



El hidrógeno molecular atenúa la absorción de ácidos grasos y la acumulación de lípidos a través de la regulación a la baja Expresión de CD36 en células HepG2

akio iio¹, Mikako Ito², tomohiro itoh³, Riyako Terazawa⁴, Yasunori Fujita⁵, Yoshinori Nozawa⁶, Ikuroh Ohsawa⁷, Kinji Ohno² y Masafumi Ito^{5*}

Abstracto

Antecedentes: Cada vez hay más pruebas de que la obesidad está estrechamente relacionada con un metabolismo deficiente de los ácidos grasos libres, así como con la resistencia a la insulina y la inflamación. La captación excesiva de ácidos grasos mediada por la translocasa de ácidos grasos CD36 juega un papel importante en la esteatosis hepática. Se ha demostrado que el hidrógeno molecular atenúa el estrés oxidativo y mejora el metabolismo de los lípidos, la glucosa y la energía en pacientes y modelos animales de esteatosis hepática y aterosclerosis, pero los mecanismos moleculares subyacentes siguen siendo en gran parte desconocidos.

Métodos: Se expusieron células HepG2 de hepatoma humano al complejo palmitato-BSA después del tratamiento con o sin hidrógeno durante 24 h. La captación de ácidos grasos se midió mediante espectrofluorometría y el contenido de lípidos se detectó mediante tinción con Oil Red O. La fosforilación de JNK y la expresión de CD36 se analizaron mediante Western blot y análisis de PCR en tiempo real.

Resultados: el pretratamiento con hidrógeno redujo la captación de ácidos grasos y la acumulación de lípidos después de la sobrecarga de palmitato en las células HepG2, lo que se asoció con la inhibición de la activación de JNK. El tratamiento con hidrógeno no alteró la expresión del ARNm de CD36 pero redujo la expresión de la proteína CD36.

Conclusión: el hidrógeno inhibe la absorción de ácidos grasos y la acumulación de lípidos a través de la regulación a la baja de CD36 a nivel de proteína en células cultivadas hepáticas, lo que proporciona información sobre el mecanismo molecular que subyace a los efectos del hidrógeno in vivo sobre los trastornos del metabolismo de los lípidos.

Palabras clave: hidrógeno molecular, células HepG2, ácido graso, JNK, fosforilación, CD36, esteatosis hepática

Antecedentes

La obesidad y sus trastornos asociados, como la diabetes tipo 2, las enfermedades coronarias y el hígado graso no alcohólico (NAFLD), son actualmente problemas de salud mundial. Cada vez hay más pruebas de que la obesidad está estrechamente relacionada con el metabolismo alterado de los ácidos grasos libres (FFA), así como con la resistencia a la insulina y la inflamación [1]. La liberación excesiva de FFA de los adipocitos de grasa visceral conduce a la producción de proteínas inflamatorias y proaterogénicas a través de la activación de las vías NFκB y c-Jun NH2-terminal kinasa (JNK) en

músculo esquelético, hígado y células endoteliales, y promueve la enfermedad vascular aterosclerótica (ASVD) y NAFLD.

La translocasa de ácidos grasos CD36 media la captación de FFA de la circulación y el transporte intracelular de ácidos grasos de cadena larga en diversos tipos de células, como monocitos, plaquetas, macrófagos, células endoteliales microvasculares, adipocitos, células musculares, enterocitos y hepatocitos [2]. Los ratones deficientes en CD36 presentan una captación y utilización defectuosas de los ácidos grasos. La captación excesiva de ácidos grasos mediada por CD36 juega un papel importante en la esteatosis hepática [3]. El nivel de expresión de CD36 es muy bajo en tejidos hepáticos normales [4], pero aumenta drásticamente en los tejidos hepáticos de ratones con hígado graso inducido por una dieta alta en grasas (HFD) y en los de NAFLD humano. Por el contrario, la expresión forzada de CD36 en el hígado causa esteatosis hepática en ausencia de HFD [5].

* Correspondencia: mito@tmig.or.jp

⁵Equipo de Investigación sobre el Mecanismo del Envejecimiento, Instituto Metropolitano de Tokio de Gerontología, 35-2 Sakae-cho, Itabashi, Tokio 173-0015, Japón
La lista completa de información del autor está disponible al final del artículo.

mostrando que CD36 juega un papel importante en la esteatosis hepática, lo que sugiere que CD36 puede ser un objetivo potencial de fármacos contra NAFLD.

Desde el primer informe en 2007, que demostró el efecto del hidrógeno molecular en el infarto cerebral [6], se ha demostrado que el hidrógeno protege contra una variedad de enfermedades, incluidas las enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, la inflamación y la alergia en modelos in vivo e in vitro, así como en humanos [7]. En las enfermedades metabólicas, el hidrógeno atenúa el estrés oxidativo y mejora el metabolismo de los lípidos, la glucosa y la energía en pacientes y modelos animales de esteatosis hepática y aterosclerosis, pero los mecanismos moleculares subyacentes siguen siendo en gran parte desconocidos [8-11]. Aunque los efectos del hidrógeno se han atribuido a una eliminación selectiva de radicales hidroxilo, informamos anteriormente que el hidrógeno atenúa la alergia tipo I al inhibir las vías de señalización intracelular, proporcionando la primera evidencia de que el hidrógeno modula las vías de señalización [12]. También demostramos que el hidrógeno suprime la fosforilación inducida por LPS/IFN γ de la quinasa 1 reguladora de la señal de apoptosis (ASK1) y sus moléculas de señalización aguas abajo, p38, JNK y NF κ B, lo que da como resultado la inhibición de la expresión de iNOS y la producción de NO en los macrófagos [13]. Con base en estos hallazgos, propusimos la hipótesis de que el hidrógeno puede actuar como un modulador de las vías de señalización, exhibiendo así efectos protectores contra diversas enfermedades. De acuerdo con nuestra hipótesis, recientemente se informó que el hidrógeno inhibe las vías de señalización en modelos animales de daño hepático agudo [14] y enfermedad de Alzheimer inducida por beta amiloide [15].

En el presente estudio, para comprender los mecanismos subyacentes de los efectos del hidrógeno sobre los trastornos del metabolismo de los lípidos y la aterosclerosis, examinamos si el hidrógeno podría atenuar la ingesta de ácidos grasos y la acumulación de lípidos causada por la sobrecarga de palmitato en células HepG2 de hepatoma humano. Luego investigamos si el hidrógeno podría modular las vías de señalización después de la sobrecarga de palmitato, así como la expresión de CD36 después del tratamiento con hidrógeno en este modelo de cultivo celular de esteatosis hepática.

Materiales y métodos Cultivo

celular y tratamiento con hidrógeno Se

adquirieron células HepG2 de hepatoma humano en RIKEN BioResource Center (Tsukuba, Japón) y se cultivaron en DMEM que contenía 10 % de FBS inactivado por calor en una atmósfera humidificada con 5 % de CO $_2$ a 37 °C. Antes del tratamiento con hidrógeno, las células se privaron de DMEM sin suero durante 24 h. El tratamiento con hidrógeno se realizó como se describió anteriormente [12]. Brevemente, las células se cultivaron en DMEM que contenía 0,67 % (p/v) de BSA sin ácidos grasos (Roche, Penzberg, Alemania) en condiciones humidificadas con 75 % de H $_2$, 20 % de O $_2$ y 5 % de CO $_2$, o 95 % de aire y 5 % de CO $_2$.

en una pequeña bolsa de aluminio. Después del tratamiento con o sin hidrógeno durante 24 h, las células se trataron con BSA libre de ácidos grasos al 0,67 % o con complejo de palmitato de sodio 0,3 y 1,0 mM (Sigma, St. Louis, MO, EE. UU.)-BSA (que contiene BSA libre de ácidos grasos al 0,67 %) durante 24 h para analizar el contenido de lípidos. Las células también se trataron con BSA libre de ácidos grasos o con complejo de palmitato de sodio-BSA 0,3 mM durante 120 min para analizar la fosforilación de proteínas.

Ensayo de viabilidad

celular Después del tratamiento con o sin hidrógeno durante 24 h, la viabilidad celular se determinó colorimétricamente utilizando el kit Cell Counting (ensayo WST-1: Wako, Osaka, Japón) según el protocolo del fabricante.

Medición de la absorción de ácidos grasos y el contenido

de lípidos El ensayo de absorción de ácidos grasos se realizó según lo descrito por Liao et al. [16] con una ligera modificación. Después del tratamiento con o sin hidrógeno durante 24 h, las células se lavaron dos veces con solución salina equilibrada de Hank (HBSS: Gibco, Langley, OK, EE. UU.) y se incubaron en HBSS que contenía 0,1 % de BSA sin ácidos grasos y 0,5 μ g/ml de BODIPY FL C16 (Molecular Probes, Eugene, OR, EE. UU.) durante 15 min a 37 °C. Después de lavar dos veces con HBSS enfriado con hielo que contenía BSA al 0,2 %, las células se separaron con EDTA/PBS 10 mM y se sometieron a la medición de la fluorescencia utilizando el lector de microplacas de fluorescencia MT-600 F (Corona Electric, Hitachinaka, Japón). La captación relativa de BODIPY FL C16 se expresó como intensidad de fluorescencia en las células en relación con la cantidad total de proteína. Para cuantificar el contenido de lípidos, las células se tiñeron con Oil Red O durante 10 minutos y luego se extrajo el tinte y se midió como se describió anteriormente [17].

Ensayo de unión de

CT-B Después del tratamiento con o sin hidrógeno durante 24 h, las células se lavaron dos veces con HBSS y se incubaron en HBSS que contenía BSA libre de ácidos grasos al 0,1 % y 0,5 μ g/ml de subunidad B de la toxina del cólera conjugada con Alexa594 (CT-B; Molecular Probes) durante 1 hora a 37 °C. Después de lavar dos veces con HBSS enfriado con hielo que contenía BSA al 0,2 %, las células se sometieron a la medición de la fluorescencia utilizando el lector de microplacas de fluorescencia.

Análisis de RT-PCR en

tiempo real Se extrajo el ARN total de las células mediante Isogen II (Wako) seguido de tratamiento con ADNasa I. El ADNc se sintetizó con el kit de reactivos PrimeScript RT (Takara, Ohtsu, Japón) y se realizó una PCR cuantitativa en tiempo real con SYBR Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus: Takara) y el termociclador en tiempo real Dice (Takara). Los conjuntos de cebadores fueron los siguientes: GAPDH, 5'-CCACATCGCTCAGA CACCAT-3' y 5'-GCAACAATATCCACTTTACCAG AGTTAA -3' [18]; CD36, 5'-TGGAACAGAGGCTGAC

AACTT-3' y 5'-TTGATTTTATAGATATGGGATG

C-3'. Se determinó el nivel de expresión del gen CD36 usando el método Ct comparativo y normalizado a ese de GAPDH.

Análisis de Western Blot

Los extractos de células enteras se prepararon utilizando tampón RIPA que contiene el cóctel inhibidor de proteínas (Roche) y el Cóctel inhibidor de fosfatasa (Sigma). Las muestras fueron sometido a gel de dodecilsulfato de sodio-poliacrilamida electroforesis (SDS-PAGE) y electrotransferido en Membranas de PVDF. Las membranas se incubaron con un anticuerpo primario, anti-SAPK/JNK, anti-fosfo-SAPK/JNK (Thr183/Tyr185), anti-GAPDH (señalización celular Technology, Beverly, MA, EE. UU.) o anti-CD36 (GenTex, Irvine, CA, EE. UU.), seguido de incubación con un anticuerpo secundario anti-conejo conjugado con peroxidasa de rábano picante. Las bandas de proteínas se detectaron utilizando el ECL Plus (GE Healthcare, Little Chalfont, Reino Unido) y el generador de imágenes chemiluminescence LAS 4000 (Fujifilm, Tokio, Japón).

análisis estadístico

Los resultados se expresaron como media \pm SD de tres experimentos independientes a menos que se indique lo contrario. Los datos se analizaron usando la prueba t de Student. Se obtuvo un valor de $p < 0,05$ considerado significativo.

Resultados y discusión

El hidrógeno no afecta la viabilidad de las células HepG2

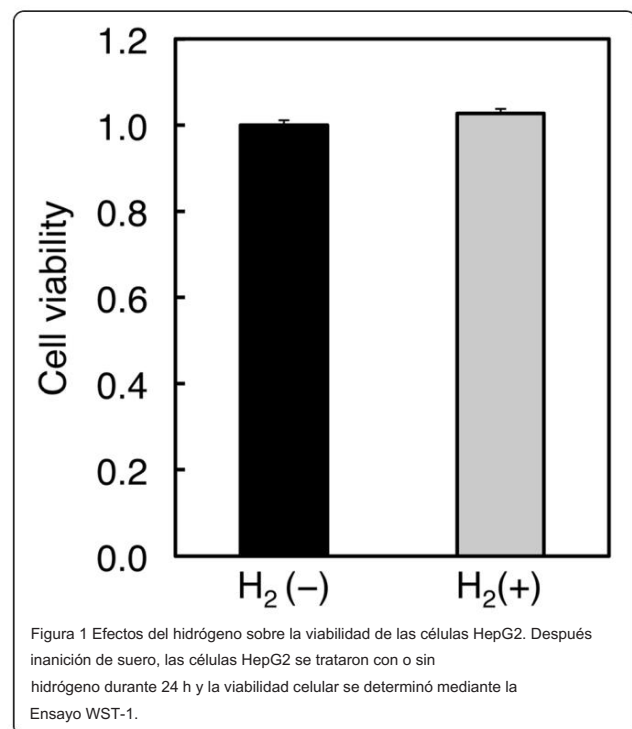
Determinamos los efectos del hidrógeno sobre la viabilidad y morfología de las células HepG2 en las condiciones experimentales que describimos anteriormente [12]. Después de la privación de suero durante 24 h, las células se trataron con hidrógeno en DMEM que contiene BSA libre de ácidos grasos durante 24 h y luego se sometió al ensayo de viabilidad celular. El tratamiento con hidrógeno no afectó viabilidad celular (Figura 1) y morfología (datos no mostrados).

Esto es consistente con nuestro hallazgo anterior de que el hidrógeno no influyó en la viabilidad celular y la morfología de los cultivos células cuando se administra de acuerdo con nuestro protocolo [12, 13]. Estos resultados sugieren que es poco probable que el hidrógeno induzca muerte celular o proliferación en experimentos posteriores.

El hidrógeno reduce la absorción de ácidos grasos y lípidos acumulación

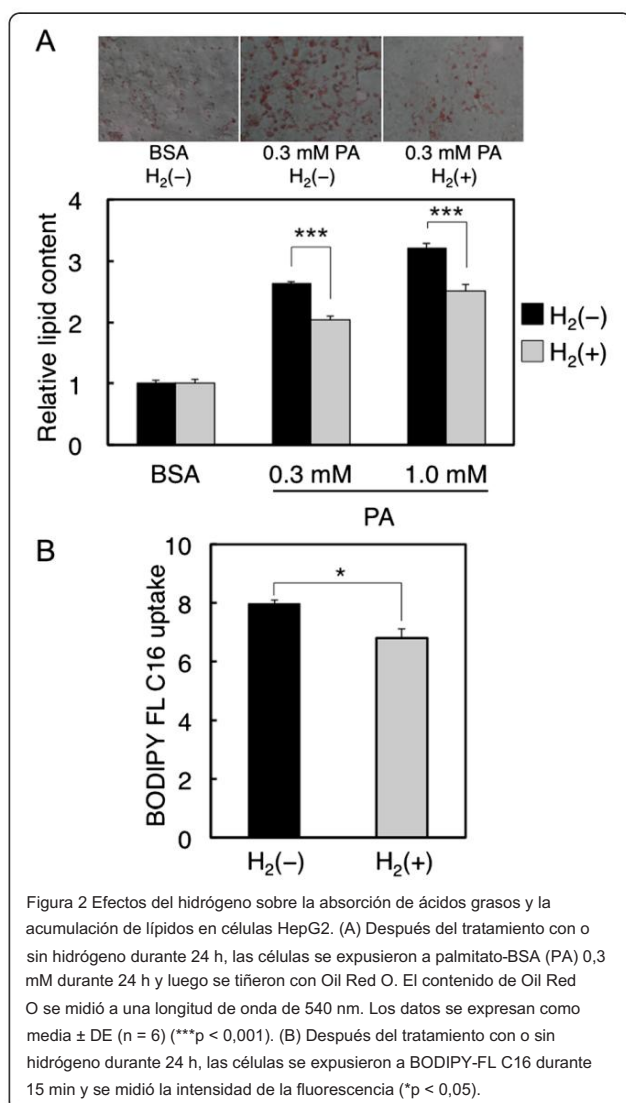
En pacientes con diabetes tipo 2, la ingesta oral de agua rica en hidrógeno se asocia con la reducción de las concentraciones séricas de lipoproteínas de baja densidad (LDL) oxidadas.

y FFA [9], ambos ligandos de CD36. La administración de agua rica en hidrógeno previene la aterosclerosis en ratones knockout para la apolipoproteína E, un modelo del desarrollo espontáneo de la aterosclerosis [19]. Sin embargo, los mecanismos moleculares del hidrógeno para mejorar los lípidos el metabolismo y la aterosclerosis siguen siendo en gran parte desconocidos. En un intento de investigar los mecanismos subyacentes,



primero examinamos si el hidrógeno podría exhibir efectos beneficiosos sobre el metabolismo de los lípidos en un modelo de cultivo celular de esteatosis hepática. Según un informe anterior de Gómez-Lechón et al. [20], una sobrecarga de ácidos grasos conduce a la acumulación de lípidos en las células HepG2. Nosotros por lo tanto células HepG2 tratadas con palmitato-BSA 0,3 o 1,0 mM durante 24 h y luego realizó la tinción con Oil Red O para detectar el contenido de triglicéridos (TG) intracelulares. En efecto, La incubación de las células con palmitato-BSA desarrolló un aumento claro de la acumulación de lípidos en el citosol en comparación con el control BSA (Figura 2A). Luego estudiamos si el pretratamiento con hidrógeno durante 24 h podría afectar acumulación de lípidos por sobrecarga de palmitato. Como se muestra en Figura 2A, acumulación de lípidos intracelulares causada por 0.3 o palmitato 1,0 mM se redujo significativamente mediante tratamiento con hidrógeno. En ratones knockout para apolipoproteína E, las lesiones ateroscleróticas se redujeron por el hidrógeno como juzgado por tinción Oil Red O de macrófagos en serie secciones de la aorta [19]. Nuestros resultados y otros sugieren que el hidrógeno molecular es capaz de reducir la acumulación de grasa en modelos in vitro e in vivo de metabolismo enfermedades.

En los hepatocitos, los FFA se convierten en TG, que se utiliza para la producción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), un clase de lipoproteínas. VLDL transporta TG desde el hígado e intestino a los tejidos adiposo y muscular, pero el exceso TG se almacena en gotitas de lípidos [3]. El lípido celular el contenido depende en parte de la captación de FFA a través del transporte transmembrana. Para examinar si el hidrógeno podría influir en la absorción de FFA, las células se trataron con un



Análogo de ácido graso fluorescente marcado con BODIPY, BODIPY FL C16, durante 15 min después del tratamiento con o sin hidrógeno durante 24 h. Después del lavado, se midió la fluorescencia intracelular. Como se muestra en la Figura 2B, la absorción de palmitato marcado con fluorescencia se redujo significativamente mediante el tratamiento con hidrógeno. En conjunto, estos resultados sugieren que el hidrógeno inhibe la absorción de ácidos grasos y la acumulación de lípidos después de la sobrecarga de palmitato en las células HepG2.

El hidrógeno inhibe la fosforilación de JNK inducida por palmitato En

un intento por dilucidar los mecanismos moleculares subyacentes a la reducción por el hidrógeno de la absorción de ácidos grasos y la acumulación de lípidos en las células HepG2, investigamos el efecto del hidrógeno en la activación de las vías de señalización inducida por palmitato. Dado que Gao et al. Ha recientemente

informaron que FFA induce resistencia a la insulina hepática a través de las vías JNK y p38 MAPK (proteínas quinasas activadas por mitógenos) [21], analizamos la activación de JNK y p38 después del tratamiento con palmitato en células HepG2. Como se muestra en la Figura 3A, el tratamiento con hidrógeno atenuó la fosforilación de JNK provocada por la sobrecarga de palmitato. Por el contrario, la activación de p38 no se vio afectada por el hidrógeno (datos no mostrados). Entre las respuestas fisiológicas inducidas por la sobrecarga de ácidos grasos, se ha demostrado que la activación de JNK es la principal responsable del estrés oxidativo inducido por palmitato y la esteatosis hepática inducida por HFD [22,23]. Por lo tanto, nuestros resultados sugieren que la inhibición de la activación de JNK por parte del hidrógeno puede contribuir a la atenuación de la hiperlipogénesis inducida por palmitato.

El hidrógeno regula a la baja la expresión proteica de CD36

La unión de CT-B al gangliósido GM1 es un marcador para identificar balsas lipídicas, que son microdominios de membrana enriquecidos en colesterol y esfingolípidos [24]. Hay varias evidencias de la correlación del nivel de captación de FFA con el nivel de expresión de las proteínas transportadoras de FFA y con la integridad de las balsas lipídicas [25]. Para examinar si el hidrógeno afectaba la integridad de la balsa lipídica en las células HepG2, medimos la intensidad de la unión de CT-B marcada con fluorescencia después del tratamiento con hidrógeno usando un

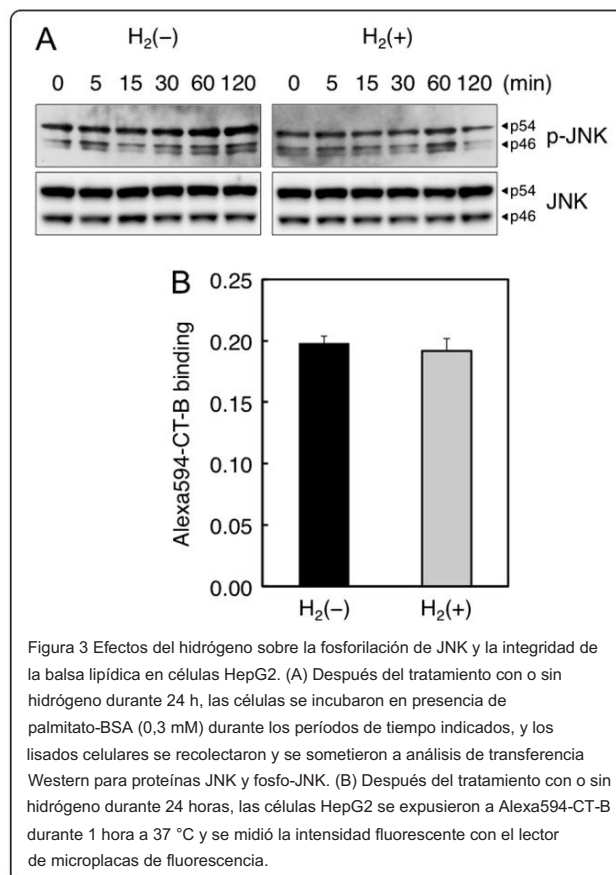


Figura 3 Efectos del hidrógeno sobre la fosforilación de JNK y la integridad de la balsa lipídica en células HepG2. (A) Después del tratamiento con o sin hidrógeno durante 24 h, las células se incubaron en presencia de palmitato-BSA (0,3 mM) durante los periodos de tiempo indicados, y los lisados celulares se recolectaron y se sometieron a análisis de transferencia Western para proteínas JNK y fosfo-JNK. (B) Después del tratamiento con o sin hidrógeno durante 24 horas, las células HepG2 se expusieron a Alexa594-CT-B durante 1 hora a 37 °C y se midió la intensidad fluorescente con el lector de microplacas de fluorescencia.

lector de microplacas de fluorescencia. Como se muestra en la Figura 3B, el tratamiento con hidrógeno no afectó a la integridad de la balsa lipídica. Estos hallazgos sugirieron la posibilidad de que la inhibición de la captación de FFA por parte del hidrógeno se deba a la expresión alterada de proteínas transportadoras de FFA como CD36.

Para verificar si el palmitato atenuado por hidrógeno inducía la acumulación de lípidos en las células HepG2 a través de la regulación de la expresión de CD36, se evaluó el nivel de expresión de CD36 después del tratamiento con hidrógeno mediante PCR en tiempo real y análisis de transferencia Western. Inesperadamente, la expresión del ARNm de CD36 no se vio alterada por el tratamiento con hidrógeno (Figura 4A), pero la expresión de la proteína CD36 se reguló significativamente a la baja por el hidrógeno (Figura 4B). Se ha informado previamente que una ceramida de cadena corta no fisiológica, la ceramida C2, reduce la expresión de CD36 a niveles de proteína pero no a niveles de ARNm en monocitos y macrófagos [26]. Además, el inhibidor de la proteasa antirretroviral, ritonavir, que inhibe la actividad del proteasoma en las células THP-1, aumenta los niveles de proteína CD36 pero no los niveles de ARNm, seguido de un aumento de la captación de oxLDL y los niveles de colesterol [27]. Estos hallazgos sugieren que la reducción de la expresión de la proteína CD36 mediante el tratamiento con hidrógeno puede implicar eventos postranscripcionales que incluyen la inhibición de la traducción de proteínas o la mejora de la degradación de proteínas. La ubiquitinación juega un papel importante en la regulación aguda de muchos niveles de proteínas de membrana. Smith et al. encontraron que la proteína CD36 estaba ubiquitinada en las lisinas 469 y 472 en su dominio C-terminal [28]. Este proceso se ve reforzado por los ácidos grasos, lo que indica el mecanismo de retroalimentación negativa de la expresión de CD36. Sería posible que el hidrógeno pudiera activar el sistema ubiquitina-proteasoma y regular a la baja la expresión de CD36. Un informe reciente también mostró que Parkin mono-ubiquitina CD36, estabilizando y aumentando el CD36 [29]. Si el hidrógeno pudiera inhibir la actividad o la expresión de Parkin, el CD36 podría poliubiquitinarse y degradarse rápidamente, cuya posibilidad queda por estudiar.

El hidrógeno regula a la baja la expresión de la proteína CD36 y, por lo tanto, inhibe la fosforilación de JNK inducida por

palmitato. Por lo tanto, es probable que la inhibición de la fosforilación de JNK inducida por palmitato sea la consecuencia de la absorción reducida de ácidos grasos.

Nuestros resultados sugieren que la regulación a la baja de la expresión de CD36 por pretratamiento con hidrógeno puede ser el principal mecanismo contra la esteatosis hepática en este modelo in vitro.

Finalmente, vale la pena señalar que investigamos los mecanismos moleculares de los efectos del hidrógeno en los lípidos.

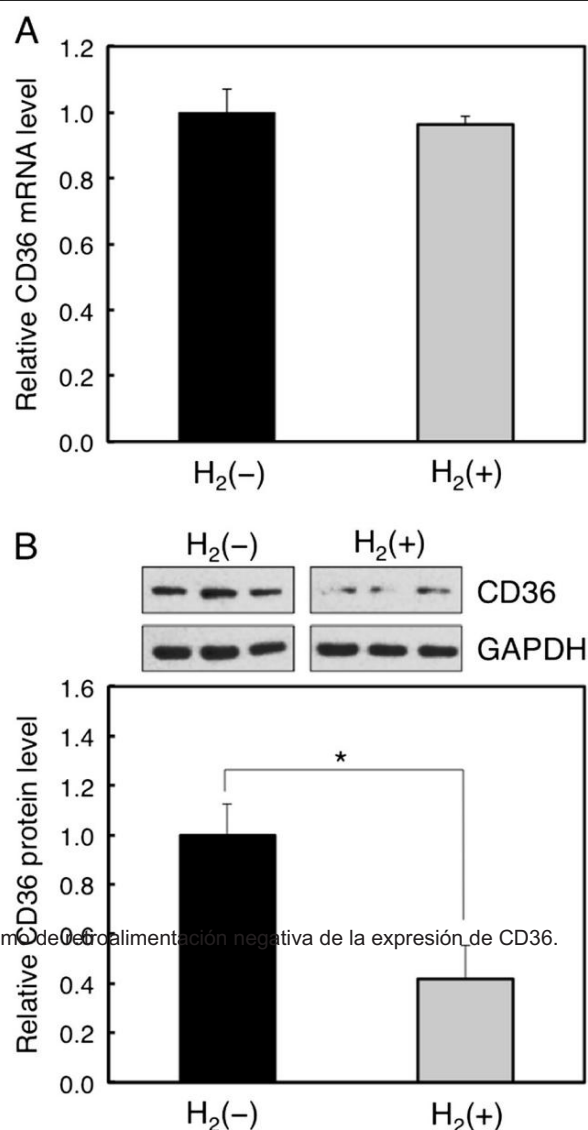


Figura 4 Efectos del hidrógeno sobre la expresión de CD36 en células HepG2. Después del tratamiento con o sin hidrógeno durante 24 h, se recolectó el ARN total y se realizó una RT-PCR cuantitativa en tiempo real para el ARNm de CD36 (A), y se recolectaron los lisados celulares y se realizó un análisis de transferencia Western para la proteína CD36 (B). Se utilizó GAPDH como control interno y se evaluó el nivel de proteína CD36 (veces) mediante densitometría (* $p < 0,05$).

metabolismo usando el sistema de cultivo celular que desarrollamos previamente. Para mantener alta la concentración de hidrógeno en el medio, las células se cultivan en condiciones de 75 % de H₂, 20 % de O₂ y 5 % de CO₂. Sin embargo, un informe reciente demostró que la ingesta oral de agua que contenía una concentración de hidrógeno relativamente más baja fue eficaz en un modelo animal de la enfermedad de Parkinson [30]. Además, el aumento de la concentración de hidrógeno en el cuerpo después de tomar agua con hidrógeno debería ser transitorio. Para recapitular con precisión los efectos del hidrógeno in vivo, es necesario desarrollar un nuevo sistema de cultivo celular en el que

la concentración y el momento del tratamiento con hidrógeno se pueden cambiar fácilmente.

Conclusiones El

hidrógeno regula a la baja la expresión proteica de CD36 e inhibe la captación de ácidos grasos y la acumulación de lípidos en las células HepG2. Como consecuencia, el hidrógeno puede modular la transducción de señales, como la vía JNK. Nuestros resultados brindan información sobre el mecanismo molecular que subyace a los efectos del hidrógeno en los trastornos del metabolismo de los lípidos, como la esteatosis hepática y la NAFLD.

Abreviaturas

NAFLD: enfermedad del hígado graso no alcohólico; AGL: Ácido graso libre; JNK: c-Jun NH2- terminal quinasa; ASVD: enfermedad vascular aterosclerótica; DH: Dieta rica en grasas; ASK1: quinasa 1 reguladora de la señal de apoptosis; HBSS: solución salina equilibrada de Hank; CT-B: subunidad B de la toxina del cólera; SDS-PAGE: electroforesis en gel de poliácridamida con dodecilsulfato de sodio; LDL: lipoproteína de baja densidad; TG: Triglicéridos; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad; MAPK: proteína quinasas activadas por mitógenos.

Conflicto de intereses Los
autores declaran que no tienen conflictos de intereses.

Contribuciones de los autores

IO, KO, MI y YN participaron en el diseño del estudio. MI y TI establecieron el sistema de tratamiento de hidrógeno en el sistema de cultivo in vitro. AI, MI, RT y YF llevaron a cabo experimentos. Todos los autores leyeron y aprobaron el manuscrito final.

Agradecimientos Este

trabajo fue financiado en parte por Grant-in-aid for Scientific Research (22300244 a Masafumi Ito) del Ministerio de Educación, Cultura, Deportes, Ciencia y Tecnología de Japón.

Detalles del autor

¹Departamento de Embriología, Instituto de Investigación del Desarrollo, Centro de Servicios Humanos de Aichi, 713-8 Kamiya-Cho, Kasugai, Aichi 480-0392, Japón.
²División de Neurogenética, Centro de Enfermedades Neurológicas y Cáncer, Facultad de Medicina de la Universidad de Nagoya, 65 Tsurumai, Showa-ku, Nagoya, Aichi 466-8550, Japón.
³Facultad de Agricultura, Universidad de Kinki, 3327-204 Nakamachi, Nara, Nara 631-0052, Japón.
⁴Departamento de Urología, Facultad de Medicina de la Universidad de Gifu, 1-1 Yanagido, Gifu, Gifu 501-1193, Japón.
⁵Equipo de Investigación para el Mecanismo del Envejecimiento, Tokio Instituto Metropolitano de Gerontología, 35-2 Sakae-cho, Itabashi, Tokio 173-0015, Japón.
⁶Departamento de Alimentos y Salud, Universidad Tokai Gakuin, 5-68 Naka-kinrocho, Kakamigahara, Gifu 504-8511, Japón.
⁷Equipo de Investigación para Biogerontología funcional, Instituto Metropolitano de Gerontología de Tokio, 35-2 Sakae-cho, Itabashi, Tokio 173-0015, Japón.

Recibido: 25 de diciembre de 2012 Aceptado: 25 de febrero de 2013
Publicado: 1 de marzo de 2013

Referencias 1.

Boden G: Obesidad y ácidos grasos libres (FFA). *Endocrinol Metab Clin Norte Am* 2008, **37**:635–646.

2. Su X, Abumrad NA: Absorción de ácidos grasos celulares: una vía en construcción. *Tendencias Endocri Metab* 2009, **20**:72–77.

3. Bradbury MW: metabolismo de los lípidos e inflamación del hígado. I. Captación hepática de ácidos grasos: posible papel en la esteatosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006, **290**:G194–G198.

4. Abumrad NA, El-Maghrabi MR, Amri EZ, Lopez E, Grimaldi PA: Clonación de una proteína de membrana de adipocitos de rata implicada en la unión o transporte de ácidos grasos de cadena larga que se induce durante la diferenciación de preadipocitos. *J Biol Chem* 1993, **268**:17665–17668.

5. Koonen DP, Jacobs RL, Febbraio M, Young ME, Solts CL, Ong H, Vance DE, Dyck JR: El aumento de la expresión hepática de CD36 contribuye a la dislipidemia asociada con la obesidad inducida por la dieta. *Diabetes* 2007, **56**:2863–2871.

6. Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, Watanabe M, Nishimaki K, Yamagata K, Katsura K, Katayama Y, Asoh S, Ohta S: el hidrógeno actúa como un antioxidante terapéutico al reducir selectivamente los radicales de oxígeno citotóxicos. *Nat Med* 2007, **13**:688–694.

7. Ohta S, Nakao A, Ohno K: El simposio de hidrógeno molecular médico de 2011: un simposio inaugural de la revista medical Gas research. *Med Gas Res* 2011, **1**:10.

8. Kajiyama S, Hasegawa G, Asano M, Hosoda H, Fukui M, Nakamura N, Kitawaki J, Imai S, Nakano K, Ohta M, Adachi T, Obayashi H, Yoshikawa T: La suplementación con agua rica en hidrógeno mejora el metabolismo de los lípidos y la glucosa en pacientes con diabetes tipo 2 o intolerancia a la glucosa. *Nutr Res* 2008, **28**:137–143.

9. Nakao A, Toyoda Y, Sharma P, Evans M, Guthrie N: Efectividad de agua rica en hidrógeno sobre el estado antioxidante de sujetos con síndrome metabólico potencial: un estudio piloto de etiqueta abierta. *J Clin Biochem Nutr* 2010, **46**:140–149.

10. Kamimura N, Nishimaki K, Ohsawa I, Ohta S: El hidrógeno molecular mejora la obesidad y la diabetes al inducir FGF21 hepático y estimular el metabolismo energético en ratones db/db. *Obesidad* 2011, **19**:1396–1403.

11. Kawai D, Takaki A, Nakatsuka A, Wada J, Tamaki N, Yasunaka T, Koike K, Tsuzaki R, Matsumoto K, Miyake Y, Shiraha H, Morita M, Makino H, Yamamoto K: El agua rica en hidrógeno previene la progresión de la esteatohepatitis no alcohólica y la hepatocarcinogénesis concomitante en ratones. *Hepatology* 2012, **56**:912–921.

12. Itoh T, Fujita Y, Ito M, Masuda A, Ohno K, Ichihara M, Kojima T, Nozawa Y, Ito M: el hidrógeno molecular suprime la transducción de señales mediada por FcεRI y previene la desgranulación de los mastocitos. *Biochem Biophys Res Commun* 2009, **389**:651–656.

13. Itoh T, Hamada N, Terazawa R, Ito M, Ohno K, Ichihara M, Nozawa Y, Ito M: El hidrógeno molecular inhibe la producción de óxido nítrico inducida por lipopolisacárido/interferón γ mediante la modulación de la transducción de señales en los macrófagos. *Biochem Biophys Res Commun* 2011, **411**:143–149.

14. Sun H, Chen L, Zhou W, Hu L, Li L, Tu Q, Chang Y, Liu Q, Sun X, Wu M, Wang H: El papel protector de la solución salina rica en hidrógeno en la lesión hepática experimental en ratones. *J Hepatol* 2011, **54**:471–480.

15. Wang C, Li J, Liu Q, Yang R, Zhang JH, Cao YP, Sun XJ: ricos en hidrógeno la solución salina reduce el estrés oxidativo y la inflamación mediante la inhibición de la activación de JNK y NF-κB en un modelo de rata de la enfermedad de Alzheimer inducida por beta-amiloide. *Neurosci Lett* 2011, **491**:127–132.

16. Liao J, Sportsman R, Harris J, Stahl A: Cuantificación en tiempo real de la captación de ácidos grasos mediante un nuevo ensayo de fluorescencia. *J Lipid Res* 2005, **46**:597–602.

17. Iio A, Ohguchi K, Inoue H, Maruyama H, Araki Y, Nozawa Y, Ito M: los extractos etanólicos de propóleo rojo brasileño promueven la diferenciación de adipocitos a través de la activación de PPARγ. *Fitomedicina* 2010, **17**:974–979.

18. Iio A, Ohguchi K, Maruyama H, Tazawa S, Araki Y, Ichihara K, Nozawa Y, Ito M: los extractos etanólicos de propóleo rojo brasileño aumentan la expresión de ABCA1 y promueven la salida de colesterol de los macrófagos THP-1. *Fitomedicina* 2012, **19**:383–388.

19. Ohsawa I, Nishimaki K, Yamagata K, Ishikawa M, Ohta S: El consumo de agua con hidrógeno previene la aterosclerosis en ratones knockout para apolipoproteína E. *Biochem Biophys Res Commun* 2008, **377**:1195–1198.

20. Gómez-Lechón MJ, Donato MT, Martínez-Romero A, Jiménez N, Castell JV, O'Connor JE: A human hepatocellular in vitro model to research steatosis. *Chem Biol Interact* 2007, **165**:106–116.

21. Gao D, Nong S, Huang X, Lu Y, Zhao H, Lin Y, Man Y, Wang S, Yang J, Li J: Los efectos del palmitato en la resistencia a la insulina hepática están mediados por especies reactivas de oxígeno derivadas de la NADPH oxidasa 3 a través de las vías JNK y p38 MAPK. *J Biol Chem* 2010, **285**:29965–29973.

22. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Görgün CZ, Uysal KT, Maeda K, Karin M, Hotamisligil GS: Un papel central para JNK en la obesidad y la resistencia a la insulina. *Naturaleza* 2002, **420**:333–336.

23. Schattenberg JM, Singh R, Wang Y, Lefkowitz JH, Rigoli RM, Scherer PE, Czaja MJ: JNK1 pero no JNK2 promueve el desarrollo de esteatohepatitis en ratones. *Hepatology* 2006, **43**:163–172.

24. Harder T, Scheiffele P, Verkade P, Simons K: Estructura del dominio lipídico de la membrana plasmática revelada por el parche de los componentes de la membrana. *J Cell Biol* 1998, **141**:929–942.

25. Ehehalt R, Füllekrug J, Pohl J, Ring A, Herrmann T, Stremmel W: Translocación de ácidos grasos de cadena larga a través de la membrana plasmática: balsas lipídicas y proteínas transportadoras de ácidos grasos. *Mol Cell Biochem* 2006, **284**:135–140.

26. Luan Y, Griffiths HR: Las ceramidas reducen la expresión de la superficie celular de CD36 y la captación de LDL oxidada por monocitos y macrófagos. *Arch Biochem Biophys* 2006, 450:89–99.
27. Munteanu A, Zingg JM, Ricciarelli R, Azzi A: sobreexpresión de CD36 en células THP-1 tratadas con ritonavir es revertida por α -tocofenol. *Free Rad Biol Med* 2005, 38:1047–1056.
28. Smith J, Su X, El-Maghrabi R, Stahl PD, Abumrad NA: Regulación opuesta de la ubiquitinación de CD36 por ácidos grasos e insulina: efectos sobre la absorción de ácidos grasos. *J Bio Chem* 2008, 283:13578–13585.
29. Kim KY, Stevens MV, Akter MH, Rusk SE, Huang RJ, Cohen A, Noguchi A, Springer D, Bocharov AV, Eggerman TL, Suen DF, Youle RJ, Amar M, Remaley AT, Sack MN: Parkin es un regulador sensible a los lípidos de la absorción de grasa en ratones y células humanas mutantes. *J Clin Invest* 2011, 121:3701–3712.
30. Fujita K, Seike T, Yutsudo N, Ohno M, Yamada H, Yamaguchi H, Sakumi K, Yamakawa Y, Kido MA, Takaki A, Katafuchi T, Tanaka Y, Nakabeppu Y, Noda M: El hidrógeno en el agua potable reduce la pérdida neuronal dopaminérgica en el modelo de ratón con 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina de la enfermedad de Parkinson. *PLoS One* 2009, 4:e7247.

doi:10.1186/2045-9912-3-6 Citar

este artículo como: lio et al.: El hidrógeno molecular atenúa la captación de ácidos grasos y la acumulación de lípidos mediante la regulación negativa de la expresión de CD36 en células HepG2. *Investigación de gases medicinales* 2013 3:6.

Envíe su próximo manuscrito a BioMed Central y aproveche al máximo:

- [Práctico envío en línea](#)
- [Revisión minuciosa por pares](#)
- [Sin limitaciones de espacio ni cargos por figura de color](#)
- [Publicación inmediata de la aceptación](#)
- [Inclusión en PubMed, CAS, Scopus y Google Scholar](#)
- [Investigación que está disponible gratuitamente para su redistribución](#)

Envíe su manuscrito a
www.biomedcentral.com/submit

