	No valora	No valora	No valora
Rallidis (2004)	Pravastatina	5	6	Mejora	Variable	Mejora	Sin cambios
Ekstedt (2007)	Atorvastatina	68	6 años	No evalúa	Mejora	Mejora	Mejora
Georgescu (2007)	Atorvastatina	10	4 años	Mejora	Mejora	Sin cambios	Sin cambios

### 10.7.5) Efectos secundarios de las estatinas

Existe una relación entre el tratamiento con estatinas y la elevación en suero de las aminotransferasas, como se ha visto en los ensayos clínicos llevados a cabo en fases 2, 3 y en los programas de seguimiento a largo plazo, la ficha técnica de cada estatina cita esta asociación (Chalasan, 2005). Este es un efecto de clase y no se relaciona con ninguna estatina en particular. Una elevación de aminotransferasas mayor a tres veces el límite superior de la normalidad aparece en menos de un 1% de los pacientes que toman estatinas dentro de la dosis recomendada, una elevación de esta magnitud se ha visto entre un 2-3% de los pacientes que recibieron atorvastatina a una dosis de 80 mg/día o estatina asociada a ezetimiba (Lipitor [package insert], 2004). Aunque la relación entre el tratamiento con estatinas y la elevación de aminotransferasas parece estar bien definida, también existen fluctuaciones espontáneas en la población general. En múltiples estudios la elevación era similar en pacientes tratados con estatinas y en los tratados con placebo. Sin

embargo casi un 50% de los pacientes con hiperlipidemia presentan EHNA y es bien conocido que los niveles de aminotransferasas fluctúan en estos pacientes (Mofrad y col., 2003).

Se desconoce si el riesgo de hepatotoxicidad de las estatinas es mayor en pacientes con una enfermedad hepática subyacente. Chalasani y col. (2004) evalúan la toxicidad hepática de las estatinas en tres grupos de pacientes seguidos durante un periodo de cinco años. La elevación de las enzimas hepáticas durante el tratamiento se clasificó en leve-moderada si era menos de 10 veces el límite superior de la normalidad y severa si era mayor. En el grupo nº 1 formado por 342 pacientes hiperlipémicos con elevación basal de las enzimas hepáticas (AST>40 UI/L o ALT>35 UI/L) a los que se les prescribió una estatina, se detectó elevación de leve a moderada en un 4,7% y severa en un 0,6%. En el grupo nº 2 de 1437 pacientes hiperlipidémicos con transaminasas normales a los que se les prescribió una estatina se detectó una elevación de leve a moderada en un 1,9 y severa de un 0,2%. En el grupo nº 3 de 2245 pacientes con elevación crónica de aminotransferasas que no recibieron tratamiento con estatinas apareció una elevación leve-moderada del 6,4% y severa del 0,4%. Tras el análisis estadístico se demostró que había diferencias significativas de elevación leve-moderada de aminotransferasas entre los grupos 1 y 2 mayor en el grupo 1, pero no en cuanto a la elevación severa. Sin embargo entre los grupos 1 y 3 no había diferencias significativas en el aumento de las enzimas hepáticas, sugiriendo que los individuos con elevación basal de las enzimas hepáticas no tienen mayor riesgo de hepatotoxicidad por estatinas. En este estudio no se encontró relación entre el tipo de estatina empleada con la frecuencia de elevación de aminotransferasas.

Un mecanismo propuesto que podría explicar la elevación de aminotransferasas comúnmente observada en individuos tratados con estatinas incluye un efecto farmacológico transitorio secundario a la reducción de colesterol en el hepatocito, con morbilidades asociadas como la diabetes mellitus y obesidad o consumo de alcohol u otra medicación diferente a las estatinas (Sniderman, 2004).

Se han publicado algunos casos de fallo hepático en pacientes que recibían tratamiento con estatinas (England y col., 1991; Grimbert, 1994; Nakad y col., 1999; Kinnman y Hulterantz, 2001; Chitturi y George, 2002). Esta asociación es muy rara y es posible que estos casos representen una reacción idiosincrática a la estatina. Un daño hepático significativo parece ser extremadamente infrecuente, especialmente cuando se considera la magnitud de su uso en el mundo. Basándonos en los 232 casos de fallo hepático agudo potencialmente asociado con lovastatina publicados en “Merck’s Worldwide Adverse Event Database” (WAES) se ha estimado que el riesgo de fallo hepático atribuido a la lovastatina es de 2 por un millón de pacientes (Gotto, 2003). Otro estudio estima la incidencia del daño hepático asociado a las estatinas en 1 por un millón de personas tratadas al año (Law y Rudnicka, 2006). El mecanismo subyacente entre la relación del fallo hepático agudo y el tratamiento con estatinas no está claro. Se ha publicado que las estatinas desenmascararían un tipo de hepatitis autoinmune en pacientes predispuestos (Siddiqui y col., 2005) aunque esto es muy infrecuente. Por otra parte los pocos casos que ocurren de fallo hepático debido a una reacción idiosincrática no es específica de las estatinas y se ha visto con otras medicaciones comúnmente utilizadas (isoniacida, nitrofurantoina).

El “National Cholesterol Education Program” (NCEP) de EEUU declara que el uso de las estatinas está contraindicado en pacientes con enfermedad hepática activa y recomienda que los niveles de enzimas hepáticas deben de comprobarse antes de empezar el tratamiento con estatinas y no prescribirlas si existe elevación persistente de transaminasas. Estudios previos han mostrado que la pravastatina puede ser usada en pacientes con trasplante hepático y que la farmacocinética de la rosuvastatina no está significativamente alterada en individuos con cirrosis compensada (Simonson y col., 2003).

En respuesta a cuestiones específicas concernientes al riesgo hepático asociado al tratamiento con estatinas un Panel de Expertos en Hígado compuesto por académicos en hepatología con interés por la clínica e investigación en la EGHNA, desórdenes en el metabolismo lipídico y

toxicidad hepática por medicamentos proporciona consejo a la Asociación Nacional de Lípidos americana (National Lipid Association's (NLA) Safety Task Force) acerca de su utilización en la práctica clínica (Cohen y col., 2006).

El Panel no cree que la evidencia científica disponible apoye la monitorización rutinaria de la bioquímica hepática en pacientes asintomáticos que reciben estatinas (Smith y col., 2003). Hace esta recomendación porque un daño hepático irreversible por estatinas es excepcionalmente raro y es más frecuentemente de naturaleza idiosincrática. No existen datos que muestren que una monitorización rutinaria en la bioquímica hepática sea efectiva en identificar casos individuales que puedan desarrollar una lesión hepática significativa durante el seguimiento de la terapia. Bajo el punto de vista del Panel la monitorización rutinaria daría lugar a identificar a un mayor número de pacientes con un incremento aislado de los niveles de aminotransferasas que podría motivar al médico a modificar o suspender el tratamiento y con ello exponer al paciente a mayor riesgo de eventos cardiovasculares. No hay ninguna evidencia para suspender el tratamiento con estatinas o alterarlo en base a una elevación de aminotransferasas en pacientes asintomáticos. Finalmente las estimaciones preliminares sugieren que el coste asociado con la monitorización es muy alto (Sniderman, 2004).

Respecto a la monitorización del paciente, antes de instaurar cualquier tipo de terapia médica, es aconsejable para el facultativo llevar a cabo una completa y sistemática historia clínica, examen físico y los pertinentes análisis de laboratorio. Si en el curso de esto, se identifica aumento de aminotransferasas, debería de investigarse de manera apropiada y si está indicado remitir al paciente al especialista.

Cuando el facultativo detectase la aparición de un posible caso de reacción hepatotóxica debido al tratamiento con estatinas (porque el paciente refiera ictericia, astenia, somnolencia durante el tratamiento), debería hacerse una determinación de los niveles fraccionados de la bilirrubina. En ausencia de una obstrucción biliar, la bilirrubina es el

indicador más fiable de lesión hepática en el contexto de toxicidad medicamentosa (Zimmerman, 1978; Bjornsson y Olsson, 2005). Si existe aumento de la fracción directa de la bilirrubina en asociación a las aminotransferasas, es razonable asumir que hay una lesión hepática, suspender la medicación y tratar de filiar su etiología.

El Panel de Expertos cree que ni la enfermedad crónica hepática ni la cirrosis compensada deberían ser consideradas una contraindicación para el tratamiento con estatinas. Esta posición se apoya en los estudios que demuestran que la frecuencia y el grado de elevación de aminotransferasas fue el mismo en pacientes con una de estas dos condiciones independientemente de que recibieran el tratamiento (Chalasani, 2005). Se cree que las estatinas pueden ser usadas con seguridad en pacientes con EHNA. Por otro lado los individuos con EGHNA o EHNA deberían ser considerados objetivo del tratamiento porque tienen un incremento significativo del riesgo cardiovascular. Hay una alta prevalencia de EGHNA en pacientes con hiperlipidemia y no es infrecuente que los niveles de aminotransferasas sean normales en estos pacientes (Neuschwander-Tetri y Cadwell, 2003). Además existen un gran número de pacientes hiperlipidémicos con EGHNA no detectada que han sido tratados con estatinas durante años sin una toxicidad significativa.

Aparte de las molestias gastrointestinales, un efecto secundario importante son las mialgias, en cuyo caso debería de monitorizarse el nivel de CPK, ya que el riesgo de miopatía durante la monoterapia es del 0.1 %, aunque cuando se asocia a gemfibrozil es del 5% y del 28 % si se asocia a ciclosporina (Illingworth, 1991; Grundy, 1991). La mayoría de los casos de miopatía (complicada a veces por rabdomiolisis) han sido descritos al asociar lovastatina o simvastatina a dosis altas con genfibrozil, ciclosporina, ácido nicotínico, eritromicina o en pacientes con colestasis. La coadministración de estatinas y fibratos no es una opción recomendada por el riesgo de rabdomiolisis, una rara pero seria complicación (Bolego y col., 2002).

La aparición de cataratas a dosis terapéuticas no ha sido demostrada en el hombre. Solamente se ha demostrado en el perro a dosis elevada (Hunninghake, 1988).

Tampoco hay evidencia de que estos fármacos reduzcan significativamente los niveles plasmáticos de las hormonas sexuales ni de los corticoides. La respuesta de la corteza suprarrenal al estímulo con ACTH se mantiene normal. Lo que sí disminuye es la concentración de ubiquinona aunque aún faltan estudios para confirmarlo.

En resumen, los inhibidores de la HMG-CoA reductasa poseen una potencia hipocolesteremiante superior al resto de fármacos actualmente existentes. Sus indicaciones principales son las hipercolesterolemias graves primarias y entre las secundarias, el síndrome nefrótico y la diabetes no insulino dependiente y una indicación cada vez más consolidada en la prevención de los eventos coronarios. Administradas a las dosis recomendadas, en monoterapia o en terapia combinada con resinas de intercambio, las estatinas muestran una tolerancia excelente y escasos efectos secundarios.

Son objeto de investigación actual:

1. Clarificar porque de los pacientes tratados con estatinas unos presentan aumento de aminotransferasas y otros no.
2. La evaluación del potencial beneficio de las estatinas en la EGHNA como se ha demostrado en estudios preliminares.
3. El impacto de la terapia con estatinas en la progresión natural de la cirrosis y la fibrosis.