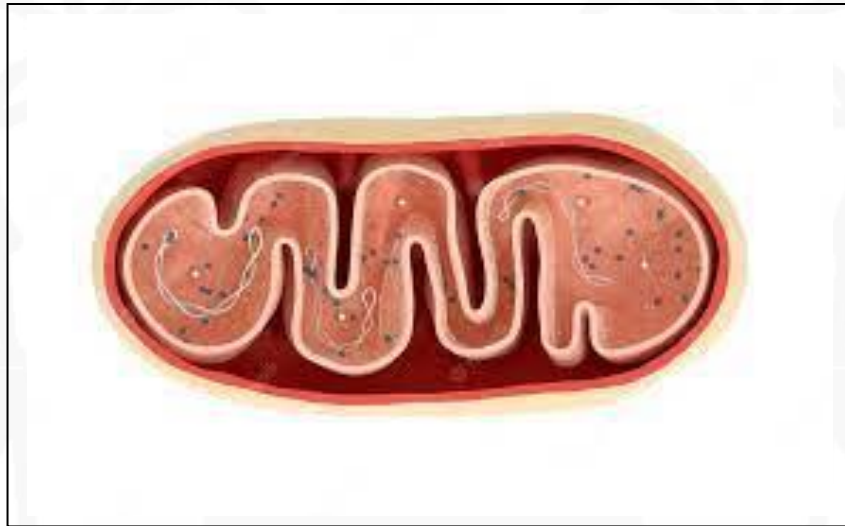


TRABAJO FIN DE GRADO

BIOLOGÍA

**RELEVANCIA DE LA FUNCIÓN MITOCONDRIAL EN LA PROGRESIÓN
DE LA ENFERMEDAD DEL HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO**



Autor: Jorge López Menéndez

Morfología y Biología Celular/Universidad de Oviedo

Julio/2023



**UNIVERSIDAD DE OVIEDO
FACULTAD DE BIOLOGÍA**



Resumen

El consumo excesivo de alimentos procesados, que son ricos en azúcares refinados y ácidos grasos saturados, está directamente implicado en la aparición de la enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA). La EHGNA es la enfermedad hepática más frecuente en la sociedad actual que comienza como una acumulación excesiva de grasa (esteatosis) y luego puede progresar a esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) y, en etapas más severas, a fibrosis, cirrosis y carcinoma hepatocelular. La prevalencia de esta enfermedad ha experimentado un incremento notable en los últimos años y, debido a esto, han surgido diferentes estudios de experimentación que intentan esclarecer cual es el inductor principal que desencadena el inicio de la enfermedad y es determinante en su progresión hacia etapas irreversibles.

La composición de la dieta puede influir tanto en el estrés oxidativo como en la respuesta de la defensa antioxidante, que modulan la transición de EHGNA a EHNA. Los primeros estudios realizados demostraron que el consumo de fructosa, sacarosa y ciertos ácidos grasos pueden causar daño oxidativo en el hígado y conducir al desarrollo de EHGNA. Inicialmente se postuló que la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) a nivel mitocondrial podría ser el principal desencadenante de esta enfermedad. Sin embargo, hallazgos recientes han revelado que la gravedad de esta patología se asocia con una alteración en la función mitocondrial, pero no con un aumento del estrés oxidativo mitocondrial. Esta revisión bibliográfica tiene como objetivo mostrar que el incremento de las ROS peroxisomales, y no mitocondriales, es considerado como uno de los primeros inductores que causan el inicio de la EHGNA, así como detallar los eventos secuenciales de las alteraciones mitocondriales involucradas en la progresión de la enfermedad en etapas más severas.

Abstract

The excessive consumption of processed foods, which are rich in refined sugars and saturated fatty acids, is directly implicated in the development of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). NAFLD is the most frequent liver disease in the current society that begins as an excessive accumulation of fat (steatosis) and can then progress to nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and, in more severe stages, to fibrosis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. The prevalence of this disease has experienced a notable increase in recent years and, due to this, different experimental studies have emerged to clarify which is the main inducer that triggers the onset of the disease and is decisive in its progression towards irreversible stages.

The composition of the diet can influence oxidative stress and the antioxidant defense response, which modulate the transition from NAFLD to NASH. The first studies carried out showed that the consumption of fructose, sucrose and certain fatty acids can cause oxidative damage in the liver and lead to the development of NAFLD. Initially it was postulated that the production of reactive oxygen species (ROS) at the mitochondrial level could be the main trigger of this disease. However, recent findings have revealed that the severity of this pathology is associated with an alteration in mitochondrial function, but not with an increase in mitochondrial oxidative stress. This bibliographical review aims to show that the increase in peroxisomal ROS, and not mitochondrial ones, is considered one of the first inducers that cause the onset of NAFLD, as well as detailing the sequential events of mitochondrial alterations involved in the progression of the disease in more severe stages.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	2
1.1	ENFERMEDAD DEL HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO (EHGNA)	2
1.2	ALTERACIONES CELULARES EN LA PROGRESIÓN DE EHGNA	3
1.3	ESTRÉS OXIDATIVO, PRODUCCIÓN DE ROS Y DEFENSA ANTIOXIDANTE	5
1.4	FUNCIÓN MITOCONDRIAL	7
2	OBJETIVOS	8
3	MATERIAL Y MÉTODOS	8
4	RESULTADOS	10
5	DISCUSIÓN	14
5.1	¿LA MITOCONDRIA ES EL PRINCIPAL RESPONSABLE DEL ESTRÉS OXIDATIVO ASOCIADO A LA PROGRESIÓN DE LA EHGNA?	14
5.2	¿QUÉ FUNCIONES MITOCONDRIALES SE ENCUENTRAN AFECTADAS DURANTE LA PROGRESIÓN DE LA EHGNA?	17
6	CONCLUSIONES	20
7	BIBLIOGRAFÍA	21

Abreviaturas

ADN - Ácido desoxirribonucleico

AG - Ácidos grasos

CAT - Catalasa

CTE - Cadena de transporte de electrones

DM(2) - Diabetes mellitus(2)

EHGNA - Enfermedad del hígado graso no alcohólico

EHNA - Esteatosis no alcohólica

FADH₂ - Flavín adenín dinucleótido

FAO - Ácidos grasos oxidados

GPx(4) - Glutación peroxidasa (4)

GR - Glutación reductasa

GSH - Glutación reducido

GSSG - Glutación oxidado

H₂O₂ - Peróxido de hidrógeno

HF- Dieta rica en azúcar

HFHS - Dieta rica en sacarosa y azúcar

HS - Dieta rica en sacarosa

MCP-1 - Proteína quimioatrayente de monocitos

MPTP - Apertura del poro de transición de permeabilidad mitocondrial

MUFA - Ácidos grasos monoinsaturados

NAD(P)H - Nicotiamida-Adenina dinucleotido (fosfato)

NO - Óxido nítrico

-OH - Radical hidroxilo

O₂⁻ - Anión superóxido

O₂ - Oxígeno

RE - Retículo endoplasmático

ROS - Especies reactivas de oxígeno

SFA - Ácidos grasos saturados

SOD - Superóxido dismutasa

1 Introducción

1.1 Enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA)

Durante el siglo XX se comenzó a registrar un número elevado de pacientes diagnosticados con la enfermedad del hígado graso, patología que por aquel entonces se consideraba resultado de un consumo excesivo de alcohol, pero se daba la peculiaridad de que dichos pacientes negaban abusar de la bebida. Esta situación era desconcertante para la comunidad científica y para abordar el problema, un grupo de médicos y patólogos encabezados por el alemán Karl Albert Ludwig Aschoff iniciaron una investigación con 20 de estos pacientes. El estudio, realizado en biopsias hepáticas de los individuos seleccionados, mostró una alteración histológica caracterizada por un grado elevado de esteatosis, que se atribuyó inicialmente a la obesidad y a alteraciones metabólicas como la diabetes mellitus (DM) (Lonardo et al., 2020). Esta investigación finalizó en 1980 tras una evaluación bioquímica de las muestras, acuñando el término de esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) a la patología que manifestaban los pacientes. Esta afección se encuentra incluida como una de las etapas de la enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA), la cual fue nombrada por primera vez años más tarde en diversos artículos científicos.

La EHGNA es la patología hepática más común hoy en día, caracterizada por una acumulación de lípidos que da lugar a una disfunción celular. Se ha descrito que algunos individuos presentan una cierta predisposición genética al desarrollo de EHGNA. Sin embargo, cabe mencionar que el desarrollo de esta enfermedad se ha asociado principalmente a un estilo de vida no saludable, basado en el consumo excesivo de dietas hipercalóricas, especialmente en forma de carbohidratos y ácidos grasos (AG) saturados. Por ello, esta patología está fuertemente asociada con la obesidad o con la DM tipo 2 (DM2). La EHGNA se trata de una enfermedad que se distribuye de forma heterogénea, siendo más común en países de Oriente Medio y América del Sur y presentando una prevalencia inferior en África. Esta desigualdad entre etnias y razas se debe fundamentalmente al factor genético que presenta la patología, aunque también está ocasionada por la disparidad calórica de las dietas. Este último factor es determinante a la hora de distinguir, dentro de una población con la misma predisposición genética, la probabilidad de sufrir la enfermedad, ya que alrededor del 90% de personas que padecen sobrepeso u obesidad también presentan EHGNA (Højland et al., 2018), incluso personas con resistencia a la insulina presentan esta patología en un gran porcentaje de casos.

La EHGNA se inicia con la denominada esteatosis hepática, una primera fase de la enfermedad que se caracteriza por la acumulación de lípidos debido a la infiltración de grasas libres o asociadas a macrófagos, como consecuencia de un consumo exciso de dietas con alto contenido graso (Højland et al., 2018). Cuando la esteatosis hepática se agrava, se inician las respuestas

inflamatorias del tejido dando lugar al segundo estadio de la patología, la EHNA, una condición en la que el estado proinflamatorio crónico puede conducir a la activación de las células de Kupffer y las células estrelladas que estimulan la deposición de colágeno y la fibrosis hepática (Bataller y Brenner, 2005). En última instancia, se puede desarrollar cirrosis hepática, la cual, a su vez, puede culminar en un carcinoma hepatocelular (Figura 1).

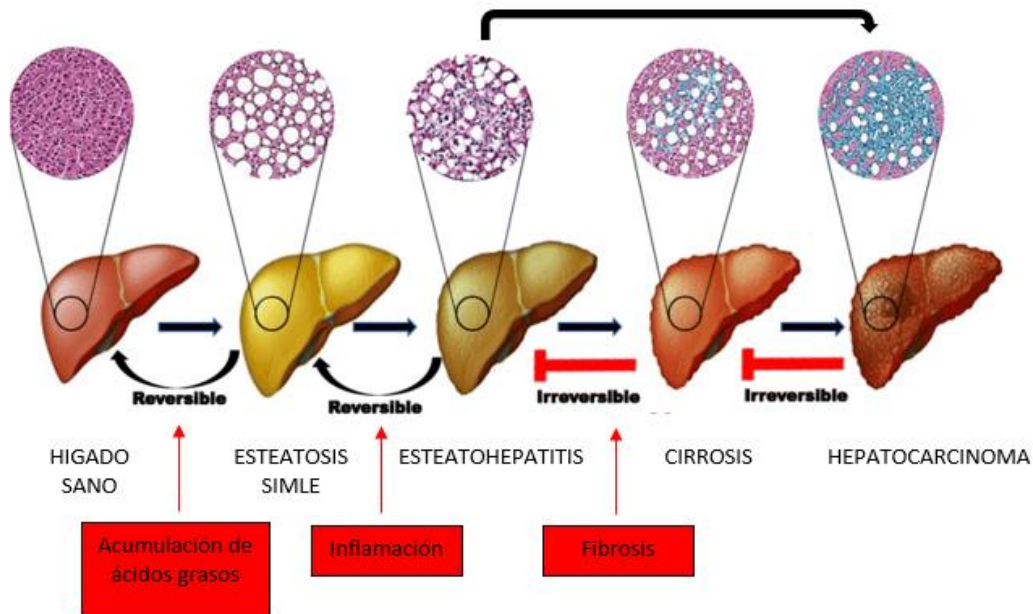


Figura 1: Representación gráfica de las fases que sigue la progresión de EHGNA, incluyendo los fenómenos más característicos que conlleva cada una de ellas y la posibilidad, aunque poco frecuente, de que una esteatohepatitis grave derive en un cáncer hepático. Adaptación de Wang et al., 2020.

1.2 Alteraciones celulares en la progresión de EHGNA

En las diferentes fases que abarca la progresión de la EHGNA se produce una serie de alteraciones celulares características. Comúnmente, la progresión de esta enfermedad se explica con una teoría basada en dos desencadenantes principales, pero para su comprensión es necesario considerar diversos factores que interactúan (Buzzetti et al., 2016). El primer desencadenante es el desarrollo de la esteatosis hepática simple, en el que las células hepáticas promueven la acumulación de lípidos en vacuolas, aumentando su tamaño y dirigiendo la enfermedad a la esteatohepatitis. El segundo desencadenante hace referencia a la lesión oxidativa que acompaña a la progresión de esta enfermedad. Esta lesión oxidativa implica un proceso multifactorial en el que se incluye la activación de los mecanismos relacionados con la resistencia a la insulina, un aumento del estrés oxidativo, la peroxidación lipídica, el estrés del retículo endoplasmático (RE) y la inflamación.

La acumulación lipídica que involucra la esteatosis hepática genera una mayor síntesis de AG y afecta al proceso de eliminación de los mismos, la β -oxidación. Este alto contenido de AG tiene un efecto hormonal sobre los adipocitos. Se produce una disminución en la secreción de adipocinas, promoviendo una menor oxidación de los AG en el hígado, órgano que recibe un alto flujo de AG como consecuencia del consumo de dietas ricas en grasa. Asimismo, se produce un aumento de los niveles de citocinas proinflamatorias como la TNF- α , IL-1, IL-6 o la proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1) (Simoes et al., 2019). Como resultado de este proceso, la esteatosis avanza hacia la EHNA asociada a la inflamación de los lobulillos hepáticos afectados, cuya progresión favorece la resistencia a la insulina (Powell et al., 2021). La liberación de las citocinas proinflamatorias efectuada por las células de Kupffer y los macrófagos periféricos origina la activación de una respuesta inmune celular, que implica una manifestación primaria de neutrófilos y, posteriormente, la infiltración de linfocitos T CD4 y CD8 desde el torrente sanguíneo (Brown y Kleiner, 2016). En cuanto a las alteraciones estructurales presentes en EHNA destaca la formación de los cuerpos de Mallory-Denk como inclusiones citoplasmáticas compuestas fundamentalmente por queratina y que suelen acompañarse de un balonamiento celular y la acumulación de hierro que denota la gravedad de la patología (Brown y Kleiner, 2016).

A lo largo de la progresión de la EHGNA también se inicia un proceso de reemplazo de las células más dañadas por colágeno de la matriz extracelular, proceso que se conoce como fibrosis. Esta producción de elementos cicatriciales se lleva a cabo por acción de las células estrelladas hepáticas, estimuladas por las células inflamatorias de EHNA liberadas en el espacio de Dissé (Bataller y Brenner, 2005). Además, la producción de colágeno también se efectúa por los miofibroblastos de las zonas portal. Cuando la fibrosis ocupa un espacio considerable del hígado, la enfermedad derivará en la cirrosis, donde la inflamación comienza a disminuir. No obstante, el hígado en esta situación puede sufrir complicaciones que dan lugar al desarrollo de hepatocarcinomas. Este se trata del estadio crónico con el pronóstico más grave de la enfermedad, que puede derivar de una cirrosis o directamente de una esteatohepatitis. Tiene una similitud estructural y morfológica con el hígado esteatósico, en cuanto a la presencia de hepatocitos balonizados o los cuerpos de Mallory-Denk (Valle et al., 2023).

Las primeras etapas de la enfermedad, en las que el hígado presenta una simple esteatosis, se consideran reversibles tras la modificación del estilo de vida y la dieta de los pacientes que la presentan. Sin embargo, las perspectivas de revertir la EHGNA disminuyen considerablemente una vez que se alcanza un estado de inflamación crónico tanto con y sin fibrosis. La progresión de la ENGHA desde una etapa reversible a una irreversible se ha asociado fuertemente con el incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). El incremento de las ROS contribuye de manera notable en la progresión inflamatoria y fibrótica de la EHGNA. Por una

parte, es importante destacar la acción de las ROS en la activación de las células de Kupffer y las células estrelladas, favoreciendo el incremento de la inflamación y perpetuando en un círculo vicioso de oxidación-inflamación (Buzzetti et al., 2016). Asimismo, las ROS también desencadenan efectos negativos sobre diversas funciones metabólicas como con la lipogénesis y, por consiguiente, promueven una lesión hepática lipotóxica (Chen et al., 2020). Como consecuencia de este aumento de las ROS también se producen daños a nivel del ADN y proteínas celulares imprescindibles para la supervivencia de la célula (Chen et al., 2020). Por ello, durante los últimos años se ha considerado el incremento de las ROS como el principal desencadenante en la progresión de la EHGNA desde su etapa inicial hasta el cáncer hepático.

1.3 Estrés oxidativo, producción de ROS y defensa antioxidante

Las ROS son moléculas derivadas del oxígeno (O_2) que se generan mediante una reducción incompleta del mismo (Constanza y Muñoz, 2012). En concentraciones moderadas, las ROS actúan como moléculas de señalización para regular diversos procesos fisiológicos como la proliferación o la diferenciación celular, entre otros. Sin embargo, las ROS también presentan propiedades químicas inherentes que les confieren reactividad a diferentes moléculas biológicas. Entre las principales ROS se encuentran el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($-OH$). Debido a la reactividad del O_2^- , éste se tiende a eliminar reduciéndolo a H_2O_2 por un proceso equitativo de reducción y oxidación. El H_2O_2 no es una radical libre y no presenta una alta reactividad, pero en presencia de hierro es capaz de reducirse aún más y dar lugar al radical hidroxilo ($-OH$), este sí, con alta reactividad (Figura 2) (García-Ruiz y Fernández-Checa, 2018). El $-OH$ se trata del radical más perjudicial para las células por su capacidad de dañar elementos relevantes como las proteínas o el ADN (Constanza y Muñoz, 2012).

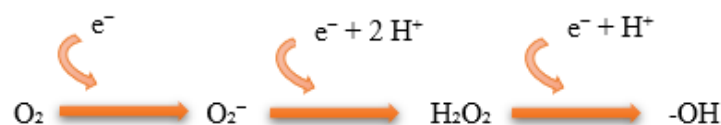


Figura 2: Formación de los distintos tipos de ROS y las adiciones necesarias para poder generar cada uno de estos elementos derivados de la reducción parcial del O_2 .

En una situación normal, cuando existe un incremento en la producción de ROS, éste se ve contrarrestado por un aumento equitativo de la defensa antioxidante para mantener el equilibrio redox. Las células presentan tanto sistemas antioxidantes enzimáticos como no enzimáticos que participan en la neutralización de las ROS. En la producción endógena de esta defensa antioxidante, participa la enzima responsable de la dismutación del O_2^- , la superóxido dismutasa

(SOD), cuya función se centra en convertir el O_2^- en un tipo de ROS menos reactivo, el H_2O_2 , para poder eliminarlo de forma más sencilla (García-Ruiz y Fernández-Checa, 2018). Esta dismutasa va a realizar un trabajo conjunto con otras dos enzimas. Por un lado, la catalasa (CAT) puede actuar sobre el H_2O_2 convirtiéndolo en oxígeno y agua (Pérez, 2021). Por otro lado, la glutatión peroxidasa (GPx) oxida el glutatión reducido (GSH) para que este transforme el H_2O_2 en agua, siendo especialmente más activa la GPx4 (García-Ruiz y Fernández-Checa, 2018). El glutatión oxidado (GSSG) puede recuperar su estado reducido por acción del glutatión reductasa (GR) mediante la formación de NADPH (Figura 3) (García-Ruiz y Fernández-Checa, 2018).

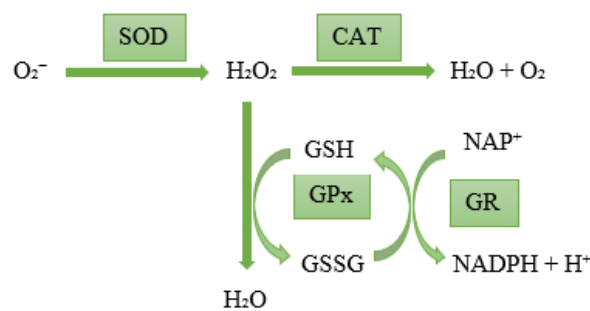


Figura 3: Proceso de acción enzimática de la defensa antioxidante sobre diferentes tipos de ROS para evitar su acumulación y sus efectos sobre proteínas y ADN. Adaptación de Pérez, 2021.

Es importante destacar la incorporación de antioxidantes no enzimáticos obtenidos a partir de la dieta, los cuales también participan en el control de los niveles de las ROS celulares evitando una situación de estrés oxidativo. Entre los antioxidantes no enzimáticos destacan diversas vitaminas, fundamentalmente la C y la E, los carotenoides o los polifenoles, entre otros (Pérez, 2021).

Cuando hay una producción excesiva de ROS o cuando se reduce la actividad antioxidante y ésta no es capaz de neutralizar las ROS generadas, se origina el denominado estrés oxidativo, desencadenando daños en lípidos, proteínas y ADN (Schieber y Chandel, 2014). Por ello, las ROS son consideradas como un arma de doble filo; mientras actúan como mensajeros secundarios en varios procesos fisiológicos, también inducen daños oxidativos bajo varias condiciones de estrés, al verse alterado el equilibrio entre la producción y la eliminación de estas moléculas. De hecho, el desequilibrio entre la defensa antioxidante y la generación de las ROS se encuentra asociado a diversas patologías celulares. Hoy en día se considera que el estrés oxidativo está íntimamente involucrado en la progresión de la EHGNA, ya que éste es determinante tanto para la estimulación de la inflamación y la progresión de la fibrosis como para la formación de cuerpos apoptóticos y tumorales como se describió anteriormente de manera detallada.

La mitocondria se considera el orgánulo celular por excelencia involucrado en la producción de ROS. La mayor parte de los radicales generados a nivel celular provienen de esta organela

(García-Ruiz y Fernández-Checa, 2018). En este caso la formación de ROS tiene lugar principalmente en la cadena transportadora de electrones (CTE). Sin embargo, las mitocondrias no son los únicos elementos celulares involucrados en la formación de ROS. Es muy destacable la participación de otros orgánulos como los peroxisomas. Los peroxisomas son orgánulos muy dinámicos y metabólicamente activos y son una fuente muy importante de ROS, las cuales se producen principalmente en diferentes vías metabólicas, incluida la β -oxidación de ácidos grasos (Sandalió et al., 2013). Además, las ROS también pueden ser producidas en sitios secundarios como el RE o el propio citosol por acción de enzimas como la xantina oxidasa, favoreciendo la formación de O_2^- y sus derivados (García-Ruiz y Fernández-Checa, 2018).

1.4 Función mitocondrial

La función principal de las mitocondrias hepáticas es la producción de energía. Este complejo proceso de formación de ATP se inicia con la β -oxidación, en el que los ácidos grasos oxidados (FAO) mitocondriales son utilizados como la fuente de carbono principal en la generación de Acetil-Coa (Murphy et al, 2023). De igual forma, el piruvato formado por la oxidación de la glucosa, también se transforma en las mitocondrias hepáticas dando lugar a más Acetil-Coa. Esta molécula entra en el ciclo de Krebs, procedente de los dos mecanismos comentados con anterioridad, donde sufre una serie de reacciones en las que se extraen electrones de los intermediarios de dicho ciclo, liberando así los equivalentes reductores NADH y $FADH_2$ (Ramaccini et al, 2021). Ambos son necesarios en la CTE, ya que van a depositar sus electrones en el complejo I y II, respectivamente, favoreciendo un bombeo activo de protones al espacio intermembranoso, los cuales retornan posteriormente a la matriz mitocondrial por la ATP sintasa formando ATP, en un proceso conocido como fosforilación oxidativa o respiración mitocondrial (Fromenty y Roden, 2023).

La cadena respiratoria mitocondrial es una de las principales fuentes celulares de ROS. Se generan grandes cantidades de O_2^- cuando el oxígeno se reduce de forma incompleta debido a la fuga de electrones en los complejos I y III. Además de los sitios de producción de ROS dentro de la CTE también existen otros enzimas mitocondriales que generan otros radicales libres y que contribuyen, aunque en menor grado, en el incremento de los niveles de ROS mitocondriales (Bleier y Dröse, 2013) (Vinogradov y Grivennikova, 2016). Estos orgánulos también presentan diversos mecanismos antioxidantes para mantener el equilibrio redox, evitando que se produzca estrés oxidativo (García-Ruiz y Fernández-Checa, 2018). El sistema de defensa antioxidante mitocondrial incluye diversos enzimas antioxidantes endógenos, como SOD, CAT, GPx y GR (Peoples et al, 2019).

Teniendo en cuenta que el hígado es uno de los órganos con una mayor producción de energía endógena, una disfunción de las mitocondrias hepáticas tiene consecuencias severas tanto en el hígado como a nivel sistémico, desencadenando en el desarrollo de diversas patologías como las enfermedades cardiovasculares o renales (Byrne y Targher, 2015). Durante los últimos años se ha considerado que una función mitocondrial alterada y, la subsecuente generación excesiva de ROS, podría tratarse del principal responsable de la progresión de la EHGNA.

2 Objetivos

Durante los últimos años, varias investigaciones han considerado al estrés oxidativo como el factor fundamental en la progresión de la EHGNA y, aunque comúnmente se ha considerado esta afección como consecuencia de una disfunción mitocondrial, recientes estudios han descubierto que no siempre se da esta condición.

En base a esta información, el objetivo principal de este estudio es realizar una actualización bibliográfica sobre las alteraciones de las funciones mitocondriales en la progresión de la EHGNA, así como en evaluar la importancia del estrés oxidativo en el avance de la enfermedad. Estos objetivos se plantean con la intención de responder a las siguientes preguntas:

1. ¿La mitocondria es el principal responsable del estrés oxidativo asociado a la progresión de la EHGNA?
2. ¿Qué funciones mitocondriales se encuentran afectadas durante la progresión de la EHGNA?

3 Material y Métodos

Este trabajo se ha basado en la búsqueda y recopilación de información de diferentes artículos, informes y otras revisiones bibliográficas sobre la EHGNA y el papel de la mitocondrial en la progresión de la misma. La bibliografía referenciada en este trabajo proviene de diferentes webs destinadas a la búsqueda de información científica, principalmente:

1. PUBMED

PubMed es una web con la base de datos de la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos (MEDLINE). Ofrece un gran número de artículos científicos, de biomedicina y otras ciencias de la vida, publicadas en diversas revistas de carácter científico. PubMed inicia su actividad en el año 1996 y, desde entonces, han ido aumentando el número de países desde los que es posible acceder a este portal. (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>)

2. GOOGLE SCHOLAR

Google scholar, Google académico en español, es un buscador creado en 2005 por la compañía Google. Su función radica en la búsqueda especializada de información en el ámbito científico ya sea por medio de artículos de revistas, tesis, informes científicos, libros, etc. (https://es.wikipedia.org/wiki/Google_Acad%C3%A9mico)

3. WEB OF SCIENCE (WOS)

WOS es una web destinada a la búsqueda de información, no solo científica, sino que abarca otros muchos ámbitos como el sociológico. Esta plataforma fue creada en 1945 por la Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología (FECYT). (<https://www.recurrosocientificos.fecyt.es/servicios/acceso-bases-datos>)

4. BIBLIOTECA DE LA UNIVERSIDAD DE OVIEDO (BUO)

La Universidad de Oviedo facilita, a través del portal BUO, la recopilación bibliográfica de información científica con todos los documentos en versión digital que recoge la página. (<https://buo.uniovi.es/>)

Para la búsqueda de información específica y concreta acerca de las cuestiones que atañe este trabajo, se empleó una serie de operadores booleanos para combinar diversas “palabras clave”. Inicialmente, la información requerida engloba las características generales de la EHGNA, incidiendo en sus efectos sobre el organismo. La recopilación bibliográfica avanza con una búsqueda en profundidad del estrés oxidativo como inductor de la enfermedad y finaliza con artículos y revisiones sobre el papel de las mitocondrias hepáticas y su implicación en la progresión de la EHGNA (Figura 4). Tras la búsqueda, se tuvieron en cuenta preferentemente aquellos artículos y revisiones en inglés que tuviesen una antigüedad inferior o igual a 10 años.

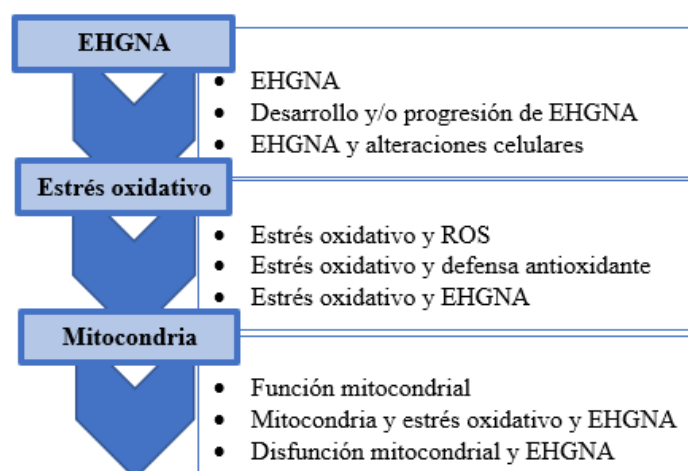


Figura 4: Diagrama con las principales combinaciones de palabras utilizadas en la búsqueda de información para este estudio.

Para la realización de una bibliografía uniforme, se ha utilizado el gestor de referencias Zotero, con el estilo de citas de APA.

4 Resultados

Los resultados obtenidos tras aplicar los criterios de selección de búsqueda de información definidos en el apartado anterior se muestran a continuación (Tablas 1-3):

Tabla 1: Resultados obtenidos tras la aplicación de las ecuaciones de búsqueda relacionadas con los aspectos generales de la EHGNA, su progresión y las alteraciones celulares asociadas a la misma.

		<i>G. Scholar</i>	<i>WOS</i>	<i>PUBMED</i>	<i>Total</i>	
EHGNA	EHGNA	Total	10.100	27.186	35.129	72.415
		Artículos	6.120	18.185	27.229	51.534
		Revisiones	1.080	4.471	7.369	12.920
		Últimos 10 años	8.170	23.626	30.705	62.501
	DESARROLLO Y/O PROGRESIÓN DE EHGNA	Total	7.750	5.404	11.871	25.025
		Artículos	5.580	3.642	8.172	17.394
		Revisiones	2.170	1.591	3.549	7.310
		Últimos 10 años	7.270	4.863	10.588	22.721
	EHGNA Y ALTERACIONES CELULARES	Total	191	99	1.140	1.430
		Artículos	162	68	653	883
		Revisiones	21	30	284	335
		Últimos 10 años	115	90	1.019	1.224

Tabla 2: Resultados obtenidos tras la aplicación de las ecuaciones de búsqueda relacionadas con el papel del estrés oxidativo en el desarrollo de la EHGNA.

		<i>G. Scholar</i>	<i>WOS</i>	<i>PUBMED</i>	<i>Total</i>	
ESTRÉS OXIDATIVO	ESTRÉS OXIDATIVO Y ROS	Total	31.400	53.814	50.226	135.440
		Artículos	6.900	47.367	43.075	97.342
		Revisiones	17.300	6.139	7.067	30.506
		Últimos 10 años	25.900	50.811	48.120	124.831
	ESTRÉS OXIDATIVO Y DEFENSA ANTIOXIDANTE	Total	480	17.124	19.156	36.760
		Artículos	313	14.865	15.932	31.110
		Revisiones	23	2.164	3.192	5.379
		Últimos 10 años	269	17.124	11.671	29.064
	ESTRÉS OXIDATIVO Y EHGNA	Total	886	2.788	3.241	6.915
		Artículos	588	2.052	2.339	4.979
		Revisiones	285	706	883	1.874
		Últimos 10 años	761	2.788	2.747	6.296

Tabla 3: Resultados obtenidos tras la aplicación de las ecuaciones de búsqueda relacionadas con el papel de las mitocondrias en la progresión de la EHGNA como posible generador de estrés oxidativo.

		<i>G. Scholar</i>	<i>WOS</i>	<i>PUBMED</i>	<i>Total</i>	
MITOCONDRIA	FUNCIÓN MITOCONDRIAL	Total	2.600	5.401	9.356	17.357
		Artículos	2.094	4.409	5.449	11.952
		Revisiones	406	911	3.780	5.097
		Últimos 10 años	1.350	5.401	5.758	12.509
	MITOCONDRIA Y ESTRÉS OXIDATIVO Y EHGNA	Total	5	256	359	620
		Artículos	4	173	239	416
		Revisiones	1	81	120	202
		Últimos 10 años	5	219	303	527
	DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL Y EHGNA	Total	13	433	980	1.426
		Artículos	5	322	716	1.043
		Revisiones	4	108	264	376
		Últimos 10 años	10	433	843	1.286

Tras introducir las ecuaciones de búsqueda mencionadas con anterioridad, los resultados obtenidos muestran que PubMed se erige como la base de datos en la que el número de artículos y revisiones, acerca de la EHGNA, es mayor. Este hecho se produce en todos los contextos, tanto en los aspectos generales de la enfermedad como en su progresión y en las alteraciones celulares experimentadas en la misma, representado un 49% de los artículos totales encontrados. Cabe destacar que, en los últimos 10 años, se han publicado aproximadamente el 87% de los artículos y revisiones enfocados en el estudio de la EHGNA. Este resultado denota que durante los últimos años ha tenido lugar un aumento notable en la investigación de esta patología y de los fenómenos involucrados en su inicio y progresión, hecho que también se ve evidenciado en las Tablas 2 y 3.

Al analizar de manera detallada la Tabla 2, se observa que la base de datos con mayor número de artículos y revisiones relacionados con el estrés oxidativo y su implicación en el desarrollo de la EHGNA es la WOS, destacando en la ecuación de búsqueda que relaciona la producción de ROS en la generación del estrés oxidativo celular, ya que en el resto de las ecuaciones, el buscador que proporciona un mayor número de artículos es PubMed. La WOS engloba el 41% de los artículos totales encontrados, aunque es importante resaltar que la WOS también presenta numerosos artículos relacionados con estas ecuaciones de búsqueda, en torno al 40%.

En la Tabla 3 se observa nuevamente el patrón obtenido en la Tabla 1, siendo PubMed la base de datos que más artículos totales presenta. Además, como se comentó previamente en la Tabla 1, en los últimos tiempos se ha producido un incremento de la investigación centrada en la comprensión de las alteraciones mitocondriales exhibidas durante la progresión de la EHGNA, ya que el 99% de los artículos publicados en la WOS datan de los últimos 10 años.

En general, al aplicar las ecuaciones de búsqueda para nuestro estudio, se observó que la base de datos con un mayor número de artículos encontrados es PubMed, con un total de 131.458 artículos. Por el contrario, el buscador con menor número de artículos encontrados es Google Scholar con 53.425 artículos.

En cuanto a los artículos y revisiones publicadas más recientemente, en concreto en los últimos 10 años, PubMed es la base de datos que mayor número de artículos totales presenta con 109.890 artículos publicados, seguido por la WOS con 102.083 y por Google Scholar con 43.850 artículos. Sin embargo, la base de datos con mayor porcentaje de artículos publicados recientemente respecto al número total de documentos registrados es la WOS, ya que aproximadamente el 91% de los artículos proporcionados han sido publicados hace menos de 10 años.

En base a los resultados obtenidos, se puede afirmar que la base de datos con más información sobre la EHGNA y el papel del estrés oxidativo y de las mitocondrias en el inicio y en la

progresión de la enfermedad es PubMed, ya que no solo presenta un mayor número de artículos, sino que también es el buscador con más artículos recientes sobre el tema de estudio.

5 Discusión

5.1 ¿La mitocondria es el principal responsable del estrés oxidativo asociado a la progresión de la EHGNA?

El estrés oxidativo se ha postulado como el principal inductor de la EHGNA en su inicio y progresión. Este suceso, provocado por el desequilibrio entre la producción de ROS y la defensa antioxidante, se encuentra íntimamente asociado a la función defectuosa de diversos orgánulos celulares, los cuales se encuentran influenciados por diversos factores. Uno de los principales factores involucrados es la dieta, que como se ha mencionado previamente, puede derivar en el desarrollo de obesidad o de DM2, patologías muy relacionadas a su vez con el desarrollo de la EHGNA ya que aumentan notablemente el riesgo de padecer esta enfermedad.

Según diversos estudios, el consumo de dietas con alto contenido graso, dietas con niveles elevados de sacarosa o incluso la combinación de ambas dietas, favorece el desarrollo de esteatosis hepática simple hasta el desarrollo de una respuesta inflamatoria sistémica y el inicio de la fibrosis (Kleiner et al., 2005; Fan et al., 2018; Simões et al., 2020). Aunque, para que se llegue a dar esta situación, es necesaria la ingesta de dichas dietas durante un periodo prolongado de tiempo (Satapati et al., 2012; Simões et al., 2021). La fase inicial de esta patología, la esteatosis simple no inflamatoria, originada sobre todo por el consumo excesivo de dietas grasas, se produce por una acumulación excesiva de lípidos en forma de triglicéridos con un alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados (MUFA), los cuales son lípidos considerados como inertes con una acción protectora frente al daño oxidativo. Con el avance de la enfermedad, en la esteatohepatitis, se produce una disminución de la enzima SCD-1, caracterizada por incrementar la proporción de MUFA en los hepatocitos. Debido a esto, los MUFA se transforman en ácidos grasos saturados (SFA), los cuales inducen modificaciones estructurales en las mitocondrias que derivan en una respuesta inflamatoria característica de esta etapa de la EHGNA (Lie et al., 2009; Mei et al., 2011).

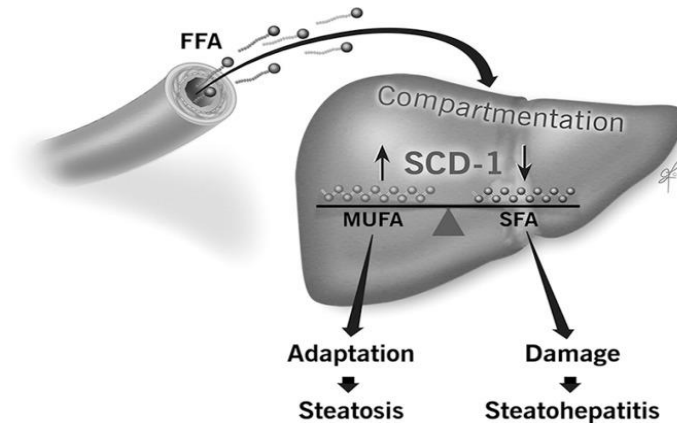


Figura 5: Imagen que representa el aumento del flujo de ácidos grasos libres que llegan al hígado a través de la vena porta y que, en función de la proporción de MUFA y SFA, deriva la EHGNA a una esteatosis simple o a una esteatohepatitis. Lie et al., 2009.

La acumulación de grasa descrita se puede observar a nivel histológico. Las grasas se acumulan en las denominadas gotas lipídicas, aumentando el tamaño de los hepatocitos y produciendo en ellos un abombamiento (Figura 6) (Kleiner et al., 2005; Li et al., 2009; Mei et al., 2011; Simões et al., 2020).

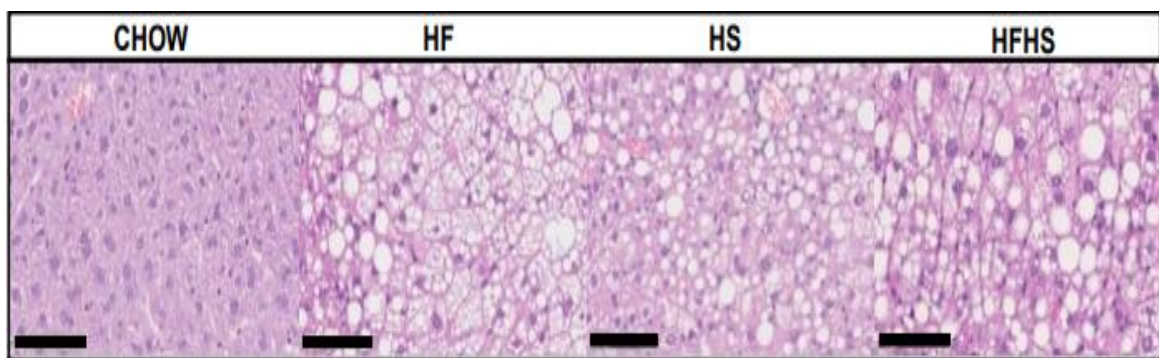


Figura 6: Imágenes de secciones hepáticas teñidas con hematoxilina eosina en la que se observa como el hígado de ratones alimentados con una dieta chow (dieta normal) no presenta ninguna anomalía, mientras que en los hígados de ratones alimentados con dietas hipercalóricas, HF (dieta alta en grasa), HS (dieta alta en sacarosa) y HFHS (combinación de ambas), si se observa una acumulación de gotas lipídicas, evidenciando el desarrollo de una esteatosis. Simões et al., 2020.

Una de las consecuencias más relevantes del consumo de dietas hipercalóricas es el efecto que provocan sobre la composición de las membranas celulares del hígado, debido a que la alteración lipídica compromete la permeabilidad de las mismas, con todas las consecuencias que ello implica. En las mitocondrias apenas se observa este suceso durante el inicio de la EHGNA, ya que existen componentes como la cardiolipina que mantienen la fluidez de las membranas mitocondriales, evitando una producción excesiva de ROS (Paradies et al., 2000; Sunny et al., 2011; Rolo et al., 2012; Einer et al., 2018; Simões et al., 2020). En el estudio Simões et al. (2020) realizado con ratones, se ha observado que, tras 16 semanas, independientemente de la

dieta que siga el animal (HF, HS, HFHS), no se produce un incremento de las ROS a nivel mitocondrial. Por tanto, este estudio demuestra que, durante la primera etapa de la EHGNA, el estrés oxidativo producido por las mitocondrias es ínfimo. Por otra parte, en otro trabajo de Simões et al. (2021) realizado en ratones se evaluó el efecto de una dieta HFHS, al tratarse del tipo de dieta hipercalórica que más se asemeja a la dieta occidental, en el desarrollo y progresión de la EHGNA. Para ello, los ratones fueron alimentados con este tipo de dieta durante distintos periodos: 16 semanas, 20 semanas, 22 semanas y 24 semanas. El estudio muestra cómo, en los ratones alimentados con la dieta HFHS desde la semana 16 hasta la semana 24, no se producen cambios en la generación de H_2O_2 mitocondrial. De hecho, la producción de este tipo de ROS disminuye a partir de la semana 20. Asimismo, estos resultados se correlacionaron con niveles bajos de daño oxidativo mitocondrial durante la primera etapa de la EHGNA. Sin embargo, pese a observar que a nivel mitocondrial no se estaba produciendo un incremento de las ROS y tampoco del daño oxidativo, el estudio reveló que este tipo de dieta hipercalórica estaba induciendo un daño oxidativo a nivel citosólico. Por tanto, en conjunto, estos estudios demostraron que, en primera instancia, las mitocondrias no son las responsables del estrés oxidativo hepático que favorece el inicio de la EHGNA. La importancia de la disfunción mitocondrial recae sobre las fases más avanzadas de la enfermedad, donde se genera una fuga de protones masiva por la oxidación de un mayor número de ácidos grasos derivados de la dieta, induciendo la alteración de las membranas mitocondriales y la generación de estrés oxidativo (Figura 7) (Koliaki et al., 2015; Patterson et al., 2016; Fouret et al., 2018; Simões et al., 2020).

Los peroxisomas y el RE se tratan de otro tipo de orgánulos celulares que también se encuentran involucrados en la producción de ROS. Principalmente, los peroxisomas son los que van a tener un papel más relevante en la generación de estrés oxidativo en las primeras etapas de la enfermedad (Antonenkov et al., 2010; Knebel et al., 2015; Knebel et al., 2018). Se ha descrito que los peroxisomas, con la intención de reducir los niveles lipídicos incrementados por la dieta, efectúan la oxidación de los AG. La degradación de los AG a nivel peroxisomal es mediada por enzimas oxidativas que catalizan reacciones en las que se producen ROS (Figura 7). Las ROS actúan como compuestos pro-oxidantes que aumentan la sensibilidad de los hepatocitos y generan daño oxidativo. Asimismo, un estudio reciente ha evidenciado que el estrés oxidativo generado por estos orgánulos se ve magnificado por la pérdida gradual de la respuesta autofágica experimentada a lo largo de la progresión de esta enfermedad (Simões et al., 2021). La autofagia se trata de un mecanismo natural y regulado de la célula que elimina componentes innecesarios y orgánulos disfuncionales para mantener la calidad celular. Se ha reportado que el consumo elevado de dietas hipercalóricas no permite la formación correcta de los autofagosomas (Simões et al., 2021). Por consiguiente, los peroxisomas disfuncionales no son

correctamente degradados por este mecanismo lo que implica su acumulación y el incremento de las ROS y del daño oxidativo celular (Huynh et al., 2007; Liu et al., 2009; Yang et al., 2010; Inami et al., 2011; Fukuo et al., 2014; Button et al., 2017; Simões et al., 2020). Teniendo en cuenta lo anterior, todo parece indicar que los peroxisomas son los orgánulos que presentan un papel más relevante en la generación de estrés oxidativo asociado al desarrollo y progresión de la EHGNA en la etapa inicial. Asimismo, las mitocondrias comienzan a participar más activamente en la generación de este estrés oxidativo en fases más avanzadas de la patología.

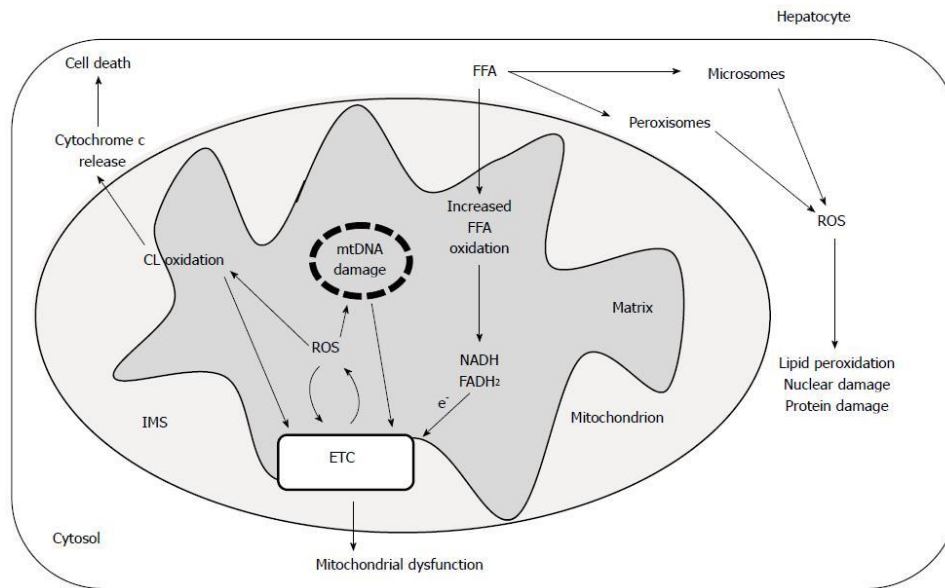


Figura 7: Esquema que muestra como los peroxisomas son uno de los principales orgánulos celulares involucrados en la producción de ROS en los hepatocitos. En las mitocondrias, los niveles de cardiolipina (CL) son fundamentales para impedir la liberación de los compuestos apoptóticos que inducen la muerte celular. Paradies et al., 2014.

5.2 ¿Qué funciones mitocondriales se encuentran afectadas durante la progresión de la EHGNA?

El consumo excesivo de dietas altas en grasas y azúcares conlleva un aumento del peso corporal que afecta en mayor medida al hígado y, como respuesta al metabolismo desequilibrado experimentado, los orgánulos hepáticos se adaptan con modificaciones estructurales y moleculares que acarrearán una fibrosis temprana. En concreto, la mitocondria se trata de uno de los orgánulos más afectados a nivel celular. Ante el estado de lipotoxicidad descrito durante la progresión de la EHGNA, las mitocondrias experimentan alteraciones en su ultraestructura y función. Por un lado, se producen alteraciones en el proteoma mitocondrial (Figura 8), que afecta al metabolismo de lípidos, glucosa y otros nutrientes. Asimismo, también se ha observado que el metabolismo del óxido nítrico (NO) se encuentra afectado, lo que desencadena en una disminución de los niveles de NO y en el aumento de la resistencia a la insulina y a la inflamación (Eccleston et al., 2011). Por otro lado, también se produce el deterioro de la citrato

sintasa, siendo una de las enzimas fundamentales en el ciclo de Krebs. La alteración funcional de dicha enzima provoca una reducción de la oxidación de los ácidos grasos y, con ello, un aumento significativo en los niveles de triglicéridos. Este hecho no solo promueve el avance de la EHGNA, sino que también favorece el desarrollo de resistencia a la insulina (Rector et al., 2010). Y, por último, una de las principales alteraciones descritas que juega un papel relevante en la progresión de la EHGNA se trata de la fosforilación oxidativa, proceso que tiene lugar en la membrana mitocondrial interna (Lee et al., 2018; Fouret et al., 2018). La alteración de los niveles proteicos y de la actividad de los distintos complejos mitocondriales de la CTE afecta de manera determinante a la fosforilación oxidativa y, por lo tanto, al metabolismo energético celular y a la generación de ROS. La relevancia de la alteración de este proceso en el avance de la enfermedad radica en que la progresión de una fase temprana de esteatosis a una fase más avanzada de fibrosis está relacionada con una respuesta diferencial en la respiración mitocondrial (Simões et al., 2021).

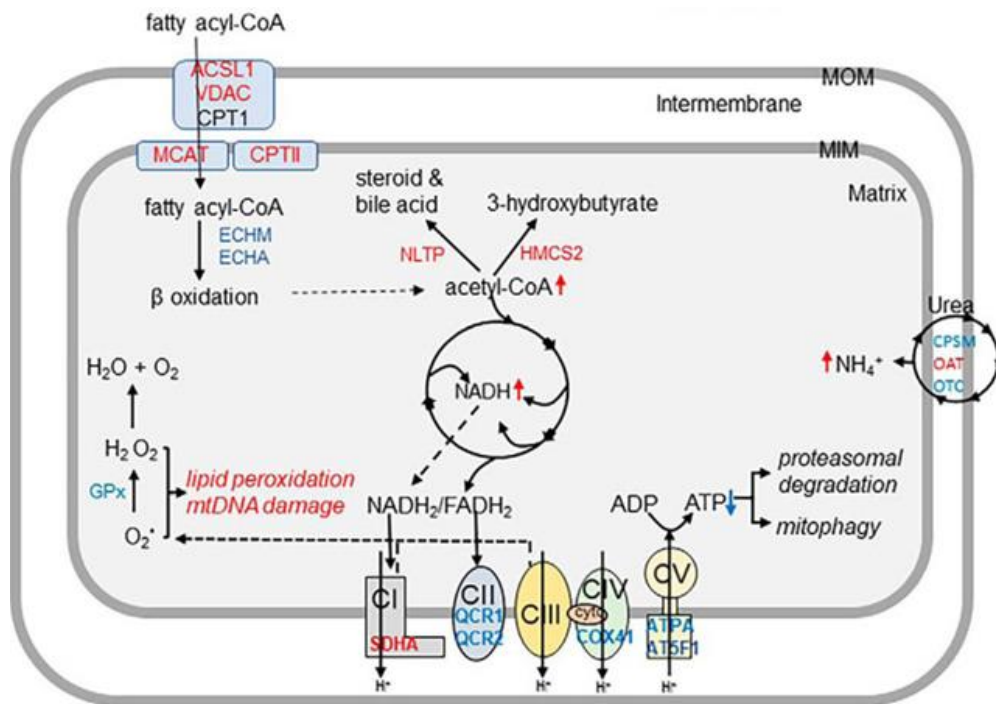


Figura 8: Esquema en el que se muestra cómo afecta la disfunción del proteoma mitocondrial originada por el consumo excesivo de dietas hipercalóricas a diversos procesos como la oxidación de los ácidos grasos y la fosforilación oxidativa, entre otros. Lee et al., 2018.

En las etapas más tempranas de la esteatosis, propiciada por una situación de lipotoxicidad, las mitocondrias responden frente a un exceso de nutrientes con un aumento de la cardiolipina, la cual es fundamental para mantener la fluidez de membrana mitocondrial cuando se elevan los niveles lipídicos en los hepatocitos y, favoreciendo a su vez un aumento en la fosforilación oxidativa (Figura 9) (Muioio, 2014; Koliaki et al., 2015; Simões et al., 2021). A medida que avanza la enfermedad, esta respuesta se revierte debido a la acumulación de AG. En particular,

se ha descrito que la respiración mitocondrial disminuye de manera progresiva y ésta se ve acompañada de un descenso en los niveles de cardiolipina, lo que implica una mayor permeabilidad de la membrana mitocondrial (Aoun et al., 2012; Fouret et al., 2018; Peng et al., 2018; Simões et al., 2021). Este hecho facilita el acúmulo de colesterol, lo que induce la activación de una vía intrínseca dependiente de JNK asociada a la disminución de glutatión (GSH), que sirve como detonante en la apertura del poro de transición de permeabilidad mitocondrial (MPTP) (Figura 9) (Colell et al., 2003; Fernández-Checa y Kaplowitz, 2005). Esta es la consecuencia más determinante de la acumulación de colesterol, ya que conlleva la liberación de componentes apoptóticos al espacio intermembranoso, como el citocromo c, precursores de caspasas y proteínas de choque térmico, acaeciendo una disminución de la autofagia y un aumento de la apoptosis (Colell et al., 2003). Además, como consecuencia de las alteraciones descritas, también se desencadenan otras respuestas celulares como la activación de los procesos inflamatorios, derivados de la acción de la citocina TNF- α , y la disminución en la producción de ATP (Figura 9) (Simões et al, 2021). En general, todos estos trabajos, han puesto de manifiesto que la mitocondria, pese a que no se puede considerar como el inductor principal del estrés oxidativo que provoca el inicio y progresión de la EHGNA en una fase temprana, si es uno de los orgánulos principales implicados en el avance de la enfermedad hacia estadios más graves.

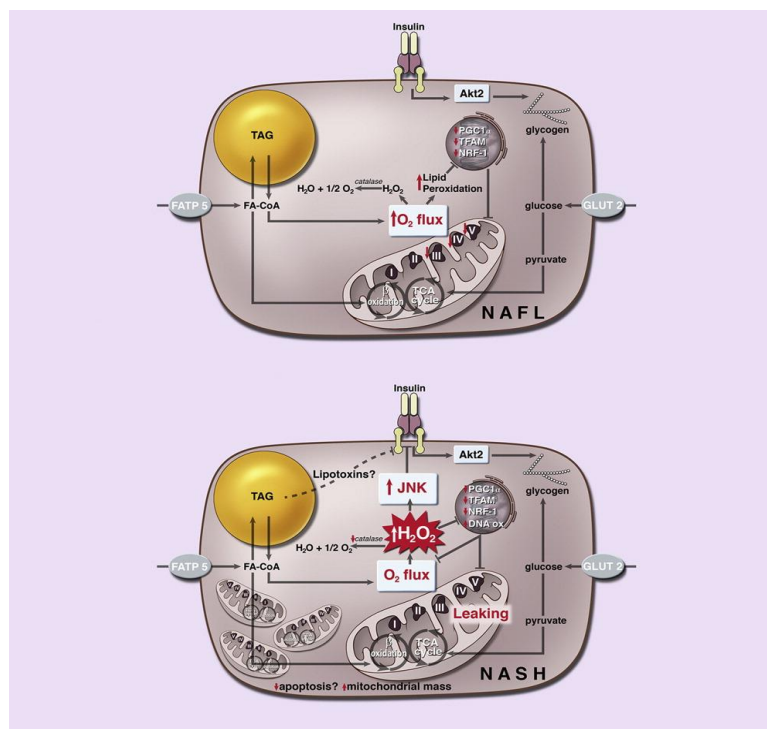


Figura 9: Esquema donde se muestran las diferencias fundamentales entre las distintas etapas de la EHGNA. En la fase más temprana de la enfermedad se produce un aumento de la fosforilación oxidativa debido a la alta disponibilidad de nutrientes, mientras que en la fase más tardía de la enfermedad se produce una fuga de protones a través de la membrana mitocondrial interna que disminuye la fosforilación oxidativa y favorece la activación de la vía intrínseca dependiente de JNK. Koliaki et al., 2015.

6 Conclusiones

Los datos aportados por los artículos escogidos para la realización del presente trabajo de revisión indican que la mitocondria tiene una especial relevancia en la EHGNA, considerándose como uno de los principales orgánulos celulares responsables de la progresión de la enfermedad. Tras analizar toda la información recogida, se han obtenido las siguientes conclusiones:

1. El desarrollo de la EHGNA y su progresión en las fases tempranas se encuentra asociado al consumo excesivo de dietas hipercalóricas que favorecen la producción de ROS dependiente de la FAO peroxisomal y no a través de las mitocondrias.
2. En las primeras etapas de la EHGNA existe una repuesta adaptativa temprana de las mitocondrias a la disponibilidad de lípidos y carbohidratos que permite la disminución de los niveles de ROS producidos a nivel mitocondrial.
3. La pérdida progresiva de la eficiencia mitocondrial se encuentra íntimamente asociada al desarrollo de fases más avanzadas y graves de la EHGNA.
4. La acumulación de mitocondrias y peroxisomas dañados y disfuncionales junto con el déficit de la respuesta autofágica son considerados los desencadenantes determinantes que originan la lesión de los hepatocitos y aceleran la progresión de la EHGNA.

7 Bibliografía

- 1- Antonenkov, V. D., Grunau, S., Ohlmeier, S., & Hiltunen, J. K. (2010). Peroxisomes are oxidative organelles. *Antioxidants & Redox Signaling*, 13, 525-537. <http://doi.org/10.1089/ars.2009.2996>
- 2- Aoun, M., Fouret, G., Michel, F., Bonafos, B., Ramos, J., Cristol, J. P., Carbonneau, M. A., Coudray, C., & Feillet-Coudray, C. (2012). Dietary fatty acids modulate liver mitochondrial cardiolipin content and its fatty acid composition in rats with non alcoholic fatty liver disease. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 44, 439-452. <https://doi.org/10.1007/s10863-012-9448-x>
- 3- Bataller, R., & Brenner, D. A. (2005). Liver fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation*, 115(2), 209-218. <https://doi.org/10.1172/JCI24282>
- 4- Bleier, L., & Dröse, S. (2013). Superoxide generation by complex III: From mechanistic rationales to functional consequences. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1827, 1320-1331. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2012.12.002>
- 5- Brown, G. T., & Kleiner, D. E. (2016). Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Metabolism Clinical and Experimental*, 65(8), 1080-1086. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2015.11.008>
- 6- Button, R. W., Roberts, S. L., Willis, T. L., Hanemann, C. O., & Luo, S. (2017). Accumulation of autophagosomes confers cytotoxicity. *Journal of Biological Chemistry*, 292, 13599-13614. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.782276>
- 7- Buzzetti, E., Pinzani, M., & Tsochatzis, E. A. (2016). The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism Clinical and Experimental*, 65, 1038-1048. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2015.12.012>
- 8- Byrne, C., & Targher, G. (2015). NAFLD: A multisystem disease. *Journal of hepatology*, 62, 547-564. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.12.012>
- 9- Chen, J., Mei, Z., Wang, Y., Chen, Y., & Liu, Q. (2022). Causal effect of non-alcoholic fatty liver disease on atrial fibrillation. *European journal of internal medicine*, 105, 114-117. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2022.07.007>
- 10- Chen, Z., Tian, R., She, Z., Cai, J., & Li, H. (2020). Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Free radical biology and medicine*, 152, 116-141. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.025>
- 11- Colell, A., Garcia-Ruiz, C., Lluís, J. M., Coll, O., Mari, M., & Fernández-Checa, J. C. (2003). Cholesterol impairs the adenine nucleotide translocator-mediated mitochondrial permeability transition through altered membrane fluidity. *Journal of Biological Chemistry*, 278, 33928-33935.
- 12- <https://doi.org/10.1074/jbc.M210943200>
- 13- Constanza, L., & Muñoz, M. M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova*, 10(18), 213-225.
- 14- Eccleston, H. B., Andringa, K. K., Betancourt, A. M., King, A. L., Mantena, S. K., Swain, T. M., Tinsley, H. N., Nolte, R. N., Nagy, T. R., Abrams, G. A., & Bailey S. M. (2011). Chronic exposure to a high-fat diet induces hepatic steatosis, impairs

- nitric oxide bioavailability, and modifies the mitochondrial proteome in mice. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15,447-459. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3395>
- 15- Einer, C., Hohenester, S., Wimmer, R., Wottke, L., Artmann, R., Schulz, S., Gosmann, C., Simmons, A., Leitzinger, C., Eberhagen, C., Borchard, S., Schmitt, S., Hauck, S. M., Von Toerne, C., Jastroch, M., Walheim, E., Rust, C., Gerbes, A. L., Popper, B., Mayr, D., Schnurr, M., Vollmar, A. M., Denk, G., & Zischka, H. (2018). Mitochondrial adaptation in steatotic mice. *Mitochondrion*, 40, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2017.08.015>
- 16- Esperanza, L. (2019). Trabajo fin de grado: Neurogénesis y neurodegeneración: Papel de la proteína mitocondrial de 18 kDa (TSPO). *Universidad de Oviedo, Facultad de biología*.
- 17- Fan, R., Wang, J., & Du, J. (2018). Association between body mass index and fatty liver risk: A dose-response analysis. *Scientific Reports*, 8, 15273. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33419-6>
- 18- Fouret, G., Gaillet, S., Lecomte, J., Bonafos, B., Djohan, F., Barea, B., Badia, E., Coudray, C., & Feillet-Coudray, C. (2018). 20-Week follow-up of hepatic steatosis installation and liver mitochondrial structure and activity and their interrelation in rats fed a high-fat-high-fructose diet. *British Journal of Nutrition*, 119, 368-380. <https://doi.org/10.1017/S0007114517003713>
- 19- Fromenty, B., & Roden, M. (2023). Mitochondrial alterations in fatty liver diseases. *Journal of hepatology*, 78, 415-429.
- 20- <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2022.09.020>
- 21- Fernández-Checa, J. C., & Kaplowitz, N. (2005). Hepatic mitochondrial glutathione: Transport and role in disease and toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 204, 263-273. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2004.10.001>
- 22- Fukuo, Y., Yamashina, S., Sonoue, H., Arakawa, A., Nakadera, E., Aoyama, T., Uchiyama, A., Kon, K., Ikejima, K., & Watanabe, S. (2014). Abnormality of autophagic function and cathepsin expression in the liver from patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology Research*, 44, 1026-1036. <https://doi.org/10.1111/hepr.12282>
- 23- García-Ruiz, C., & Fernández-Checa, J. C. (2018). Mitochondrial Oxidative Stress and Antioxidants Balance in Fatty Liver Disease. *Hepatology Communications*, 2(12), 1425-1439. <https://doi.org/10.1002/hep4.1271>
- 24- González, L. (2018). Trabajo fin de grado: Determinación del poder antioxidante de biomasa y productos basados en extractos de microalgas. *Universidad de Oviedo, Facultad de biología*.
- 25- Højland, D., Lykkesfeldt, J., & Tveden-Nyborg, P. (2018). Molecular mechanisms of hepatic lipid accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75, 3313-3327. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2860-6>
- 26- Huynh, K. K., Eskelinen, E. L., Scott, C. C., Malevanets, A., Saftig, P., & Grinstein, S. (2007). LAMP proteins are required for fusion of lysosomes with

- phagosomes. *The EMBO Journal*, 26, 313-324. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601511>
- 27- Inami, Y., Yamashina, S., Izumi, K., Ueno, T., Tanida, I., Ikejima, K., & Watanabe, S. (2011). Hepatic steatosis inhibits autophagic proteolysis via impairment of autophagosomal acidification and cathepsin expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 412, 618-625. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.08.012>
- 28- Kleiner, D. E., Brunt, E. M., Van Natta, M., Behling, C., Contos, M. J., Cummings, O. W., Ferrell, L. D., Liu, Y. C., Torbenson, M. S., Unalp-Arida, A., Yeh, M., McCullough, A. J., & Sanyal, A. J. (2005). Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 41, 1313-1321. <https://doi.org/10.1002/hep.20701>
- 29- Knebel, B., Goddeke, S., Hartwig, S., Horbelt, T., Fahlbusch, P., Al-Hasani, H., Jacob, S., Koellmer, C., Nitzgen, U., Schiller, M., Lehr, S., & Kotzka, J. (2017). Alteration of Liver Peroxisomal and Mitochondrial Functionality in the NZO Mouse Model of Metabolic Syndrome. *Proteomics Clinical Applications*, 12. <https://doi.org/10.1002/prca.201700028>
- 30- Knebel, B., Hartwig, S., Haas, J., Lehr, S., Goeddeke, S., Susanto, F., Bohne, L., Jacob, S., Koellmer, C., Nitzgen, U., Müller-Wieland, D., & Kotzka, J. (2015). Peroxisomes compensate hepatic lipid overflow in mice with fatty liver. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1851, 965-976. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2015.03.003>
- 31- Koliaki, C., Szendroedi, J., Kaul, K., Jelenik, T., Nowotny, P., Jankowiak, F., Herder, C., Carstensen, M., Krausch, M., Knoefel, W. T., Schlensak, M., & Roden, M. (2015). Adaptation of hepatic mitochondrial function in humans with non-alcoholic fatty liver is lost in steatohepatitis. *Cell Metabolism*, 21, 739-746. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.04.004>
- 32- Kumari, M., Schoiswohl, G., Chitraju, C., Paar, M., Cornaciu, I., Rangrez, A. Y., Wongsiriroj, N., Nagy, H. M., Ivanova, P. T., Scott, S. A., Knittelfelder, O., Rechberger, G., Birner-Gruenberger, R., Eder, S., Brown, H. A., Haemmerle, G., Oberer, M., Lass, A., Kershaw, E. E., Zimmermann, R., & Zechner, R. (2012). Adiponutrin Functions as a Nutritionally Regulated Lysophosphatidic Acid Acyltransferase. *Cell Metabolism*, 15, 691-702. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.04.008>
- 33- Lee, K., Haddad, A., Osme, A., Kim, C., Borzou, A., Ilchenko, S., Allende, D., Dasarathy, S., McCullough, A., Sadygov, R. G., & Kasumov, T. (2018). Hepatic Mitochondrial Defects in a Nonalcoholic Fatty Liver Disease Mouse Model Are Associated with Increased Degradation of Oxidative Phosphorylation Subunits. *Molecular & Cellular Proteomics*, 17, 2371-2386. <https://doi.org/10.1074/mcp.RA118.000961>
- 34- Li, Z. Z., Berk, M., McIntyre, T. M., & Feldstein, A. E. (2009). Hepatic lipid partitioning and liver damage in nonalcoholic fatty liver disease: Role of stearoyl-CoA desaturase. *Journal of Biological Chemistry*, 284, 5635-5644. <https://doi.org/10.1074/jbc.M807616200>

- 35- Liu, H. Y., Han, J., Cao, S. Y., Hong, T., Zhuo, D., Shi, J., Liu, Z., & Cao, W. (2009). Hepatic autophagy is suppressed in the presence of insulin resistance and hyperinsulinemia: Inhibition of FoxO1-dependent expression of key autophagy genes by insulin. *Journal of Biological Chemistry*, 284, 31484-31492. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.033936>
- 36- Lonardo, A., Leoni, S., Alswat, K. A., & Fouad, Y. (2020). History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *International journal of molecular sciences*, 21(16), 5888. <https://doi.org/10.3390/ijms21165888>
- 37- Mei, S., Ni, H. M., Manley, S., Bockus, A., Kassel, K. M., Luyendyk, J. P., Copple, B. L., & Ding, W. X. (2011). Differential roles of unsaturated and saturated fatty acids on autophagy and apoptosis in hepatocytes. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 339, 487-498. <https://doi.org/10.1124/jpet.111.184341>
- 38- Montes, Y. (2022). Trabajo fin de grado: Efecto de la melatonina en las células madre mesenquimales. *Universidad de Oviedo, Facultad de biología*.
- 39- Muntané, J., González, R., Ranchal, I., Collado, J. A., López-Sánchez, L. M., Herencia, C., Rodríguez-Ariza, A., Muñoz-Castañeda J. R., & De la Mata, M. (2007). Mecanismos de lesión hepatocelular. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 99(7), 405-410. <https://doi.org/1130-0108/2007/99/7/405-410>
- 40- Muoio, D. M. (2014) Metabolic inflexibility: When mitochondrial indecision leads to metabolic gridlock. *Cell*, 159, 1253–1262. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.11.034>
- 41- Murphy, E., Ardehali, H., Balaban, R. S., DiLisa, F., Dorn, G. W., Kitsis, R. N., Otsu, K., Ping, P., Rizzuto, R., Sack, M. N., Wallace, D., & Youle, R. J. (2016). Mitochondrial Function, Biology, and Role in Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation Research*, 118(12), 1960-1991. <https://doi.org/10.1161/RES.0000000000000104>
- 42- Najimi, M., Smets, F., & Sokal, E. (2009). *Hepatocyte Transplantation*, 481, 59-74. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-201-4_6
- 43- Paradies, G., Petrosillo, G., Pistolese, M., & Ruggiero, F. M. (2000). The effect of reactive oxygen species generated from the mitochondrial electron transport chain on the cytochrome c oxidase activity and on the cardiolipin content in bovine heart submitochondrial particles. *FEBS*, 466, 323-326. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(00\)01082-6](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(00)01082-6)
- 44- Patterson, R. E., Kalavalapalli, S., Williams, C. M., Nautiyal, M., Mathew, J. T., Martínez, J., Reinhard, M. K., McDougall, D. J., Rocca, J. R., Yost, R. A., Cusi, K., Garret, T. J., & Sunny, N. E. (2016). Lipotoxicity in steatohepatitis occurs despite an increase in tricarboxylic acid cycle activity. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 310, 484-494. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00492.2015>
- 45- Peng, K. Y., Watt, M. J., Rensen, S., Greve, J. W., Huynh, K., Jayawardana, K. S., Meikle, P. J., & Meex, R. C. R. (2018) Mitochondrial dysfunction-related lipid changes occur in nonalcoholic fatty liver disease progression. *Journal of Lipid Research*, 59, 1977-1986. <https://doi.org/10.1194/jlr.M085613>

- 46- Peoples, J. N., Saraf, A., Ghazal, N., Pham, T. T., & Kwong, J. Q. (2019). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart disease. *Experimental & Molecular Medicine*, 51, 1-13. <https://doi.org/10.1038/s12276-019-0355-7>
- 47- Pérez, L. (2021). Trabajo fin de grado: Descubriendo potenciales biomarcadores a nivel sistémico predictores de obesidad sarcopénica. *Universidad de Oviedo, Facultad de biología*.
- 48- Pouwels, S., Sakran, N., Graham, Y., Leal, A., Pintar, T., Yang, W., Kassir R., Singhal R., Mahawar K., & Ramnarain D. (2022) Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a review of pathophysiology, clinical management and effects of weight loss. *BMC Endocr Disord*, 22, 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12902-022-00980-1>
- 49- Powell, E. E., Wai-Sun, V., & Rinella, M. (2021). Non-alcoholic fatty liver disease. *The Lancet*, 397, 2212-2224. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32511-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32511-3)
- 50- Ramaccini, D., Montoya-Urbe, V., Aan, F. J., Modesti, L., Potes, Y., Wieckowski, M. R., Krga, I., Glibetic, M., Pinton, P., Giorgi, C., & Matter, M. L. (2021). Mitochondrial Function and Dysfunction in Dilated Cardiomyopathy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 624216. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.624216>
- 51- Rector, R. S., Thyfault, J. P., Uptergrove, G. M., Morris, E. M., Naples, S. P., Borengasser, S. J., Mikus, C. R., Laye, M. J., Laughlin, M. H., Booth, F. W., & Ibdah, J. A. (2010). Mitochondrial dysfunction precedes insulin resistance and hepatic steatosis and contributes to the natural history of non-alcoholic fatty liver disease in an obese rodent model. *Journal of Hepatology*, 727-736. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2009.11.030>
- 52- Rolo, A. P., Teodoro, J. S., & Palmeira, C. M. (2012). Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Free Radical Biology and Medicine*, 52, 59-69. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.10.003>
- 53- Sandalio, L. M., Rodríguez-Serrano, M., Romero-Puertas M. C., & Del río, L. A. (2013). *Subcellular Biochemistry*, 69, 231-255. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6889-5_13
- 54- Satapati, S., Sunny, N. E., Kucejova, B., Fu, X., He, T. T., Méndez-Lucas, A., Shelton, J. M., Perales, J. C., Browning, J. D., & Burgess, S. C. (2012). Elevated TCA cycle function in the pathology of diet-induced hepatic insulin resistance and fatty liver. *Journal of Lipid Research*, 53, 1080-1092. <https://doi.org/10.1194/jlr.M023382>
- 55- Schieber, M., & Chandel, N. S. (2014). ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. *Current biology*, 24, 453-462. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.034>
- 56- Simões, I. C. M., Amorim, R., Teixeira, J., Karkucinska-Wieckowska, A., Carvalho, A., Pereira, S., Simões, R., Szymanska, S., Dabrowski, M., Janikiewicz, J., Dobrzyn, A., Oliveira, P., Potes, Y., & Wieckowski, M. (2021). The alterations of mitochondrial function during NAFLD Progression: An independent effect of mitochondrial ROS production. *International journal of molecular sciences*, 22(13), 6848. <https://doi.org/10.3390/ijms22136848>

- 57- Simões, I. C. M., Janikiewicz, J., Bauer, J., Karkucinska-Wieckowska, A., Kalinowski, P., Dobrzyn, A., Wolski, A., Pronicki, M., Zieniewiecz, K., Dobrzyn, P., Krawczyk, M., Zischka, H., Wieckowski, M. R., & Potes, Y. (2019). Fat and Sugar: A Dangerous Duet. A Comparative Review on Metabolic Remodeling in Rodent Models of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Nutrients*, 11(12), 2871. <https://doi.org/10.3390/nu11122871>
- 58- Simões, I. C. M., Karkucinska-Wieckowska, A., Janikiewicz, J., Szymanska, S., Pronicki, M., Dobrzyn, P., Dabrowski, M., Dobrzyn, A., Oliveira, P., Zischka, H., Potes, Y., & Wieckowski, M. R. (2020). Western diet causes obesity-induced nonalcoholic fatty liver disease development by differentially compromising the autophagic response. *International journal of molecular sciences*, 9(10), 995. <https://doi.org/10.3390/antiox9100995>
- 59- Smok, G. (2002). Basis of histological changes in steatohepatitis. *Medwave*, 2(11). <https://doi.org/10.5867/medwave.2002.11.3537>
- 60- Sunny, N. E., Parks, E. J., Browning, J. D., & Burgess, S. C. (2011). Excessive hepatic mitochondrial TCA cycle and gluconeogenesis in humans with nonalcoholic fatty liver disease. *Cell Metabolism*, 14, 804-810. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.11.004>
- 61- Valle, C., Zambam, A., Perdomo, G., Sartori, G. D. P., Villela-Nogueira, L., Tovo, L., Villela-Nogueira, C. A., & De Mattos, A. A. (2023). Hepatocellular carcinoma in non-alcoholic steatohepatitis without cirrhosis. *World Journal of Gastroenterology*, 29(2), 343-356. <https://doi.org/10.3748/wjg.v29.i2.343>
- 62- Valdeón, M. (2022). Trabajo fin de grado: Búsqueda de marcadores diferenciales en fase temprana de esquizofrenia y trastorno bipolar. *Universidad de Oviedo, Facultad de biología*.
- 63- Vinogradov, A. D., & Grivennikova, V. G. (2016). Oxidation of NADH and ROS production by respiratory complex I. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1857, 863-871. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2015.11.004>
- 64- Wang, J., He, W., Tsai, P. J., Tsai, P., Chen, P., Ye, M., & Guo, J. (2020). Mutual interaction between endoplasmic reticulum and mitochondria in nonalcoholic fatty liver disease. *Lipids in Health and Disease*, 19(72). <https://doi.org/10.1186/s12944-020-01210-0>
- 65- Yang, L., Li, P., Fu, S., Calay, E. S., & Hotamisligil, G. S. (2010). Defective hepatic autophagy in obesity promotes ER stress and causes insulin resistance. *Cell Metabolism*, 11, 467-478. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.04.005>