

# Mecanismos moleculares patogénicos en la esteatohepatitis no alcohólica

Dr. Héctor Eloy Álvarez-Martínez,\* \*\* Dr. Luis Felipe Montaña-Estrada,\*\*\*  
Dr. Pedro Hernández-Cruz,\*\*\*\* Dr. Eduardo Pérez-Campos\*\*\*\*

\* Facultad de Medicina y Cirugía. UABJO. Oaxaca, Oax. México. \*\* Hospital Regional "Presidente Juárez" ISSSTE. Oaxaca, Oax. México.  
\*\*\* Subdirección General Médica ISSSTE. México, DF. \*\*\*\* Centro de Investigación en Ciencias Médicas y Biológicas, Facultad de Medicina y Cirugía. UABJO, Oaxaca, Oax. México.

Correspondencia: Héctor Eloy Álvarez Martínez. Emilio Carranza No. 313. Col. Reforma. CP 68050. Oaxaca, Oaxaca, México.  
Tels. (951)5-13-87-74 y (951)5-20-09-91. Correo electrónico: heloy\_57@yahoo.com.mx

Recibido para publicación: 23 de febrero de 2004.

Aceptado para publicación: 27 de mayo de 2004.

**RESUMEN.** La esteatohepatitis no alcohólica es una enfermedad crónica del hígado que ocurre en individuos sin consumo significativo de alcohol, caracterizada por esteatosis macrovesicular, infiltrado inflamatorio mixto y grados diversos de fibrosis. Puede progresar a cirrosis hepática y se ha descrito su evolución a carcinoma hepatocelular. Ocurre principalmente en pacientes con obesidad, diabetes mellitus e hiperlipidemia y se le considera actualmente como una manifestación del síndrome metabólico, con resistencia a la insulina. En la patogénesis de la enfermedad se han identificado diversos factores, resaltando de manera fundamental la resistencia a la insulina como el mecanismo que determina el desarrollo de esteatosis hepática. Posteriormente ocurren alteraciones de las vías de señalización intracelular, stress oxidativo y otros mecanismos que conducen a la inflamación, necrosis y finalmente a la fibrosis hepática, cuyos detalles se describen en esta revisión.

**Palabras clave:** revisión, esteatosis, resistencia a insulina, stress oxidativo.

**SUMMARY.** Non-alcoholic steatohepatitis is a chronic disease that occurs in persons without significant consumption of alcohol, characterized by macrovesicular steatosis, mixed inflammatory infiltrate, and diverse degrees of fibrosis. It can progress to cirrhosis and its evolution to hepatocellular carcinoma has been described. It principally occurs in patients with obesity, diabetes mellitus, and hyperlipidemia, and is at present considered a manifestation of metabolic syndrome with insulin resistance. In pathogenesis, diverse factors, fundamentally insulin resistance as a mechanism that determines hepatic steatosis, have been described. Later, alteration of signalling cascades, oxidative stress, and other mechanisms occur that lead to inflammation, necrosis, and finally to hepatic fibrosis, the details of which will be described in this review.

**Key words:** Review, steatosis, insulin resistance, oxidative stress.

## INTRODUCCIÓN

La esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) es una enfermedad crónica del hígado que ocurre en pacientes que no consumen o que tienen una ingesta mínima de alcohol, caracterizada por esteatosis macrovesicular, necrosis hepatocelular, infiltrado inflamatorio mixto y grados diversos de fibrosis, así como cuerpos hialinos de Mallory en algunos pacientes.<sup>1,2</sup> Los primeros reportes de esta enfermedad datan de 1979,<sup>3</sup> si bien hasta 1980 Lud-

wig, et al. acuñaron el término de esteatohepatitis no alcohólica.<sup>4</sup>

La EHNA forma parte de un espectro de enfermedades conocidas como esteatosis hepática no alcohólica, en la cual la esteatosis representa una alteración que incluye sólo la infiltración grasa, y la esteatohepatitis es un estadio avanzado con cambios adicionales por inflamación y fibrosis.<sup>5</sup> La esteatosis es una alteración de curso benigno y no progresivo, en tanto que la EHNA puede progresar y evolucionar a cirrosis hepática<sup>6,7</sup> y es

muy probable que un gran porcentaje de las cirrosis criptogénicas sean debidas a EHNA que no fueron diagnosticadas oportunamente.<sup>8</sup>

La esteatosis y la EHNA son clínica e imagenológicamente indistinguibles y su diagnóstico requiere de la realización de una biopsia hepática, puesto que no existen otros métodos para distinguir una de la otra.<sup>9</sup>

La esteatosis hepática no alcohólica se ha clasificado en dos tipos: un tipo primario asociado a enfermedades que presentan resistencia a la insulina y el tipo secundario, asociado a una variedad de procesos,<sup>10</sup> por ejemplo: individuos que fueron sometidos a derivación yeyunoileal para el tratamiento de la obesidad, pacientes bajo nutrición parenteral total y como manifestación de toxicidad de fármacos como el tamoxifeno, estrógenos sintéticos, glucocorticoides, nifedipina o amiodarona.<sup>11,12</sup>

Los mecanismos patogénicos involucrados en la EHNA primaria aún son desconocidos y al parecer multifactoriales. Para esta revisión y siguiendo la secuencia hipotética de “dos hits”, propuesta por Day y James en 1998,<sup>13</sup> serán considerados en primer lugar aquellos mecanismos que promueven el desarrollo de la esteatosis hepática; posteriormente los factores que determinan el desarrollo de la necrosis e inflamación, que son característicos de la esteatohepatitis y, finalmente, los mecanismos que promueven el desarrollo de fibrosis.

### MECANISMOS PATOGENICOS EN LA ESTEATOSIS HEPÁTICA

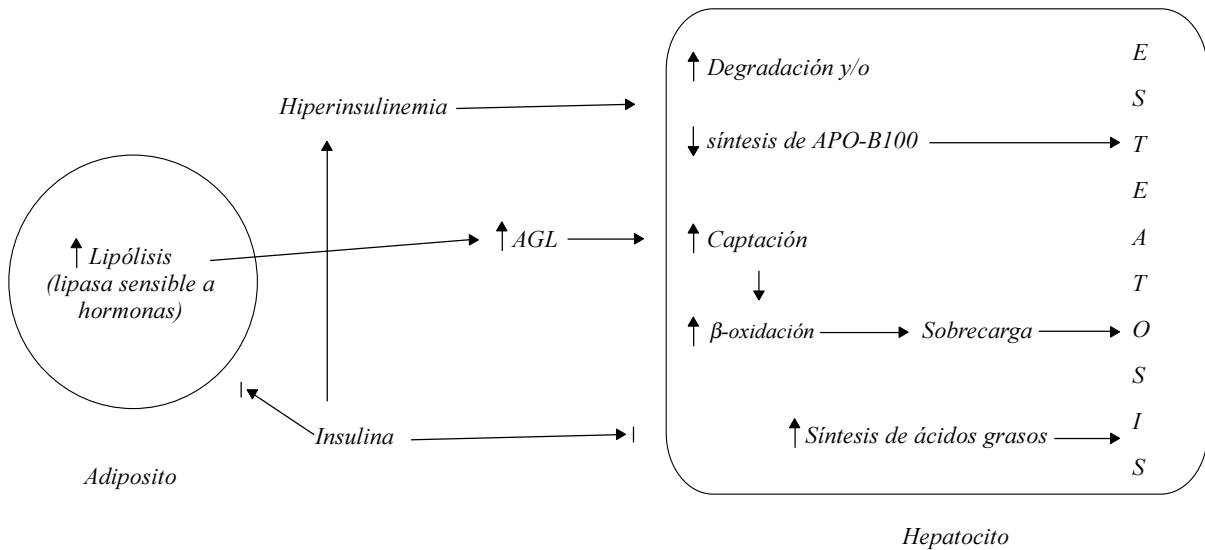
Normalmente los ácidos grasos son transportados al hígado, procedentes de la absorción intestinal o de la lipólisis en el tejido adiposo; otra fuente de ellos es la propia lipogénesis hepática. Dentro del hepatocito son esterificados a triglicéridos, parte de los cuales son exportados como lipoproteínas de muy baja densidad mediante exocitosis o sufren oxidación en las mitocondrias, peroxisomas o microsomas. En la esteatosis hepática existe una alteración de la homeostasis de las grasas en el hepatocito, que determina una retención neta de triglicéridos en el citoplasma de dichas células. Diversos autores<sup>14,15</sup> han documentado que en pacientes con esteatosis hepática no alcohólica con normoglucemia y con peso normal o moderadamente elevado, existen datos clínicos y de laboratorio similares a los encontrados en la diabetes asociada a obesidad y éstos propusieron considerar a la EHNA como una entidad adicional del síndrome metabólico, con resistencia hepática específica a la insulina. Resultados similares, determinando la sensibilidad a insulina mediante curva de insulina en respuesta a sobre-

carga de glucosa y péptido C posprandial y el índice HOMA, han sido publicados más recientemente por Chalasani et al.<sup>16</sup> Otra evidencia en apoyo a esta aseveración es el desarrollo de esteatosis/esteatohepatitis focal subcapsular en pacientes con diálisis peritoneal que recibieron insulina intraperitoneal.<sup>17</sup> El incremento en la captación de ácidos grasos libres por el hígado excede su capacidad para metabolizarlos por oxidación mitocondrial y a removerlos por secreción a la sangre bajo la forma de lipoproteínas de muy baja densidad, debido a un descenso en la producción hepática de apolipoproteína B-100,<sup>18,19</sup> así como a un aumento en su degradación.<sup>20</sup> Como consecuencia, se desarrolla la esteatosis hepática, considerada como un precursor de la esteatohepatitis (*Figura 1*).

### MECANISMOS MOLECULARES EN LA RESISTENCIA A LA INSULINA EN LA EHNA

El tejido adiposo es una fuente importante de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ),<sup>21</sup> el cual regula la sensibilidad a la insulina, suprime la expresión de proteínas que regulan la captación de ácidos grasos libres y la lipogénesis, conduciendo a niveles elevados de ácidos grasos libres.<sup>22</sup> El TNF- $\alpha$  regula proteínas que median el efecto de la insulina, tales como la aP2 (adipocyte fatty acid binding protein).<sup>23</sup> TNF- $\alpha$  altera la señalización insulínica en parte a través de la fosforilación de IRS-1 en residuos de serina y puede reducir la expresión del gen de GLUT-4,<sup>24,25</sup> promueve la resistencia a la insulina, regulando por disminución de receptor a PPAR $\gamma$ .<sup>26</sup> La obesidad central se asocia con niveles circulantes más elevados de TNF- $\alpha$  que la obesidad periférica,<sup>27</sup> este tipo de obesidad que es reflejada a través de un mayor índice cintura/cadera se considera como predictor de esteatosis hepática.<sup>28</sup> Al respecto, Crespo et al.<sup>28</sup> demostraron que existe sobreexpresión de TNF- $\alpha$  mRNA en tejido adiposo e hígado de pacientes con EHNA. Se ha demostrado también que un polimorfismo en el promotor de TNF- $\alpha$  asociado con resistencia a la insulina tiene más prevalencia en pacientes con EHNA que en controles.<sup>30</sup>

La leptina, un péptido secretado por el tejido adiposo que inhibe el apetito e incrementa el gasto energético,<sup>31</sup> tiene una participación clara en la resistencia a la insulina. Los estudios acerca de la relación de EHNA con leptina proceden de ratas deficientes de leptina (ob/ob), las cuales tienen una mutación que afecta la síntesis de esta hormona, muestran aspectos tales como resistencia a la insulina, obesidad y dislipidemia y desarrollan espontáneamente hígado graso.<sup>32</sup> Por otra parte, las ratas Zucker



**Figura 1.** Mecanismos involucrados en la producción de esteatosis en la EHNA.

obesas/diabéticas (fa/fa), las cuales tienen una mutación en el receptor de leptina (obRb) que inhibe la transducción de señales iniciada por la hormona,<sup>33</sup> tienen concentraciones séricas elevadas de leptina y se parecen a las ratas ob/ob, genéticamente deficientes de leptina, ambas son obesas, desarrollan hígado graso y son inusualmente vulnerables al lipopolisacárido bacteriano, pues una dosis típicamente inocua de lipopolisacárido induce esteatohepatitis.<sup>34</sup> En adición, Uygun, et al. mostraron que los niveles séricos de leptina se encuentran elevados en pacientes con EHNA, aunque no encontraron correlación entre los niveles de ésta con el índice de masa corporal<sup>35</sup> (Figura 2).

## MECANISMOS PATOGENICOS EN LA INFLAMACIÓN Y NECROSIS EN LA EHNA

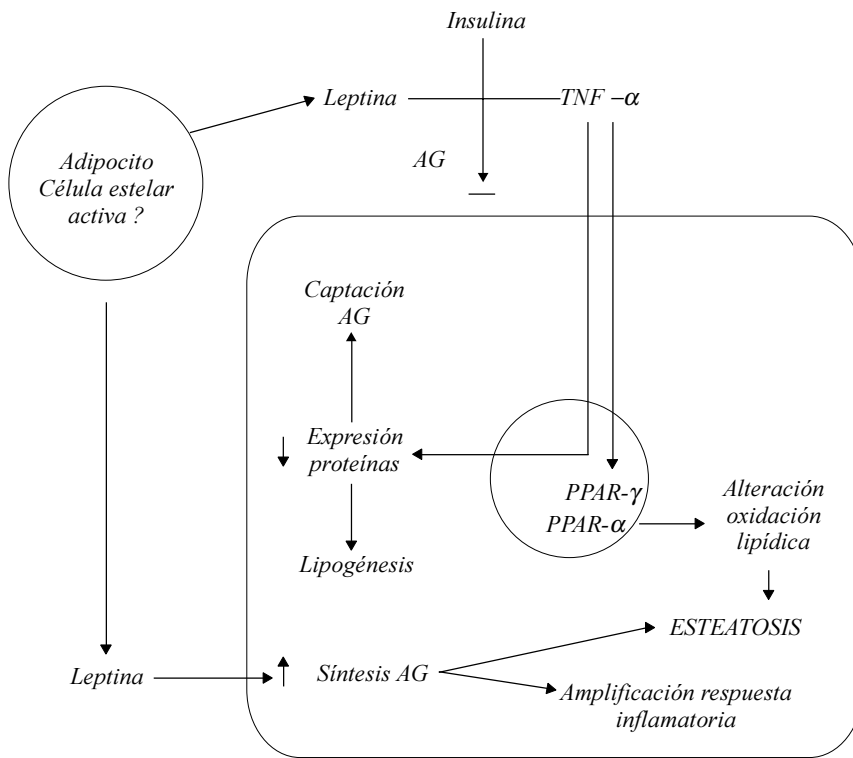
### Stress oxidativo

La resistencia a la insulina favorece una acumulación excesiva de ácidos grasos libres a nivel hepático, predispone al stress oxidativo intrahepático por estimulación de la lipoperoxidación, además de un efecto estimulante sobre la betaoxidación mitocondrial.<sup>36</sup> El stress oxidativo en la EHNA es el resultado de un incremento en la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos de cadena corta, media y larga en la mitocondria; de cadena muy larga por los peroxisomas y la  $\omega$ -oxidación de ácidos grasos de cadena larga y muy larga por los citocromos P450 CYP2E1 y CYP4A en el retículo endoplásmico liso.<sup>37</sup> Los citocromos son oxidasas microsomales, involucra-

das en la hidroxilación de ácidos grasos, inducibles por una variedad de procesos. CYP2E1 se induce por estados de ayuno, diabetes, obesidad, así como dietas ricas en grasas y bajas en carbohidratos, a través del incremento en los niveles séricos de cuerpos cetónicos y ácidos grasos vistos en estos procesos. Si bien la regulación hormonal de CYP2E1 es compleja, la insulina tiene un efecto represor, por lo que la resistencia a la insulina, que es el efecto subyacente en la EHNA, conduce a un incremento de CYP2E1 mediante la pérdida del efecto represor de la insulina. Actualmente se sabe que las funciones metabólicas de CYP2E1 y CYP4A en la oxidación lipídica pueden ser complementarias y conducir a interacciones en la regulación de las enzimas individuales. Así, aunque CYP2E1 parece tener un papel fisiológico en el metabolismo de lípidos, no es indispensable, puesto que los ratones null Cyp2e1 no muestran un fenotipo obvio y son más proclives a desarrollar esteatosis hepática, especialmente cuando se exponen a etanol o dietas ricas en grasas.<sup>38</sup>

La  $\omega$ -oxidación de ácidos grasos puede generar especies reactivas de oxígeno, las que pueden contribuir a la esteatohepatitis bajo ciertas condiciones.<sup>37</sup> Se ha demostrado que CYP2E1 es la fuente microsomal principal de peróxido de hidrógeno y de la peroxidación de lípidos dependiente de NADPH.<sup>39</sup> Es también importante mencionar que las especies reactivas de oxígeno se han señalado como mediadores potenciales de la activación de las células estelares.<sup>40</sup>

El aumento en la carga de ácidos grasos libres ocasiona un incremento en la  $\beta$ -oxidación mitocondrial hepá-

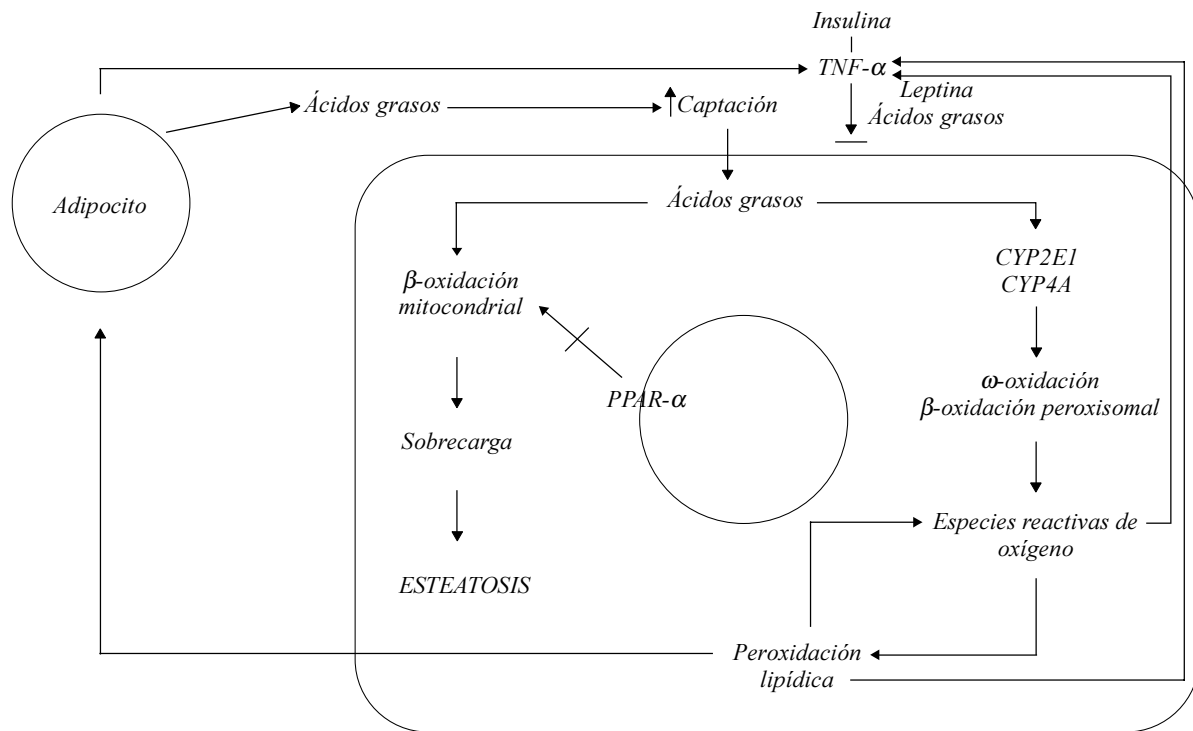


**Figura 2.** Mecanismos hipotéticos que producen resistencia a la insulina en la EHNA.

tica. Aunque la insulina y la malonil-CoA tienden a disminuir la actividad de CPT-I en personas delgadas, estos efectos podrían no ocurrir en personas obesas con resistencia a la insulina. En ratas BB Wistar diabéticas, la actividad de CPT-I se ha encontrado marcadamente elevada y su sensibilidad a la inhibición por la malonil-CoA se encuentra muy reducida.<sup>41</sup> Aunque la  $\beta$ -oxidación mitocondrial se encuentra aumentada en pacientes obesos con EHNA<sup>42</sup> no es suficiente para manejar el incremento en la carga de ácidos grasos al hígado y los remanentes se convierten en triglicéridos, lo que ocasiona esteatosis. También se incrementa la secreción de triglicéridos bajo la forma de VLDL.<sup>43</sup> Si bien la insulina tiende a disminuir la secreción hepática de VLDL en personas normales, este efecto no ocurre en la diabetes mellitus asociada a obesidad, probablemente debido a la resistencia a la acción de la insulina. A nivel mitocondrial los pacientes con EHNA muestran alteraciones ultraestructurales de estos organelos, consistentes en inclusiones cristalinas lineares y megamitocondrias.<sup>44</sup> Además, se ha encontrado disminución de la actividad de la cadena respiratoria<sup>45</sup> y experimentalmente se han demostrado alteraciones de la homeostasis del ATP mitocondrial posterior a la depleción con una carga de fructosa en pacientes con EHNA compensada<sup>46</sup> (Figura 3).

### Sobrecarga de hierro en EHNA

Diversos estudios han reportado elevación de la ferritina, así como un aumento de la saturación de la transferrina en pacientes con esteatosis hepática no alcohólica.<sup>47,48</sup> Puesto que la sobrecarga de hierro aumenta el stress oxidativo, parece probable que su presencia pueda intervenir en la patogénesis de la EHNA. Bonkovsky et al. reportaron que tanto la prevalencia de heterocigosidad como de homocigosidad o heterocigosidad combinadas para las mutaciones C282Y y H63D del gen HFE, se encuentran aumentadas en pacientes con EHNA comparadas con controles (61.1% vs. 38%  $p = 0.008$  y 69.4% vs. 40.5%  $p = 0.001$ , respectivamente) y pueden estar asociadas con progresión a fibrosis.<sup>49</sup> Sin embargo, estudios adicionales no han encontrado la misma evidencia<sup>50</sup> y otros no han documentado aumento de la concentración hepática de hierro y el índice hepático de hierro ha sido menor a 1.9.<sup>4,51</sup> La tioredoxina es una pequeña proteína, ampliamente distribuida en el organismo, que contiene un grupo disulfuro/ditiol, con una secuencia -Cys-Gly-Pro-Cys<sup>52</sup> en su sitio activo, con varias funciones en los compartimientos intra y extracelular, inducible por el stress y que elimina el peróxido de hidrógeno. Sumida et al. encontraron una concentración elevada (60.3 ng/mL [17.6-104.7]) en pacientes con



**Figura 3.** Mecanismos hipotéticos involucrados en el stress oxidativo en la EHNA.

EHNA vs. los controles con esteatosis simple (24.6 [16.6-69.7],  $p = 0.0009$ ) e individuos normales (23.5 [1.3-50.7],  $p < 0.0001$ ). Los niveles de esta proteína concordaron con los de la tinción para hierro intrahepático, así como con los de ferritina sérica y con la gravedad histológica de la EHNA, sugiriendo que el stress oxidativo secundario al hierro puede tener un lugar en la patogenia de la EHNA, además, que su determinación puede ser utilizada como predictor de esta enfermedad.<sup>53</sup>

### Citocinas y EHNA

El nexo entre el stress oxidativo inducido por CYP y el daño celular en el contexto de un exceso de ácidos grasos constituye una explicación plausible para el daño hepatocelular en la EHNA, sin embargo, cabe señalar que el stress oxidativo también estimula la síntesis de varias citocinas a través tanto de la activación de la transcripción por translocación nuclear de NF- $\kappa$ B,<sup>54</sup> como por los productos de la peroxidación lipídica malondialdehído y 4-hidroxinonal.

El TNF- $\alpha$  liberado por los hepatocitos en respuesta a especies reactivas de oxígeno altera la respiración mitocondrial, aumenta la permeabilidad y con ello repleta a este organelo de citocromo c; los dos efectos bloquean

la transferencia de electrones en la cadena respiratoria, lo que genera un círculo vicioso, incrementando la generación de especies reactivas de oxígeno y la peroxidación lipídica.<sup>43</sup>

Las células de Kupffer normalmente secretan citocinas que modulan la actividad de TNF- $\alpha$ , tales como interferón- $\gamma$ , IL-10 e IL-12, así como prostaglandina E2, superóxido y peróxido de hidrógeno.<sup>55</sup> En modelos animales se ha demostrado que la obesidad conduce a una alteración de las células de Kupffer<sup>56</sup> y posterior a la exposición a lipopolisacárido, el RNA mensajero del IFN- $\gamma$  se sobreexpresa, en tanto que el de IL-10 disminuye.

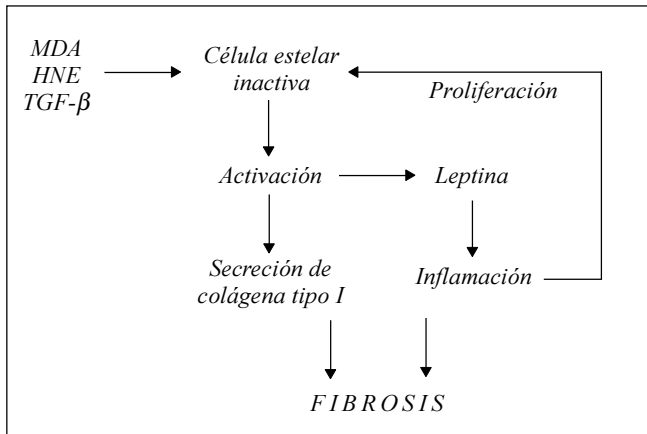
El factor de transcripción NF- $\kappa$ B puede jugar también un papel crítico en la defensa antiapoptótica de los hepatocitos,<sup>57</sup> pues se ha encontrado un incremento en la actividad apoptótica, así como de la expresión de Fas, en correlación con el grado de inflamación y necrosis, en pacientes con EHNA.<sup>58</sup>

## MECANISMOS PATOGENICOS DE LA FIBROSIS EN LA EHNA

### Células estelares y matriz extracelular

Las células estelares se encuentran situadas en el espacio de Disse, entre las células endoteliales y los hepa-

tocitos, con los cuales ellas se comunican. Representan 15% de las células del hígado normal y constituyen el sitio principal de almacenamiento de retinoides en el organismo.<sup>59</sup> En su estado quiescente, se caracterizan por la presencia de grandes procesos celulares y numerosas gotas de lípidos de localización perinuclear que contienen ésteres de vitamina A. Son células clave en el proceso de fibrosis, produciendo proteínas de la matriz extracel-

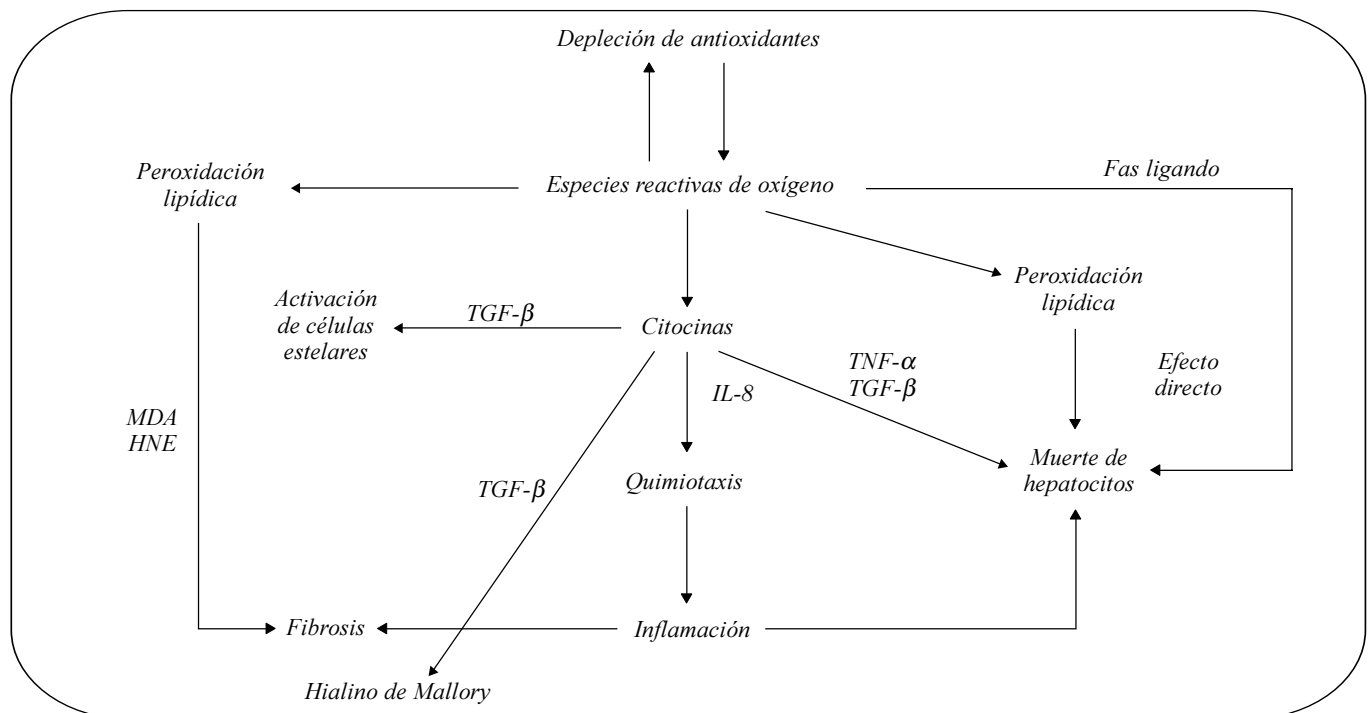


**Figura 4.** Mecanismos hipotéticos en el desarrollo de fibrosis en la EHNA.

lular y colágena cuando son activadas. Diversos factores pueden activar a las células estelares, como el stress oxidativo, el factor transformador del crecimiento beta (TGF- $\beta$ ) y el factor de crecimiento del tejido conjuntivo. En el proceso de activación, las células estelares en reposo, ricas en vitamina A, se convierten en células semejantes a miofibroblastos que expresan colágena tipo I y III. La proliferación de células estelares ocurre en las regiones de mayor daño tisular y está precedida de un influjo de células inflamatorias. Recientemente, por medio de inmunohistoquímica para actina, se ha demostrado la activación de las células estelares hepáticas en pacientes con esteatohepatitis no alcohólica.<sup>60</sup> Adicionalmente, se ha demostrado que el hidroxinonenal, malondialdehído y el TGF- $\beta$  estimulan la síntesis de colágena por las células estelares, lo que conduce a la fibrosis.<sup>61,62</sup>

En el hígado normal, la matriz extracelular densa se encuentra en la cápsula, alrededor de los vasos sanguíneos y en la triada portal. La matriz perisinusoidal está constituida de matriz de baja densidad semejante a la membrana basal. En la fibrosis hepática, el contenido de colágena se incrementa de tres a 10 veces y en él la matriz extracelular de baja densidad es gradualmente reemplazada por matriz de alta densidad, con acúmulo de

#### HEPATOCITO ESTEATÓSICO



**Figura 5.** Mecanismos patogénicos integrados en la esteatohepatitis no alcohólica.

colágena fibrilar electrón-densa. La matriz extracelular de alta densidad, a su vez, activa a las células estelares, lo que perpetúa el proceso de fibrogénesis. Sin embargo, en los procesos inflamatorios crónicos como la EHNA, se altera la composición de la matriz extracelular y el balance entre la síntesis y degradación de la matriz y condiciona como consecuencia el depósito de tejido fibroso.<sup>63</sup>

## CONCLUSIONES

Podemos señalar que la patogénesis a nivel molecular de la esteatohepatitis no alcohólica involucra múltiples actores, algunos hasta el momento no bien identificados y con una interacción que, por lo numeroso de sus participantes, es compleja. Hemos intentado reseñar algunos de los más conocidos, pero estamos seguros de que otros más serán identificados y seguramente nuevas interacciones entre ellos serán publicadas en un futuro próximo, lo que significa que esta área constituye un campo fértil para la investigación básica y clínica (*Figuras 4 y 5*).

## REFERENCIAS

1. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: definition and pathology. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 3-16.
2. Ramrakhiani S, Bruce RB. Hepatology in the new millennium. *Med Clin North Am* 2000; 84: 1085-105.
3. Adler M, Schaffner F. Fatty liver hepatitis and cirrhosis in obese patients. *Am J Med* 1979; 67: 811-16.
4. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980; 55: 434-8.
5. Nasrallah SM, Willis CE Jr, Galambos JT. Hepatic morphology in obesity. *Dig Dis Sci* 1981; 26: 325-7.
6. Powell EE, Cooksley WG, Hanson R, Searle J, Halliday JW, Powell LW. The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a follow-up study of forty-two patients for up to 21 years. *Hepatology* 1990; 11: 74-80.
7. Harrison SA, Torgerson S, Hayashi PH. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: A clinical histopathological study. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2042-7.
8. Poonawala A, Nair SP, Thuluvath PJ. Prevalence of obesity and diabetes in patients with cryptogenic cirrhosis: a case-control study. *Hepatology* 2000; 32: 689-92.
9. Oneta CM, Dufour JF. Non-alcoholic fatty liver disease: treatment options based on pathogenic considerations. *Swiss Med Wkly* 2002; 132: 493-505.
10. Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med* 1999; 107: 450-5.
11. Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis. *Med Clin North Am* 1996; 80: 1147-66.
12. Diehl AM. Nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 221-9.
13. Day C, James OF. Steatohepatitis: A tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-5.
14. Tankurt E, Biberoglu S, Ellidokuz E, Hekimsoy Z, Akpinar H, Comlekci A, et al. Hyperinsulinemia and insulin resistance in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 963-8.
15. Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Bugianesi E, Lenzi M, et al. Nonalcoholic fatty liver disease. A feature of the metabolic syndrome. *Diabetes* 2001; 50: 1844-50.
16. Chalasani N, Deeg MA, Persohn S, Crabb DW. Metabolic and anthropometric evaluation of insulin resistance in nondiabetic patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1849-55.
17. Wanless IR, Bargman JM, Oreopoulos DG, Vas SI. Subcapsular steatonecrosis in response to peritoneal insulin delivery: a clue to the pathogenesis of steatonecrosis in obesity. *Mod Pathol* 1989; 2: 69-74.
18. Chitturi S, Farrell GC. Etiopathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 27-41.
19. Charlton M, Sreekumar R, Rasmussen D, Lindor K, Nair KS. Apolipoprotein synthesis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2002; 35: 898-904.
20. Neuschwander-Tetri BA. A resistance movement in NASH. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2813-4.
21. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993; 107(259): 87-91.
22. Torti FM, Dieckmann B, Beutler B, Cerami A, Ringold GM. A macrophage factor inhibits adipocyte gene expression: an *in vitro* model of cachexia. *Science* 1985; 229: 867-9.
23. Hotamisligil GS, Johnson RS, Distel RJ, Ellis R, Papaioannou VE, Spiegelman BM. Uncoupling of obesity from insulin resistance through a targeted mutation in aP2, the adipocyte fatty acid binding protein. *Science* 1996; 274: 1377-9.
24. Peraldi P, Spiegelman B. TNF- $\alpha$  and insulin resistance: summary and future prospects. *Mol Cell Biochem* 1998; 182: 169-75.
25. Hotamisligil GS. The role of TNF- $\alpha$  and TNF receptors in obesity and insulin resistance. *J Intern Med* 1999; 245: 621-5.
26. Zhang B, Berger J, Hu E, Szalkowski D, White-Carrington S, Spiegelman BM, et al. Negative regulation of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  gene expression contributes to the antiadipogenic effects of tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Mol Endocrinol* 1996; 10: 1457-66.
27. Tsigos C, Kyrou I, Chala E, Tsapogas P, Stavridis JC, Raptis SA, et al. Circulating tumor necrosis factor  $\alpha$  concentrations are higher in abdominal versus peripheral obesity. *Metabolism* 1999; 48: 1332-5.
28. Kral JG, Schaffner F, Pierson RN Jr, Wang J. Body fat topography as an independent predictor of fatty liver. *Metabolism* 1993; 42: 548-51.
29. Crespo J, Cayon A, Fernández-Gil P, Hernández-Guerra M, Mayorga M, Domínguez-Diez A, et al. Gene expression of tumor necrosis factor  $\alpha$  and TNF-receptors, p55 and p75, in non-alcoholic steatohepatitis patients. *Hepatology* 2001; 34: 1158-63.
30. Valenti L, Fracanzani AL, Dongiovanni P, Santorelli G, Branchi A, Taioli E, et al. Tumor necrosis factor  $\alpha$  promoter polymorphisms and insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 274-80.
31. Campfield LA, Smith FJ, Burn P. The ob protein (leptin) pathway—a link between adipose tissue and central neural networks. *Horm Metab Rev* 1996; 28: 619-32.
32. Pellemounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995; 269: 540-3.
33. Phillips MS, Liu Q, Hammond HA, Dugan V, Hey PJ, Caskey CJ, et al. Leptin receptor missense mutation in the fatty Zucker rat. *Nat Genet* 1996; 13: 18-19.
34. Yang SQ, Lin HZ, Lane MD, Clemens M, Diehl AM. Obesity increases sensitivity to endotoxin liver injury: implications for the pathogenesis of steatohepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 2557-62.
35. Uygun A, Kadayifci A, Yesilova Z, Erdil A, Yaman H, Saka M, et al. Serum leptin levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3584-9.
36. Marceau P, Biron S, Hould FS, Marceau S, Simard S, Thung SN, et al. Liver pathology and the metabolic syndrome X in severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 1513-17.

37. Rao MS, Reddy JK. Peroxisomal  $\beta$ -oxidation and steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 43-55.
38. Wan YY, Cai Y, Li J, Yuan Q, French B, González FJ, et al. Regulation of peroxisome proliferators activated receptor  $\alpha$ -mediated pathways in alcohol fed cytochrome P450 2E1 deficient mice. *Hepatology* 2001; 19: 117-30.
39. Ekström G, Ingelman-Sundberg M. Rat-liver microsomal NADPH-supported oxidase activity and lipid peroxidation dependent on ethanol-inducible cytochrome p-450 (P-450 IIE1). *Biochem Pharmacol* 1989; 38: 1313-19.
40. Casini A, Ceni E, Salzano R, Biondi P, Parola M, Galli A, et al. Neutrophil-derived superoxide anion induces lipid peroxidation and stimulates collagen synthesis in human hepatic stellate cells: role of nitric oxide. *Hepatology* 1997; 25: 361-7.
41. Cook GA, Gamble MS. Regulation of carnitine palmitoyl-transferase by insulin results in decreased activity and decreased apparent  $K_i$  values for malonyl-CoA. *J Biol Chem* 1987; 262: 2050-5.
42. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001; 120: 1183-92.
43. Pessayre D, Berson A, Fromenty B, Mansouri A. Mitochondria in steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 57-69.
44. Sobaniec-Lotowska ME, Lebensztejn DM. Ultrastructure of hepatocyte mitochondria in nonalcoholic steatohepatitis in pediatric patients: usefulness of electron microscopy in the diagnosis of the disease. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1664-5.
45. Pérez-Carrera M, Del Hoyo P, Martín M, Rubio J, Martín A, Garfía C, et al. Activity of the mitochondrial respiratory chain enzymes is decreased in the liver of patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999; 30: 379A.
46. Cortez-Pinto H, Chatham J, Chaco VP, Arnold C, Rashid A, Diehl AM. Alterations in liver ATP homeostasis in human nonalcoholic steatohepatitis. A pilot study. *JAMA* 1999; 282: 1659-64.
47. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology* 1994; 107: 1103-9.
48. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999; 30: 1356-62.
49. Bonkovsky HL, Jawaid Q, Tortorelli K, LeClair P, Cobb J, Lambrecht RW, et al. Non-alcoholic steatohepatitis and iron: increased prevalence of mutations of the HFE gene in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 421-9.
50. Deguti MM, Sipahi AM, Gayotto LC, Palacios SA, Bittencourt PL, Goldberg AC, et al. Lack of evidence for the pathogenic role of iron and HFE gene mutations in Brazilian patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Braz J Med Biol Res* 2003; 36: 739-45.
51. Matteoni C, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116: 1413-9.
52. Holmgren A. Thioredoxin. *Annu Rev Biochem* 1985; 54: 237-71.
53. Sumida Y, Nakashima T, Yoh T, Furutani M, Hirohama A, Kakisaka Y, et al. Serum thioredoxin levels as a predictor of steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2003; 38: 32-8.
54. Albrecht H, Schook LB, Jongeneel CV. Nuclear migration of NF- $\kappa$ B correlates with TNF- $\alpha$  mRNA accumulation. *J Inflamm* 1995; 45: 64-71.
55. Decker K. Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells). *Eur J Biochem* 1990; 192: 245-61.
56. Yang SQ, Lin HZ, Lane MD, Clemens M, Diehl AM. Obesity increases sensitivity to endotoxin liver injury: implications for pathogenesis of steatohepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 2557-62.
57. Iimuro Y, Nishiura T, Hellerbrand C, Behrs KE, Schoonhoven R, Grisham J, et al. NF  $\kappa$ B prevents apoptosis and liver dysfunction during liver regeneration. *J Clin Invest* 1998; 101: 802-11.
58. Feldstein AE, Canbay A, Angulo P, Taniai M, Burgart LJ, Lindor KD, et al. Hepatocyte apoptosis and fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2003; 125: 437-43.
59. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000; 275: 2247-50.
60. Washington K, Wright K, Shyr Y, Hunter EB, Olson S, Raiford DS. Hepatic stellate cell activation in nonalcoholic steatohepatitis and fatty liver. *Hum Pathol* 2000; 31: 822-8.
61. Bedossa P, Houghlum K, Trautwein C, Holstege A, Chojkier M. Stimulation of collagen  $\alpha$ (I) gene expression is associated with lipid peroxidation in hepatocellular injury: a link to tissue fibrosis? *Hepatology* 1994; 19: 1262-71.
62. Casini A, Pinzani M, Milani S, Grappone C, Galli G, Jezequel AM. Regulation of extracellular matrix synthesis by transforming growth factor  $\beta$ 1 in human fat storing cells. *Gastroenterology* 1993; 105: 245-53.
63. Bosch J, García-Pagan JC. Complications of cirrhosis. I. Portal hypertension. *J Hepatol* 2000; 32(1 Suppl.): 141-56.