



# FACULTAD DE FARMACIA

## UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

### TRABAJO FIN DE GRADO OBESIDAD Y CARCINOMA HEPATOCELULAR

AUTOR: ALMUDENA MARÍA FERNÁNDEZ MUÑOZ  
D.N.I.: 51122290Y  
TUTOR: BLANCA HERRERA GONZÁLEZ  
CONVOCATORIA: JUNIO 2016

## ÍNDICE

---

1. RESUMEN.....	3
2. INTRODUCCIÓN ANTECEDENTES.....	4
3. OBJETIVOS.....	6
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	6
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
5.1. DESCRIPCIÓN MOLECULAR DE LA LEPTINA.....	7
5.2. SÍNTESIS Y SECRECIÓN DE LA LEPTINA.....	8
5.3. CARACTERIZACIÓN DEL RECEPTOR DE LEPTINA.....	10
5.4. MECANISMO DE SEÑALIZACIÓN DE LEPTINA.....	11
5.5. RESISTENCIA A LEPTINA.....	12
5.6. IMPLICACIÓN DE LA LEPTINA EN HCC.....	14
5.7. PAPEL DE LOS ESTRÓGENOS EN LA PREVENCIÓN DEL HCC.....	16
5.8. LEPTINA Y DIETA.....	18
6. CONCLUSIONES.....	19
7. BIBLIOGRAFÍA.....	20

## RESUMEN

---

La obesidad es una enfermedad crónica de origen multifactorial prevenible, que se encuentra relacionada con más de 13 tumores diferentes, incluido el carcinoma hepatocelular (HCC).

En la mayoría de los casos, la causa del cáncer hepático es el daño prolongado y la cicatrización del hígado [1]. Este hecho se conoce como cirrosis, y puede estar desencadenada por un consumo excesivo de alcohol, por enfermedades auto inmunitarias del hígado, por infecciones causadas por el virus de la hepatitis B o C o por una inflamación crónica del hígado.

El desarrollo de la cirrosis relacionada con la inflamación prolongada del hígado engloba un amplio espectro de lesiones hepáticas, que se producen en ausencia de un consumo crónico de alcohol, entre las que se incluyen la esteatosis simple, la esteatosis asociada a cambios necro inflamatorios con grados variables de fibrosis y finalmente la aparición de cirrosis.

Actualmente se considera a la enfermedad hepática grasa no alcohólica (NAFLD) como el principal componente hepático del ‘‘síndrome metabólico’’, que engloba diferentes factores de riesgo vascular y metabólico como la obesidad visceral, la hiperglucemia, la resistencia a insulina, la dislipemia y la hipertensión arterial.

La contribución de las citoquinas pro-inflamatorias secretadas por el tejido adiposo al desarrollo del HCC es de vital importancia y está siendo intensamente estudiada.

Entre estas moléculas, destacamos la leptina, una hormona importante en el desarrollo de la obesidad dado que influye en la ingesta y en el gasto energético. Además, se ha postulado que la leptina contribuye al desarrollo de la resistencia a la insulina, la esteatosis, la inflamación y la fibrosis hepática.

La leptina se une a su receptor en el hipotálamo y así se inicia una cascada de señalización celular que desencadena efectos fibrogénicos de forma sistémica. La afinidad rigurosa de la unión de la leptina y su receptor, así como la sobreexpresión de la leptina en las células cancerosas hepáticas con respecto a las células normales, hacen de la leptina una diana terapéutica ideal para la prevención y tratamiento del HCC, especialmente en pacientes obesos.

Esta revisión proporciona un acercamiento a los efectos patológicos que ejerce la leptina, poniendo especial énfasis en los posibles mecanismos moleculares que desencadenan el

daño hepático y el enfoque terapéutico de leptina, que podría ser utilizado en entornos clínicos futuros.

## **2. INTRODUCCION Y ANTECEDENTES**

---

Actualmente existen 2100 millones de personas obesas en todo el mundo. De acuerdo con los informes de la Asociación Internacional para el Estudio de la Obesidad, el 37 % de los hombres y el 38 % de las mujeres tienen un índice de masa corporal superior a 25, lo que les sitúa por encima del límite recomendado. El IMC se utiliza para clasificar el estado ponderal de la persona y constituye una medida de asociación entre el peso y la talla de un individuo.

Desde 1980 este valor ha aumentado un 28 % en la población adulta y un 47 % en la infantil. Además, se estima que el sobrepeso u obesidad contribuye con un 20% a las muertes relacionadas con el cáncer en el mundo. Estos datos enmarcan la obesidad como la gran epidemia de nuestro tiempo.

La obesidad es una enfermedad crónica de intensidad leve. Este hecho está asociado al desarrollo de diversas enfermedades, particularmente enfermedades cardiovasculares, pero también enfermedades crónicas renales, dislipemias, hipertensión, enfermedades hepáticas, diabetes tipo 2, así como un gran número de tumores.

La obesidad promueve un estado inflamatorio a nivel sistémico. Éste se manifiesta al medir los mediadores inflamatorios en circulación, entre los cuales se encuentran las citoquinas. Los niveles plasmáticos de citoquinas están directamente relacionados con la magnitud del tejido adiposo (índice de masa corporal, porcentaje de grasa corporal, circunferencia cintura) así como con las consecuencias metabólicas de la obesidad (insulino-resistencia, dislipidemia y aumento de la presión arterial).

Este aumento de los productos inflamatorios conduce progresivamente a un estado de estrés oxidativo en el organismo, contribuyendo al desarrollo de tumores. Destacamos los tumores ginecológicos, tumores del sistema digestivo y tumores hematológicos. Sin embargo, a pesar de la evidencia científica existente, los mecanismos moleculares por los que se produce este aumento en la incidencia del cáncer permanecen siendo inciertos.

El hepatocarcinoma (HCC) es el quinto cáncer de mayor incidencia y la segunda causa principal de muertes relacionadas con el cáncer en todo el mundo. Los principales factores de riesgo para su desarrollo son el virus de la hepatitis B (VHB), la hepatitis C (VHC), el consumo excesivo de alcohol, la diabetes mellitus tipo 2, las aflatoxinas y la obesidad.

Para entender el mecanismo por el cual se desarrolla el HCC debemos tener en cuenta que se trata de un proceso complejo y multifactorial. Esta revisión bibliográfica se centra en la contribución que ejerce la inflamación crónica del hígado debida a una ingesta excesiva de alimentos con un alto contenido en grasas al desarrollo del HCC.

La enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD), se caracteriza por una excesiva acumulación de ácidos grasos libres (AGL) en el interior de las células hepáticas de aquellos individuos que consumen poco o nada de alcohol. Teniendo en cuenta que la grasa en sí misma no daña el hígado, habría que tener en cuenta que lo que ocasiona el daño es la aparición de un estado inflamatorio sistémico que finalmente acaba cursando con patologías a nivel hepático.

Entre la gente que padece NAFLD, un grupo pequeño podría desarrollar una afección más grave, llamada esteatohepatitis no alcohólica (EHNA). En la esteatohepatitis no alcohólica, la acumulación de grasa se relaciona directamente con una inflamación de las células hepáticas y diferentes grados de fibrosis. La esteatohepatitis no alcohólica puede ser una afección grave, capaz de derivar en fibrosis y cirrosis. La cirrosis ocurre cuando el hígado sufre graves daños y el tejido fibroso gradualmente comienza a reemplazar a las células del hígado, lo que conduce a que el hígado pierda su funcionalidad normal y se desarrolle el HCC.

Entre las teorías iniciales que sustentan la relación entre la obesidad y el desarrollo del HCC se encuentra la teoría de los “dos impactos”. El primer impacto se debe a la acumulación de un exceso de triglicéridos en el hígado, provocado por un aumento en la síntesis hepática de los mismos, un incremento en la ingesta de grasa o una disminución de la oxidación lipídica.

A continuación, se sucede el llamado “segundo golpe”, que incluye el daño inducido por las adipoquinas, la disfunción mitocondrial y el estrés oxidativo, lo que finalmente lleva a la esteatohepatitis y/o fibrosis.

Se postula que la lipotoxicidad inducida por la acumulación de mediadores inflamatorios de forma sistémica conduce al daño hepático progresivo que origina la muerte de las células hepáticas (necrosis) y el HCC.

Pretendemos dilucidar el papel que ejercen las citoquinas en el desarrollo de la EHNA, concretamente en pacientes obesos.

### **3. OBJETIVOS**

---

El objetivo primordial de este trabajo de investigación es demostrar, mediante la revisión de numerosos artículos bibliográficos la relación entre la obesidad y el carcinoma hepatocelular. La molécula elegida para plasmar dicha interrelación es la leptina, que se encuentra sobre expresada cuando existe obesidad.

### **4. MATERIAL Y MÉTODOS**

---

Se realizó una revisión sistemática de artículos científicos pertenecientes a bases de datos relacionadas con el sector de la salud. Se analizaron tanto revisiones de artículos como estudios científicos para recabar el máximo posible de información.

En primer lugar se llevó a cabo una búsqueda general en Google Chrome introduciendo las palabras clave “obesidad” y “carcinoma hepatocelular”. El objetivo de esta búsqueda inicial consistió en hacer una primera aproximación general al tema propuesto para nuestro estudio, así como detectar los antecedentes sobre los que sentar las bases para realizar un buen trabajo científico. Además, se analizaron las referencias bibliográficas de los artículos seleccionados con el fin de rescatar otros estudios potencialmente incluíbles en la revisión.

Para la búsqueda en la base de datos Pubmed, se introdujeron inicialmente las palabras “obesity y “HCC”. Tras la búsqueda inicial, se localizaron 2869 estudios, por lo que fue necesario ser más específicos y refinar la búsqueda seleccionando para ello una molécula concreta con implicación en el desarrollo del HCC.

Entre los criterios de exclusión cabe resaltar que fueron descartados numerosos artículos y revisiones que no guardaban relación con el objeto de estudio.

La molécula escogida para constatar la relación entre la obesidad y el HCC fue la leptina, ya que existen numerosos estudios que avalan la relación entre la sobreexpresión de esta molécula y la angiogénesis. Se introdujeron por tanto los criterios “leptin”, “obesity” y “HCC” y se procedió a la revisión de los 25 artículos encontrados.

### **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

El incremento de triglicéridos y AGL ocasionado por una dieta con un alto contenido en grasa, tiene como consecuencia un aumento en la oxidación de ácidos grasos. Todo esto

origina una disfunción mitocondrial caracterizada por la aparición de especies reactivas de oxígeno. La disminución de las defensas antioxidantes proporciona un ambiente idóneo para que se active la vía de señalización  $I\kappa\kappa\text{-}\beta/\text{NF-}\kappa\text{B}$ .

Esta vía se asocia con una elevación en la concentración citoquinas con acción pro-inflamatoria tales como el factor de necrosis tumoral alfa ( $\text{TNF-}\alpha$ ), la interleukina-6 (IL-6) y la interleukina 1-beta (IL- $\beta$ ).

Todo esto conlleva la activación de las células de Kupffer y este hecho se considera como el primer paso para el desarrollo de la fibrosis hepática. La cronificación de la cirrosis ocasiona necrosis hepática y todo ello conduce al posterior desarrollo de HCC.

El tejido adiposo blanco secreta varias moléculas llamadas adipoquinas, que se han postulado como primordiales en la homeostasis de diversos procesos fisiológicos, como la regulación energética, la regulación de la presión sanguínea, la acción de la insulina y el metabolismo de la glucosa. Entre estas citoquinas destacan el factor de necrosis tumoral tipo alfa ( $\text{TNF}\alpha$ ), la resistina, las interleuquinas (IL) 6, IL1B, IL8, IL10, IL15, la adiponectina y la leptina. Las sobre-expresión de las adipoquinas como consecuencia de la obesidad contribuye a generar el estrés oxidativo que ocasiona la muerte de los hepatocitos en el HCC.

Entre estas adipoquinas destacamos la leptina, debido a que se dispone de información suficientemente constatada como para asegurar su relación con el HCC.

### 5.1. Descripción molecular de la leptina

La leptina es una hormona de 16 kDa sintetizada por los adipocitos maduros. Está codificada por el gen LEP y se trata de una proteína glicosilada de 167 aminoácidos, con una secuencia señal constituida por 21 aminoácidos. Presenta una estructura terciaria similar a la de las citoquinas de hélice larga, como la IL-2.

Es la región N-terminal de la leptina, constituida por 94 aminoácidos, la que proporciona la capacidad a la molécula de unirse a sus receptores específicos.

En relación con su distribución tisular, a los 60 y 180 minutos después del consumo de alimento, la mayor concentración de leptina está presente en el intestino, mientras que en el hígado, riñón, estómago y pulmón tienen cuatro veces menos y es poco abundante en la piel, músculo, corazón y cerebro.

Para entender la regulación de la leptina es necesario conocer cómo los factores ambientales (como la alimentación y el sedentarismo) y genéticos contribuyen a la variabilidad en los niveles plasmáticos y en la expresión del ARNm que codifica la expresión de la proteína.

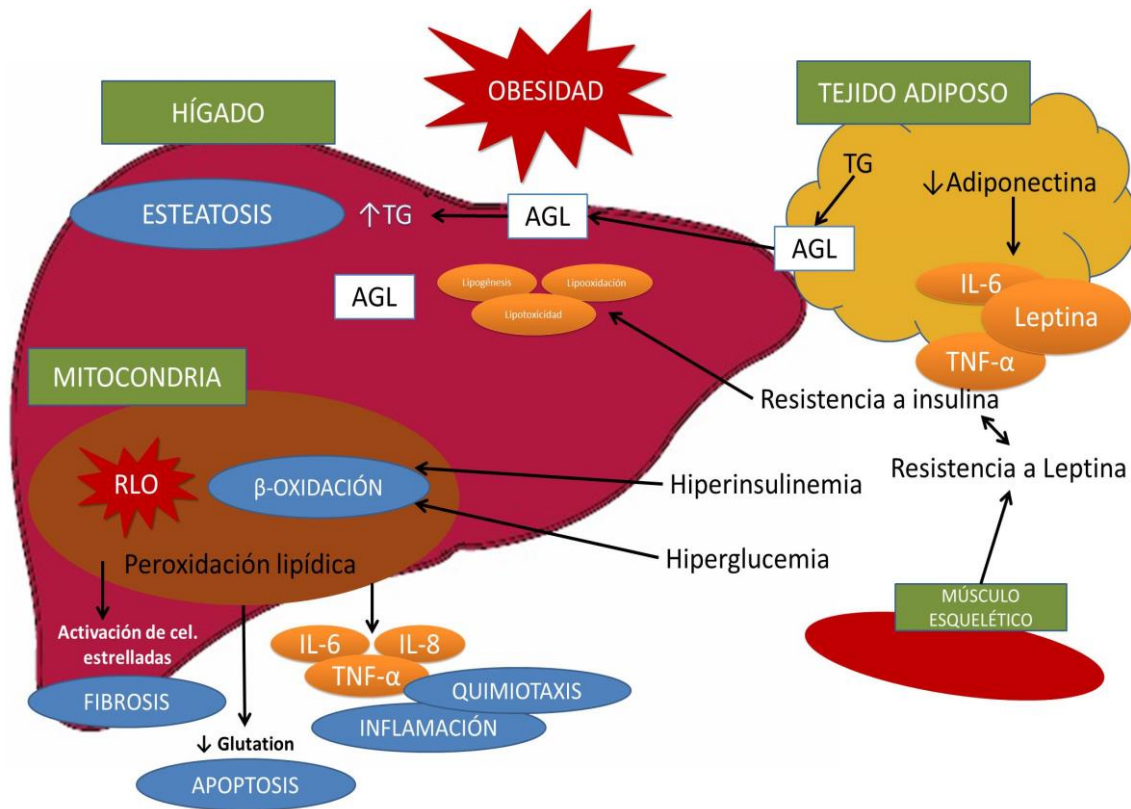


Fig. 1: Etiopatogenia de la NAFLD

Autor: Almudena Fernández Muñoz. Jun 2016

## 5.2. Síntesis y secreción de la leptina

La leptina es sintetizada y secretada casi exclusivamente por el tejido adiposo y la cantidad liberada es directamente proporcional a la masa del tejido adiposo; algunas células inmunocompetentes y endoteliales también secretan leptina, aunque en menor proporción. La hormona circula en la sangre y ejerce su acción sobre el sistema nervioso central (SNC), interviniendo en la regulación de la conducta alimenticia y el balance energético.

Actualmente se sabe que este péptido es secretado como respuesta a la alimentación con el fin de suprimir el apetito a través de una acción hipotalámica. Existen mayores concentraciones de leptina en el tejido subcutáneo que en el visceral y en menor medida es secretada por:

- Tejido adiposo marrón



- La placenta
- El hipotálamo
- La hipófisis
- Músculo esquelético
- Mucosa gástrica
- Epitelio mamario
- Células estelares del hígado

La leptina funciona como un ‘lipostato’, de tal manera que cuando la cantidad de grasa almacenada en los adipocitos aumenta, se libera leptina al flujo sanguíneo, lo que constituye una señal (retroalimentación negativa) que informa al hipotálamo que el cuerpo tiene bastantes reservas y que debe inhibir el apetito. Cuando aumenta la masa de tejido adiposo más allá del punto de equilibrio, aumenta la síntesis y secreción de leptina por lo que se estimulan varios efectos compensadores en el hipotálamo: la disminución del apetito por estimulación de péptidos anorexigénicos (que producen pérdida de apetito) y supresión de la producción de los péptidos orexigénicos (que estimulan el apetito).

Se promueve de esta manera el aumento del gasto energético incrementando la tasa de metabolismo basal y la temperatura corporal además de la modificación del punto de equilibrio hormonal para reducir la lipogénesis (producción de grasas) y aumentar la lipólisis (uso de grasa acumulada para producir energía) en el tejido adiposo.

La secreción de la leptina es pulsátil, aumenta tras la ingesta y disminuye en ayunas para generar respuestas de recuperación. Cabe destacar que estos cambios son más pronunciados en mujeres que en hombres.

Entre los factores que contribuyen a la estimulación de su síntesis se encuentran:

- Glucocorticoides
- Insulina
- Infecciones (que cursen con liberación de citoquinas como TNF e IL-1)
- Hipoxia
- Alimentación, Colecistoquinina (CCK), Gastrina plasmática.

La inhibición de su síntesis está regulada por:

- AMPc
- Hormona del crecimiento (GH)

- Catecolaminas
- Frío y ejercicio físico exhaustivo

La leptina pasa al SNC atravesando la barrera hematoencefálica a través de un sistema transportador mediado por el receptor de leptina soluble (Ob-Re), que le permite llegar al líquido cefalorraquídeo.

Se sabe que hay varios núcleos hipotalámicos involucrados en el control de la alimentación y la homeostasis de la energía: el núcleo arcuato (ARC), el paraventricular (PVN), el lateral (PFA/LHA), el ventromedial (VMN) y el dorsomedial (DMN).

### 5.3. Caracterización del receptor de leptina (OB-R)

El mecanismo de acción de la leptina incluye el reconocimiento de aquellas células que expresen el receptor para ella.

En los primeros ensayos que se llevaron a cabo en torno al receptor de leptina, se aisló el receptor de leptina del plexo coroideo de ratón y se le dio el nombre de Ob-R.

Este receptor se localiza en el hipotálamo, pertenece al tipo de receptores de citoquinas clase I y contiene un único dominio transmembrana. Presenta dominios extracelulares, constituidos por repeticiones de cuatro residuos de cisteína y por cuatro arreglos estables de su estructura secundaria de tipo fibronectina.

Actualmente se sabe que existen al menos seis isoformas del mismo, entre las cuales destacan las formas largas del receptor (OBR-L), las formas cortas (OBR-S) y las formas solubles (OBR-E).

La caracterización de las diferentes isoformas del receptor de leptina, postula que los receptores cortos están relacionados con eventos independientes del consumo de alimento tales como el control del ritmo circadiano, la maduración sexual, la función renal, la formación de hueso y la estimulación hematopoyética. Por tanto, son las formas cortas del receptor las que se encuentran en diferentes tejidos y se relacionan con el transporte de la leptina.

Las formas largas predominan en el hipotálamo, sobre todo en el núcleo arqueado y paraventricular y actúan a nivel del SNC, por lo que se piensa que es aquí donde ejercen su función como inductores de la saciedad. Por último, se sabe que las formas solubles intervienen en el transporte de la leptina a través de la barrera hematoencefálica (BHE).

#### 5.4. Mecanismo de señalización de la leptina

La revisión de estudios científicos realizados en torno a la molécula leptina [2] denota la implicación de la misma en distintas vías de señalización, entre las cuales se incluyen:

- La vía de señalización JAK2 / STAT
- PI-3K/ proteína quinasa B [Akt],
- MAPK (proteína quinasa activada por mitógenos
- ERK 1 y 2
- Las vías de señalización no canónicas (AMPK, JNK, PKC, y p38) en diversos tipos de células.

La señalización intracelular originada por la unión de leptina al receptor Ob-Rb se asocia con el sistema JAK-STAT. Las JAK son una familia de tirosina quinasa intracelulares que presentan dos sitios activos y son activadas principalmente por receptores de tipo citoquina. OB-R activa preferentemente a JAK 2, induciendo la autofosforilación del complejo leptina-receptor-JAK2. Este evento da inicio a una cascada de señalización intracelular mediada por JAK-2, que comienza con la fosforilación de varias proteínas con dominios SH2.

Estas proteínas con dominios SH2 pertenecen a tres familias diferentes:

- Las proteínas ERK (extracellular-signal regulated kinase)
- Las proteínas STAT3, que una vez fosforiladas son translocadas al núcleo, donde funcionan como reguladoras transcripcionales.
- El sistema Lep-receptor-JAK2 que incluye el sustrato IRS (insulin receptor substrate).

Una vez que la leptina se une a su receptor se produce un cambio conformacional debido a la activación de las JAKs; esta activación es generada por la fosforilación en residuos específicos de tirosina en la región citoplasmática del receptor de leptina. La fosforilación en la tirosina 1138 del receptor conduce a la posterior asociación de las proteínas STAT al complejo. La fosforilación de STAT culmina con la disociación del receptor y la translocación al núcleo para regular la expresión de genes diana, como es el gen OB (gen que codifica la expresión de la leptina).

Las proteínas IRS, aunque no poseen actividad enzimática, pueden ser fosforiladas por varios sistemas de tirosina cinasas, entre los que se incluyen los asociados a receptores de insulina y algunos receptores de citoquinas. Las IRS están relacionadas con la activación de la fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3-K). Esta enzima actúa sobre la fosforilación de fosfolípidos de la membrana plasmática con la finalidad de permitir la síntesis de inositol trifosfato (IP3), conocido mediador de la liberación de calcio a partir de los depósitos intracelulares, el cual, corriente abajo, conduce a la activación de la proteína Akt.

Existe evidencia científica suficiente para asegurar que estas vías de señalización están alteradas en diversos trastornos metabólicos como la obesidad y la Diabetes Mellitus II.

### 5.5. Resistencia a leptina

La experiencia en modelos animales [2] ha demostrado que cuando existe una dieta alta en grasa se presenta un fenómeno conocido como "hiperleptinemia", que genera una obstrucción funcional de la hormona que recibe el nombre de bloqueo leptinérgico, hecho que culmina con la aparición de la resistencia a leptina. Este hecho se acompaña de un consumo mayor de alimentos y del consiguiente desarrollo de obesidad.

Este mismo proceso ha sido también demostrado en células hepáticas humanas en las que se ha observado la pérdida de sensibilidad frente a las funciones ejercidas por la leptina y el subsecuente agravamiento de la obesidad. Los altos niveles de leptina circulante en pacientes obesos no son capaces de suprimir la alimentación ni de disminuir el peso corporal y la adiposidad.

Como ya hemos comentado, existen diferentes formas de receptores de leptina: una forma corta que se localiza en varios tejidos e interviene en el transporte de la leptina al cerebro, una forma larga que se localiza en el hipotálamo y una forma circulante o soluble que se une a la leptina y puede contribuir a su resistencia dificultando el transporte de la misma a través de la BHE.

Ensayos clínicos realizados en células hepáticas apoyan que podrían existir tres procesos básicos que contribuirían al desarrollo de la resistencia a leptina:

1. Es importante conocer que los altos niveles de leptina (característicos de la obesidad) en los tejidos periféricos estimulan las vías de señalización de la leptina y aumentan por consiguiente la expresión de sus receptores, incluidos aquellos que se encuentran en el hígado. Como ya hemos comentado, la acumulación de mediadores inflamatorios origina progresivamente un estado de estrés oxidativo hepático que permite la evolución desde esteatosis hepática simple hasta la

esteatohepatitis y fibrosis, lo cual puede evolucionar y conducir a cirrosis, fallo hepático y HCC. Una vez que la esteatosis se ha desarrollado, se ha observado que existen elementos que provocan estrés oxidativo llevando a lesión y muerte de los hepatocitos. Una anormal señalización de la leptina contribuye de manera significativa a la progresión de HCC a través de su interferencia con múltiples vías de transducción de señales.

2. La resistencia a leptina puede venir de la desregulación de sus funciones normales, entre las cuales se encuentran la inmunomoduladora, antiesteatósica y profibrogénica hepática [4]. Además, se ha sugerido que puede tener un efecto lesivo sobre la pared arterial.

Al unirse a su receptor OB-R en la membrana celular, la leptina induce la fosforilación de STAT-3, que al activarse penetra en el núcleo y regula la actividad transcripcional de los genes bajo el control de la leptina. Por lo tanto, la leptina disminuye la actividad de los factores de transcripción lipogénicos, principalmente PPAR- $\gamma$ 2 y en el hepatocito reduce la actividad de la proteína transportadora del elemento regulador de esteroides SREBP-1c.

De esta manera, induce una disminución en la expresión de las enzimas lipogénicas acetil CoA carboxilasa (ACC) y sintasa de ácidos grasos (FAS), incrementando con ello la expresión de enzimas clave en la oxidación de los ácidos grasos como la Acil-CoA oxidasa (ACO) y la carnitín-palmitoil transferasa (CPT-1), en especial en el adipocito.

Al mismo tiempo, la leptina incrementa la actividad de la quinasa AMP (AMPK), cuya acción es bloquear la formación de ACC. Este es el paso clave de su efecto anti-esteatósico.

Al bloquear ACC, bloquea al mismo tiempo la formación de malonil CoA, enzima que constituye el primer paso para la síntesis de triglicéridos y ácidos grasos. Si la expresión de malonil-CoA es inhibida, se desinhibe a su vez la expresión de la enzima CPT-1, provocando de esta manera una adecuada oxidación mitocondrial de ácidos grasos. La leptina incrementa también la expresión intracelular del coactivador de PPAR- $\gamma$ , incrementando de esta manera la actividad enzimática mitocondrial para la oxidación de ácidos grasos y la biogénesis mitocondrial.

Cuando existe resistencia a la leptina, la AMPK no ejerce su inhibición sobre ACC, con lo que se sobre expresa la enzima malonil CoA y se incrementa la síntesis de triglicéridos, bloqueándose simultáneamente su oxidación al inhibir CTP-1.

En resumen, la acumulación de lípidos en la célula  $\beta$  pancreática, del músculo esquelético y el hepatocito son al parecer los detonantes en propiciar una secreción de insulina inadecuada y en inducir resistencia periférica y hepática a la insulina. Estas observaciones han fortalecido la hipótesis unificada de la lipotoxicidad, que implica la acumulación de triglicéridos y ácidos grasos de cadena larga en el interior de tejidos clave, entre ellos, el hígado. La sobreexpresión de la leptina en el tejido hepático estimula la cascada de transducción de señales que desencadena un aumento  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos que se encuentran en exceso

3. Dado que la leptina debe cruzar la barrera hematoencefálica para ejercer sus acciones sobre el hipotálamo, se ha sugerido que este paso es de alguna manera saturable y limita en consecuencia la concentración de leptina en el cerebro.

### 5.6. Implicación de la leptina en el desarrollo de HCC

A continuación, detallaremos los mecanismos moleculares que conducen al desarrollo del HCC por medio de la leptina. Sin embargo, se debe tener en cuenta que las vías en las que la leptina interviene para el desarrollo de tumores siguen aún en pleno proceso de investigación.

#### **❖ Activación de la transcripción mediada por OBR-JAK2**

Un estudio in vitro realizado en la universidad de Stanford que fue publicado en 2015 [3] empleó como modelo de estudio células hepáticas y su objetivo principal fue detallar los posibles mecanismos moleculares que involucran a la leptina en el desarrollo del HCC.

Como ya hemos comentado, el primer paso que regula la señalización de la leptina consiste en la unión de la hormona a su receptor. A continuación, el receptor se asocia a Jak-2 y este evento permite el anclaje del factor de transcripción STAT-3. Este estudio demostró que el aumento de los niveles STAT3 se asocian con el mencionado daño hepático.

STAT3 puede funcionar bien como una oncoproteína o bien como un supresor de tumores en función de la intervención de los componentes genéticos. Los mecanismos moleculares por los cuales su actividad se posiciona en un sentido o en el otro continúan aún sin ser

dilucidados. Sin embargo, se cree que el material genético de cada individuo puede ser la clave para equilibrar la balanza en un sentido o en el otro.

El eje leptina-STAT3 regula los genes de la ciclooxigenasa (COX) -2, de la ciclina D1 (quinasa y regulador del ciclo celular D1), de la telomerasa humana transcriptasa inversa (hTERT) y VEGF. También podría intervenir en la regulación del factor nuclear kappa (NF-kB), indispensable en la generación del estrés oxidativo.

El NF-kB es un complejo proteico que controla la transcripción del ADN. NF-kB, está implicado en la respuesta celular frente a distintos estímulos, entre los que se encuentran las citoquinas, el estrés y las LDL oxidadas. La regulación defectuosa del NF-Kb está relacionada con la aparición de cáncer y de enfermedades inflamatorias y autoinmunes. En conclusión, la reciente publicación de este estudio constata que la vía STAT3 media las acciones de la leptina sobre la ingesta de alimentos, la ganancia de peso, el metabolismo de la glucosa y la función neuroendocrina, pero no influye ni en la fertilidad ni en el control glucémico de las células malignas.

#### **❖ La leptina como regulador crítico en el desarrollo del HCC mediante la modulación de la telomerasa transcriptasa inversa humana (TERT)**

Un estudio realizado en 2010 trata de evaluar la correlación entre la leptina y la telomerasa transcriptasa inversa humana (hTERT), un mediador de la inmortalización celular conocido [4].

Uno de los eventos moleculares que subyacen en el proceso de la hepatocarcinogénesis es la activación de hTERT, molécula que normalmente se encuentra suprimida en los tejidos somáticos humanos después del nacimiento.

En el presente estudio se investigó, por primera vez, la relación entre la leptina, los receptores de leptina y la expresión del mRNA que codifica hTERT en el HCC. También se intentó dilucidar las vías moleculares que pueden mediar esta interacción mediante la investigación de la regulación del promotor del gen hTERT por el estado de acetilación de histonas, así como también se estudió STAT3.

Quedó demostrado por primera vez, que la leptina induce la activación de hTERT en las células en cultivo ensayadas a través de su unión a STAT3 en el promotor de hTERT.

También se encontró que la leptina podría afectar a la progresión del carcinoma hepatocelular y la invasión a través de la interacción con las citoquinas y metaloproteinasas de la matriz en el microambiente tumorigénico. Por otra parte, se

demonstró que la modificación de las histonas contribuye a la regulación del gen de la leptina en el HCC.

#### ❖ Vía PI3K-AKT y TGF $-\beta$

Una serie de estudios realizados por la ‘‘National Natural Science Foundation of China’’ y por ‘‘the Scientific and Technological Development Projects in Shandong Province of China’’ [6] sentaron las bases para establecer la relación entre la activación del complejo de membrana PI-3K/Akt y la expresión del factor de crecimiento tumoral TGF  $-\beta$ . En células hepáticas de ratón, quedó patente que el complejo PI-3K / Akt desempeña un papel fundamental en una amplia variedad de procesos biológicos, tales como la motilidad celular, la proliferación, la supervivencia celular y la angiogénesis en las células tumorales hepáticas, proceso que conduce a la aparición del HCC.

La vía PI- 3K / Akt también juega un papel importante interviniendo en la actividad de TGF  $-\beta$ , el cual induce la transformación del epitelio mesenquimal, activando la cascada de transducción de señales que conduce al desarrollo del proceso inflamatorio en el hígado y a la invasión celular durante la carcinogénesis.

Muchos de los eventos que conducen al HCC son el resultado de la desregulación de la vía PI3-K/Akt. En modelos animales, se ha demostrado que las inyecciones de leptina provocan un incremento en la expresión de procolágeno-I, TGF- $\beta$ 1 y la actina en el músculo liso. Todo ello podría conducir al desarrollo de la cirrosis hepática.

La leptina incrementa por tanto la expresión de TGF- $\beta$  1, una potente citoquina profibrogénica. Se ha conjeturado que la leptina podría tener un efecto indirecto en la fibrosis hepática mediado principalmente por el TGF- $\beta$ 1, aunque se precisan más estudios que ayuden a clarificar la relación entre leptina y TGF- $\beta$ 1.

### 5.7. PAPEL DE LOS ESTRÓGENOS EN LA PREVENCIÓN DEL HCC

Datos epidemiológicos indican que los hombres tienen de 3 a 5 veces un mayor riesgo de desarrollar HCC en comparación con las mujeres, lo que sugiere que las hormonas sexuales juegan un papel muy importante en el desarrollo del HCC. El mecanismo por el que los estrógenos juegan un papel protector o destructivo en el HCC continúa siendo objeto de debate.



La evidencia muestra que los estrógenos suprimen la progresión de la fibrosis, el crecimiento del tumor, y la carcinogénesis en HCC. Los estrógenos actúan tanto a nivel de la membrana como en el núcleo para mediar sus acciones.

La expresión de los receptores ER- $\alpha$  y ER- $\beta$  ha sido demostrada en muchos tipos de células de cáncer de hígado y otros tejidos. ER- $\alpha$  es generalmente un activador de la proliferación de células reproductoras en muchos tipos de cáncer, incluyendo el cáncer de mama, el de ovario y el de endometrio en las mujeres. ER- $\beta$  es menos abundante en las células hepáticas que ER- $\alpha$ .

El complejo ER-proteína G (GPER) juega un papel importante en múltiples procesos fisiológicos y fisiopatológicos. La activación de GPER estimula la proliferación celular en el hepatocarcinoma, en el cáncer de endometrio, en las células de cáncer de ovario y en las células de cáncer de mama ER-negativo.

Existen además pruebas contradictorias de que la activación de GPER estimula la apoptosis dependiente de caspasas y suprime la proliferación de células cancerosas por medio del bloqueo de la polimerización de la tubulina. Se inhibe de esta forma el ciclo celular en la fase G2/M obligando a las células cancerosas a permanecer en la fase G2 sin llegar a la fase de mitosis

La línea celular HepG2 de cáncer de hígado es la más utilizada en estudios metabólicos. En general, el cáncer de hígado relacionado con la obesidad no implica ninguna infección viral. A diferencia de muchas líneas celulares de cáncer de hígado, las células HepG2 son células huésped pobres que no permiten apoyar la replicación de los virus de la hepatitis B y de la hepatitis C y por lo tanto es apropiado emplear estas células para el estudio de la interacción de la leptina y los estrógenos en el crecimiento de las células de cáncer de hígado.

En este estudio in vitro, se trataron las células HepG2 con 17  $\beta$ -estradiol (el estrógeno fisiológico más potente) y con agonistas selectivos del receptor ER para investigar el papel del 17  $\beta$ -estradiol y del ER en el desarrollo del HCC inducido por leptina. Mediante este estudio, quedó patente que el 17  $\beta$ -estradiol atenuó el crecimiento de la línea HepG2 inducida por leptina suprimiendo así la proliferación celular y promoviendo la apoptosis.

El crecimiento celular se inhibía por medio de la interferencia con la vía leptina-STAT 3 y la supresión de la vía SOCS3. Se activaron entonces las vías ERK y p38/MAPK.

Sorprendentemente, la activación de los tres subtipos diferentes de RE (GPER, ER- $\alpha$  y ER- $\beta$ ) desencadenó distintos resultados, lo que tiene una gran importancia desde el punto de vista clínico.

GPER demostró ser más potente que ER- $\beta$ , que a su vez es más potente que ER- $\alpha$  suprimiendo la proliferación e induciendo la apoptosis. La activación de ER- $\alpha$  o GPER reduce la señalización STAT 3 mediada por leptina e incrementa la cascada ERK sin intervenir con las vías SOCS3 y p38/MAPK. Sin embargo, ER- $\beta$  disminuye la señalización de STAT3 y activa las vías SOCS3 y p38/MAPK sin afectar a la señalización de ERK. Tomados en conjunto, nuestros resultados relacionan la obesidad inducida por leptina con los estrógenos y los receptores de estrógenos en las células HepG2.

### 5.8. Leptina y dieta

Conviene tener presente que la influencia de la dieta sobre la acción de la leptina y su receptor es vital para la prevención de la resistencia a la leptina. Un consumo crónico elevado de lípidos tiene como consecuencia la hiperleptinemia y la consiguiente aparición de la resistencia a la leptina.

Además, la composición de ácidos grasos de la dieta afecta a la acción de la leptina a través de su receptor, quedando patente que la concentración de los mismos influye negativamente en la producción de citoquinas mediadoras de la inflamación. Esto se explica por una menor concentración de la expresión de receptores de leptina en el hipotálamo de animales consumiendo dietas con alto contenido de grasa.

También, la composición de ácidos grasos en la dieta podría afectar la acción de la leptina mediante su receptor, pues se ha visto que la concentración de ácidos grasos insaturados en la dieta influye negativamente en la producción de citoquinas

La producción de AMPc guarda relación con la composición lipídica de la dieta. La molécula de AMPc tiene la capacidad de interrumpir la señalización por medio de las vías Jak/STAT y además, tiene la capacidad de inhibir la fosforilación de STAT-3.

La ingestión en exceso de ácidos grasos saturados aumenta la producción de AMPc. Por lo anterior, es necesario conocer mejor la influencia de la dieta sobre la acción de la leptina y desarrollar estrategias que ayuden a la prevención y tratamiento de la obesidad.

## 6. Conclusiones

---

La obesidad se considera en la actualidad como uno de los grandes problemas médicos en todo el mundo, pero sobre todo en países desarrollados, donde afecta a todo el espectro poblacional.

Actualmente se postula que la obesidad está directamente relacionada con el desarrollo del hígado graso no alcohólico, patología que engloba desde la esteatosis simple hasta la esteatohepatitis con grados variables de fibrosis, y que en la actualidad se considera la enfermedad hepática más frecuente en los países occidentales.

El descubrimiento de que el tejido adiposo está sometido a un estado de inflamación crónica y se comporta como un órgano endocrino capaz de secretar adipocinas ha permitido establecer un nexo de unión entre las alteraciones metabólicas que conducen a la acumulación de ácidos grasos y la inflamación hepática, reforzando el papel de la lipotoxicidad hepatocelular en la patogenia del NAFLD.

La sobreexpresión de leptina es característica de la obesidad, y ha sido relacionada con el aumento en la incidencia y progresión de tumores malignos, entre ellos el HCC. Se ha demostrado su implicación funcional y metabólica en el desarrollo de algunas patologías metabólicas relacionadas con el síndrome metabólico, tales como obesidad, resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2.

En la obesidad, los niveles séricos de leptina están aumentados en proporción al IMC, por lo que se postula la existencia de un fenómeno de ‘resistencia a la leptina’ o respuesta deficiente en pacientes que desarrollan EHNA. En el hepatocito, estudios *in vitro* han mostrado claramente el papel de la leptina en la proliferación, diferenciación y migración de las células expuestas al exceso de la hormona circulante. Todo esto conduce progresivamente al desarrollo del HCC.

Los mecanismos moleculares que se postulan como potenciales desencadenantes del HCC incluyen las vías de señalización JAK/STAT3, PI-3K/Akt y la telomerasa transcriptasa inversa. Sin embargo, existen aún lagunas que no permiten entender por completo el campo de la señalización de la leptina en relación con el HCC.

La disfunción originada por la acumulación de la leptina y otros mediadores inflamatorios contribuye a la evolución de esteatosis a esteatohepatitis y fibrosis, lo que puede conducir a cirrosis, pérdida de la funcionalidad y finalmente carcinoma hepatocelular (HCC). Una vez que la esteatosis se ha desarrollado, se ha observado que

existen elementos que provocan estrés oxidativo llevando a lesión y muerte de los hepatocitos.

Para concluir, cabe resaltar que será necesaria una investigación clínica más exhaustiva así como un mayor número de estudios con células humanas para poder comprender totalmente los mecanismos moleculares que desencadenan el HCC mediado por la obesidad

## 7. BIBLIOGRAFÍA

---

- [1] Tiniakos DG, Vos MB, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: pathology and pathogenesis. *Annu Rev Pathol.* 2010;5:145–71. [PubMed]
- [2] *Annu Rev Pathol. Obesity, Inflammation, and Cancer.* 2016 May; [PubMed]
- [3] Adams LA, Lindor KD. Nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Epidemiol.* 2007; [PubMed]
- [4] Alicia Dorantes Cuellar, Cristina Martínez. *Endocrinología clínica (4ªED).* Manual Moderno. 2012.
- [5] Nikolaos Stefanou, Vassilis Papanikolaou, Yoichi Furukawa, Yusuke Nakamura, and Aspasia Tsezou. Leptin as a critical regulator of hepatocellular carcinoma development through modulation of human telomerase reverse transcriptase. 2010 Oct; [PubMed]
- [6] Zabolotny JM, Bence-Hanulec KK, Stricker-Krongrad A, Haj F, Wang Y, Minokoshi Y, Kim YB, Elmquist JK, Tartaglia LA, Kahn BB, Neel BG. PTP1B regulates leptin signal transduction in vivo. 2004 Apr; [PubMed]
- [7] Nan Jiang, Rongtong Sun, and Qing Sun. Leptin signaling molecular actions and drug target in hepatocellular carcinoma 2014 Nov; [PubMed]
- [8] WHO World Health Organization Fact Sheet for World Wide Prevalence of Obesity. 2006. [Accessed November 3, 2014]
- [9] Jung UJ, Choi MS. Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. Apr 2014; [PubMed]
- [11] WGO Practice Guideline - Hepatocellular Carcinoma (HCC)