



REVISIÓN

Papel de las lipasas metabólicas y la lipotoxicidad en el desarrollo de esteatosis hepática y esteatohepatitis no alcohólica



CrossMark

Alba Berlanga^a, Esther Guiu-Jurado^a, José Antonio Porras^{a,b},
Gemma Aragonès^a y Teresa Auguet^{a,b,*}

^a Grupo de recerca GEMMAIR (AGAUR)-Medicina Aplicada, Departamento de Medicina y Cirugía, Universidad Rovira i Virgili (URV), Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili (IISPV), Tarragona, España

^b Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario Joan XXIII, Tarragona, España

Recibido el 4 de febrero de 2015; aceptado el 4 de marzo de 2015

Disponible en Internet el 3 de junio de 2015

PALABRAS CLAVE

Lipasas metabólicas;
Lipotoxicidad;
Enfermedad del
hígado graso no
alcohólica

Resumen La enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) se ha convertido en el trastorno hepático más común en los países desarrollados, que abarca condiciones patológicas que van desde la esteatosis simple a la esteatohepatitis no alcohólica, cirrosis y hepatocarcinoma. A menudo la patogenia de la EHGNA ha sido interpretada por la hipótesis del «doble impacto», donde tras la acumulación de lípidos hepáticos tendría lugar la aparición de mediadores proinflamatorios que inducirían inflamación, lesión hepatocelular y fibrosis. Actualmente, el modelo propuesto sugiere que la constante exposición de los hepatocitos a ácidos grasos libres

Abreviaturas: ATP: adenosín trifosfato; AG: ácidos grasos; AGL: ácidos grasos libres; AGPAT: acil-glicerol-fosfato-acil transferasa; APOC3: apolipoproteína C3; ATGL: lipasa de triglicéridos del tejido adiposo; ChREBP: proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos; CB1/2: receptor de cannabinoides 1/2; CD36: clúster de diferenciación 36; DAG: diacilglicerol; DGAT: diacilglicerol aciltransferasa; DGAT2: diacilglicerol aciltransferasa 2; DM2: diabetes mellitus tipo 2; EHGNA: enfermedad del hígado graso no alcohólica; EHNA: esteatohepatitis no alcohólica; FAS: sintasa de ácidos grasos; FABP: proteína de unión de ácidos grasos; FADH2: flavín adenín dinucleótido; FATP: proteína transportadora de ácidos grasos; G6Pasa: glucosa-6 fosfatasa; GPAT: glicerol-fosfato-acil-transferasa; GS: glucógeno sintasa; GSK3: quinasa glucógeno sintasa 3; GLUT: transportador de glucosa; IL-6: interleucina 6; NADH: nicotinamida adenina dinucleótido; OAS: oligonucleótidos antisentido; LpL: lipoproteína lipasa; LxRα, receptor X hepático; PAP: fosfatasa del ácido fosfatídico; PDK1: proteína quinasa D; PEPCK: fosfoenolpiruvato carboxiquinasa; PIP2: fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato; PIP3: fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato; PK: proteína cinasa; PKCε: proteína cinasa Cε; PI(3)K: fosfatidilinositol 3; PNPLA3: Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3; PPARγ: receptor gamma activado por el factor proliferador de peroxisomas; RI: resistencia a la insulina; ROS: especies reactivas de oxígeno; RTK: receptor tirosina cinasa de la insulina; SREBP1c: proteína de unión al elemento regulador de esteroles; SM: síndrome metabólico; SRI/II: sustrato del receptor de la insulina I/II; TAB: tejido adiposo blanco; TG: triglicéridos; TNF-α: factor de necrosis tumoral alfa.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: tauguet.hj23.ics@gencat.cat (T. Auguet).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.arteri.2015.03.003>

0214-9168/© 2015 Sociedad Española de Arteriosclerosis. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Metabolic lipases;
Lipotoxicity,
Non-alcoholic fatty
liver disease

y sus metabolitos, agentes potencialmente lipotóxicos, estarían contribuyendo al desarrollo de EHGNA y resistencia hepática a la insulina; sugiriendo así un papel primordial para las lipasas metabólicas intracelulares en este proceso.

© 2015 Sociedad Española de Arteriosclerosis. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Role of metabolic lipases and lipotoxicity in the development of non-alcoholic steatosis and non-alcoholic steatohepatitis

Abstract Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has become the most common liver disease in developed countries, covering a spectrum of pathological conditions ranging from single steatosis to non-alcoholic steatohepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Its pathogenesis has been often interpreted by the "double-hit" hypothesis, where the lipid accumulation in the liver is followed by proinflammatory mediators inducing inflammation, hepatocellular injury and fibrosis. Nowadays, a more complex model suggests that free fatty acids and their metabolites could be the true lipotoxic agents that contribute to the development of NAFLD and hepatic insulin resistance, suggesting a central role for metabolic lipases in that process.

© 2015 Sociedad Española de Arteriosclerosis. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) se ha convertido en el trastorno hepático más común en los países desarrollados, afectando aproximadamente a un 30% de adultos y a un 10% de niños^{1,2}. Esta enfermedad abarca un espectro anatomopatológico de condiciones que van desde la simple acumulación de triglicéridos (TG) hepáticos (esteatosis simple) a la esteatosis con inflamación (esteatohepatitis), cirrosis e incluso hepatocarcinoma^{2,3}. Aproximadamente el 20% de los pacientes con esteatohepatitis progresan hacia cirrosis e insuficiencia hepática^{4,5}. De hecho, la esteatohepatitis asociada a cirrosis es actualmente la tercera causa más frecuente de trasplante hepático en los Estados Unidos⁶.

La EHGNA es considerada como la manifestación hepática del síndrome metabólico (SM) y se encuentra fuertemente asociada a la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y la obesidad. Tanto la obesidad como la DM2 son consecuencias del estilo de vida moderno, que se caracteriza por el aumento de la ingesta de ácidos grasos (AG) saturados, trans-insaturados y fructosa en la dieta, así como el sedentarismo⁷.

Aunque los mecanismos implicados en la patogénesis y progresión de la EHGNA no son del todo conocidos³, la resistencia a la insulina (RI) en el músculo, tejido adiposo y en el hígado parece desempeñar un papel central^{8,9}. El deterioro en la señalización de la insulina en el tejido adiposo provoca un aumento de la lipólisis, generando así un flujo de AG hacia el hígado que promueven la RI hepática, con el consiguiente aumento de la lipogénesis *de novo* y acumulación de TG en este órgano^{10,11}. Aproximadamente el 60% de los AG que participan en el cúmulo de TG hepáticos en la EHGNA proceden de la lipólisis del tejido adiposo, el 15% directamente de la dieta (ingesta excesiva de grasa e hidratos de carbono) y el 25% restante proceden del incremento

de la ratio de la lipogénesis *de novo* controlada por factores de transcripción como SREBP1c (proteína de unión al elemento regulador de esterol), ChREBP (proteína de unión al elemento de respuesta a hidratos de carbono), LXR α (receptor X hepático) y PPAR γ (receptor gamma activado por el factor proliferador de peroxisomas). Muchos son los estudios que han demostrado el incremento de la expresión hepática de genes involucrados en la lipogénesis *de novo* en pacientes con EHGNA¹²⁻¹⁶. En este sentido, nuestro grupo, al estudiar la expresión de genes involucrados en el metabolismo lipídico hepático en mujeres obesas mórbidas con EHGNA, observó que la expresión hepática de FAS (sintasa de ácidos grasos), importante enzima lipogénica bajo el control de LXR α ¹⁷, estaba significativamente aumentada en mujeres con esteatosis/esteatohepatitis no alcohólica, respecto a aquellas con histología hepática normal¹⁸.

Recientemente se ha observado que la constante exposición de los hepatocitos a metabolitos lipídicos potencialmente tóxicos, tales como AG, ácido fosfatídico, ácido lisofosfatídico, ceramidas y diacilgliceroles (DAG), pueden dar lugar a efectos «lipotóxicos»³, caracterizados por estrés en el retículo endoplásmico, inflamación, apoptosis, necrosis, *ballooning* y formación de cuerpos de Mallory-Denk, características histopatológicas propias de la esteatohepatitis¹⁹. Estas observaciones refuerzan la hipótesis de que los metabolitos derivados de los TG serían los verdaderos agentes tóxicos^{20,21}, y que la hidrólisis de los TG hepáticos a través de lipasas metabólicas estarían contribuyendo al desarrollo de la EHGNA¹⁹.

Dado que actualmente no existen terapias efectivas para la EHGNA, a excepción de la pérdida de peso, los esfuerzos en la investigación actual se centran en la comprensión de la patogenia de esta enfermedad, con la finalidad de identificar nuevas dianas terapéuticas. En este sentido, esta revisión pretende actualizar los conocimientos sobre

la contribución de las lipasas metabólicas hepáticas y mediadores lipotóxicos en el desarrollo de la esteatosis y esteatohepatitis no alcohólica.

Rol de las lipasas metabólicas en la patogénesis y progresión de la enfermedad del hígado graso no alcohólico

Debido a que la EHGNA se caracteriza principalmente por la acumulación hepática de lípidos²², las lipasas metabólicas se han involucrado en la patogénesis y progresión de la enfermedad y se encuentran actualmente en el centro de interés.

Los AG liberados del tejido adiposo son transportados hacia el hígado y captados mediante transportadores celulares específicos como clúster de diferenciación 36 (CD36) y proteína transportadora de ácidos grasos (FATP) o por difusión pasiva²³. Una vez dentro de los hepatocitos son esterificados y almacenados en forma de TG. Estudios en ratones modificados genéticamente que sobreexpresan diacilglicerol aciltransferasa 2 en el hígado, enzima que cataliza el último paso en la formación de TG, han objetivado un aumento de la acumulación hepática de TG sin inflamación o RI hepática. Sin embargo, la silenciación de la expresión de diacilglicerol aciltransferasa 2 previene el cúmulo hepático de TG, pero causa daño lipotóxico debido al exceso de AG libres¹⁹. Estos hallazgos sugieren que los TG podrían estar protegiendo contra la lesión hepática mediada por lípidos. Sin embargo, las propiedades antilipotóxicas de los TG se ven limitadas debido a que las lipasas metabólicas pueden actuar sobre ellos liberando AG libres, generando así una nueva fuente de intermediarios lipotóxicos¹⁹.

Diacilgliceroles, resistencia a la insulina hepática y enfermedad del hígado graso no alcohólico

La acción de la insulina en las células hepáticas requiere un conjunto de señales intracelulares coordinadas, que se basan sobre todo en procesos de fosforilación y desfosforilación. Durante este proceso, la insulina se une a su receptor y activa la vía de la PI(3)K y Akt2, suprimiendo la producción hepática de la glucosa mediante 2 mecanismos principales: primero, la disminución de la expresión de las enzimas gluconeogénicas mediante la fosforilación y la exclusión nuclear del factor de transcripción FOXO1, y en segundo lugar, el aumento de la actividad glucógeno sintasa (GS), mediante la fosforilación e inactivación de la cinasa glucógeno sintasa 3 (GSK3)²⁴⁻²⁶ (fig. 1 A).

El desarrollo de la EHGNA se encuentra fuertemente asociado a la resistencia a la insulina hepática. Esta relación ha sido demostrada en ratas sometidas a una dieta rica en grasa durante 3 días, las cuales desarrollaron esteatosis y RI hepática, sin cambios en el peso corporal, adiposidad o RI en el músculo esquelético²⁷. Curiosamente, en el hígado de estos animales se observó un aumento de DAG. La conexión entre la acumulación de DAG y RI hepática podría atribuirse a la activación de la proteína quinasa C ϵ (PKC ϵ), altamente expresada en el hígado. Estos cambios se han asociado con reducciones en la fosforilación del receptor de la insulina y en la actividad Akt2. Por lo tanto, en este modelo, la

actividad de la insulina para inducir la síntesis de glucógeno e inhibir la gluconeogénesis se ve disminuida debido a la activación de PKC ϵ mediada por DAG, promoviendo la unión de PKC ϵ en el dominio intracelular del receptor de la insulina (fig. 1 B).

PKC ϵ es un miembro de la familia PKC, compuesta por 3 grupos diferentes: convencional (α , β I, β II, y γ), novel (δ , ϵ , η , y θ) y atípico (ζ y λ)²⁸. PKC ϵ es una isoforma novel con una afinidad mucho mayor por el DAG que las isoformas PKC convencionales²⁹. El papel específico de PKC ϵ en la RI hepática fue examinado en un estudio en el que se utilizaron oligonucleótidos antisentido (OAS), que actúan preferentemente en el hígado y el tejido adiposo³⁰. Samuel et al. demostraron en ratas que la disminución de la expresión hepática de PKC ϵ mediante OAS específicos las protegía del desarrollo de RI hepática inducida por lípidos, a pesar del aumento en el contenido de lípidos hepáticos³¹. Estos resultados fueron replicados en ratones *knockout* para el gen PKC ϵ , donde también se observó una protección frente al desarrollo de RI hepática inducida por una dieta rica en grasa³². Posteriormente, la interacción entre DAG, la activación de PKC ϵ y la RI hepática ha sido demostrada en numerosos modelos de EHGNA asociada a resistencia hepática a la insulina³³⁻⁴⁴.

Estos modelos para la resistencia hepática a la insulina inducida por lípidos han sido translacionados a humanos. Kumashiro et al. evaluaron los posibles mecanismos implicados en la RI hepática en un grupo de pacientes con obesidad mórbida y EHGNA. En este caso, el contenido de DAG hepático y la activación de PKC ϵ fueron los predictores más fuertes de RI hepática⁴⁵. En cambio, no encontraron asociación entre la sensibilidad a la insulina y otros factores implicados en el desarrollo de RI hepática, tales como ceramidas, marcadores de estrés del retículo endoplásmico o concentraciones de citoquinas inflamatorias. Estos resultados fueron replicados en otro estudio en el que se demostró también el contenido de DAG hepático como el mejor predictor de la RI hepática en humanos obesos, mientras que no hubo asociación con el contenido de ceramidas o marcadores de inflamación hepáticos⁴⁶. De hecho, se ha sugerido que la inflamación hepática es una consecuencia, y no una causa, de la resistencia a la insulina. Por lo tanto, aunque el exceso de ingesta de calorías conduce a la obesidad, solo aquellos que desarrollan esteatosis hepática desarrollarán RI. Estos resultados sostienen la hipótesis de que el paso clave en la patogénesis de la resistencia a la insulina hepática consiste en la acumulación de DAG, dando lugar a la activación de PKC ϵ .

Mecanismos implicados en la acumulación hepática de diacilgliceroles

Los DAG pueden acumularse en el hígado por diferentes motivos. En primer lugar, por un incremento del transporte de quilomicrones remanentes hacia el hígado. En segundo lugar, por un incremento de la liberación de AG por parte de los adipocitos. En tercer lugar, la hiperinsulinemia posprandial debido a la RI en el músculo esquelético puede derivar en un aumento de la lipogénesis de *ново* hepática, causando un aumento del contenido hepático de DAG. Finalmente, la disminución de la función mitocondrial puede también estar participando en la acumulación del contenido hepático de

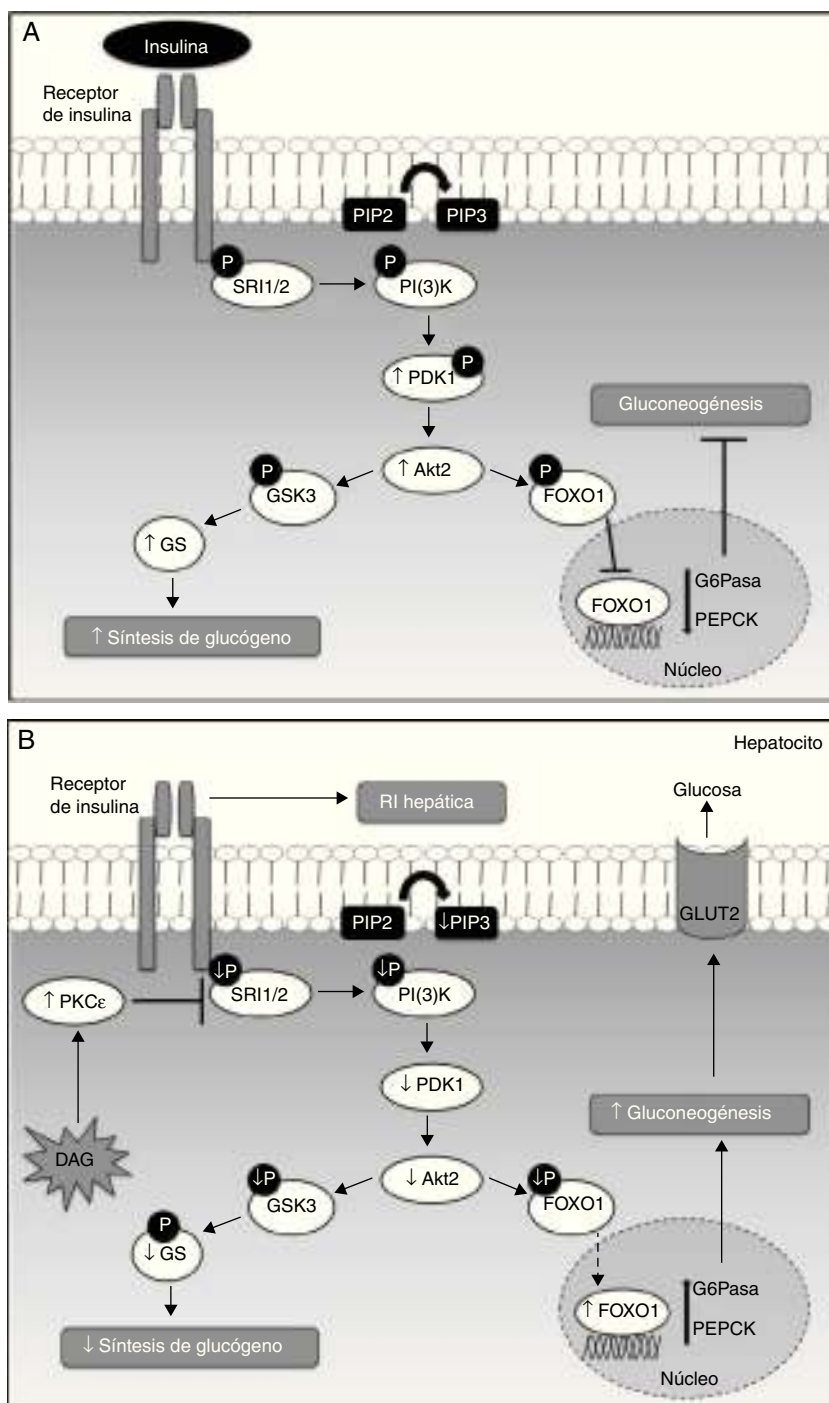


Figura 1 A. Señalización hepática de la insulina. La insulina, a su llegada al hepatocito, se une y activa el receptor tirosina cinasa de la insulina (RTKI), el cual promueve la fosforilación del sustrato del receptor de la insulina (SRI), siendo el SRI2 el más importante a nivel hepático. La fosforilación de SRI2 genera sitios de unión para la quinasa fosfatidilinositol 3 —PI(3)K—. La unión de PI(3)K a SRI2 convierte el lípido de membrana fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP2) en fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP3) que, a su vez, recluta Akt2. Bajo condiciones de estímulo de insulina, la proteína cinasa D (PDK1) es fosforilada y activa Akt2, que parece suprimir la producción hepática de glucosa mediante 2 mecanismos principales: primero, la disminución de la expresión de las enzimas gluconeogénicas mediante la fosforilación y la exclusión nuclear de la proteína FOXO1, que inhibe la activación de la expresión de proteínas gluconeogénicas como la glucosa-6 fosfatasa (G6Pasa) y la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK), dando lugar a la supresión de la gluconeogénesis hepática; y en segundo lugar, el aumento de la actividad de la glucógeno sintasa (GS) mediante la fosforilación e inactivación de la quinasa glucógeno sintasa 3 (GSK3). En su forma inactiva (fosforilada), GSK3 no cataliza la fosforilación e inactivación de la GS, permitiendo así la síntesis de glucógeno hepática. B. Mecanismos moleculares de DAG-PKCε que median la resistencia a la insulina hepática. La acumulación hepática de DAG permite la activación y translocación de PKCε hacia la membrana plasmática, lo que provoca la inhibición del receptor quinasa de la insulina y su señalización intracelular.

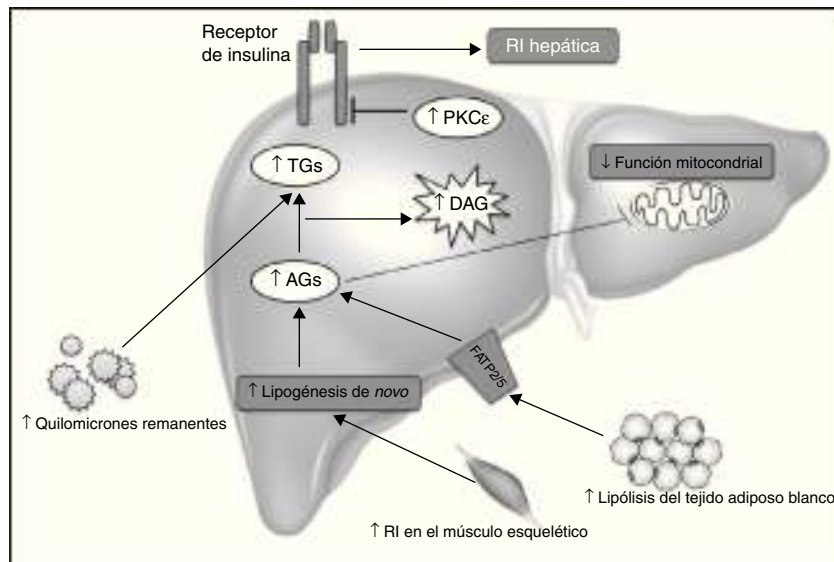


Figura 2 Mecanismos implicados en la acumulación hepática de DAG.

El aumento en el contenido hepático de DAG es el resultado de un desequilibrio entre la captación/liberación de ácidos grasos (AG), la tasa de oxidación mitocondrial de AG y la conversión de los DAG a triglicéridos (TG) durante la lipogénesis hepática. Que la ratio de la ingesta energética sea superior al gasto energético es una de las causas de la EHGA y resistencia a la insulina (RI) hepática inducida por el mecanismo DAG-PKC ϵ . La predisposición de factores genéticos, como las variantes genéticas de APOC3 que provocan un aumento de las concentraciones plasmáticas APOC3, dan lugar a la supresión de la actividad de la lipoproteína lipasa, el aumento de quilomicrones remanentes posprandiales, y el aumento de la captación hepática de AG, contribuyendo al incremento del contenido hepático de DAG. Defectos en el almacenamiento lipídico en los adipocitos, tales como las lipodistrofias, así como alteraciones genéticas o adquiridas en la oxidación mitocondrial de AG, pueden contribuir a la acumulación hepática de DAG y consecuente desarrollo de EHGA y RI hepática. Finalmente, los ácidos grasos liberados durante la lipólisis en los adipocitos entrarían en el hígado mediante transportadores específicos de AG (FATP2/5), aumentando el contenido hepático de DAG.

DAG⁴⁷ (fig. 2). Cabe mencionar además que el sistema endocannabinoide parece tener un papel emergente en el desarrollo de RI hepática y acumulación de lípidos en el hígado.

Sistema endocannabinoide en el tejido hepático

Los endocannabinoides entran en las células hepáticas mediante transportadores específicos, tales como proteínas de unión de ácidos grasos (FABPs), FABP5 y FABP7, actuando^{48,49} sobre los receptores de cannabinoides 1 (CB1) y 2 (CB2). Tanto los receptores de endocannabinoides como endocannabinoides específicos, como el 2-aciletanolamida (2-AE), se encuentran incrementados en el hígado de modelos de ratón con obesidad inducida por la dieta^{50,51}. Además, en un estudio propio realizado en mujeres con obesidad mórbida y EHGA, observamos que la expresión hepática de CB1 se encuentra significativamente incrementada en mujeres con esteatohepatitis comparadas con las que presentan únicamente esteatosis hepática⁵². Parece que la activación de CB1 podría activar la lipogénesis hepática mediante la inducción de estrés en el retículo endoplasmático, así como la activación de factores de transcripción (por ejemplo SREBP1c)⁵³, proceso que estaría contribuyendo a la formación de DAG. Finalmente, el DAG acumulado podría ser transformado en 2-AE de nuevo, dando lugar a un bucle de retroalimentación positiva que estaría induciendo y agravando la esteatosis y la RI hepática⁵⁴.

Aumento de la ingesta calórica

La mayor causa de la HGNA en los países desarrollados se atribuye especialmente a un desequilibrio energético, donde la ingesta calórica excede al gasto calórico, conduciendo a un aumento de lípidos liberados hacia el hígado⁵⁵⁻⁵⁷.

En este sentido, Jonayvaz et al. demostraron que los ratones que seguían una dieta cetogénica rica en grasa desarrollaban esteatosis hepática severa y RI a pesar de manifestar un incremento de gasto energético y pérdida de peso. En este caso, el contenido de DAG hepático fue incrementado en un 350% debido a la activación de PKC ϵ , a la disminución de la fosforilación de IRS2 inducida por insulina, y a la disminución de la supresión de la producción hepática de glucosa durante un clamp hiperinsulinémico-euglucémico.

En humanos diferentes estudios sugieren que la movilización regional de los TG circulantes y el transporte de ácidos grasos se encuentran alterados en los pacientes obesos que padecen EHGA. La lipoproteína lipasa (LpL) hidroliza los TG circulantes, seguido por la absorción de estos en el tejido hepático a través de los transportadores celulares FATP y CD36⁵⁸. La actividad LpL en el tejido adiposo en respuesta a la insulina parece estar disminuida en pacientes con obesidad⁵⁹, mientras que la EHGA se ha asociado con el incremento de la expresión hepática de LpL, FATP y

CD36⁶⁰⁻⁶². En general, parece que la sobreexpresión hepática de LpL^{63,64} o de CD36 provoca la acumulación hepática de lípidos, así como la resistencia a la insulina hepática⁶⁵, mientras que la supresión hepática de FATP protege contra el desarrollo de esteatosis hepática e IR⁶⁶.

En su conjunto, estos estudios sugieren que en la obesidad inducida por un aumento de la ingesta calórica los ácidos grasos son transportados desde el tejido adiposo hacia el hígado y el músculo esquelético, donde son reesterificados en DAG, induciendo así resistencia a la insulina en estos órganos.

Disminución de la función mitocondrial

En el hepatocito la β -oxidación mitocondrial es la principal ruta de oxidación de los ácidos grasos⁶⁷. Las coenzimas reducidas flavín adenín dinucleótido y nicotinamida adenina dinucleótido, generadas en el propio proceso y en la oxidación del acetil-CoA mediante el ciclo de los ácidos tricarbónicos, donan sus electrones a la cadena respiratoria, produciéndose adenosín trifosfato (ATP) por la fosforilación de la adenosín difosfato mediada por la ATP sintasa. Además, las mitocondrias son también la principal fuente de especies reactivas del oxígeno (ROS)⁶⁸. Las ROS producidas en este y otros procesos son neutralizadas por sistemas enzimáticos, sobresaliendo la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa, y por defensas celulares vitamínicas, principalmente la vitamina E y la C. En pacientes con EHGA se ha descrito disfunción mitocondrial, anomalías ultraestructurales^{69,70}, actividad reducida de los complejos de la cadena respiratoria^{68,71}, fosforilación oxidativa deficiente, una menor capacidad para sintetizar ATP, un descenso en la concentración de ATP intracelular⁷² y daño en el ADN mitocondrial⁷³.

Zhang et al.⁴⁴ demostraron que la disminución de la función mitocondrial hepática puede ser un factor predisponente de EHGA y RI hepática. Este estudio observó que los ratones *Knockout* para acil-CoA deshidrogenasa de cadena larga, los cuales tienen reducida la función mitocondrial en el hígado, son propensos a padecer esteatosis hepática asociada a un incremento del contenido de DAG, a la activación de PKC ϵ y al desarrollo de RI hepática cuando estos son alimentados con una dieta rica en grasa. En humanos la asociación de la disminución de la oxidación hepática con EHGA es menos clara, ya que existen estudios discrepantes. Algunos han demostrado una disminución de la oxidación^{74,75}, mientras que otros han sugerido un incremento en el metabolismo mitocondrial hepático⁷⁶.

Defectos en el almacenamiento lipídico

Las lipodistrofias son un grupo de síndromes de carácter congénito u adquirido cuya característica clínica principal es la pérdida parcial o completa del tejido adiposo. A nivel metabólico se caracterizan por una severa resistencia a la insulina, hipertrigliceridemia grave, bajos niveles circulantes de leptina, adiponectina y colesterol HDL, causado por la acumulación ectópica de grasa, lo que incluye el desarrollo de la EHGA⁷⁷. El 80% de los pacientes con lipodistrofia cumplen los criterios definitorios de SM⁷⁸, sin embargo,

presentan bajos niveles de hormonas derivadas de los adipocitos en comparación con pacientes con SM asociado a la obesidad⁷³. Así, las lipodistrofias, situaciones en las que no existe expansión del tejido adiposo subcutáneo ni visceral, ofrecen una posibilidad única para evaluar de forma específica el papel del cúmulo hepático de grasa en el desarrollo de la EHGA⁴⁷.

Los ratones que expresan *the dominant-negative protein A-ZIP/F1* carecen prácticamente de tejido adiposo blanco (ratones sin grasa) y desarrollan acumulación ectópica de grasa en el hígado y en el músculo esquelético, dando lugar a la aparición de una marcada RI periférica y hepática. Esta RI puede ser corregida mediante el trasplante de tejido adiposo blanco procedente de ratones sanos, lo que se traduce en una disminución de la cantidad de grasa hepática acumulada y de la RI, tanto del tejido hepático como de tejidos periféricos⁷⁹. Además, Shimomura et al., utilizando de nuevo un modelo murino de lipodistrofia, demostraron también su reversibilidad mediante la administración sistémica de leptina recombinante⁸⁰.

En humanos se han estudiado también pacientes con lipodistrofia relacionada con la mutación en la perilipina-1, responsable de la inhibición de la triglicérido-lipasa intracelular. En estos pacientes, debido al aumento de la lipólisis, se observa una reducción del tejido graso subcutáneo y el desarrollo de EHGA⁸¹. En los pacientes con lipodistrofia también se ha podido demostrar beneficio de la administración exógena de leptina recombinante⁸². Petersen et al., observaron que la administración exógena de leptina en pacientes lipodistróficos reducía significativamente el contenido lipídico hepático y muscular, debido principalmente a la disminución de la ingesta calórica, con la consiguiente mejora en la sensibilidad a la insulina tanto hepática como de los tejidos periféricos⁸³. Recientemente, se ha comprobado que, en pacientes con diferentes grados de lipodistrofia, la terapia sustitutiva con leptina mejoraba el daño histológico del tejido hepático⁷⁷.

En conjunto, los estudios realizados en modelos animales y en pacientes lipodistróficos demuestran una clara disociación entre la cantidad de tejido graso corporal global o la cuantía del tejido graso visceral, y el grado de RI hepática, sugiriendo que la distribución y acumulación específica del tejido graso al nivel del hígado y del músculo esquelético, no la cantidad graso corporal total, es la que determina la RI hepática y muscular⁸⁴.

Este último concepto estaría apoyado por el papel que el receptor PPAR γ estaría desempeñando en el desarrollo de la esteatosis hepática. PPAR γ está altamente expresado en el tejido adiposo, ejerciendo un papel clave en la captación de los ácidos grasos por parte de los adipocitos, así como en su diferenciación celular. Existen pacientes con ciertas mutaciones que tienen disminuida la actividad de PPAR γ . Estos desarrollan síndrome metabólico y EHGA, causado por el aumento del flujo lipídico hacia el hígado⁸⁵. A pesar de que PPAR γ está altamente expresado en el tejido adiposo, se expresa también a nivel hepático pero en menor grado. Ratones deficientes en la actividad hepática de PPAR γ están protegidos contra el desarrollo de esteatosis hepática, sugiriendo que PPAR γ desempeña un papel importante en la regulación del cúmulo de lípidos hepáticos⁸⁶. Pacientes en tratamiento con tiazolidindionas,

fármacos agonistas de PPAR γ , presentan una disminución de la acumulación de lípidos a nivel hepático y del músculo esquelético, favoreciéndose el depósito lipídico en el tejido graso subcutáneo y el aumento de la sensibilidad hepática a la insulina^{87,88}.

Así, los conocimientos aportados por los estudios de las lipodistrofias parecen apuntar a que la resistencia hepática a la insulina está determinada por el cúmulo específico de grasas a nivel hepático, y no por el grado de obesidad global, y en segundo lugar, resaltan la importancia del tejido adiposo y de su capacidad adaptativa para almacenar el exceso de grasas, hipertrofiándose, protegiendo al hígado de un cúmulo lipídico excesivo.

Resistencia a la insulina en el músculo esquelético

En este apartado se pretende dilucidar el papel de la RI muscular en la patogénesis de la EHGA y la RI hepática.

Papel del exceso de ácidos grasos libres en la resistencia a la insulina muscular

El potencial de los ácidos grasos libres (AGL) para alterar el metabolismo glucídico muscular fue propuesto hace más de 50 años⁸⁹, y desde entonces ha sido ampliamente investigado. Diferentes autores⁹⁰⁻⁹⁶ han confirmado que un incremento en la concentración plasmática de AGL altera la señalización de la insulina y causa insulinoresistencia muscular en individuos sanos. Además, se ha demostrado que una disminución de la concentración plasmática de AGL secundaria a acipimox, análogo del ácido nicotínico e inhibidor de la lipólisis del tejido adiposo, mejora rápidamente la sensibilidad a la insulina muscular⁹⁷.

Así mismo, numerosos estudios han demostrado una fuerte relación entre los lípidos intramiocelulares y la RI muscular^{55,56,98}. En adultos no diabéticos con normopeso el contenido en TG intramiocelular es un predictor de RI muscular mucho más potente que los ácidos grasos circulantes⁹⁹, lo que sugiere que, en sujetos obesos, los lípidos intramiocelulares pueden estar desempeñando un papel causal en la RI muscular. De hecho, sujetos obesos insulinosensibles o insulinoresistentes se distinguen según el cúmulo lipídico muscular y hepático¹⁰⁰.

Por otro lado, es importante señalar que la RI muscular correlaciona con una variedad de metabolitos lipídicos tóxicos, consecuencia de una oxidación incompleta de ácidos grasos, como acilcarnitinas, ceramidas y DAG^{96,101-104}. En modelos murinos, cuando se aumenta los AG en plasma mediante la infusión de Liposyn® + heparina para activar la LpL, la RI muscular aparece a las 3 h, a consecuencia del aumento de DAG y de la activación de PKC ϵ ¹⁰⁵. Sin embargo, no se observan cambios en el contenido de TG o ceramida muscular en ese momento, por lo que es importante diferenciar entre los distintos lípidos que participan en la patogénesis de la RI muscular. Los hallazgos de RI muscular mediada por DAG han sido confirmados en humanos por Itani et al.¹⁰⁶. Además, en la patogénesis de RI muscular, es importante tener en cuenta que el músculo esquelético también es el objetivo de citoquinas proinflamatorias circulantes como factor de necrosis tumoral α e interleucina 6. Finalmente, macrófagos inflamatorios M1 activados procedentes del tejido adiposo pueden infiltrar el músculo

esquelético y causar RI de una manera similar a lo que ocurre en el tejido adiposo¹⁰⁷.

Insulinoresistencia en músculo esquelético en pacientes con esteatohepatitis no alcohólica

Según la literatura un aumento moderado en la adiposidad y en la concentración plasmática de AGL puede causar lipotoxicidad muscular. Por tanto, no es de extrañar que, en pacientes obesos con EHGA, la RI muscular esté completamente establecida¹⁰⁸⁻¹¹⁰, e incluso en individuos no obesos con esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) si presentan RI en el tejido adiposo¹¹¹⁻¹¹³. En cambio, individuos obesos sin RI en el tejido adiposo se comportan desde el punto de vista metabólico como sujetos delgados, con casi normal insulinoinsensibilidad muscular y habitualmente sin desarrollo de EHGA^{108,111,114}.

La RI primaria en el músculo esquelético puede conducir a una redistribución de los sustratos hacia el hígado, dando lugar a la aparición de esteatosis hepática y, posteriormente, RI hepática a través del cúmulo hepático de DAG con la activación de PKC ϵ . Esta hipótesis ha sido respaldada en estudios de modelos murinos que presentan una inactivación específica del gen del receptor de insulina (MIRKO)¹¹⁵. La RI muscular selectiva en estos ratones comporta una hiperinsulinemia compensatoria con redistribución de los sustratos hacia lugares ectópicos, tales como el hígado. Además, ratones que carecen del transportador de glucosa muscular (GLUT4) presentan una pérdida casi completa de la captación muscular de glucosa estimulada por la insulina, que se asocia a esteatosis hepática y RI¹¹⁶. Estos hallazgos se han corroborado también en humanos. Así, en individuos con RI muscular selectiva, observada en sujetos sanos, jóvenes, delgados o en individuos en el cuartil inferior de insulinoinsensibilidad global, los hidratos de carbono ingeridos se desvían de la síntesis de glucógeno muscular hacia la lipogénesis hepática, predisponiendo a estos individuos a RI hepática y aparición de EHGA¹¹⁷ (fig. 3). Por otra parte, un estudio reciente ha demostrado que una sola sesión de ejercicio revierte los defectos en el transporte de la glucosa muscular estimulada por insulina, así como los defectos en la síntesis de glucógeno¹¹⁸. Esta mejora se evidencia por una disminución de la lipogénesis hepática *de novo* y por la reducción de la síntesis hepática de TG neta después de una dieta rica en hidratos de carbono. Por lo tanto, se demuestra que la RI muscular puede ser una diana terapéutica para la prevención y el tratamiento de la EHGA¹¹⁸. En este sentido, Haufe et al. demostraron que el efecto de la mejora de la condición física sobre la insulinoinsensibilidad en pacientes con sobrepeso/obesidad está mediada a través de una reducción en el contenido de grasa hepática¹¹⁹. Además, se ha objetivado que el ejercicio crónico sin reducción en el peso corporal o en la grasa corporal total también conduce a una reducción en el contenido de grasa hepática¹²⁰.

En resumen, tanto estudios en ratones como en humanos apoyan el concepto de que la RI muscular selectiva, que es una de las alteraciones metabólicas más tempranas detectadas en jóvenes delgados descendientes de padres con diabetes tipo 2, puede ser un factor importante y temprano en la patogénesis de la EHGA y la resistencia hepática a la insulina.

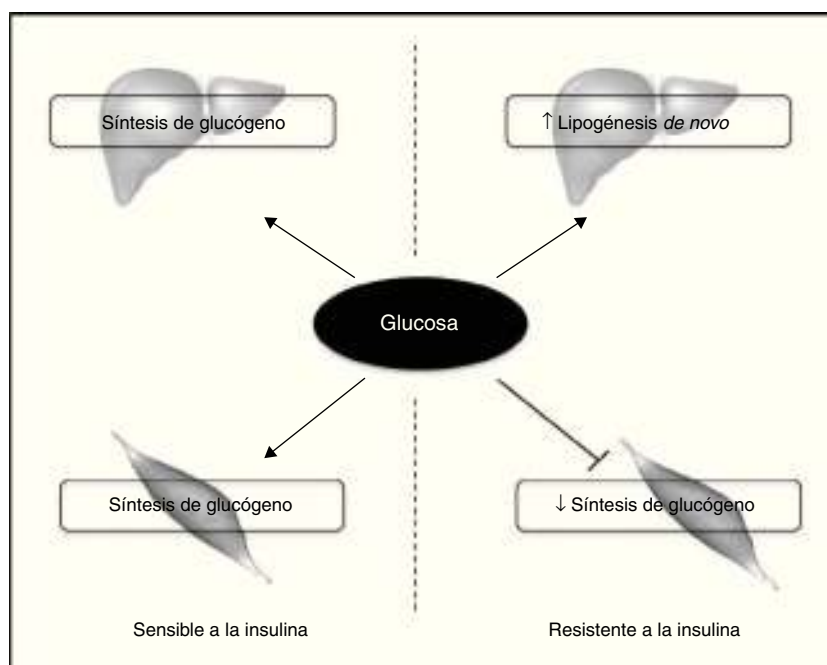


Figura 3 La resistencia a la insulina en el músculo esquelético contribuye a la lipogénesis hepática.

En los sujetos insulinosensibles la insulina estimula la síntesis de glucógeno tanto en tejido muscular como hepático. Sin embargo, en aquellos que presentan resistencia a la insulina en el músculo esquelético, esta hormona no es capaz de promover la síntesis de glucógeno, redistribuyendo el sustrato hacia el hígado, lo que contribuye a un incremento de la lipogénesis *de novo* hepática. El aumento de la síntesis de lípidos en el hígado de pacientes con resistencia a la insulina en el músculo esquelético promueve el desarrollo de EHGNA.

Factores genéticos

En los últimos años se han descrito variantes genéticas de distintos genes que hacen más susceptibles a los individuos portadores a desarrollar EHGNA y RI cuando se exponen a factores ambientales.

Apolipoproteína C3

La apolipoproteína C3 (APOC3) es una proteína que forma parte de las lipoproteínas de muy baja densidad, que se encarga de inhibir la actividad lipoproteín lipasa con el fin de regular la distribución de lípidos en los diferentes órganos y tejidos del cuerpo.

Recientemente, Petersen et al. han demostrado que un grupo de indios asiáticos, varones, sanos y delgados, que presentan una de las 2 variantes genéticas (C-482 T/T-455 C) en el elemento de respuesta a la insulina del gen APOC3 se encuentran en un riesgo más elevado de desarrollar EHGNA y RI. Las concentraciones plasmáticas de APOC3, así como la hipertrigliceridemia posprandial de los individuos que poseen este polimorfismo, son aproximadamente un 30% más elevadas comparadas con los sujetos homocigotos para APOC3 (C-482/T-455)¹²¹. Además, después de ser sometidos a una infusión intravenosa de lípidos, estos sujetos presentaron una disminución de la hidrólisis de triglicéridos y un aumento de la hipertrigliceridemia posprandial y quilomicrones remanentes, debido a la exagerada inhibición de la actividad LpL, permitiendo así el desarrollo de EHGNA y RI. También se pudo observar una reversión de la esteatosis

hepática y RI en estos sujetos después de una modesta pérdida de peso¹²¹. Sin embargo, cabe destacar que las variantes genéticas de APOC3 no son la causa directa del desarrollo de esteatosis hepática, pero suponen una condición de predisposición en aquellos individuos que son portadores, siendo más susceptibles a desarrollar EHGNA y RI cuando se exponen a factores ambientales tóxicos, tales como una dieta hipercalórica y rica en grasas. De acuerdo a esta hipótesis, Lee et al. han demostrado recientemente que ratones que sobreexpresan APOC3 no presentan esteatosis hepática o RI cuando son alimentados con dieta control. Sin embargo, cuando esta es remplazada por una dieta rica en grasas desarrollan esteatosis hepática severa con un incremento del contenido hepático de DAG, de la activación de PKC ϵ y RI⁴⁰.

Adiponutrín

Otro grupo en riesgo de desarrollo de EHGNA y RI hepática son adultos y niños hispanos¹²². En esta población se ha visto que la sustitución de isoleucina por metionina en la posición 148 (I148M) de la enzima PNPLA3, conocida también como adiponutrín, codificada por el gen PNPLA3, se encuentra fuertemente asociada al contenido hepático de TG y desarrollo de EHGNA, incluyendo esteatohepatitis, cirrosis y hepatocarcinoma¹²³⁻¹²⁷. Sin embargo, a diferencia de las variantes genéticas de PNPLA3 descritas en la sección anterior, las variantes genéticas de PNPLA3 no se encuentran asociadas a RI, sugiriendo que la enfermedad de EHGNA puede disociarse de la RI hepática¹²⁸⁻¹³⁰.

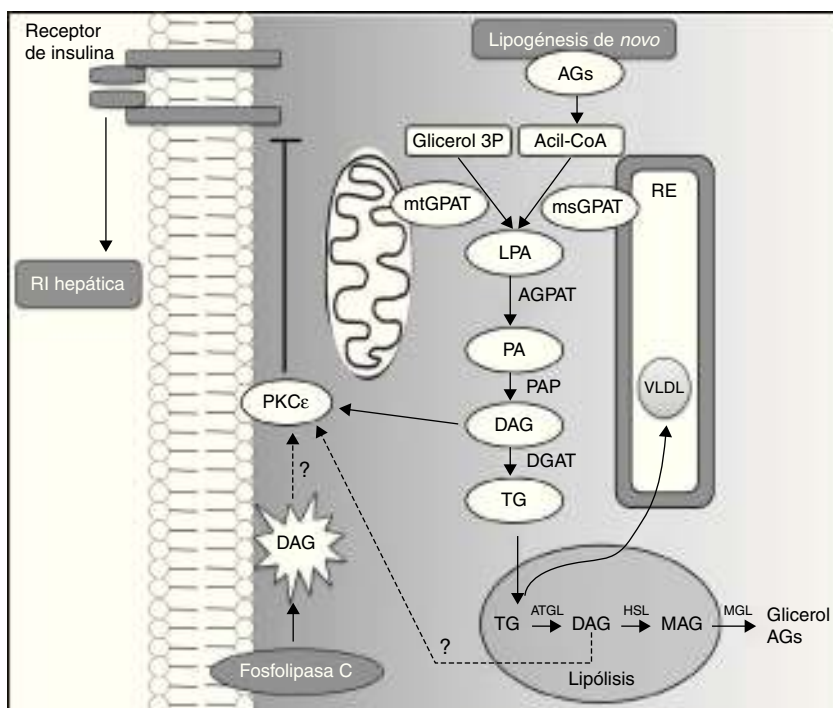


Figura 4 Vías metabólicas implicadas en la acumulación hepática de DAG.

La vía del glicerol-3-fosfato (glicerol 3P) representa la ruta de la lipogénesis *de novo* en la síntesis de triglicéridos y fosfolípidos. La glicerol-fosfato-acil-transferasa (GPAT) cataliza la acetilación de glicerol 3P con acil-CoA para generar ácido lisofosfatídico (LPA), lo que parece ser el paso limitante en la síntesis de triglicéridos (TG). Posteriormente, las enzimas acil-glicerol-fosfato-acil-transferasa (AGPAT), fosfatasa del ácido fosfatídico (PAP) y diacilglicerol aciltransferasa (DGAT) catalizan la formación de ácido fosfatídico (PA), diacilglicerol (DAG) y TG, respectivamente. Los DAG activan la translocación de PKC ϵ hacia la membrana plasmática, inhibiendo la activación del receptor de la insulina. Los ácidos LPA y PA que no han sido sintetizados en el retículo endoplasmático (RE) requieren la translocación a través del citosol para la síntesis de TG en el RE. En el hígado los TG pueden depositarse en vacuolas intracelulares o ser exportados en lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). En las vacuolas, durante la lipólisis, la conversión de TG a DAG es mediada por la lipasa de triglicéridos del tejido adiposo (ATGL). Los DAG pueden ser hidrolizados a monoacilglicerol (MAG) por la hormona sensible a la lipasa (HSL) y, posteriormente, a glicerol por la lipasa de monoglicéridos (MGL), que puede ser utilizado como sustrato para la gluconeogénesis. Estas reacciones, al liberar ácidos grasos, contribuyen a su acumulación hepática. Los DAG provenientes de lipólisis intravacuolar y de la vía de la fosfolipasa C, que libera DAG a partir de lípidos de membrana, podrían activar la PKC ϵ y la resistencia hepática a la insulina (RI). Sin embargo, estos 2 últimos mecanismos no están del todo dilucidados.

PNPLA3 pertenece a la familia de proteínas que comparten un dominio evolutivo identificado por primera vez en la patatina, la principal proteína de los tubérculos de patata¹³¹. El genoma humano codifica 9 proteínas que contienen el dominio de la patatina, de los cuales PNPLA3 está estrechamente relacionada con PNPLA2, la mayor hidrolasa de TG del tejido adiposo^{132,133}. PNPLA3 se expresa predominantemente en el hígado y en el tejido adiposo humano¹³⁴, y se encuentra frecuentemente asociada a membranas y vacuolas lipídicas¹³⁵. Esta proteína está altamente regulada en respuesta a estímulos nutricionales, tanto a nivel transcripcional como postranslacional. Su expresión se suprime en estado de ayunas, mientras que aumenta en respuesta a la presencia de glucosa e insulina, donde el factor de transcripción SREBP1c se encarga de estimular su transcripción¹³⁶.

Se sugiere que PNPLA3 presenta tanto función lipasa como de transacilación, y que la mutación I148M causa la pérdida de la función lipasa del gen¹³⁷, contribuyendo así al aumento del contenido de TG hepáticos. Yongcheng et

al. demostraron que PNPLA3 cataliza la hidrólisis de los 3 mayores glicerolípidos (TG, DAG y MAG), con mayor preferencia por los ácidos grasos C18:1, y que la mutación I148M reduce la actividad hidrolasa contra los 3 glicerolípidos. Sin embargo, cabe destacar que, prácticamente, en la mayoría de estos estudios se han incluido individuos obesos como sujetos controles, los cuales presentan casi siempre algún grado de esteatosis hepática asociada a RI, haciendo difícil discernir si las variantes genéticas de PNPLA3 con EHGA están participando o no en la RI hepática. Para identificar si la mutación confiere un riesgo independiente en el desarrollo de RI hepática, sería importante evaluar la sensibilidad a la insulina hepática en individuos delgados con EHGA portadores de la mutación I148M¹³⁶.

En concordancia a los resultados obtenidos en humanos, la sobreexpresión del gen mutante I148M de PNPLA3 en ratones se asoció a un aumento del tamaño de las vacuolas lipídicas y acumulación de TG hepáticos^{135,136}. Sin embargo, la sobreexpresión de PNPLA3 no mutado no cambió el contenido de lípidos hepáticos en ratones^{135,136,138}. Por otro

lado, los ratones *Knockout* para PNPLA3 no desarrollaron esteatosis hepática ni trastornos en el metabolismo de la glucosa^{139,140}.

Rol de la compartimentación intracelular de diacilglicerol: disociación de la enfermedad del hígado graso no alcohólico y la resistencia a la insulina hepática

El modelo descrito anteriormente, que explica la relación entre DAG, PKC ϵ y RI hepática, se centra principalmente en la incapacidad de la insulina para alterar el metabolismo de la de glucosa hepática. Sin embargo, la capacidad de la insulina para activar la lipogénesis parece estar intacta en la mayoría de los modelos de EHGNA. Por ello, aunque la EHGNA se encuentra fuertemente asociada a RI hepática y DM2, recientemente se ha descrito la «paradoja de la resistencia hepática a la insulina selectiva», en la que se propone la existencia de una disociación entre la EHGNA y la RI hepática^{141,142}.

Experimentalmente es posible inducir resistencia a la insulina sin EHGNA, o inducir EHGNA sin resistencia a la insulina bajo ciertas condiciones. Por ejemplo, el bloqueo de la secreción hepática de lipoproteínas de muy baja densidad con una dieta deficiente en colina, o mediante la modificación genética de la maquinaria de exportación, aumenta las concentraciones de TG hepáticos pero no induce RI en ratones^{143,144}. Por otro lado, los factores de transcripción ChREBP y SREBP1 han sido recientemente implicados, de forma independiente, en la disociación de EHGNA y RI hepática tanto en ratones como en humanos^{145,146}. Para explicar esta paradoja y la RI hepática selectiva, Cantley et al. examinaron la localización subcelular de DAG en células hepáticas y observaron que el *knockdown* del gen CGI-58, activador de la lipasa de triglicéridos del tejido adiposo (ATGL) que participa en la hidrólisis de TG, promueve la acumulación de DAG en gotas lipídicas, evitando así la acumulación de DAG en la membrana celular y la translocación de PKC ϵ hacia la membrana celular¹⁴⁷. Estos resultados concuerdan con otros estudios realizados tanto en humanos⁴⁵ como en modelos animales^{38,148,149}, sugiriendo que la compartimentación de DAG en el hepatocito podría ser un factor importante en la patogénesis de la resistencia hepática a la insulina.

La acumulación hepática de DAG puede resultar de la vía glicerol 3-fosfato, que representa la ruta de la lipogénesis en la síntesis de TG y fosfolípidos. Por otro lado, los DAG intracelulares también pueden derivar de la hidrólisis de TG compartimentados en gotas lipídicas, mediada por la lipasa ATGL, así como de la activación de la fosfolipasa C, que libera DAG a partir de lípidos de membrana (fig. 4). De qué manera los DAG que derivan de estas 2 últimas vías pueden conducir a la activación PKC ϵ y a la RI hepática no se ha determinado todavía. Sin embargo, los resultados obtenidos usando OAS específicos para CGI-58 indican claramente que los lípidos secuestrados en gotas lipídicas no promueven la activación PKC ϵ y resistencia hepática a la insulina, y que la compartimentación de DAG y TG en compartimentos neutros, en los cuales se estaría evitando la activación de PKC ϵ , podrían explicar por qué el contenido hepático de

DAG no siempre se correlaciona con la RI hepática en algunos modelos animales⁴⁷.

Conclusiones

Las lipasas metabólicas son las enzimas responsables de la hidrólisis de TG tanto en tejido adiposo como hepático. La lipólisis en el tejido adiposo provoca un aumento del flujo de AG hacia el hígado, promoviendo así el desarrollo de esteatosis hepática¹⁵⁰. Existe una creciente evidencia, no solo en modelos animales de EHGNA, sino también en humanos con EHGNA asociada a obesidad, a DM2 y a lipodistrofia, que la esteatosis hepática está fuertemente vinculada al desarrollo de RI hepática. Por lo tanto, si los lípidos hepáticos son mediadores importantes para la RI hepática, es de esperar que la reducción de la esteatosis hepática en pacientes con EHGNA y DM2 conlleve a la reducción de la RI hepática.

La EHGNA aparece cuando la ratio de lípidos suministrados hacia el hígado excede a la oxidación y a la exportación lipídica hepática. Por otro lado, un gran número de estudios, tanto en seres humanos como en modelos animales, han demostrado que la acumulación hepática de DAG permite la activación de PKC ϵ , dando lugar a la aparición de resistencia hepática a la insulina. Además, la compartimentación del DAG acumulado parece ser un factor crucial para el desarrollo de RI hepática, pudiendo explicar por qué algunos pacientes y modelos murinos con EHGNA no desarrollan RI hepática. Así, el mecanismo DAG-PKC ϵ parece desempeñar un papel primordial en el desarrollo de la EHGNA asociada a la RI hepática. Por todo ello, para el tratamiento de la EHGNA y la DM2 resulta de gran interés todas aquellas terapias que van dirigidas a reducir la liberación de ácidos grasos hacia el hígado, a suprimir la producción de DAG o a aumentar la oxidación mitocondrial de los AG¹⁵¹.

Aparte de la pérdida de peso, no existen actualmente terapias efectivas para la EHGNA. Por dicho motivo, la investigación actual se centra en la comprensión de la enfermedad subyacente a la esteatosis hepática, con la finalidad de identificar nuevas dianas terapéuticas. En este sentido, se ha sugerido que nuevas terapias dirigidas a prevenir la acumulación hepática de DAG y la activación de PKC ϵ podrían ser efectivas⁸⁴. Por otro lado, pequeños péptidos dirigidos a revertir la función enzimática correcta de las variantes genéticas de PNPLA3 asociadas a la progresión de la EHGNA y la esteatohepatitis no alcohólica podrían proporcionar un enfoque innovador para el tratamiento de la EHGNA.

Financiación

Este trabajo ha recibido financiación del Fondo de Investigación Sanitaria (expediente n.º PI13/00468 de Teresa Auguet).

Autoría

Alba Berlanga y Esther Guíu-Jurado han contribuido por igual en este trabajo. Todos los autores han contribuido en la redacción del artículo. La versión final de este manuscrito está aprobada por todos los autores.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- WHO | Obesity and overweight [consultado 26 Ene 2015]. Disponible: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
- Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH. Human fatty liver disease: Old questions and new insights. *Science*. 2011;332:1519–23.
- Trauner M, Arrese M, Wagner M. Fatty liver and lipotoxicity. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1801:299–310.
- Hui JM, Kench JG, Chitturi S, Sud A, Farrell GC, Byth K, et al. Long-term outcomes of cirrhosis in nonalcoholic steatohepatitis compared with hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38:420–7.
- Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol*. 2010;53:372–84.
- Charlton MR, Burns JM, Pedersen RA, Watt KD, Heimbach JK, Dierkhising RA. Frequency and outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis in the United States. *Gastroenterology*. 2011;141:1249–53.
- Stefan N, Staiger H, Häring H-U. Dissociation between fatty liver and insulin resistance: the role of adipose triacylglycerol lipase. *Diabetologia*. 2011;54:7–9.
- Utzschneider KM, Review Kahn SE. The role of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:4753–61.
- Bertolani C, Marra F. The role of adipokines in liver fibrosis. *Pathophysiology*. 2008;15:91–101.
- Anderson N, Borlak J. Molecular mechanisms and therapeutic targets in steatosis and steatohepatitis. *Pharmacol Rev*. 2008;60:311–57.
- Postic C, Girard J. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest*. 2008;118:829–38.
- Higuchi N, Kato M, Shundo Y, Tajiri H, Tanaka M, Yamashita N, et al. Liver X receptor in cooperation with SREBP-1c is a major lipid synthesis regulator in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res*. 2008;38:1122–9.
- Lima-Cabello E, García-Medavilla MV, Miquilena-Colina ME, Vargas-Castrillón J, Lozano-Rodríguez T, Fernández-Bermejo M, et al. Enhanced expression of pro-inflammatory mediators and liver X-receptor-regulated lipogenic genes in non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C. *Clin Sci (Lond)*. 2011;120:239–50.
- Kohjima M, Higuchi N, Kato M, Kotoh K, Yoshimoto T, Fujino T, et al. SREBP-1c, regulated by the insulin and AMPK signaling pathways, plays a role in nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med*. 2008;21:507–11.
- Kohjima M, Enjoji M, Higuchi N, Kato M, Kotoh K, Yoshimoto T, et al. Re-evaluation of fatty acid metabolism-related gene expression in nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med*. 2007;20:351–8.
- Nakamuta M, Fujino T, Yada R, Yada M, Yasutake K, Yoshimoto T, et al. Impact of cholesterol metabolism and the LXRA/SREBP-1c pathway on nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med*. 2009;23:603–8.
- Baranowski M. Biological role of liver X receptors. 2008;59 Suppl 7:31–55.
- Auguet T, Berlanga A, Guiu-Jurado E, Martinez S, Porras JA, Aragonés G, et al. Altered fatty acid metabolism-related gene expression in liver from morbidly obese women with non-alcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci*. 2014;15:22173–87.
- Neuschwander-Tetri BA. Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: the central role of nontriglyceride fatty acid metabolites. *Hepatology*. 2010;52:774–88.
- Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: The multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology*. 2010;52:1836–46.
- Berlanga A, Guiu-Jurado E, Porras JA, Auguet T. Molecular pathways in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Exp Gastroenterol*. 2014;7:221–39.
- Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest*. 2004;114:147–52.
- Snel M, Jonker JT, Schoones J, Lamb H, de Roos A, Pijl H, et al. Ectopic fat and insulin resistance: pathophysiology and effect of diet and lifestyle interventions. *Int J Endocrinol*. 2012;2012:983814.
- Cheng Z, Tseng Y, White MF. Insulin signaling meets mitochondria in metabolism. *Trends Endocrinol Metab*. 2010;21:589–98.
- Hanke S, Mann M. The phosphotyrosine interactome of the insulin receptor family and its substrates IRS-1 and IRS-2. *Mol Cell Proteomics*. 2009;8:519–34.
- Franke TF, Kaplan DR, Cantley LC, Toker A. Direct regulation of the Akt proto-oncogene product by phosphatidylinositol-3,4-bisphosphate. *Science*. 1997;275:665–8.
- Samuel VT, Liu Z-X, Qu X, Elder BD, Bilz S, Befroy D, et al. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *J Biol Chem*. 2004;279:32345–53.
- Newton AC. Regulation of the ABC kinases by phosphorylation: protein kinase C as a paradigm. *Biochem J*. 2003;370 Pt 2:361–71.
- Dries DR, Gallegos LL, Newton AC. A single residue in the C1 domain sensitizes novel protein kinase C isoforms to cellular diacylglycerol production. *J Biol Chem*. 2007;282:826–30.
- Crooke ST. Progress in antisense technology. *Annu Rev Med*. 2004;55:61–95.
- Samuel VT, Liu Z-X, Wang A, Beddow SA, Geisler JG, Kahn M, et al. Inhibition of protein kinase Cepsilon prevents hepatic insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*. 2007;117:739–45.
- Frangioudakis G, Burchfield JG, Narasimhan S, Cooney GJ, Leitges M, Biden TJ, et al. Diverse roles for protein kinase C delta and protein kinase C epsilon in the generation of high-fat-diet-induced glucose intolerance in mice: Regulation of lipogenesis by protein kinase C delta. *Diabetologia*. 2009;52:2616–20.
- Birkenfeld AL, Lee H-Y, Guebre-Egziabher F, Alves TC, Jurczak MJ, Jornayvaz FR, et al. Deletion of the mammalian INDY homolog mimics aspects of dietary restriction and protects against adiposity and insulin resistance in mice. *Cell Metab*. 2011;14:184–95.
- Choi CS, Savage DB, Abu-Elheiga L, Liu Z-X, Kim S, Kulkarni A, et al. Continuous fat oxidation in acetyl-CoA carboxylase 2 knockout mice increases total energy expenditure, reduces fat mass, and improves insulin sensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104:16480–5.
- Erion DM, Ignatova ID, Yonemitsu S, Nagai Y, Chatterjee P, Weismann D, et al. Prevention of hepatic steatosis and hepatic insulin resistance by knockdown of cAMP response element-binding protein. *Cell Metab*. 2009;10:499–506.
- Jornayvaz FR, Jurczak MJ, Lee H-Y, Birkenfeld AL, Frederick DW, Zhang D, et al. A high-fat, ketogenic diet causes hepatic insulin resistance in mice, despite increasing energy expenditure and preventing weight gain. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010;299:E808–15.
- Jornayvaz FR, Samuel VT, Shulman GI. The role of muscle insulin resistance in the pathogenesis of atherogenic dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease associated with the metabolic syndrome. *Annu Rev Nutr*. 2010;30:273–90.

38. Jornayvaz FR, Birkenfeld AL, Jurczak MJ, Kanda S, Guigni BA, Jiang DC, et al. Hepatic insulin resistance in mice with hepatic overexpression of diacylglycerol acyltransferase 2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108:5748–52.
39. Jornayvaz FR, Lee H-Y, Jurczak MJ, Alves TC, Guebre-Egziabher F, Guigni BA, et al. Thyroid hormone receptor- α gene knockout mice are protected from diet-induced hepatic insulin resistance. *Endocrinology*. 2012;153:583–91.
40. Lee H-Y, Birkenfeld AL, Jornayvaz FR, Jurczak MJ, Kanda S, Popov V, et al. Apolipoprotein CIII overexpressing mice are predisposed to diet-induced hepatic steatosis and hepatic insulin resistance. *Hepatology*. 2011;54:1650–60.
41. Nagai Y, Yonemitsu S, Erion DM, Iwasaki T, Stark R, Weismann D, et al. The role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 beta in the pathogenesis of fructose-induced insulin resistance. *Cell Metab*. 2009;9:252–64.
42. Neschen S, Morino K, Hammond LE, Zhang D, Liu Z-X, Romanello AJ, et al. Prevention of hepatic steatosis and hepatic insulin resistance in mitochondrial acyl-CoA:glycerol-sn-3-phosphate acyltransferase 1 knockout mice. *Cell Metab*. 2005;2:55–65.
43. Savage DB, Choi CS, Samuel VT, Liu Z-X, Zhang D, Wang A, et al. Reversal of diet-induced hepatic steatosis and hepatic insulin resistance by antisense oligonucleotide inhibitors of acetyl-CoA carboxylases 1 and 2. *J Clin Invest*. 2006;116:817–24.
44. Zhang D, Liu Z-X, Choi CS, Tian L, Kibbey R, Dong J, et al. Mitochondrial dysfunction due to long-chain Acyl-CoA dehydrogenase deficiency causes hepatic steatosis and hepatic insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104:17075–80.
45. Kumashiro N, Erion DM, Zhang D, Kahn M, Beddow SA, Chu X, et al. Cellular mechanism of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108:16381–5.
46. Magkos F, Su X, Bradley D, Fabbri E, Conte C, Eagon JC, et al. Intrahepatic diacylglycerol content is associated with hepatic insulin resistance in obese subjects. *Gastroenterology*. 2012;142:1444–6, e2.
47. Jornayvaz FR, Shulman GI. Diacylglycerol activation of protein kinase C and hepatic insulin resistance. *Cell Metab*. 2012;15:574–84.
48. Newberry EP, Kennedy SM, Xie Y, Luo J, Crooke RM, Graham MJ, et al. Decreased body weight and hepatic steatosis with altered fatty acid ethanolamide metabolism in aged L-Fabp $-/-$ mice. *J Lipid Res*. 2012;53:744–54.
49. Kaczocha M, Vivieca S, Sun J, Glaser ST, Deutsch DG. Fatty acid-binding proteins transport N-acyl ethanolamines to nuclear receptors and are targets of endocannabinoid transport inhibitors. *J Biol Chem*. 2012;287:3415–24.
50. Liu J, Zhou L, Xiong K, Godlewski G, Mukhopadhyay B, Tam J, et al. Hepatic cannabinoid receptor-1 mediates diet-induced insulin resistance via inhibition of insulin signaling and clearance in mice. *Gastroenterology*. 2012;142:1218–1228.e1.
51. Silvestri C, di Marzo V. The endocannabinoid system in energy homeostasis and the etiopathology of metabolic disorders. *Cell Metab*. 2013;17:475–90.
52. Auguet T, Berlanga A, Guio-Jurado E, Terra X, Martinez S, Aguilar C, et al. Endocannabinoid receptors gene expression in morbidly obese women with nonalcoholic fatty liver disease. *Biomed Res Int*. 2014;2014:502542.
53. Chanda D, Kim Y-H, Kim D-K, Lee M-W, Lee S-Y, Park T-S, et al. Activation of cannabinoid receptor type 1 (CB1r) disrupts hepatic insulin receptor signaling via cyclic AMP-response element-binding protein 1 (CREB)-mediated induction of Lipin1 gene. *J Biol Chem*. 2012;287:38041–9.
54. Jeong W, Osei-Hyiaman D, Park O, Liu J, Bátkai S, Mukhopadhyay P, et al. Paracrine activation of hepatic CB1 receptors by stellate cell-derived endocannabinoids mediates alcoholic fatty liver. *Cell Metab*. 2008;7:227–35.
55. Fabbri E, Sullivan S, Klein S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: Biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology*. 2010;51:679–89.
56. Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest*. 2000;106:171–6.
57. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology*. 2012;55:2005–23.
58. Goldberg IJ, Eckel RH, Abumrad NA. Regulation of fatty acid uptake into tissues: Lipoprotein lipase- and CD36-mediated pathways. *J Lipid Res*. 2009;50 Suppl:S86–90.
59. Sadur CN, Yost TJ, Eckel RH. Insulin responsiveness of adipose tissue lipoprotein lipase is delayed but preserved in obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 1984;59:1176–82.
60. Westerbacka J, Kolak M, Kiviluoto T, Arkkila P, Sirén J, Hamsten A, et al. Genes involved in fatty acid partitioning and binding, lipolysis, monocyte/macrophage recruitment, and inflammation are overexpressed in the human fatty liver of insulin-resistant subjects. *Diabetes*. 2007;56:2759–65.
61. Greco D, Kotronen A, Westerbacka J, Puig O, Arkkila P, Kiviluoto T, et al. Gene expression in human NAFLD. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008;294:G1281–7.
62. Fabbri E, Magkos F, Mohammed BS, Pietka T, Abumrad NA, Patterson BW, et al. Intrahepatic fat, not visceral fat, is linked with metabolic complications of obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106:15430–5.
63. Kim JK, Fillmore JJ, Chen Y, Yu C, Moore IK, Pypaert M, et al. Tissue-specific overexpression of lipoprotein lipase causes tissue-specific insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:7522–7.
64. Merkel M, Weinstock PH, Chajek-Shaul T, Radner H, Yin B, Breslow JL, et al. Lipoprotein lipase expression exclusively in liver. A mouse model for metabolism in the neonatal period and during cachexia. *J Clin Invest*. 1998;102:893–901.
65. Koonen DPY, Jacobs RL, Febbraio M, Young ME, Soltys C-LM, Ong H, et al. Increased hepatic CD36 expression contributes to dyslipidemia associated with diet-induced obesity. *Diabetes*. 2007;56:2863–71.
66. Falcon A, Doege H, Fluitt A, Tsang B, Watson N, Kay MA, et al. FATP2 is a hepatic fatty acid transporter and peroxisomal very long-chain acyl-CoA synthetase. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010;299:E384–93.
67. Reddy JK, Rao MS. Lipid metabolism and liver inflammation. II. Fatty liver disease and fatty acid oxidation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006;290:G852–8.
68. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: Impact of ethnicity. *Hepatology*. 2004;40:1387–95.
69. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: Association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology*. 2001;120:1183–92.
70. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: Summary of an AASLD single topic conference. *Hepatology*. 2003;37:1202–19.
71. Solís Herruzo JA, García Ruiz I, Pérez Carreras M, Muñoz Yagüe MT. Non-alcoholic fatty liver disease. From insulin resistance to mitochondrial dysfunction. *Rev Esp Enferm Dig*. 2006;98:844–74.
72. Pessayre D, Mansouri A, Fromenty B. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. V. Mitochondrial dysfunction in steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2002;282:G193–9.

73. Haque WA, Shimomura I, Matsuzawa Y, Garg A. Serum adiponectin and leptin levels in patients with lipodystrophies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:2395.
74. Cortez-Pinto H, Chatham J, Chacko VP, Arnold C, Rasheed A, Diehl AM. Alterations in liver ATP homeostasis in human nonalcoholic steatohepatitis: A pilot study. *JAMA.* 1999;282:1659–64.
75. Schmid AI, Szendroedi J, Chmelik M, Krssák M, Moser E, Roden M. Liver ATP synthesis is lower and relates to insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2011;34:448–53.
76. Sunny NE, Parks EJ, Browning JD, Burgess SC. Excessive hepatic mitochondrial TCA cycle and gluconeogenesis in humans with nonalcoholic fatty liver disease. *Cell Metab.* 2011;14:804–10.
77. Safar Zadeh E, Lungu AO, Cochran EK, Brown RJ, Ghany MG, Heller T, et al. The liver diseases of lipodystrophy: the long-term effect of leptin treatment. *J Hepatol.* 2013;59:131–7.
78. Gordon P, Lupsa BC, Chong AY, Lungu AO. Is there a human model for the metabolic syndrome with a defined aetiology? *Diabetologia.* 2010;53:1534–6.
79. Kim JK, Gavrilova O, Chen Y, Reitman ML, Shulman GI. Mechanism of insulin resistance in A-ZIP/F-1 fatless mice. *J Biol Chem.* 2000;275:8456–60.
80. Shimomura I, Hammer RE, Ikemoto S, Brown MS, Goldstein JL. Leptin reverses insulin resistance and diabetes mellitus in mice with congenital lipodystrophy. *Nature.* 1999;401:73–6.
81. Gandotra S, Le Dour C, Bottomley W, Cervera P, Giral P, Reznik Y, et al. Perilipin deficiency and autosomal dominant partial lipodystrophy. *N Engl J Med.* 2011;364:740–8.
82. Oral EA, Simha V, Ruiz E, Andewelt A, Premkumar A, Snell P, et al. Leptin-replacement therapy for lipodystrophy. *N Engl J Med.* 2002;346:570–8.
83. Petersen KF, Oral EA, Dufour S, Befroy D, Ariyan C, Yu C, et al. Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe lipodystrophy. *J Clin Invest.* 2002;109:1345–50.
84. Birkenfeld AL, Shulman GI. Nonalcoholic fatty liver disease, hepatic insulin resistance, and type 2 diabetes. *Hepatology.* 2014;59:713–23.
85. Savage DB, Tan GD, Acerini CL, Jebb SA, Agostini M, Gurnell M, et al. Human metabolic syndrome resulting from dominant-negative mutations in the nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor- γ . *Diabetes.* 2003;52:910–7.
86. Gavrilova O, Haluzik M, Matsusue K, Cutson JJ, Johnson L, Dietz KR, et al. Liver peroxisome proliferator-activated receptor γ contributes to hepatic steatosis, triglyceride clearance, and regulation of body fat mass. *J Biol Chem.* 2003;278:34268–76.
87. Mayerson AB, Hundal RS, Dufour S, Lebon V, Befroy D, Cline GW, et al. The effects of rosiglitazone on insulin sensitivity, lipolysis, and hepatic and skeletal muscle triglyceride content in patients with type 2 diabetes. *Diabetes.* 2002;51:797–802.
88. Luedtke A, Boschmann M, Colpe C, Engeli S, Adams F, Birkenfeld AL, et al. Thiazolidinedione response in familial lipodystrophy patients with LMNA mutations: A case series. *Horm Metab Res.* 2012;44:306–11.
89. Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet.* 1963;1:785–9.
90. Cusi K, Maezono K, Osman A, Pendergrass M, Patti ME, Pratipanawatr T, et al. Insulin resistance differentially affects the PI 3-kinase- and MAP kinase-mediated signaling in human muscle. *J Clin Invest.* 2000;105:311–20.
91. Kashyap S, Belfort R, Gastaldelli A, Pratipanawatr T, Berria R, Pratipanawatr W, et al. A sustained increase in plasma free fatty acids impairs insulin secretion in nondiabetic subjects genetically predisposed to develop type 2 diabetes. *Diabetes.* 2003;52:2461–74.
92. Kashyap SR, Belfort R, Berria R, Suraamornkul S, Pratipanawatr T, Finlayson J, et al. Discordant effects of a chronic physiological increase in plasma FFA on insulin signaling in healthy subjects with or without a family history of type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004;287:E537–46.
93. Belfort R, Mandarino L, Kashyap S, Wirfel K, Pratipanawatr T, Berria R, et al. Dose-response effect of elevated plasma free fatty acid on insulin signaling. *Diabetes.* 2005;54:1640–8.
94. Kelley DE, Mandarino LJ. Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance: A reexamination. *Diabetes.* 2000;49:677–83.
95. Boden G. Fatty acid-induced inflammation and insulin resistance in skeletal muscle and liver. *Curr Diab Rep.* 2006;6:177–81.
96. Samuel VT, Petersen KF, Shulman GI. Lipid-induced insulin resistance: Unravelling the mechanism. *Lancet.* 2010;375:2267–77.
97. Cusi K, Kashyap S, Gastaldelli A, Bajaj M, Cersosimo E. Effects on insulin secretion and insulin action of a 48-h reduction of plasma free fatty acids with acipimox in nondiabetic subjects genetically predisposed to type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;292:E1775–81.
98. Cusi K. Nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes mellitus. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2009;16:141–9.
99. Krssak M, Falk Petersen K, Dresner A, DiPietro L, Vogel SM, Rothman DL, et al. Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: A ^1H NMR spectroscopy study. *Diabetologia.* 1999;42:113–6.
100. Stefan N, Kantartzis K, Häring H-U. Causes and metabolic consequences of fatty liver. *Endocr Rev.* 2008;29:939–60.
101. Muoio DM. Intramuscular triacylglycerol and insulin resistance: Guilty as charged or wrongly accused? *Biochim Biophys Acta.* 2010;1801:281–8.
102. Holland WL, Brozinick JT, Wang L-P, Hawkins ED, Sargent KM, Liu Y, et al. Inhibition of ceramide synthesis ameliorates glucocorticoid-, saturated-fat-, and obesity-induced insulin resistance. *Cell Metab.* 2007;5:167–79.
103. Watson ML, Coghlan M, Hundal HS. Modulating serine palmitoyl transferase (SPT) expression and activity unveils a crucial role in lipid-induced insulin resistance in rat skeletal muscle cells. *Biochem J.* 2009;417:791–801.
104. Amati F, Dubé JJ, Alvarez-Carnero E, Edreira MM, Chomentowski P, Coen PM, et al. Skeletal muscle triglycerides, diacylglycerols, and ceramides in insulin resistance: another paradox in endurance-trained athletes? *Diabetes.* 2011;60:2588–97.
105. Dresner A, Laurent D, Marcucci M, Griffin ME, Dufour S, Cline GW, et al. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J Clin Invest.* 1999;103:253–9.
106. Itani SI, Ruderman NB, Schmieder F, Boden G. Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and I κ B α . *Diabetes.* 2002;51:2005–11.
107. Olefsky JM, Glass CK. Macrophages, inflammation, and insulin resistance. *Annu Rev Physiol.* 2010;72:219–46.
108. Lomonaco R, Ortiz-Lopez C, Orsak B, Webb A, Hardies J, Darland C, et al. Effect of adipose tissue insulin resistance on metabolic parameters and liver histology in obese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2012;55:1389–97.
109. Belfort R, Harrison SA, Brown K, Darland C, Finch J, Hardies J, et al. A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med.* 2006;355:2297–307.

110. Lomonaco R, Ortiz-Lopez C, Orsak B, Finch J, Webb A, Bril F, et al. Role of ethnicity in overweight and obese patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2011;54:837–45.
111. Kim HJ, Kim HJ, Lee KE, Kim DJ, Kim SK, Ahn CW, et al. Metabolic significance of nonalcoholic fatty liver disease in nonobese, nondiabetic adults. *Arch Intern Med*. 2004;164:2169–75.
112. Bugianesi E, Gastaldelli A, Vanni E, Gambino R, Cassader M, Baldi S, et al. Insulin resistance in non-diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease: Sites and mechanisms. *Diabetologia*. 2005;48:634–42.
113. Ortiz-Lopez C, Lomonaco R, Orsak B, Finch J, Chang Z, Kochunov VG, et al. Prevalence of prediabetes and diabetes and metabolic profile of patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Diabetes Care*. 2012;35:873–8.
114. Stefan N, Kantartzis K, Machann J, Schick F, Thamer C, Rittig K, et al. Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans. *Arch Intern Med*. 2008;168:1609–16.
115. Kim JK, Michael MD, Previs SF, Peroni OD, Mauvais-Jarvis F, Neschen S, et al. Redistribution of substrates to adipose tissue promotes obesity in mice with selective insulin resistance in muscle. *J Clin Invest*. 2000;105:1791–7.
116. Kotani K, Peroni OD, Minokoshi Y, Boss O, Kahn BB. GLUT4 glucose transporter deficiency increases hepatic lipid production and peripheral lipid utilization. *J Clin Invest*. 2004;114:1666–75.
117. Petersen KF, Dufour S, Savage DB, Bilz S, Solomon G, Yonemitsu S, et al. The role of skeletal muscle insulin resistance in the pathogenesis of the metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104:12587–94.
118. Rabøl R, Petersen KF, Dufour S, Flannery C, Shulman GI. Reversal of muscle insulin resistance with exercise reduces postprandial hepatic de novo lipogenesis in insulin resistant individuals. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108:13705–9.
119. Haufe S, Engeli S, Budziarek P, Utz W, Schulz-Menger J, Hermsdorf M, et al. Cardiorespiratory fitness and insulin sensitivity in overweight or obese subjects may be linked through intrahepatic lipid content. *Diabetes*. 2010;59:1640–7.
120. Sullivan S, Kirk EP, Mittendorfer B, Patterson BW, Klein S. Randomized trial of exercise effect on intrahepatic triglyceride content and lipid kinetics in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2012;55:1738–45.
121. Petersen KF, Dufour S, Hariri A, Nelson-Williams C, Foo JN, Zhang X-M, et al. Apolipoprotein C3 gene variants in nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2010;362:1082–9.
122. Liska D, Dufour S, Zern TL, Taksali S, Calí AMG, Dziura J, et al. Interethnic differences in muscle, liver and abdominal fat partitioning in obese adolescents. *PLoS One*. 2007;2:e569.
123. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet*. 2008;40:1461–5.
124. Sookoian S, Pirola CJ. Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2011;53:1883–94.
125. Tian C, Stokowski RP, Kershenovich D, Ballinger DG, Hinds DA. Variant in PNPLA3 is associated with alcoholic liver disease. *Nat Genet*. 2010;42:21–3.
126. Falleti E, Fabris C, Cmet S, Cussigh A, Bitetto D, Fontanini E, et al. PNPLA3 rs738409 C/G polymorphism in cirrhosis: Relationship with the aetiology of liver disease and hepatocellular carcinoma occurrence. *Liver Int*. 2011;31:1137–43.
127. Krawczyk M, Bonfrate L, Portincasa P. Nonalcoholic fatty liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2010;24:695–708, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2010.08.005>.
128. Kantartzis K, Peter A, Machicao F, Machann J, Wagner S, Königsrainer I, et al. Dissociation between fatty liver and insulin resistance in humans carrying a variant of the patatin-like phospholipase 3 gene. *Diabetes*. 2009;58:2616–23.
129. Kotronen A, Johansson LE, Johansson LM, Roos C, Westerbacka J, Hamsten A, et al. A common variant in PNPLA3, which encodes adiponutrin, is associated with liver fat content in humans. *Diabetologia*. 2009;52:1056–60.
130. Speliotes EK, Butler JL, Palmer CD, Voight BF, Hirschhorn JN. PNPLA3 variants specifically confer increased risk for histologic nonalcoholic fatty liver disease but not metabolic disease. *Hepatology*. 2010;52:904–12.
131. Park WD, Blackwood C, Mignery GA, Hermodson MA, Lister RM. Analysis of the heterogeneity of the 40,000 molecular weight tuber glycoprotein of potatoes by immunological methods and by NH(2)-terminal sequence analysis. *Plant Physiol*. 1983;71:156–60.
132. Wilson PA, Gardner SD, Lambie NM, Commans SA, Crowther DJ. Characterization of the human patatin-like phospholipase family. *J Lipid Res*. 2006;47:1940–9.
133. Zimmermann R, Strauss JG, Haemmerle G, Schoiswohl G, Birner-Gruenberger R, Riederer M, et al. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. *Science*. 2004;306:1383–6.
134. Huang Y, He S, Li JZ, Seo Y-K, Osborne TF, Cohen JC, et al. A feed-forward loop amplifies nutritional regulation of PNPLA3. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:7892–7.
135. He S, McPhaul C, Li JZ, Garuti R, Kinch L, Grishin NV, et al. A sequence variation (I148M) in PNPLA3 associated with nonalcoholic fatty liver disease disrupts triglyceride hydrolysis. *J Biol Chem*. 2010;285:6706–15.
136. Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell*. 2012;148:852–71.
137. Jenkins CM, Mancuso DJ, Yan W, Sims HF, Gibson B, Gross RW. Identification, cloning, expression, and purification of three novel human calcium-independent phospholipase A2 family members possessing triacylglycerol lipase and acylglycerol transacylase activities. *J Biol Chem*. 2004;279:48968–75.
138. Qiao A, Liang J, Ke Y, Li C, Cui Y, Shen L, et al. Mouse patatin-like phospholipase domain-containing 3 influences systemic lipid and glucose homeostasis. *Hepatology*. 2011;54:509–21.
139. Basantani MK, Sitnick MT, Cai L, Brenner DS, Gardner NP, Li JZ, et al. Pnpla3/Adiponutrin deficiency in mice does not contribute to fatty liver disease or metabolic syndrome. *J Lipid Res*. 2011;52:318–29.
140. Chen W, Chang B, Li L, Chan L. Patatin-like phospholipase domain-containing 3/adiponutrin deficiency in mice is not associated with fatty liver disease. *Hepatology*. 2010;52:1134–42.
141. Brown MS, Goldstein JL. Selective versus total insulin resistance: A pathogenic paradox. *Cell Metab*. 2008;7:95–6.
142. Chavez JA, Summers SA. Lipid oversupply, selective insulin resistance, and lipotoxicity: Molecular mechanisms. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1801:252–65.
143. Niebergall LJ, Jacobs RL, Chaba T, Vance DE. Phosphatidylcholine protects against steatosis in mice but not non-alcoholic steatohepatitis. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1811:1177–85.
144. Jacobs RL, Zhao Y, Koonen DPY, Sletten T, Su B, Lingrell S, et al. Impaired de novo choline synthesis explains why phosphatidylethanolamine N-methyltransferase-deficient mice are protected from diet-induced obesity. *J Biol Chem*. 2010;285:22403–13.
145. Ruiz R, Jideonwo V, Ahn M, Surendran S, Tagliabracci VS, Hou Y, et al. Sterol regulatory element-binding protein-1 (SREBP-1) is required to regulate glycogen synthesis and gluconeogenic gene expression in mouse liver. *J Biol Chem*. 2014;289:5510–7.
146. Benhamed F, Denechaud P, Lemoine M, Robichon C, Moldes M, Bertrand-michel J, et al. The lipogenic transcription factor ChREBP dissociates hepatic steatosis from insulin resistance in mice and humans. *J Clin Invest*. 2012;122:2176–94.

147. Cantley JL, Yoshimura T, Camporez JPG, Zhang D, Jornayvaz FR, Kumashiro N, et al. CGI-58 knockdown sequesters diacylglycerols in lipid droplets/ER-preventing diacylglycerol-mediated hepatic insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110:1869–74.
148. Birkenfeld AL, Lee H-Y, Majumdar S, Jurczak MJ, Camporez JP, Jornayvaz FR, et al. Influence of the hepatic eukaryotic initiation factor 2 alpha (eIF2alpha) endoplasmic reticulum (ER) stress response pathway on insulin-mediated ER stress and hepatic and peripheral glucose metabolism. *J Biol Chem*. 2011;286:36163–70.
149. Jurczak MJ, Lee A-H, Jornayvaz FR, Lee H-Y, Birkenfeld AL, Guigni BA, et al. Dissociation of inositol-requiring enzyme (IRE1 α)-mediated c-Jun N-terminal kinase activation from hepatic insulin resistance in conditional X-box-binding protein-1 (XBP1) knock-out mice. *J Biol Chem*. 2012;287:2558–67.
150. Fuchs CD, Claudel T, Trauner M. Role of metabolic lipases and lipolytic metabolites in the pathogenesis of NAFLD. *Trends Endocrinol Metab*. 2014;25:576–85.
151. Perry RJ, Samuel VT, Petersen KF, Shulman GI. The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2014;510:84–91.