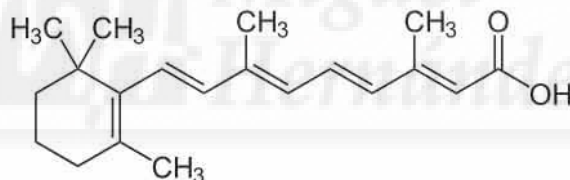


FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

ESTEATOSIS HEPÁTICA ASOCIADA AL ÁCIDO RETINOICO



Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2019

Autora: Juan Luis Martínez García

Modalidad: Revisión bibliográfica

Tutores: M.Cruz Pellin Mira y Javier Estevan Mozo

- **ÍNDICE:**

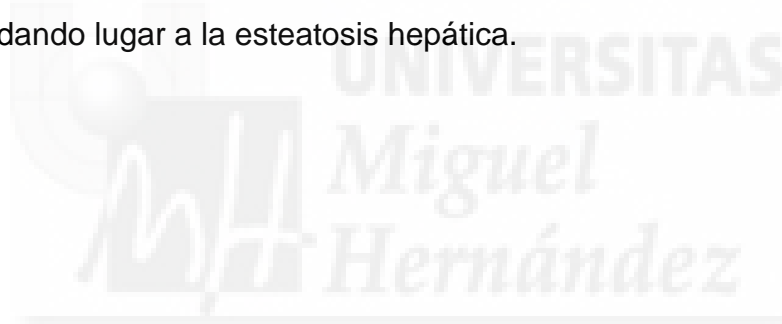
- Resumen
 - Índice de tablas
 - Índice de figuras
 - Abreviaturas
1. Antecedentes
 - 1.1. Retinoides
 - Historia
 - Término.
 - y dieta.
 - Mecanismo de acción.
 - Receptores.
 - Metabolismo.
 - Almacenamiento.
 - 1.2. Funciones del hígado.
 - 1.3. Esteatosis hepática.
 2. Objetivos.
 3. Materiales y métodos.
 - 3.1. Diseño.
 - 3.2. Tratamiento de la información
 - 3.3. Estrategia de búsqueda.
 4. Resultados y discusión
 5. Conclusiones.
 6. Bibliografía.

- **RESUMEN:**

Los retinoides son un conjunto de moléculas de origen natural, así como compuestos sintéticos con efectos sobre los receptores retinoides. Uno de los más importantes es el ácido todo-trans retinoico que activa el receptor del ácido retinoico.

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica acerca de la existencia de posibles asociaciones entre el sistema retinoide y la esteatosis hepática.

Se llevó a cabo una búsqueda de publicaciones científicas en la base de datos "web of science". Se pudo observar que la progresión de la enfermedad hepática se asocia a una disminución de los niveles hepáticos de ácido todo-trans retinoico. Asimismo, la disminución de la señalización de los receptores del ácido retinoico redujo la expresión de genes implicados en el metabolismo lipídico dando lugar a la esteatosis hepática.



- **ÍNDICE DE TABLAS:**

- Tabla 1: proteínas asociadas a retinoides.
- Tabla 2: pacientes presentes en los estudios experimentales
- Tabla 3: clases de ratones utilizados en los estudios experimentales
- Tabla 4: diseño, objetivos y resultados de los estudios seleccionados para la revisión.

- **ÍNDICE DE FIGURAS:**

-

- Figura 1: metabolismo de los retinoides.
- Figura 2: Células hepáticas en paciente con esteatosis hepática.
- Figura 3: Células hepáticas de un paciente sano.
- Figura 4: selección de artículos para la revisión sistemática
- Figura 5: metabolismo de retinoides y regulación de los receptores.

- **ABREVIATURAS:**

RAR	Receptores de ácido retinoico
RXR	Receptores x para los retinoides
RBP	Retinol-binding protein
crbp I	Cellular retinol-binding protein I
crbp II	Cellular retinol-binding protein II
IRBP	Interphotoreceptor retinol-binding protein.
CRABP	Celular retinoid acid-binding protein
FABP5	Fatty acid-binding protein
TTR	transtiretina
STRA 6	Gen 6 estimulado por el ácido retinoico.
REH	Ésteres de retinol
LRAT	Lecitina-retinol acetil transferasa
RAL	retinaldehido
RDH/ADH	Retinol deshidrogenasas
AR	Ácido retinoico
HSC	Células estrelladas hepáticas
NAFLD	Estatosis hepática
NASH	Esteatohepatitis no alcohólica
DescS	Descriptores de ciencias de la salud
MeSH	Medical Subject Headings
AKR1B10	Aldo-ceto reductasa B10
ALDH1A3	retinaldehído deshidrogenasa 1-A3
ALDH1A2	retinaldehído deshidrogenasa 1-A2
RAR β 2	agonistas β 2 de los receptores retinoides
FASN	Ácido graso sintasa
RAR α	Agonistas α de los receptores retinoides.
ROS	Especies reactivas de oxígeno
CHOP	Proteína homóloga C/EBP
FXR	Receptor farnesiano de los retinoides
LRX- α	receptor X-alfa del hígado
SREBPS	Sterol regulatory element-binding proteins
PPAR- α	receptor α activador de la proliferación de peroxisomas

1. ANTECEDENTES:

1.1. Retinoides:

- Historia:

En 1931, Paul Karrer descubrió la estructura química de los β -carotenos y del retinol, más tarde en 1937 le dieron el premio nobel de química. En 1946, los holandeses David Adriaan Van Dorp y Jozef Ferdinand Arens publicaron la síntesis para la vitamina A en su forma ácida en la revista Nature. En 1947, ellos completaron la primera síntesis del complejo que compone la vitamina A habiendo transformado el radical ácido en uno alcohólico. Isler sintetizó en 1947 la vitamina en forma pura ⁷.

- Término

El nombre de este conjunto de moléculas se dio a conocer a finales de la década de 1970, por Sporn, el cual acuñó el término retinoide ². Un retinoide es una denominación genérica: abarca tanto moléculas de origen natural como compuestos sintéticos con efectos biológicos específicos análogos a los de la vitamina A. como característica principal, estas moléculas son capaces de regular la actividad de los receptores retinoides. ¹

- La dieta:

El sistema retinoide está formado, por una gran variedad de compuestos, así como por enzimas, transportadores y receptores nucleares. Uno de los retinoides más importantes es el ácido todo-*trans* retinoico, cuya función principal, es la unión a receptores nucleares específicos para regular funciones vitales del organismo como la fertilidad, el desarrollo, la visión y el metabolismo ².

- Mecanismo de acción:

Los mamíferos no pueden sintetizar el retinol por sí mismos, por lo que dependen de la dieta para adquirir cantidades suficientes de este micronutriente. Las fuentes dietéticas de retinoides son:

- los carotenos, presentes en los vegetales son una fuente rica en retinoides, son: las patatas, las zanahorias y los vegetales de hojas verdes oscuras como espinacas.
- Retinol y ésteres de retinilo presente en las fuentes animales como el hígado, los huevos y el pescado.

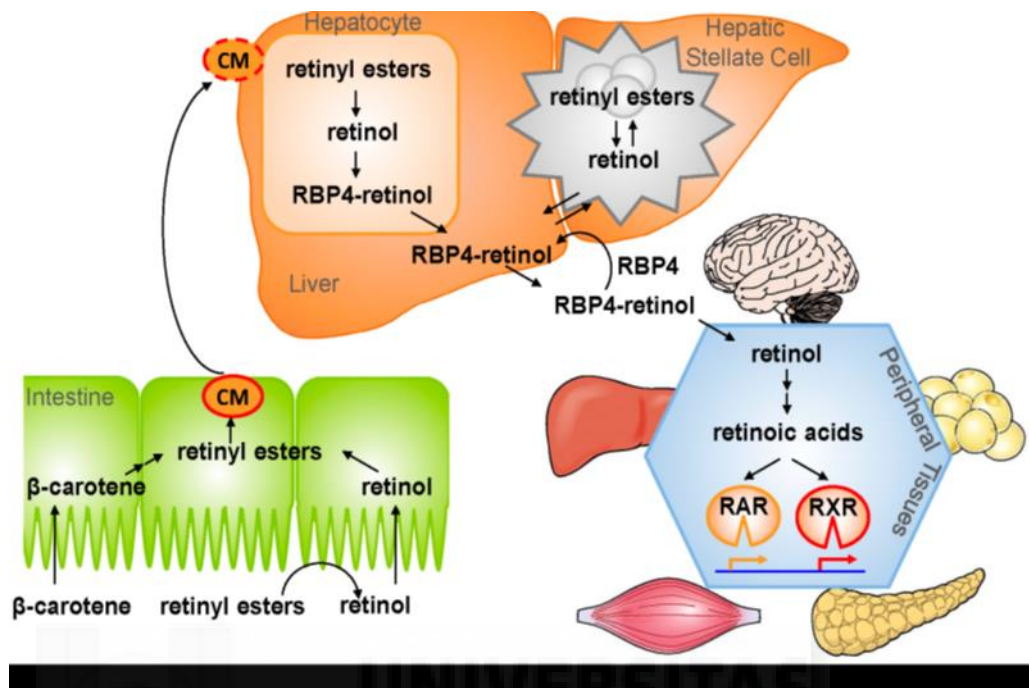
La vitamina A, es un elemento esencial, es una vitamina soluble en grasa y requiere de una ingesta diaria adecuada (entre 700 y 850 μg para humanos, según la FAO-OMS) y de su almacenamiento hepático (80% en un individuo sano) con el objetivo de mantener los niveles de retinol en plasma alrededor de 2 mol / L en humanos (1–2 Mol / L en roedores) ³.

- Receptores:

El mecanismo de acción de los retinoides supone la interacción con diversas proteínas citosólicas y, lo más importante, con receptores nucleares. Esta última interacción dará lugar a la expresión de diferentes genes. La acción neta de un retinoide sobre una célula dada depende de la composición en receptores para retinoides de dicha célula. Se han identificado dos clases distintas de receptores nucleares, los cuales se han conservado evolutivamente ³:

- Receptores de ácido retinoico (RAR)
- Receptores X para retinoides (RXR)

- Figura 1: Metabolismo de los retinoides ⁴



En esta figura aparece el metabolismo de los receptores desde la ingesta en la dieta hasta la síntesis del ácido retinoico (molécula activa) y la activación de los receptores retinoides.

Estos receptores pertenecen a la superfamilia de receptores nucleares entre los que se encuentran los receptores de hormonas esteroideas y tiroideas, y actúan como factores de transcripción dependientes de ligando. Dentro de cada clase de receptor, existen tres subtipos: α , β y γ . Cada receptor está compuesto por seis regiones diferentes, las cuales se clasifican de la A, a la F. Las regiones más significativas son:

- Región E → presenta propiedades, que permiten la unión a los ligandos, específicos para cada receptor
- Regiones A y B → representa la fracción N-terminal
- Región C → parte del receptor altamente conservada, debido a que está compuesta por dos elementos de unión al ADN.
- Región D → implicado en los cambios funcionales, inducidos por los ligandos.

Los receptores nucleares RARs, pueden activarse tanto por el ácido *trans* retinoico como por el ácido *9-cis* retinoico. En cambio, en los receptores RXRs, únicamente son activados por el ácido *9-cis* retinoico y será cuarenta veces más potente que la unión de dicha molécula a los receptores RARs. (1)

Tanto en el mecanismo de acción, como en el metabolismo del retinol, están presentes una serie de proteínas y procesos que son exclusivos de la vitamina A. Esto es debido a sus propiedades físico-químicas, por lo que serán insolubles en ambientes acuosos.

- **Tabla 1:** Proteínas asociadas a retinoides.

Nomenclatura original	ligando	Distribución a nivel tisular
Retinol-binding protein (RBP)	retinol	Plasma
Cellular retinol-binding protein I (crbpl)	Retinol y retinal	Muchos tejidos
Cellular retinol-binding protein II (crbpII)	Retinol y retinal	Intestino delgado
Celular retinol-binding protein III (crbpIII)	Retinol y retinal	Tejido adiposo y tejido muscular
Interphotoreceptor retinol-binding protein (IRBP)	Retinol, retinal y otros lípidos	Ojos y retina
Celular retinoid acid-binding protein (CRABP)	Ácido retinoico y ácidos grasos	Tejido adiposo y piel
Fatty acid-binding protein (FABP5)	Ácido retinoico y ácidos grasos	Tejido adiposo e Hígado, entro otros.

Tabla 1: En esta tabla se encuentran el conjunto de proteínas a nivel intracelular, que se unen a los retinoides, permitiendo de esta manera que se lleve a cabo el transporte de éstos, para su acción, metabolismo y/o almacenamiento.

A nivel extracelular, las proteínas de unión a los retinoides son esenciales para el transporte de éstos de un tipo de célula a otro. Varias de estas proteínas de unión a la vitamina A han sido implicadas por tener importantes papeles en la obesidad, diabetes y enfermedad hepática, como es el caso de la esteatosis hepática ¹.

Metabolismo:

En cuanto al metabolismo de los retinoides tras su ingesta, cuando éstos están presentes en el intestino, los retinoides son convertidos a retinol y se unen a una proteína citoplasmática específica de unión a retinol. Este retinol se procesa a ésteres de retinilo, que son exportados a la circulación sanguínea, donde son transportados al hígado. Una vez se han introducido los ésteres de retinilo en los hepatocitos son convertidos en retinol y unidos a una nueva proteína, la proteína de unión al retinol para que pueda ser transportado a las células diana. Una vez en la circulación el retinol junto con la RBP se une a la transtiretina (TTR) para evitar que sea eliminada por el riñón ⁴.

La RBP se une a un receptor de la membrana celular llamado gen 6 estimulado por ácido retinoico (STRA6), de manera que permite la inserción del retinol en la célula diana. Los ésteres de retinilo obtenidos en la dieta también pueden servir como recurso de vitamina A para la célula, que será convertido a retinol por la hidrolasa de ésteres de retinol (REH). El retinol puede tomar dos vías distintas: por un lado, unirse a la proteína celular de unión a retinol y ser esterificado por la lecitina-retinol acetiltransferasa (LRAT) a ésteres de retinilo y almacenado en las células estrelladas del hígado (células de Ito); por otro lado, ser oxidado reversiblemente a retinaldehído (RAL) por las retinol deshidrogenasas

(RDH/ADH). A su vez, el RAL puede ser oxidado irreversiblemente por deshidrogenasas de retinaldehído (RALDH) a AR, que se podrá unir a proteínas celulares de unión al ácido retinoico o podrá ser degradado a metabolitos oxidados por enzimas del citocromo P450. El ácido retinoico (AR) entra en el núcleo, donde se podrá unir a sus correspondientes receptores nucleares, unirse a sus secuencias diana de la célula, reclutar coactivadores e iniciar la transcripción del mRNA y la traducción a proteína (Fig. 1)⁴.

- Almacenamiento:

El almacenamiento del retinol depende principalmente de la concentración de éste en el resto de los tejidos, más del 90% del total de la vitamina A presente en el cuerpo se encuentra en el hígado.

Los estudios llevados a cabo con ratas macho mostraron que los hepatocitos y las células estrelladas hepáticas (HSC) son los tipos de células dentro del hígado que contienen más del 99% del retinol total presente en el hígado ¹.

- Hepatocito: encargado de la síntesis celular de RBP4 en el hígado, por lo tanto, los hepatocitos participan tanto en la absorción de vitamina A en la dieta por el hígado como en su movilización del hígado, pero presentan solo una proporción relativamente pequeña del total de los retinoides presente en el hígado.
- La célula estrellada hepática: constituyen las células no parenquimáticas del hígado, representan aproximadamente el 8% del total de células presentes en el hígado, sin embargo, aproximadamente el 80-90% de la vitamina A total en el hígado de un ser humano o animal sano y bien nutrido está presente en las células estrelladas del hígado. En este tipo de células, se almacenan los retinoides en forma de retinilo, dentro de las gotas lipídicas, presentes en las células estrelladas hepáticas.¹

1.2. Funciones del hígado:

El hígado es el órgano sólido más grande del cuerpo, y es la ubicación central del metabolismo energético y xenobiótico.⁵, éste juega un papel central en el control del metabolismo de los retinoides y enfermedades hepáticas crónicas, como la atresia biliar, colangitis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria, hepatitis viral, hepatopatía alcohólica, esteatosis hepática (NAFLD) y esteatohepatitis (NASH)³.

En cuanto a la enfermedad del hígado graso, Ludwig y colaboradores quienes en 1980 describieron a una serie de pacientes sin historia significativa de ingesta alcohólica, que presentaban cambios histopatológicos indistinguibles de la enfermedad hepática alcohólica. La NAFLD, también conocida como la nueva pandemia del milenio, debido a que ha sido reconocida globalmente como una de las enfermedades hepáticas más frecuentes a nivel mundial ⁷. La enfermedad del hígado graso se refiere a un espectro patológico de trastornos fisiológicos que van desde la acumulación de lípidos en los hepatocitos (esteatosis) hasta el desarrollo de una inflamación superpuesta (esteatohepatitis) y fibrosis que conduce a cirrosis y, potencialmente, carcinoma hepatocelular. Esta patología, generalmente es causada por la exposición a agentes externos. Si bien los mecanismos de la enfermedad pueden variar según el tipo de exposición, la patología hepática resultante es indistinguible en todas las etiologías. Así, las enfermedades del hígado graso se denominan según su etiología ⁵.

1.3. Esteatosis hepática

En concreto la enfermedad del hígado graso no alcohólico, también está fuertemente asociado con la obesidad, resistencia a la insulina y dislipidemia. Nutrición y dietética han sido considerado un enfoque fundamental para tratar la NAFLD ¹².

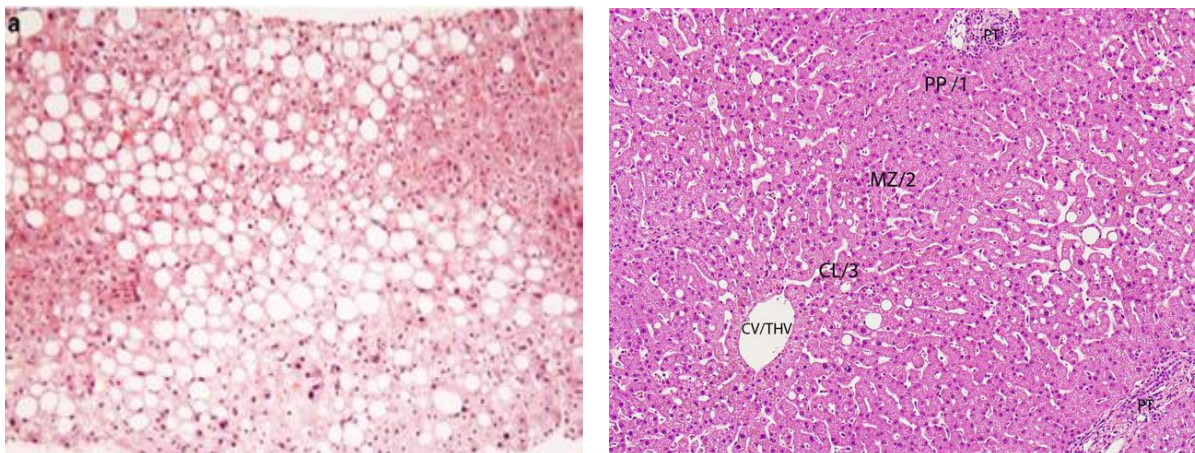


Figura 2: Células hepáticas en paciente con NAFLD¹⁷.

En esta imagen se puede observar las vacuolas formadas por el exceso de lípidos en los hepatocitos, y el desplazamiento del núcleo hacia los extremos de la célula.

Figura 3: Células hepáticas de un paciente sano¹⁷.

Imagen de hepatocitos sanos, no se observa un exceso de vacuolas debido a que haya podido haber grandes concentraciones de lípidos.

2. OBJETIVOS:

En la actualidad se están buscando observaciones para identificar alteradores endocrinos que causen hígado graso. Entre otras dianas, las derivadas del sistema retinoide se han situado dentro de la estrategia prioritaria de la OCDE. En consecuencia, es necesario recopilar la información necesaria para caracterizar la respuesta del sistema retinoide cuando se desarrolla la enfermedad hepática.

Por lo tanto, los objetivos del presente trabajo son:

- Revisar el estado actual de los conocimientos sobre la existencia de posibles asociaciones entre el sistema retinoide y la esteatosis hepática.
- Estudiar la modulación de los receptores implicados en el sistema retinoide en la enfermedad hepática.

3. MATERIALES Y MÉTODOS:

3.1. Diseño:

Análisis crítico de artículos científicos recuperados mediante revisión sistemática.

3.2. Tratamiento de la información:

La metodología empleada para realizar esta revisión se basó en la búsqueda bibliográfica, utilizando como base de datos principal, *web of science*. Se empleó el programa *endNote* para gestionar las distintas referencias utilizadas en la presente revisión sistemática. Se manejaron referencias de entre los años 2010 y 2019, todas ellas relacionadas tanto con la esteatosis, como con los retinoides.

Las palabras claves utilizadas en dicha búsqueda se obtuvieron, a través de la base de datos denominada: buscador de descriptores de ciencias de la salud (DecS), recurso gratuito avalado por: la organización panamericana de la salud y la organización mundial de la salud. Esta herramienta fue desarrollada a partir del MeSH (Medical Subject Headings de la U.S. National Library of Medicine), con el objetivo de permitir el uso de terminología común estos descriptores actúan como lenguaje único de indización, para centrar la búsqueda en el tema o concepto determinado, con el objetivo encontrar resultados en la búsqueda, que únicamente estén relacionados con el tema de la revisión.

La búsqueda de los descriptores se llevó a cabo, en español, en índice permutado, confirmando que el significado del descriptor coincide con aquello que se desea buscar y se obtuvo el equivalente en inglés, el cual coincide con el “MeSH”, los cuales se utilizarán posteriormente en la *web of science* para buscar las referencias.

Para esta revisión sistemática se han utilizado los siguientes descriptores:

- *non-alcoholic fatty liver disease*
- *retinoic acid*
- *retinoid*

Los criterios de inclusión y exclusión de los artículos en esta revisión sistemática son:

➤ Criterios de inclusión:

1. Estudios experimentales como: serie de casos, ensayo preclínico, ensayo clínico o estudios transversales.
2. Estudios bibliográficos como: metaanálisis y revisiones sistemáticas.
3. Resumen de los artículos en castellano o en inglés
4. Durante la lectura completa del artículo, los descriptores (MeSH) están desarrollados.

➤ Criterios de exclusión:

1. Artículos en japonés.

3.3. Estrategia de búsqueda:

Se realizaron tres tipos de búsquedas diferentes para la selección de artículos, la primera mediante búsqueda manual de la información a través de libros y otros trabajos bibliográficos fuera de bases de datos, para la obtención de información básica para realizar la introducción.

Las otras dos formas de búsqueda fueron mediante la base de datos “web of science”:

- 1- TEMA: (*non-alcoholic fatty liver disease*) AND TEMA: (*retinoid*)
- 2- TEMA: (*non-alcoholic fatty liver disease*) AND TEMA: (*retinoic acid*)

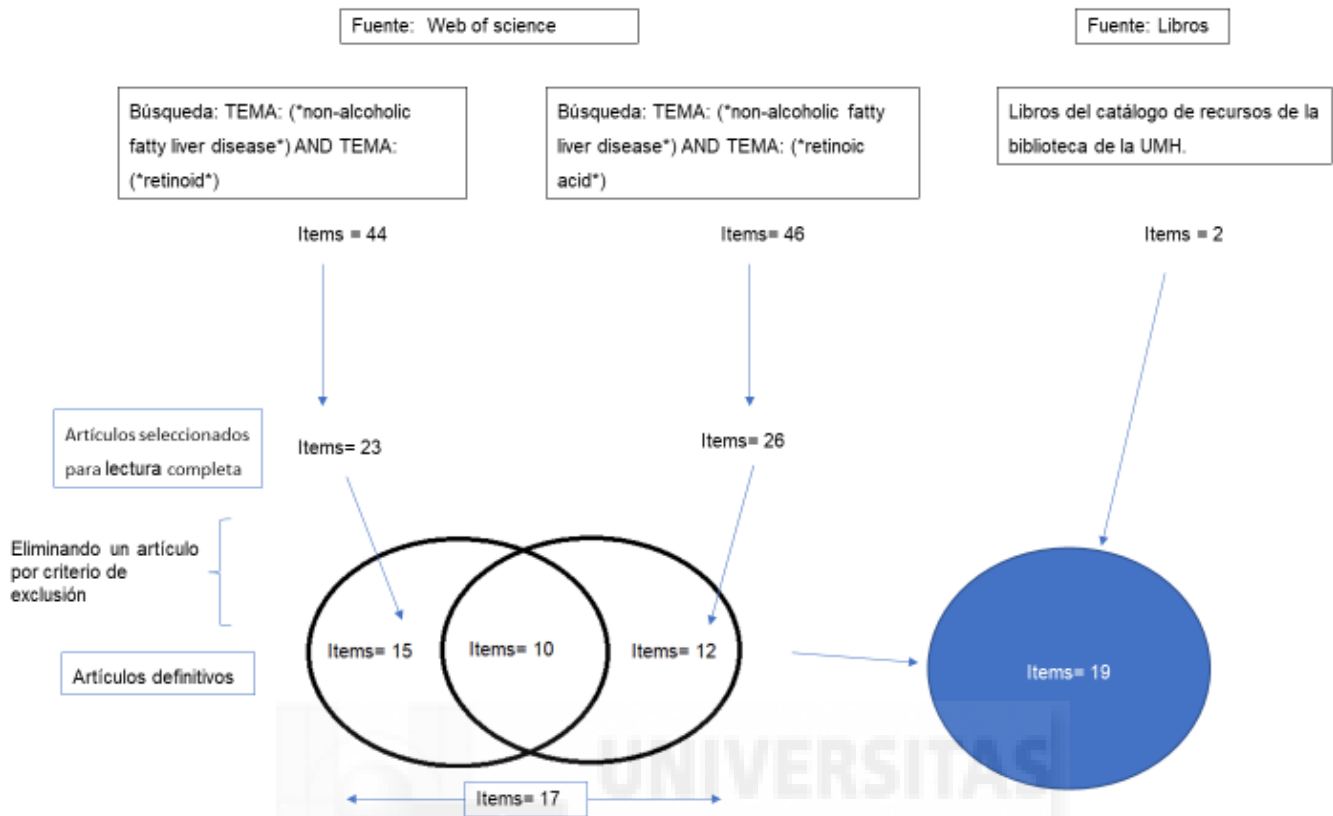
A continuación, se seleccionaron los artículos obtenidos según dichos criterios de búsqueda, atendiendo al título y al abstract de cada uno. Aquellos artículos en los que la información de abstract y del título relacionen los retinoides con la esteatosis hepática fueron seleccionados para realizar una lectura completa del artículo, sería entonces cuando, dependiendo de la utilidad de la información que contenga, pasarían a formar parte de la bibliografía final o no. (Fig. 4).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Se recopilaron 91 artículos con los criterios de búsqueda descritos en el apartado de materiales y métodos utilizando la “web of science”.

Tras contrastar las duplicidades obtenidas con los diferentes criterios de búsqueda, aplicar los criterios de inclusión y exclusión y tomar información de diferentes libros o trabajos, no presentes en bases de datos, fue posible seleccionar 19 referencias bibliográficas, de los que 17 fueron artículos de investigación listados en “Web of Science” y dos libros.

- **Figura 4:** selección de artículos para la revisión sistemática



Los trabajos revisados fueron: 9 estudios comparativos, 8 revisiones bibliográficas y 1 estudio transversal.

Tres de los estudios que se llevaron a cabo de forma experimental con humanos, utilizando en todos ellos pacientes con esteatosis validados mediante biopsia.

Las muestras hepáticas de los pacientes control en los estudios experimentales fueron de donantes de hígado, a excepción del estudio de Yan Liu, et al (2015)⁶, cuya selección fue mediante voluntarios.

Por otro lado, también es importante mencionar que todos los estudios experimentales realizados con humanos siguieron las pautas éticas presentes en la declaración de Hensilki en 1975.

La muestra utilizada en cada uno de los estudios experimentales se divide en los siguientes grupos de pacientes ^{4, 6, 7}:

- **Tabla 2:** pacientes presentes en los estudios experimentales.

Ashla, et al (2010) ⁷	<ul style="list-style-type: none"> - pacientes con esteatosis → 17 - pacientes con esteatosis no alcohólica → 11 - pacientes control → 8
yan liu, et al (2015) ⁶	<ul style="list-style-type: none"> - pacientes con esteatosis → 45 - pacientes con esteatosis no alcohólica → 38 - pacientes control → 41
pettinelli, et al (2018) ⁴	<ul style="list-style-type: none"> - pacientes con esteatosis → 17 - pacientes con esteatosis no alcohólica → 15 - pacientes control → 22

En esta tabla se observan los pacientes utilizados en los diferentes estudios experimentales, junto con la división de los pacientes dependiendo del grado de enfermedad en el que se encontraban y los pacientes control.

El resto de los estudios de tipo experimental se realizaron con ratones. Para el desarrollo de la experimentación con animales se siguieron protocolos sobre el uso de animales de acuerdo con los criterios descritos en la guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio.

Los ratones utilizados para cada uno de los estudios experimentales en animales son los siguientes^{8, 9}:

- **Tabla 3:** clases de ratones utilizados en los estudios experimentales.

Fuchs, et al (2017) ⁸	Ratones C57BL / 6 WT y FXR KO pareados por edad
Ideta, et al (2017) ⁹	Ratones KO homocigotos machos WT y Lrat congénitos C57BL / 6
Kim, et al (2010) ¹⁰	Los ratones C57BL / 6J
Kuhla (2011) ¹¹	Ratones hembra SAMP8 y SAMR1
Eritja, et al (2016) ¹²	Ratones C57BL / 6 PTEN +/-.
Melis, et al (2019) ¹³	Ratones machos C57BL / 6

En esta tabla se encuentran las diferentes clases de ratones que se utilizaron en las investigaciones experimentales, utilizadas en esta revisión sistemática.

Tabla 4: Diseño, objetivos y resultados de los estudios seleccionados para la revisión.

A continuación, se muestra una tabla donde aparecen el diseño, los objetivos y resultados de cada uno de los estudios analizados para realizar esta revisión sistemática. En ella aparecen lo demostrado sobre la modulación de los receptores del sistema retinoide que conducen a la activación de genes encargados de la síntesis de lípidos y la importancia del ácido retinoico en concentraciones determinadas a nivel hepático.

ARTÍCULO	DISEÑO	OBJETIVOS	RESULTADOS
Ashla, et al (2010)⁷	Estudio experimental	Realizar un análisis genético de los individuos, para observar la progresión de la esteatosis hepática	El estado hiperdinámico del metabolismo de los retinoides está presente en los tejidos hepáticos con NAFLD, que puede ser un mecanismo putativo por el cual NAFLD progresa hacia una enfermedad hepática crónica
Blaner, et al (2019)¹	Revisión bibliográfica	Revisar la literatura sobre los retinoides y las proteínas con las que interactúan	La asociación entre el ácido retinoico y las enfermedades metabólicas es fuerte, pudiendo afirmar que la señalización del ácido retinoico es necesaria para poder prevenir la NAFLD. Será necesario llevar a cabo estudios experimentales para poder tratar estas patologías.
Cave, et al (2016)⁵	Revisión bibliográfica	Diferenciar los efectos beneficiosos de la activación de receptores nucleares a los que se asocian los retinoides, de los efectos secundarios metabólicos (NAFLD)	La desregulación de los receptores nucleares contribuye a la patogénesis de NAFLD al afectar el control integrado del metabolismo energético a nivel hepático. Los retinoides pueden interactuar directamente con los receptores nucleares, lo que conduce a una confusión metabólica y a la progresión de diferentes enfermedades metabólicas, entre las que destaca la NAFLD.

ARTÍCULOS	DISEÑO	OBJETIVOS	RESULTADOS
Pawlak, et al (2015)¹⁴	Revisión bibliográfica	Analizar los mecanismos de activación y represión transcripcional mediante PPAR α , en el metabolismo de lípidos y su relación con la terapia frente a la NAFLD.	El PPAR α es un regulador del metabolismo de ácidos grasos. La capacidad de los agonistas de PPAR α para contrarrestar la esteatohepatitis aparece de forma prominente en diferentes estudios experimentales con ratones con NAFLD, lo que puede explicarse por el hecho de que la expresión de PPAR α es más abundante en el ratón que en el hígado humano.
Saeed, et al (2018)³	Revisión bibliográfica	Revisar la literatura científica, sobre el metabolismo de los retinoides y el posible tratamiento contra la progresión de las enfermedades hepáticas.	la progresión de la enfermedad de NAFLD a NASH, cirrosis cáncer está asociada con la disminución de los niveles de retinol hepático y circulante. A pesar de esto todavía se debe investigar más sobre el metabolismo de la vitamina A en el hígado en condiciones sanas y la selección de derivados retinoides que modulación las vías específicas para tratar la NAFLD.

ARTÍCULO	DISEÑO	OBJETIVOS	RESULTADOS
Fuchs, et al (2017)⁸	Estudio experimental	Explorar el posible vínculo en el receptor farnesiano FXR y el gen CHOP.	Este estudio identifica el FXR como un regulador de Chop (en condiciones de MCD), que mejora la inflamación y, posteriormente, la progresión de la enfermedad del hígado graso desde la etapa benigna de la esteatosis a los pasos más graves
Ideta, et al (2017)⁹	Estudio experimental.	Examinar los efectos de las reservas de retinoides HSC endógenos y la activación de la señalización de retinoides en la enfermedad del hígado graso no alcohólica y el desarrollo de tumores hepáticos en ratones de tipo salvaje	los ratones deficientes en Lrat, que muestran una falta de almacenamiento de retinoides, pero tienen una activación de la señalización del ácido retinoico en el hígado, mostraron una inflamación hepática relacionada con esteatosis hepática y una disminución del estrés oxidativo.
Kim, et al (2010)¹⁰	Estudio experimental	Investigar sobre el efecto de la gínesteina contra la esteatosis hepática, relacionado con el metabolismo de adipocitos a nivel visceral.	Pudieron observar en ratones con una dieta elevada en grasas, que la gínesteina normalizó los diferentes parámetros característicos de los ratones con NAFLD. Vieron la elevada regulación de genes implicados en la β -oxidación de ácidos grasos, incluidos: PPAR α , la proteína quinasa 5'-AMP activada y la acil CoA deshidrogenasa de cadena muy larga

ARTÍCULO	DISEÑO	OBJETIVOS	RESULTADOS
Koutsounas, et al (2015)¹⁵	Revisión bibliográfica.	Revisar la literatura científica sobre los posibles polimorfismos de los receptores FXR implicados en factores de riesgo asociados a diversas enfermedades.	En esta revisión, se proporcionaron pruebas sobre el papel de FXR en procesos bioquímicos y celulares cruciales en diversas patologías, y su implicación en la patogenia de varias enfermedades, entre las que se encuentra la esteatosis hepática.
Kuhla (2011)¹¹	Estudio experimental	Examinar el aumento de los triglicéridos y colesterol en ratones y el aumento de la expresión de los receptores RXR y LXR y disminución de PPAR a causa del envejecimiento.	Demostraron que el envejecimiento se caracteriza por un aumento de la expresión de FAS dependiente de LXR α , que conduce a una activación de la síntesis de ácidos grasos y una disminución de la expresión de PPAR, provocando de este modo un aumento de la lipogénesis a causa del envejecimiento.
Yan liu, et al (2015)⁶	Estudio experimental	Examinar la asociación del ácido retinoico, los receptores del sistema retinoide con NAFLD y NASH en sujetos chinos.	las concentraciones séricas de la AR están inversamente correlacionadas con esteatosis hepática y daño hepático en pacientes con hígado graso no alcohólico y la EHNA de una población china, los datos obtenidos afirman que; altas concentraciones circulantes de AR y su señalización controlada, pueden proteger contra la esteatosis hepática y el daño hepático en poblaciones con NAFLD.

ARTÍCULO	DISEÑO	OBJETIVOS	RESULTADOS
Suavant, et al (2011)¹⁶	Revisión bibliográfica	Revisar la literatura científica sobre el retinol y el papel que ejerce sobre el metabolismo lipídico.	El metabolismo del retinol y el de los lípidos están estrechamente regulados y participan en la evolución de las enfermedades hepáticas.
Shiota, et al (2013)¹⁷	Revisión bibliográfica	Examinar la literatura científica sobre la acción y el metabolismo de los retinoides a nivel hepático, implicados en diversas patologías hepáticas.	Tanto para el diagnóstico como para el tratamiento de enfermedades hepáticas, los retinoides hepáticos y los genes diana del AR tienen un papel fundamental.
Eritja, et al (2016)¹²	Estudio experimental.	Evaluar el uso de alimentos con alto contenido de carotenoides para la reducción o prevención de la esteatosis en NAFLD	Las concentraciones séricas de AR mostraron una correlación inversa con la esteatosis y lesiones hepáticas en pacientes con NAFLD.
Li. Et al (2016)¹⁸	Revisión bibliográfica	Estudiar la literatura sobre el efecto y los posibles mecanismos de acción en NAFLD por cada una de las diferentes vitaminas	Múltiples vitaminas interactúan entre ellas inhibiéndose, y un exceso de micronutrientes favorece a la aparición de diversas enfermedades metabólicas, entre las que destacan: esteatosis hepática y diabetes.

ARTÍCULO	DISEÑO	OBJETIVOS	RESULTADOS
Melis, et al (2019)¹³	Estudio experimental	Comparar el agonista selectivo para RAR β 2, con un agonista selectivo para RAR α , en ratones con NAFLD inducido por dieta rica en grasas (HFD).	Se demuestra que la administración de un agonista RAR β 2 altamente selectivo, redujo la hiperglucemia y la esteatosis hepática en varios modelos de ratones con diabetes tipo 2 (T2D) y NAFLD. En cambio, el agonista RAR α , produjo un aumento de la NAFLD y de la inflamación a nivel hepático.
Pettinelli, et al (2018)⁴	Estudio transversal	Determinar la relación entre los niveles plasmáticos de retinol y la expresión hepática de genes relacionados con el metabolismo del retinol en pacientes con NAFLD, así como evaluar la expresión hepática de factores de transcripción regulados por el ácido retinoico.	la expresión de la enzima AKR1B10 hepática estaba altamente regulada al alza en pacientes con NASH en comparación con los pacientes control. Una sobreexpresión de AKR1B10 acompañada por una subexpresión de ALDH1A2 y ALDH1A3 puede favorecer la progresión de la enfermedad hepática. Además, los pacientes con NAFLD y NASH muestran expresión diferencial de genes relacionados con el metabolismo del retinol, un proceso que podría reforzar una biosíntesis alterada del ácido retinoico.

ARTÍCULO	DISEÑO	OBJETIVOS	RESULTADOS
Trasino, et al (2016) ¹⁹	Estudio experimental	Evaluar la acción protectora de los agonistas de receptores RAR β 2, en ratones con esteatosis hepática.	Se demostró que los agonistas de RAR β 2 reducen drásticamente la esteatosis, la peroxidación lipídica y el estrés oxidativo en el hígado, páncreas y riñones de ratones diabéticos obesos



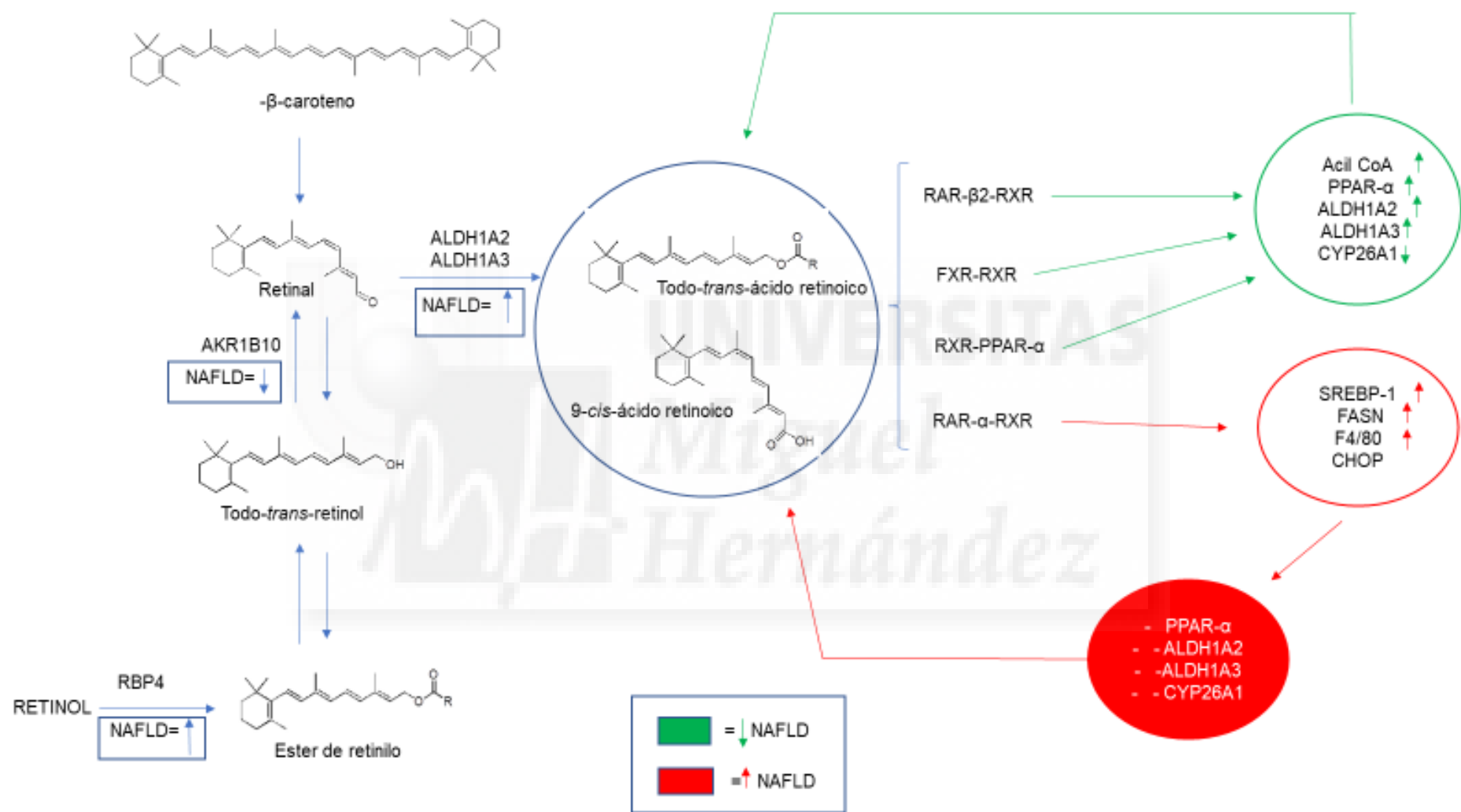


Figura 5: metabolismo de retinoides y regulación de los receptores retinoides.

En esta figura se aprecia el metabolismo del retinol desde la ingesta mediante la dieta, hasta la formación del ácido retinoico y la regulación de los receptores retinoides, ya sea hacia la síntesis de lípidos y progresión de la patología hepática (flechas rojas), o para reducción de la enfermedad hepática mediante la β -oxidación y lipólisis (flechas verdes).

El estudio de la esteatosis hepática asociado a la ingesta de retinoides es un tema relativamente reciente. Los retinoides tienen un papel fundamental en la enfermedad del hígado graso no alcohólico, tanto en la prevención como en la progresión de la enfermedad. (Fig 5)

El retinol es la molécula de la familia de los retinoides que se adquiere con la dieta, y es esencial tanto en el diagnóstico de la esteatosis hepática, como en las diferentes partes de la progresión de la enfermedad, ya que se asociaron inversamente con las concentraciones séricas de retinol (Saeed, et al-2018)³.

En primer lugar, el retinol tras pasar a la sangre se traslada mediante la proteína transportadora de retinol (RBP-4). En diferentes estudios se observó que la RBP-4 aparecía aumentada en suero, en pacientes con esteatosis. También hay que mencionar estudios como el de Marta Melis (2019)¹³, en los que se percibió una disminución de la RBP-1, en ratones con esteatosis hepática.

A continuación, el retinol se convierte en éster de retinilo para ser almacenado, y posteriormente en el hígado se convertirá en todo *trans* retinal, mediante dos procesos oxidativos en los que intervienen la aldo-ceto reductasa B10 (AKR1B10), enzima clave en el metabolismo del retinol. Esta enzima formó parte de la investigación del estudio de Pettinelli, et al (2018)⁴ para el que, en pacientes con esteatosis hepática, aparecía infra-expresada, impidiendo que se formara el todo *trans*-retinal.

Independiente a ello, el estudio de Nuria Eritja, Et al (2016)¹² examinó la progresión de la enfermedad en ratones PTEN, con una dieta basada en la ingesta de β -carotenos, moléculas vegetales que se convierten en ésteres de retinilo en el organismo, para después formarse el todo-*trans*-retinal. Este estudio afirmaba que una dieta alta en carotenos vegetales como el maíz, era capaz de reducir el grado de esteatosis.¹²

Una vez formado el todo-*trans*-retinal, intervendrán dos enzimas, encargadas de catalizar el todo *trans*-retinal a todo-*trans*-ácido retinoico. Estas enzimas son: retinaldehído deshidrogenasa 1-A2 (ALDH1A2) y retinaldehído deshidrogenasa 1-A3 (ALDH1A3). Estas enzimas fueron útiles en el estudio de la NAFLD asociado a la falta de AR hepático, ya que aparecían con mayor concentración en pacientes con NAFLD, que en personas sanas.

Como último paso de este proceso se formará el todo-*trans*-ácido retinoico, molécula activa de los retinoides, capaz de unirse específicamente a receptores RAR o a los receptores RXR. En diferentes estudios se investigó la relación entre esta molécula y la esteatosis hepática, como es el caso del estudio de Liu, et al (2015)⁶, quien observó que la concentración hepática de AR estaba más disminuida en pacientes con esteatosis hepática que en los pacientes control.

El todo-*trans*-ácido retinoico es un ligando natural y específico para los receptores RAR y RXR, éstos se encargan de la regulación de la transcripción de distintos tipos de genes.

En cuanto a los receptores RAR, el estudio de Trasino, et al (2015)¹⁹ demostró que agonistas β 2 de los receptores retinoides (RAR β 2) como el AC261066, producían una disminución de la esteatosis hepática, por unirse a los receptores encargados de la regulación del metabolismo de lípidos, reduciéndose la expresión de genes con función lipogénica, como es el caso de: SREBP1 y ácido graso sintasa FASN. El estudio llegaría a demostrar que, en ratones con una dieta alta en grasas, la esteatosis llegaría a reducirse un 51% en comparación con los ratones no tratados. Los indicadores que demostraron la reducción de la esteatosis en los ratones fueron:

- Una concentración de triglicéridos un 42% menor en aquellos ratones tratados con agonistas RAR β 2, que los ratones no tratados.

- Al realizar el corte histológico de hepatocitos, se observó con un número mayor de vacuolas, debido a un exceso de lípidos en ratones no tratados con el agonista.

El estudio de Melis M, et al (2019)¹³ examinó las acciones que desempeñaban los agonistas de los receptores del sistema retinoide, tanto los que se unían a los receptores RAR β 2 (AC261066), como los que se unían a RAR α (AM80). Pudo observar tres indicadores de diagnóstico en ratones:

- En primer lugar, las concentraciones de retinol y de palmitato de retinilo, se encontraban reducidos en los ratones que trataban con agonistas RAR β 2 en relación con los ratones controles y aquellos tratados con AM80.

- En segundo lugar, las concentraciones de triglicéridos a nivel hepático eran muy superiores en ratones control y tratados con agonistas RAR α , en comparación con aquellos ratones tratados con agonistas RAR β 2 y dieta con alto contenido en grasa.

- En tercer lugar, mediante la expresión de F4/80, se midió el grado de inflamación advirtiendo que aquellos ratones con una dieta con alto contenido en grasas, y tratados con AC261066, presentaban 2,7 veces más inflamación a nivel hepático que los ratones control, mientras que los ratones con una dieta alta en grasas y tratados con agonistas RAR α tenían una inflamación a nivel hepático 42 veces mayor que los ratones control.

Los investigadores concluyeron que el tratamiento con agonistas RAR β 2 reducía la esteatosis hepática, mientras que los agonistas RAR α eran capaces de inducir NAFLD en ratones con esteatosis hepática. Además, el estudio mencionado en el artículo de Jiawei Li, et al (2016)¹⁸ demostró que in vitro, el ácido retinoico fue capaz de bloquear la adipogénesis de adipocitos de cultivo durante las primeras etapas del proceso de diferenciación.

Jiawei Li, et al (2016)¹⁸ en su artículo, hace referencia a una hipótesis, en la que sugiere que NAFLD es el resultado de múltiples factores, como la dieta y la predisposición materna, en lugar de un conjunto definitivo de estimuladores. También se conoce que la modulación de los receptores que regulan el desarrollo de la NAFLD se debe a diferentes motivos. Tal y como indica el artículo de Ideta, et al (2017)⁹, entre algunos de los factores implicados en la progresión de la esteatosis hepática se encuentran: el aumento del estrés oxidativo, las citoquinas inflamatorias y las endotoxinas derivadas del intestino entre otros. Siendo el estrés oxidativo un factor clave en la enfermedad hepática, como indica Ashla, et-al (2010)⁷, ya que informó que las especies reactivas (ROS) que se forman en el organismo son las causantes de la progresión de la enfermedad. Es de gran importancia saber que la acumulación excesiva de ácidos grasos libres inhibe la cadena respiratoria y la β -oxidación, causando en última instancia un deterioro importante de la oxidación de los ácidos grasos mitocondriales y conduciendo a la producción de ROS.

Ashla, et al (2010)⁷ discutió en un estudio paralelo a su investigación, un ratón transgénico en el que la señalización de los retinoides está alterada específicamente en los hepatocitos por la expresión de RARE1 gen -E bajo el control del potenciador / promotor de albúmina mostró esteatosis hepática. En el hígado del ratón transgénico RAR- E, se suprimió la β -oxidación de los ácidos grasos, lo que causó estrés oxidativo. La pérdida de la señalización de los retinoides también contribuyó a la producción de ROS, así como al metabolismo anormal de los ácidos grasos. Este estudio fue útil en su investigación, ya que le permitió dilucidar el mecanismo putativo subyacente a la progresión de NAFLD mediante la evaluación de la expresión hepática de los genes relacionados con el metabolismo de los retinoides.

El artículo de Nuri Eritja, et al (2016)¹², observó otro de los motivos de progresión de la enfermedad en el hecho de que ratones que presentaban una insuficiencia de la proteína tensina daba lugar a la sobre expresión de un gen hepático lipogénico (SREBP-1C) y concentraciones séricas de ácido retinoico inferiores que los ratones que no presentaban esteatosis.

Dentro de los factores que pueden dar lugar a la progresión de la enfermedad hepática, el estudio de (Fuchs, et al-2017)⁸ demostraría que el aumento de la expresión de ARN-m de la proteína homóloga C/EBP (CHOP) en ratones silvestres alimentados con una dieta colina-metionina deficiente estaba asociado a un aumento de la señalización del heterodímero formado por los receptores farnesiano (FXR) y RXR, ocasionando una reducción de la expresión de PPAR α y Acil-coA (moléculas implicadas en el metabolismo lipídico), un aumento del metabolismo lipídico, junto a un aumento de la inflamación. Tras administrar agonistas del 9-*cis*-ácido retinoico, se producía la unión de los receptores FXR, con los receptores RXR- α , dando lugar a una disminución de la expresión de la proteína homóloga C/ebp- α (CHOP), se llegó de esta manera a dos conclusiones. La primera conclusión fue, que los receptores FXR son capaces de regular la expresión de la proteína CHOP a nivel transcripcional. Y la segunda conclusión, sería posible revertir la esteatosis hepática con agonistas del 9-*cis*-ácido retinoico⁸.

Un factor imprescindible causante de la progresión de la enfermedad hepática es el envejecimiento, Angela Kuhla, et al(2011)¹¹ utilizó ratones de diferentes edades (2, 6 y 12 meses) con el objetivo de estudiar por qué existía un aumento de la NAFLD en pacientes ancianos. Estudiaron por un lado las concentraciones de lípidos a nivel hepático, y observaron un aumento del colesterol y triglicéridos en los ratones enfermos. Por otro lado, vieron un aumento de la expresión del receptor X-alfa del hígado (LRX- α) y del receptor RXR- α , modulando la transcripción de distintos genes lipogénicos como son: FASN y SREBP-1C. mientras que el receptor α activador de la proliferación de peroxisomas (PPAR- α) heterodimerizaba en menor proporción con los receptores del ácido retinoico, disminuyendo así su acción lipolítica, por lo que vieron la existencia de un equilibrio mediado por el AR, de: RXR-RAR y RXR-PPAR- α . Además, concluyeron que las personas de avanzada edad, como en los ratones ancianos presentaban estrés oxidativo en mayor proporción que los de menor edad, causando desequilibrios sobre la expresión de los receptores y alterando el metabolismo lipídico¹¹.

En cuanto al mecanismo de eliminación de ácido retinoico, Ashla, et al (2010)⁷ observó el estado hipermetabólico de los retinoides en los tejidos hepáticos con NAFLD, y sobreexpresión de CYP26A1, principal encima encargada de la degradación de los ácidos retinoicos, en consecuencia, causará la escasez de retinol en los hígados con NAFLD. Además, la escasez de retinoides en el hígado conducirá a la pérdida de la señalización de los retinoides, lo que finalmente llevará a la progresión de NAFLD, lo que está estrechamente asociado con la producción de estrés oxidativo. En los ratones transgénicos en los que la señalización de los retinoides se ve afectada por la expresión de la forma negativa dominante RAR α , se eliminó la β -oxidación de los ácidos grasos, lo que causó estrés oxidativo. La pérdida de la señalización de los retinoides también contribuyó a la producción de ROS⁷.

El estudio de Pettinelli, et al (2019)⁴, llegaría a afirmar que la sobre expresión de éstos producía un aumento de la expresión de genes relacionados con la lipogénesis y activación del citocromo P-450 CYP26A1, encargada del metabolismo del ácido retinoico. La sobre expresión de estos genes también produjo una expresión reducida de otros genes implicados en el metabolismo de lípidos (PPAR α), y la inhibición de enzimas que sintetizan el ácido retinoico, como: (ALDH1A2 y ALDH1A3)⁴.

Finalmente, la literatura seleccionada para la revisión sistemática afirma que la modulación de los receptores del sistema retinoide y las concentraciones de ácido retinoico presente en el organismo, son dos factores esenciales tanto para tratar o como para prevenir diversas enfermedades hepáticas como el NAFLD.

5. CONCLUSIONES:

- La progresión de la enfermedad hepática está acompañada de una disminución de los niveles hepáticos de AR.
- La señalización de los receptores del AR cuando está disminuida provoca una disminución de la expresión de genes implicados en el metabolismo lipídico dando lugar a la NAFLD.

6. BIBLIOGRAFIA:

1. Blaner WS. Vitamin A signaling and homeostasis in obesity, diabetes, and metabolic disorders. *Pharmacol Ther.* 2019;197:153-78.
2. Goldfrank LR NL, Howland MA, Hoffman RS, Lewin NA and Flomenbaum NE. *Goldfrank's toxicologic emergencies.* ninth ed: The McGraw-Hill Companies; 2010.
3. Saeed A, Dullaart RPF, Schreuder T, Blokzijl H, Faber KN. Disturbed Vitamin A Metabolism in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Nutrients.* 2017;10(1).
4. Pettinelli P, Arendt BM, Teterina A, McGilvray I, Comelli EM, Fung SK, et al. Altered hepatic genes related to retinol metabolism and plasma retinol in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *PLoS One.* 2018;13(10):e0205747.
5. Cave MC, Clair HB, Hardesty JE, Falkner KC, Feng W, Clark BJ, et al. Nuclear receptors and nonalcoholic fatty liver disease. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1859(9):1083-99.
6. Liu Y, Chen H, Wang J, Zhou W, Sun R, Xia M. Association of serum retinoic acid with hepatic steatosis and liver injury in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Clin Nutr.* 2015;102(1):130-7.
7. Ashla AA, Hoshikawa Y, Tsuchiya H, Hashiguchi K, Enjoji M, Nakamuta M, et al. Genetic analysis of expression profile involved in retinoid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res.* 2010;40(6):594-604.
8. Fuchs CD, Claudel T, Scharnagl H, Stojakovic T, Trauner M. FXR controls CHOP expression in steatohepatitis. *FEBS Lett.* 2017;591(20):3360-8.
9. Ideta T, Shirakami Y, Ohnishi M, Maruta A, Obara K, Miyazaki T, et al. Non-alcoholic steatohepatitis-related liver tumorigenesis is suppressed in mice lacking hepatic retinoid storage. *Oncotarget.* 2017;8(41):70695-706.
10. Kim MH, Kang KS, Lee YS. The inhibitory effect of genistein on hepatic steatosis is linked to visceral adipocyte metabolism in mice with diet-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Br J Nutr.* 2010;104(9):1333-42.
11. Kuhla A, Blei T, Jaster R, Vollmar B. Aging is associated with a shift of fatty metabolism toward lipogenesis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2011;66(11):1192-200.

12. Eritja N, Arjo G, Santacana M, Gatus S, Ramirez-Nunez O, Arcal L, et al. Oral intake of genetically engineered high-carotenoid corn ameliorates hepatomegaly and hepatic steatosis in PTEN haploinsufficient mice. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1862(4):526-35.
13. Melis M, Tang X-H, Trasino SE, Patel VM, Stummer DJ, Jessurun J, et al. Effects of AM80 compared to AC261066 in a high fat diet mouse model of liver disease. *Plos One*. 2019;14(1).
14. Pawlak M, Lefebvre P, Staels B. Molecular mechanism of PPARAlpha action and its impact on lipid metabolism, inflammation and fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2015;62(3):720-33.
15. Koutsounas I, Theocharis S, Delladetsima I, Patsouris E, Giaginis C. Farnesoid x receptor in human metabolism and disease: the interplay between gene polymorphisms, clinical phenotypes and disease susceptibility. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2015;11(4):523-32.
16. Sauvant P, Cansell M, Atgie C. Vitamin A and lipid metabolism: relationship between hepatic stellate cells (HSCs) and adipocytes. *J Physiol Biochem*. 2011;67(3):487-96.
17. Shiota G, Kanki K. Retinoids and their target genes in liver functions and diseases. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013;28 Suppl 1:33-7.
18. Li J, Cordero P, Nguyen V, Oben JA. The Role of Vitamins in the Pathogenesis of Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Integr Med Insights*. 2016;11:19-25.
19. Trasino SE, Tang XH, Jessurun J, Gudas LJ. Retinoic acid receptor beta2 agonists restore glycaemic control in diabetes and reduce steatosis. *Diabetes Obes Metab*. 2016;18(2):142-51.