

# Efecto de la metformina sobre las pruebas de función hepática durante la obesidad

Luis Eduardo Domínguez Hernández (1), Dra. Clara Alba Betancourt (2)

1 [Licenciatura en Médico Cirujano, Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez] | Dirección de correo electrónico: [Al117594@alumnos.uacj.mx]

2 [Departamento de Farmacia y Fisiopatología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [Clalbe@yahoo.com]

## Resumen

**Introducción:** La obesidad es una de las causas más frecuentes de daño hepático hoy en día. La metformina podría tener efectos positivos en la regulación del proceso inflamatorio causado por el acumulo de ácidos grasos en los hepatocitos. **Materiales y métodos:** Se realizó un experimento con seis conejos hembra Nueva Zelanda sometidos a un régimen de alimentación alto en grasas durante nueve semanas con la finalidad de inducir alteraciones en la expresión de enzimas indicadoras de daño hepático así como la reducción de proteínas sintetizadas por el hígado. **Resultados:** Observamos un aumento de peso considerable aunque variable entre los sujetos de investigación que se relacionó con el aumento de concentraciones séricas de enzimas hepáticas. Seleccionamos los dos controles que mejor evolucionaron para el tratamiento con metformina durante una semana. **Conclusiones:** Una vez completado el tratamiento, concluimos que el uso diario de metformina reduce los niveles de ALT, un indicador específico de la integridad de los hepatocitos, sin embargo el tiempo del que disponíamos no fue suficiente para observar cambios en las funciones sintéticas del hígado ya que se requiere de un tiempo mayor de progresión de la enfermedad para que ocurra un daño hepático severo.

## Abstract

**Introduction:** Obesity is one of the most common causes of hepatic injury nowadays. Metformin may have positive effects on the regulation of the inflammatory process that hepatocytes undergo triggered by free fatty acids infiltration. **Materials and methods:** The experiment was conducted with six New Zealand white female rabbits that underwent a high-fat diet for nine weeks to induce the expression of serum enzymes indicators of hepatic injury and the reduction of liver synthesized proteins such as albumin. **Results:** We observed a considerable weight gain although variable among our subjects which correlated to the expression of their serum enzymes. We selected the two subjects with the most elevated measurements for a treatment with metformin for a duration of one week. **Conclusions:** Once the treatment was completed, we were able to conclude that metformin use diminishes alanine aminotransferase (ALT) serum expression levels, a hepatocyte-specific integrity indicator. However, we did not observe any significant changes in hepatic protein synthesis which indicates that a longer exposure to disease is needed for the subjects to suffer any severe liver damage.

## Palabras Clave

Hígado Graso; Dislipidemia; Esteatohepatitis; Dieta; Metformina

## INTRODUCCIÓN

### Hígado graso no alcohólico (HGNA), Diagnóstico, definición y epidemiología.

La obesidad se ha consolidado como uno de los mayores problemas de salud pública que enfrentamos hoy en día a nivel mundial. Es cada vez más común ver que se consuman alimentos con mayor cantidad de grasas en la dieta occidental por su facilidad de obtención, repercutiendo en la salud de la comunidad. A medida que aumenta la cantidad de personas con sobrepeso/obesidad, se puede observar un aumento relacionado en la incidencia de hígado graso no alcohólico (HGNA). Aproximadamente un 30% de la población adulta sufre de dicha alteración, convirtiéndose en la causa más común de daño hepático superando incluso al alcoholismo [1]. Igualmente, la población pediátrica se ve cada vez más afectada por esta patología llegando a presentarse hasta en un 10% de la población muestreada en algunos estudios [2] e incluso un 5% de la población total la padece de manera asintomática [3]. El HGNA comprende una serie de alteraciones en los hepatocitos que van desde una leve infiltración de triglicéridos (esteatosis), hasta una afección hepática grasa más avanzada que se presenta con inflamación derivada de la respuesta inmune que se genera contra los ácidos grasos libres, la cual puede progresar a un daño hepático irreversible y potencialmente letal (cirrosis). Sólo una porción de las personas con HGNA desarrollarán esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), así como solo unos pocos llegarán al grado de cirrosis [4]. Se ha propuesto que hay diversos factores involucrados en la progresión de la enfermedad como son la edad, el sexo, el tipo de obesidad (abdominal o central) y susceptibilidad genética [5]. Es decir, personas pertenecientes a ciertos grupos étnicos se encuentran con mayor predisposición a progresar a etapas más avanzadas de la enfermedad por presentar diferentes alelos del gen PNPLA3, particularmente los latinos [6]. En contraste, una población de bajo riesgo para desarrollar HGNA es descrita como joven, de bajo consumo de alcohol y ausente de

obesidad [7]. El *gold standard* para la detección de hígado graso no alcohólico es la biopsia hepática, en la cual podemos observar hepatocitos en globo y cuerpos de Mallory-Denk [8]. Sin embargo, la biopsia cuenta con la limitación de que no se puede distinguir la causa alcohólica de la no alcohólica y se debe reservar para los casos en los que exista una intensa sospecha de hígado graso [9]. En segundo lugar para la detección del HGNA se encuentra el uso de las transaminasas ALT /AST que se elevan de manera anormal durante un periodo de tiempo previo al uso de la biopsia hepática [10]. La herramienta más útil para la diferenciación del HGNA y el Hígado graso alcohólico es la anamnesis de los hábitos higiénico dietéticos del paciente [11]. En teoría, esperamos observar una elevación de los marcadores de daño hepático coherente con el aumento de peso de los sujetos de estudio, resultado de una mayor infiltración de ácidos grasos libres desencadenantes de inflamación en los hepatocitos.

### Fisiopatología

El adipocito hipertrofiado disminuye la producción de adiponectina, que origina la desensibilización a la insulina y la alteración en el metabolismo de los lípidos [12]. Asimismo, comienza a secretar citocinas como TNF- $\alpha$  e IL-1, que activan a los macrófagos localizados en el estroma vascular del tejido adiposo. La activación de los macrófagos circundantes al tejido adiposo libera citocinas que interactúan a su vez con el adipocito, causando la liberación de ácidos grasos libres. Dichos ácidos grasos viajan por la circulación hasta posarse en el parénquima hepático provocando la esteatosis. Una infiltración prolongada, en conjunto con el deficiente metabolismo de los lípidos en el tejido hepático, ocasiona la activación de las células de Kupffer, macrófagos especializados del hígado, encargados de la regulación de los procesos de inflamación y reparación, generándose la esteatohepatitis y la consiguiente expresión de enzimas indicadoras de daño hepático como ALT, AST y una isoenzima de ALKP presente en hígado. Posteriormente, las citocinas secretadas por las células de Kupffer activan a las células estrelladas del hígado, cuya función consiste en el depósito de colágeno en el

tejido dañado, generándose así el potencial de desarrollar cirrosis. [13]

### Metformina

La metformina (MFN) es actualmente el anti-hiperglicémico más comúnmente prescrito y uno de los fármacos más frecuentemente recetados a nivel mundial [14]. Se introdujo por primera vez en Europa como tratamiento para la Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2). Sin embargo, además de su uso antidiabético, son cada vez más los efectos de la metformina que se descubren en diferentes tejidos debido a las diferentes vías de señalización en las que se ve involucrada [15]. La principal vía molecular por la cual la metformina ejerce su efecto aún no ha sido completamente esclarecida aunque existe el consenso de que induce la sensibilidad a la insulina por medio de la activación y fosforilación de la proteína cinasa dependiente de AMP (AMPK) [16]. Además, se ha demostrado que posee propiedades protectoras para el hígado, siendo un regulador de la expresión de la proteína relacionada con la diferenciación adiposa (ADRP) [17], una proteína acopladora de ácidos grasos que favorece el depósito de triglicéridos en tejidos no adiposos como puede ser el hígado [18]. Mediante el entendimiento de lo anterior, podemos esperar la disminución de los niveles indicadores de daño hepático una vez empezado el tratamiento con metformina así como la regresión de la enfermedad de hígado graso no alcohólico en etapas tempranas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo durante 10 semanas en el laboratorio de química clínica de la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Guanajuato, utilizando un equipo de química seca VITROS para la medición de enzimas y proteínas. La muestra estuvo conformada por un total de 6 conejos hembra nueva Zelanda (CHNZ) la cual fue dividida en dos partes, quedando dos como el grupo control y los cuatro restantes como grupo de estudio. El primer grupo se mantuvo con una alimentación normal (AN), mientras que el segundo fue sometido a una alimentación alta en grasas (AAG). El grupo control recibió únicamente una alimentación restringida a 150 gramos de conejina

turbo (marca Purina) por día, mientras que el de estudio recibió una AAG conformada por 40 gramos de mantequilla, 45 gramos de grasa vegetal, 15 gramos de manteca animal y 7.5 gramos de azúcar refinada añadidos a la alimentación base de 250 gramos de conejina turbo. Ambos grupos fueron pesados cada semana para registrar su evolución en el incremento de peso. Cada tercera semana se recolectaron las muestras sanguíneas de ambos grupos para medir los valores de fosfatasa alcalina (ALP), Alanina aminotransferasa (ALT) y albúmina. Transcurridas 9 semanas, se seleccionaron los dos CHNZ del grupo de estudio que presentaron mayor elevación porcentual en las pruebas ya mencionadas para iniciar un tratamiento con metformina a razón de 0.25mg/kg de peso durante una semana.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pudimos concluir que nuestro modelo de inducción de alimentación alta en grasas (AAG) fue satisfactorio para nuestros propósitos, así como la utilización del conejo como modelo experimental ya que tiene la capacidad de ir aumentando de peso desde la primera semana de AAG, presentando los resultados que se muestran a continuación. (Tabla 1)

Pesos CHNZ			
	Semana 3	Semana 6	Semana 9
AN 1	101.55%	106.97%	108.52%
AN 2	102.22%	102.96%	102.96%
AAG 1	98.24%	100.75%	103.25%
AAG 2	105.61%	109.55%	105.61%
AAG 3	104.92%	119.01%	119.71%
AAG 4	104.48%	109.61%	104.48%

Tabla 1.- Registro de aumento de peso porcentual ambos grupos.

Se presentan los niveles obtenidos en las pruebas de función hepática cada 3 semanas y después del tratamiento con Metformina. (Tablas 2-4)

Fosfatasa Alcalina					
Basal		Semana 3	Semana 6	Semana 9	MFN
AN 1	100%	129%	83.64%	80.0%	
AN 2	100%	58.8%	35.29%	49.2%	
AAG 1	100%	75.5%	55.56%	71.1%	
AAG 2	100%	91%	86.57%	82.9%	
AAG 3	100%	134%	107.8%	115%	297%
AAG 4	100%	121%	90.63%	84.3%	106.6%

Tabla 2-- Niveles porcentuales de fosfatasa alcalina

Albúmina					
Basal		Semana 3	Semana 6	Semana 9	MFN
AN 1	3.6	3.5	3.5	3.3	
AN 2	2.8	3.7	3.3	3.2	
AAG 1	3.24	3.2	3.4	3.2	
AAG 2	3.35	3.6	4.1	3.4	
AAG 3	3.11	3.6	3.7	3.4	2.7
AAG 4	3.34	3.8	3.5	3.3	3

Tabla 3-- Niveles indicadores de la función sintética del hígado, albúmina (ALB)

Alanina Aminotransferasa					
Basal		Semana 3	Semana 6	Semana 9	MFN
AN 1	100%	96.97	190.91	121.21	
AN 2	100%	75%	116.67%	72.22%	
AAG 1	100%	92%	160%	132%	
AAG 2	100%	77.78%	72.22%	77.77%	
AAG 3	100%	78.95%	110.53%	118.42%	871.05%
AAG 4	100%	55.77%	78.85%	55.76%	42.30%

Tabla 4.- Aumento porcentual de ALT

Es importante mencionar que el sujeto del grupo de estudio con AAG 3 desarrolló una infección poco después de la primera administración de metformina lo que condujo a una falta de apetito que

derivó en un ayuno prolongado de cuatro días previo a la toma de muestras sanguíneas, que causó una anomalía evidente en las pruebas de función hepática. Independientemente del tratamiento con Metformina el ayuno provocó un aumento muy por arriba de lo esperado a conseguir con la AAG. En lo concerniente al sujeto con AAG 4 y la medición de sus niveles, los resultados fueron los esperados según lo reportado en otros estudios ya que disminuyó el total de enzimas séricas de ALT con respecto a las mediciones previas y la tendencia al alza previa al tratamiento. En el caso de la albúmina no hubo una variación significativa lo que nos lleva a pensar que 9 semanas no es tiempo suficiente para inducir un estado de falla orgánica causado por infiltración de ácidos grasos.

## CONCLUSIONES

El uso diario de metformina ayuda a reducir los niveles de enzimas en suero sugerentes de daño hepático, principalmente ALT. Es necesario un mayor tiempo de la infiltración de triglicéridos en el hígado para comenzar a observar indicios de falla orgánica como hipoalbuminemia.

## AGRADECIMIENTOS

El proyecto se realizó con financiamiento del programa de Jóvenes Investigadores del CONCYTEG. Los autores quisieran agradecer a Juan Pedro Galván Chía, técnico encargado del bioterio, quien se encargó de mantener a los sujetos experimentales en las condiciones salubres apropiadas, así como de la administración de alimentos, pesajes, entre muchas otras actividades vitales para el experimento. A los profesores investigadores de tiempo completo del departamento de farmacia de la división de ciencias naturales y exactas, Dr. Eduardo Durán Castro, Dra. Martha Alicia Deveze Álvarez, Dra. Claudia Leticia Mendoza Macías y Dr. Juan Ramón Zapata Morales; quienes nos facilitaron el acceso a sus instalaciones y equipo. Al Dr. Carlos Tadeo Perzabal de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, quien fungió como tutor antes y durante la estancia de investigación. Por último, pero no menos importante, a la universidad de Guanajuato y al fondo PROFOCIE, a quienes el becario esta enormemente agradecido.

## REFERENCIAS

### Diagnóstico, definición y epidemiología

[1] Rodríguez, H. (n.d.). Esteatohepatitis no alcohólica. Recuperado el 19 de Julio, 2015, de [www.facmed.unam.mx/sms/temas/2009/08\\_ago\\_2k9.pdf](http://www.facmed.unam.mx/sms/temas/2009/08_ago_2k9.pdf)

[2] Jiménez-Cruz, A. (2014). La adiposidad como factor de riesgo del hígado graso no alcohólico: revisión sistemática. *Nutrición Hospitalaria*, 29, 771-775. doi:10.3305/nh.2014.29.4.7216

[3] Koppe, S. (2014). Obesity and the liver: Nonalcoholic fatty liver disease. *Translational Research*, 164(4), 312-322.

[4] Woo S-L, Xu H, Li H, Zhao Y, Hu X, et al. (2014) Metformin Ameliorates Hepatic Steatosis and Inflammation without Altering Adipose Phenotype in Diet-Induced Obesity. *PLoS ONE* 9(3): e91111. doi:10.1371/journal.pone.0091111

[5] Barzel B, Weir JM, Meikle PJ, Burke SL, Armitage JA and Head GA (2014) Short term fat feeding rapidly increases plasma insulin but does not result in dyslipidaemia. *Front. Physiol.* 5:469. doi: 10.3389/fphys.2014.00469

[6] Maglio, C. (2014). The PNPLA3 I148M variant and chronic liver disease: When a genetic mutation meets nutrients. *Food Research International*, 63(Special issue), 239-243. doi:10.1016/j.foodres.2014.01.055

[7] Labrecque, D. (2012). Enfermedad del hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica. *Guías De La Organización Mundial De Gastroenterología*, 1(1), 1-31. Recuperado Julio 19, 2015, de [http://www.worldgastroenterology.org/assets/export/userfiles/2013\\_NASH-NAFLD\\_SP\\_Final\\_long.pdf](http://www.worldgastroenterology.org/assets/export/userfiles/2013_NASH-NAFLD_SP_Final_long.pdf)

[8] López, R. (2014). Enfermedad hepática grasa. Aspectos patológicos. *Revista Colombiana De Gastroenterología*, 29(1), 82-88. Recuperado Julio 20, 2015, de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-99572014000100012&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-99572014000100012&script=sci_arttext)

[9] Biel, F. (n.d.). Interpretación de exámenes de laboratorio hepático y aproximación diagnóstica en pacientes con pruebas alteradas. Recuperado Julio 19, 2015, de [www.med.ufro.cl/clases\\_apuntes/.../15-higado-y-pruebas-hepaticas.pdf](http://www.med.ufro.cl/clases_apuntes/.../15-higado-y-pruebas-hepaticas.pdf)

[10] Bosques-Padilla, F. (2008). Guías clínicas de diagnóstico y tratamiento de hepatopatía grasa no alcohólica. *Diagnóstico. Revista De Gastroenterología De México*, 73(2), 129-133. Recuperado Julio 20, 2015, de <http://www.revistagastroenterologiamexico.org/es/guias-clinicas-diagnostico-tratamiento-hepatopatia/articulo/13132662/>

[11] Gruben, N. (2014). Nonalcoholic fatty liver disease: A main driver of insulin resistance or a dangerous liaison? *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1842(11), 2329-2343. doi:10.1016/j.bbadis.2014.08.004

### Fisiopatología

[12] Castro-Martínez, María Guadalupe; Banderas-Lares, Diana Zaineff; Ramírez-Martínez, Jesús Cenobio; Escobedo-de la Peña, Jorge. (2012). Prevalencia de hígado graso no alcohólico en individuos con síndrome metabólico. *Cirugía y Cirujanos*, Marzo-Abril, 128-133.

[13] Cusi, K. (2012). Role of Obesity and Lipotoxicity in the Development of Nonalcoholic Steatohepatitis: Pathophysiology and Clinical Implications. *Gastroenterology*, 142(4), 711-725. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2012.02.003>

### Metformina

[14] Inzucchi, S. (2002). Oral Antihyperglycemic Therapy for Type 2 Diabetes. *JAMA*, 287(3), 360-372. doi:10.1001/jama.287.3.360.

[15] Castro-Martínez MG, Castillo-Anaya V, Ochoa-Aguilar A, Godínez-Gutiérrez SA. La metformina y sus aplicaciones actuales en la clínica. *Med Int Méx* 2014;30:562-574.

[16] Gong, L. (2014). Metformin pathways: Pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacogenet Genomics*, 22(11), 820-827. doi:10.1097/FPC.0b013e3283559b22.

[17] Liu, F. (2013). Metformin prevents hepatic steatosis by regulating the expression of adipose differentiation-related protein. *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR MEDICINE*, 33, 51-58. doi:10.3892/ijmm.2013.1560

[18] Gao, J., Ye, H. and Serrero, G. (2000). Stimulation of adipose differentiation related protein (ADRP) expression in adipocyte precursors by long-chain fatty acids. *J. Cell. Physiol.*, 182: 297-302. doi: 10.1002/(SICI)1097-4652(200002)182:2<297::AID-JCP19>3.0.CO;2-Z