



Universidad de Valladolid

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA, DERMATOLOGÍA Y
TOXICOLOGÍA

TESIS DOCTORAL:

**FACTORES ANALÍTICOS, ANTROPOMÉTRICOS Y
DIETÉTICOS ASOCIADOS AL DESARROLLO DE
ESTEATOHEPATITIS Y FIBROSIS EN PACIENTES
CON ENFERMEDAD POR HÍGADO GRASO NO
ALCOHÓLICA**

Presentada por Sara Gómez de la Cuesta
para optar al grado de
doctor por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:

Dra. Rocío Aller de la Fuente
Dr. Daniel A. de Luis Román



Universidad de Valladolid

**FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA, DERMATOLOGÍA Y
TOXICOLOGÍA**

TESIS DOCTORAL:

**FACTORES ANALÍTICOS, DIETÉTICOS Y
ANTROPOMÉTRICOS ASOCIADOS AL DESARROLLO
DE ESTEATOHEPATITIS Y FIBROSIS EN PACIENTES
CON ENFERMEDAD POR HÍGADO GRASO NO
ALCOHÓLICA**

Doctorando:

Sara Gómez de la Cuesta

Directores:

Dra. Rocío Aller de la Fuente

Dr. Daniel A. de Luis Román

Valladolid, octubre de 2015

AGRADECIMIENTOS

Quizá ésta sea la parte más fácil y más difícil de todo este texto. Fácil porque saltan a la memoria caras, nombres y hechos. Difícil, porque lo es, hacerlos saltar al papel. Y como el agradecimiento es algo mucho más profundo que un papel, dicho queda y a por ello.

En primer lugar, a los Doctores Rocío Aller y Daniel de Luis. Es poco decir que he aprendido ciencia, medicina, estadística... me han enseñado a pensar, y eso no se paga con nada. Y agradecimiento por compartir su saber: saber investigar, saber enseñar y saber vivir.

A la Dra. Olatz Izaola, por el seguimiento de cada paciente y su trabajo minucioso.

A mi madre, por nada en concreto sino más bien POR TODO. Este trabajo va dedicado enteramente a ella.

A mi abuela Petra, firme, como su propio nombre indica, por estar siempre y por la “buena crianza”.

A Daniela, la pequeña de la familia, por animarme (sólo con mirarla, aún no habla) a seguir trabajando cuando ya sólo veía números y tablas.

A mis tíos y primos, esta pequeña familia tan “normal”, ¿verdad Nani, Marta, Vega, Jose...? Por nombrar sólo a los “más normales”.

A mi padre por la parte que le toca.

A Belén, por reflejar con su ejemplo la carrera de fondo que es la Medicina, y ¡qué bien la corrió!

A Vicky, por tantas sesiones clínicas en tan buena compañía, ¡y las que nos quedan!

A mis amigos de toda la vida, los charros, y a los más recientes, los pucelanos y los más internacionales.

A todos mis compañeros del Servicio de A. Digestivo del Hospital Clínico de Valladolid por los ánimos. A mis compañeros de residencia y de tantas guardias en el Río Horteiga, con quienes aprendí a ir “cogiendo el toro por los cuernos”.

A todas las personas que me han sufrido más de cerca en todo este tiempo, por la paciencia y estímulo.

A TODOS, ¡MUCHAS GRACIAS!

“Es detestable esa avaricia espiritual que tienen los que sabiendo algo, no procuran la transmisión de esos conocimientos”

Miguel de Unamuno

ÍNDICE

Agradecimientos	5
Índice	7
Abreviaturas y acrónimos	11
1. INTRODUCCIÓN	13
1. Definición	15
2. El espectro de la Enfermedad por hígado graso no alcohólica (EHGNA).....	15
3. Historia natural.....	16
4. Epidemiología y factores de riesgo.....	17
4.1. Epidemiología.....	17
4.2. Factores de riesgo.....	19
4.2.1. Síndrome Metabólico.....	19
4.2.1.1. <i>Conceptos generales. Criterios diagnósticos</i>	19
4.2.1.2.- <i>Etiología del Síndrome Metabólico</i>	23
4.2.1.3.- <i>Otras relaciones causales</i>	24
4.2.1.4.- <i>Epidemiología del Síndrome Metabólico</i>	24
4.2.1.5.- <i>Riesgo cardiovascular implícito</i>	25
4.2.1.6.- <i>Manejo del Síndrome Metabólico</i>	26
4.2.2. Obesidad.....	27
4.2.2.1.- <i>Consideraciones generales</i>	27
4.2.2.2.- <i>Epidemiología de la obesidad</i>	29
4.2.2.3.- <i>Situación de la población joven</i>	33
4.2.2.4.- <i>Tendencia al alza</i>	39
4.2.2.5.- <i>Obesidad como factor de riesgo cardiovascular</i>	41
4.2.2.6.- <i>Causas determinantes de obesidad</i>	44
4.2.2.7.- <i>Factores favorecedores del incremento de la obesidad</i>	46
5. Mecanismos fisiopatológicos de la Esteatohepatitis no Alcohólica (EHNA).....	48
5.1. No hepáticos.....	48
5.1.1. Distribución del tejido graso.....	48
5.1.2. Estilo de vida.....	52
5.1.3. Resistencia a la insulina y desarrollo de esteatosis.....	52
5.1.4. Papel de las citokinas y adipokinas.....	54
5.1.5. Papel de la genética.....	57
5.2. Factores Hepáticos.....	59
5.2.1. Estrés oxidativo.....	62
5.2.1.1. Disfunción mitocondrial.....	62
5.2.1.2. Hierro.....	63
5.2.1.3. Déficit de antioxidantes.....	64
5.2.1.4. Papel de la microbiota.....	64
5.2.2. Peroxidación lipídica.....	66
6. Diagnóstico de la EHGNA.....	67
6.1 Sintomatología y signos clínicos.....	68
6.2 Laboratorio.....	68
6.3 Estudios de imagen.....	68

6.4. Diagnóstico histológico: Score NAS. Otros sistemas de clasificación no invasivo	
A) Biopsia hepática.....	72
B) Diagnóstico no invasivo.....	73
7. Tratamiento.....	75
7.1. Tratamiento dietético. Modificación del estilo de vida	75
7.2. Tratamiento farmacológico.....	77
7.3. Tratamiento quirúrgico de la obesidad.....	80
7.4. Trasplante hepático.....	81
2. OBJETIVOS.....	83
3. JUSTIFICACION DE LA TESIS.....	87
4. MATERIAL Y METODOS.....	91
1. Diseño del estudio.....	93
2. Ámbito de realización.....	93
3. Población de estudio.....	93
4. Variables estudiadas.....	94
4.1. Variables epidemiológicas.....	95
4.2. Evaluación clínica.....	95
4.3. Evaluación antropométrica.....	95
4.4. Evaluación por impedancia bioeléctrica.....	98
4.5. Evaluación bioquímica.....	101
4.6. Adipokinas. Determinación mediante ELISA de proteínas relacionadas con el tejido adiposo.....	102
4.6.1. TNF- α (R&D SYSTEMS®).....	102
4.6.2. ADIPONECTINA (R&D SYSTEMS®).....	104
4.6.3. IL-6 (R&D SYSTEMS®).....	105
4.6.4. LEPTINA (DSL®).....	107
4.6.5. RESISTINA (Biovendor®).....	108
4.7. Evaluación nutricional de la ingesta dietética.....	110
4.8. Biopsia hepática percutánea.....	119
4.9. Diagnóstico no invasivo de fibrosis: NAFLD Fibrosis Score.....	123
4.10. Valoración de los factores de riesgo cardiovascular.....	124
5. Análisis estadístico.....	129
6. Tratamiento informático y control de calidad de los datos.....	130
7. Revisión bibliográfica.....	130
5. RESULTADOS.....	133
5.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO.....	135
5.1.1. Características generales de la muestra.....	135
5.1.2. Características de la muestra en función de edad y sexo.....	142
5.2. ESTADÍSTICA INFERENCIAL.....	178
5.2.1. Análisis de las diferentes variables estudiadas en función del diagnóstico de EHNA según el NAS-score (Kleiner).....	178
5.2.2. Análisis de las diferentes variables estudiadas en función de la presencia/ausencia de fibrosis en la muestra de biopsia.....	195
5.2.3. Análisis de las diferentes variables en función de los grados de SEVERIDAD de la fibrosis.....	215

5.3. ANÁLISIS CON EL MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA: FIBROSIS COMO VARIABLE DEPENDIENTE.....	219
6. DISCUSIÓN.....	221
6.1. Aspectos generales.....	223
6.2. Alteraciones analíticas y su relación con la presencia de fibrosis hepática en nuestra muestra de pacientes con EHGNA.....	223
6.3 Papel de las Adipocitokinas.....	227
6. 3. a. Adipocitokinas y EHNA.....	227
6. 3. b. Adipocitokinas y fibrosis hepática.....	229
6.4. Antropometría y su relación con la presencia de fibrosis hepática en nuestra muestra de pacientes con EHGNA.....	231
6.5. Características de la ingesta dietética y su desviación de las recomendaciones internacionales en los pacientes con EHGNA con y sin fibrosis hepática.....	237
6.6. Relación entre la severidad de la fibrosis hepática y las variables analíticas, antropométricas y de ingesta en nuestra muestra de pacientes con EHGNA.....	239
6.6.1. Variables analíticas y Adipocitokinas.....	240
6.6.2. Variables antropométricas.....	243
6.6.3. Variables de la ingesta dietética.....	244
6.7. Relación del marcador no invasivo de fibrosis hepática NAFLD Fibrosis Score con la presencia y severidad de la fibrosis obtenida en la biopsia hepática	247
7. CONCLUSIONES.....	251
8. LIMITACIONES.....	255
Índice de tablas	259
Índice de figuras	263
Bibliografía	267

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS POR ORDEN DE APARICIÓN

EHGNA: Enfermedad por hígado graso no alcohólica
 EHNA: Esteatohepatitis No Alcohólica
 CHC: carcinoma hepatocelular
 DEMILI®: Detection of Metabolic Induced Liver Injury
 IMC: índice de masa corporal
 DM-2 :diabetes mellitus tipo 2
 NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey
 SM: síndrome metabólico
 RI: resistencia insulínica
 IDF: Internacional Diabetes Federation
 NCEP: National Cholesterol Education Program
 NCEP-ATP III: Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults; Adult Treatment Panel III
 HOMA-IR: homeostasis model asesment insuline resistance
 PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno
 IOTF: International Obesity Task Force
 OMS: Organización Mundial de la Salud
 ACV: accidente cerebro-vascular
 Ricardin: Grupo Cooperativo Español para el Estudio de los Factores de Riesgo Cardiovascular en la Infancia y Adolescencia
 ALADINO: Alimentación, Actividad física, Desarrollo Infantil y Obesidad
 FRCV: factor de riesgo cardiovascular
 SEEDO: Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad
 WAT: tejido adiposo blanco
 BAT: tejido adiposo marrón o pardo
 vWAT: tejido adiposo blanco visceral
 sWAT: tejido adiposo blanco subcutáneo
 AGL: ácidos grasos libres
 VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad
 IL-6: Interleukina 6
 GWAS: estudios de asociación amplia del genoma
 SNP: polimorfismos de un solo nucleótido
 ROS :radicales libres de oxígeno
 CEH: células estrelladas del hígado
 AINEantiinflamatorios no esteroideos
 ALT: alaninoaminotransferasa
 ANA: anticuerpos antinucleares
 AST, aspartato aminotransferasa
 GGT: gamma glutamiltransferasa
 HBsAg; antígeno de superficie de la hepatitis B
 EHGNA: enfermedad por hígado graso no alcohólico
 IST: índice de saturación de la transferrina
 VHC: virus hepatitis C
 US: ecografía
 TC: tomografía computarizada
 RM: resonancia magnética
 ARFI: Acoustic radiation force impulse Imaging
 ET: elastografía de transición
 CAP: Controlled attenuation parameter

CK-18: citoqueratina 18
ELF: Enhanced Liver Fibrosis
NFS: NAFLD Fibrosis Score
PUFA: ácidos grasos poliinsaturados
AASLD: American Association for the Study of Liver Diseases
MELD: model for end liver disease
TAS: tensión arterial sistólica
TAD: tensión arterial diastólica
ICC: Índice cintura-cadera
CMB: circunferencia muscular del brazo
AIB: análisis de impedancia bioeléctrica
EPA: ácido eicosapentaenoico
DHA: ácido docosahexaenoico
ANOVA: Análisis de la varianza
NKT: linfocitos T “natural killer”
VAI: Índice de adiposidad visceral
NPV: valor predictivo negativo
PPV: valor predictivo positivo

1. INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1. Definición

La Enfermedad por hígado graso no alcohólica (EHGNA) hace referencia a la presencia de esteatosis hepática, excluyendo otras causas de secundarias de acumulación hepática de grasa (por ejemplo el consumo de importante cantidad de alcohol). La EHGNA puede progresar a cirrosis y es probablemente una importante causa de cirrosis criptogénica (1-4). Se trata de una disfunción hepática originada por acumulación de grasa en el hígado. Esta situación generalmente evoluciona como una esteatosis simple, pero si a la grasa se le une inflamación y fibrosis se origina esteatohepatitis con el riesgo de que pueda degenerar en cirrosis.

2. El espectro de la Enfermedad por hígado graso no alcohólica (EHGNA)

Esta enfermedad se subdivide en dos entidades (Figura 1), el Hígado Graso No Alcohólico (HGNA) y la Esteatohepatitis No Alcohólica (EHNA). En la primera de ellas, la esteatosis hepática está presente pero sin evidencia de inflamación, mientras que en la segunda, la esteatosis hepática está asociada con inflamación en el tejido hepático que, histológicamente es indistinguible de la esteatohepatitis alcohólica (5, 6).

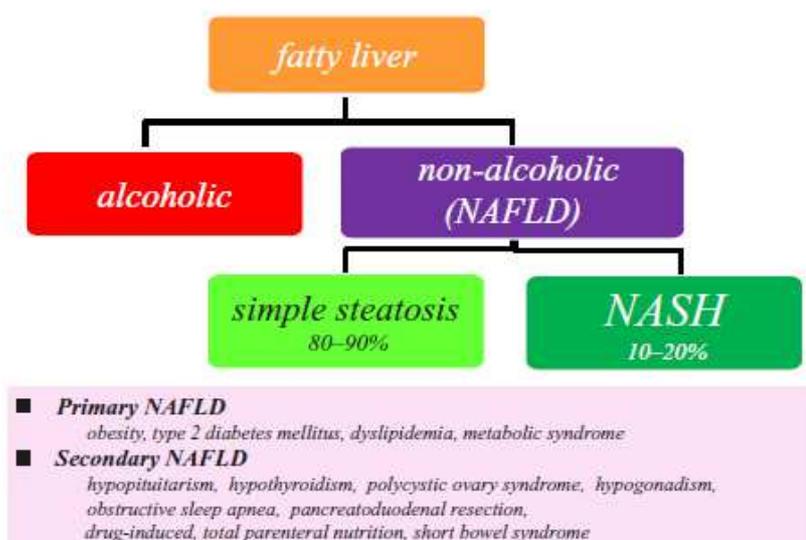


Figura 1. Hígado graso. Distribución y clasificación según hallazgos histológicos (7).

3. Historia natural

La progresión de esta lesión hepática depende del daño histológico en el momento del diagnóstico; así, la esteatosis simple tiende a permanecer más o menos estable mientras que la EHNA tiende a evolucionar a cirrosis y carcinoma hepatocelular (CHC). El “patrón oro” diagnóstico es la biopsia hepática, pero en esta hepatopatía de larga evolución es difícil seguir amplios grupos de población mediante biopsias seriadas; en un intento de evitar este método invasivo, están en fase de validación diagnóstica y pronóstica diferentes métodos no invasivos como la Resonancia Magnética (RM) con la técnica DEMILI® (Detection of Metabolic Induced Liver Injury) que permite cuantificar el grado de esteatohepatitis y de fibrosis con una correlación cercana al 90% en estudios preliminares.

En un estudio evolutivo de 132 pacientes durante 10 años de seguimiento se comprobó que el 25 % con EHNA había progresado a cirrosis, falleciendo un 12 % en relación con la hepatopatía. Los factores que comportan un mayor riesgo evolutivo de la EHNA son la edad mayor de 40 años, un índice de masa corporal (IMC) > 40 kg/m², una relación AST/ALT superior a 1 y la coexistencia de diabetes mellitus tipo 2 (DM-2) o hiperlipemia. La mortalidad asociada a EHNA depende del estadio de la enfermedad, ya que los pacientes con esteatosis simple o fibrosis mínima tienen un riesgo muy bajo de fallecimiento a los 10 años; sin embargo, aquellos con lesiones más avanzadas tienen el riesgo de sufrir complicaciones como insuficiencia hepatocelular, hemorragia por rotura de varices, ascitis, síndrome hepatorenal y CHC.

El riesgo de mortalidad es mayor que en los pacientes con cirrosis por otras causas, debido a la asociación de la EHNA con factores metabólicos y de riesgo cardiovascular, habiéndose descrito en varias series que la principal causa de mortalidad en estos pacientes son los eventos cardiovasculares. También se ha descrito una mejoría histológica en algunos pacientes con EHNA. Tras una pérdida de peso sobre el 5%, se detecta una disminución de las cifras de transaminasas, mientras que es necesario una reducción del 10% del peso corporal para observarse mejoría en la inflamación e incluso de la fibrosis perisinusoidal, sobre todo si la pérdida de peso es gradual y la dieta se asocia con ejercicio físico (8). En ciertos casos se manifiesta una insuficiencia hepática debido a la

rápida pérdida de peso, cualquiera que sea el método de adelgazamiento, pero sobre todo en pacientes con obesidad mórbida sometidos a cirugía bariátrica. (9)

4. Epidemiología y factores de riesgo

4.1. Epidemiología

Sobre la prevalencia existe más información que sobre la incidencia. En los Estados Unidos de América, los estudios hablan de una prevalencia de EHGNA desde el 10 al 46 por ciento, siendo desde el 3 al 5 por ciento en la mayoría de los estudios basados en datos de biopsias hepáticas (10-12).

En un estudio prospectivo de 400 militares estadounidenses y sus familias (media de edad, 55 años), la prevalencia de EHGNA por ecografía fue del 46%. Los factores que se asociaron con dicha entidad fueron el sexo masculino, más edad, y la presencia de hipertensión arterial, obesidad o diabetes. (10)

En los Estados Unidos, la prevalencia de EHGNA ha ido aumentando con el tiempo. Este incremento fue demostrado en una comparativa de tres etapas realizada por el National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES):

Entre 1988 y 1994, la prevalencia de EHGNA era del 5,5 por ciento; entre 1999 y 2004, del 9,8 por ciento; y entre 2005 y 2008, del 11 por ciento, alcanzando el 47, 63 y 75 por ciento de enfermedad hepática crónica durante estos períodos, respectivamente (13). Sin embargo, debería tenerse en cuenta que la definición de EHGNA utilizada en ese estudio (elevación de transaminasas en ausencia de una explicación alternativa), pudo llevar a una probable subestimación de la verdadera prevalencia de EHGNA, ya que los pacientes con EHGNA pueden tener un perfil hepático analítico normal. Esta hipótesis viene apoyada por los hallazgos de un estudio posterior del NHANES que utilizó datos recogidos mediante ecografía de pacientes entre 1988 y 1994 (12). En dicho estudio, la prevalencia ajustada por edad de EHGNA se estimó del 19%.

En los mismos tres períodos definidos, hubo también incrementos en las tasas de otros componentes del síndrome metabólico, incluyendo la obesidad (22, 30 y 33 por

ciento respectivamente), diabetes tipo 2 (6, 8 y 9 por ciento, respectivamente) e hipertensión arterial (23, 33, y 34 por ciento, respectivamente)(13).

En Asia-Pacífico se estima una prevalencia de EHGNA de entre el 5-30% dependiendo del tipo de población estudiada (14).

En cuanto a la demografía, la mayoría de los pacientes diagnosticados de EHGNA se encuentran en las décadas de los 40 o 50 años (14). Los estudios varían en cuanto a la distribución por sexos, algunos sugieren que es más común en mujeres y otros en hombres.

Parece haber diferencias en la prevalencia de EHNA según las etnias (3, 10, 15). Un estudio sobre el contenido hepático de triglicéridos realizado en 2287 sujetos de una muestra poblacional norteamericana, multiétnica, encontró una prevalencia de esteatosis mayor en hispanos (45 por ciento) en comparación con caucásicos (33 por ciento) o raza negra (24 por ciento) (10). Esta mayor prevalencia en hispanos fue explicada por una mayor prevalencia de obesidad, aunque la baja prevalencia en individuos negros persistía después de controlarlo por el IMC y la resistencia a la insulina.

Personas con EHGNA se pueden encontrar en cualquier área geográfica, pero es el trastorno hepático más común en los países industrializados de la zona oeste del mundo. El desarrollo de la EHGNA se asocia con sobrepeso, obesidad, resistencia a la insulina, diabetes mellitus, dislipemia y síndrome metabólico (13)

Esta asociación fue demostrada en un estudio de 304 pacientes con EHGNA pero sin diabetes manifiesta (16). Se realizó biopsia hepática en 163 pacientes y revelaron EHNA en 120 (74 por ciento). Presentaban síndrome metabólico el 53 por ciento de los pacientes que no se realizaron biopsia, el 67 por ciento de los que en biopsia mostraban esteatosis simple, y el 88 por ciento de los que presentaban EHNA en biopsia. El análisis de regresión logística confirmó que la presencia de síndrome metabólico conllevaba un alto riesgo de EHNA entre pacientes con EHGNA (OR 3,2; 95% CI, 1,2-8,9; $p = 0,026$) y, en particular el síndrome metabólico se asoció con un riesgo incrementado de fibrosis avanzada (OR 3,5, 95% IC 1,1-11,2; $p = 0,032$).

4.2. Factores de riesgo

4.2.1. Síndrome Metabólico

4.2.1.1. *Conceptos generales. Criterios diagnósticos*

Especial mención en esta tesis merece el síndrome metabólico (SM). Este síndrome, también llamado síndrome X, síndrome de resistencia a la insulina o síndrome plurimetabólico, es un complejo desorden metabólico que engloba situaciones clínicas diversas (obesidad, diabetes, hipertensión y dislipemia), que pueden aparecer de forma simultánea o secuencial en un mismo individuo. Entidad clínica controvertida, que aparece, con amplias variaciones fenotípicas, en personas con una predisposición endógena, determinada genéticamente y condicionada por factores ambientales. Se caracteriza por la presencia de insulinoresistencia e hiperinsulinismo compensador asociados a trastornos del metabolismo hidrocárbónico, cifras elevadas de presión arterial, alteraciones lipídicas (hipertrigliceridemia, descenso del HDL-colesterol, presencia de LDL-colesterol tipo B, aumento de ácidos grasos libres y lipemia postprandial) y obesidad, con un incremento de la morbimortalidad de origen aterosclerótico, aunque aún no se ha determinado con certeza el riesgo absoluto conferido por el síndrome metabólico en las diferentes poblaciones (17).

Este síndrome fue definido por Reaven a finales de la década de los ochenta, y lo denominó síndrome X metabólico. La denominación de "X" era porque no se sabía lo que representaba, y metabólico, para distinguirlo del angiográfico, también denominado X (18).

La base de este síndrome lo constituye la **resistencia insulínica** (RI) por parte de los tejidos periféricos, en especial por el músculo esquelético, lo que lleva a una hiperinsulinemia secundaria. Clínicamente la RI se define como la incompetencia de una determinada concentración de insulina para conseguir el control de la glucosa y, aunque es la base fisiopatológica de la diabetes, no unificaría todos los aspectos etiológicos en el síndrome metabólico. Es una anomalía celular compleja que implica fundamentalmente al tejido adiposo, al hígado y al músculo esquelético. Además, se asocia a otras alteraciones metabólicas, como test de tolerancia a la glucosa patológico,

hipertrigliceridemia, disminución de los niveles de HDL-colesterol, hipertensión arterial y obesidad central.

Según la Federación Internacional de Diabetes (IDF, del inglés International Diabetes Federation), **el síndrome metabólico se define como la presencia de:**

***Obesidad central:** circunferencia de cintura ≥ 94 cm para hombres y ≥ 80 cm para mujeres.

Además de dos de los siguientes factores:

*Nivel de **triglicéridos** elevado ≥ 150 mg/dL (1,7 mmol/L), o tratamiento específico.

*Niveles bajos de **HDL-colesterol** < 40 mg/dL (1,1 mmol/L) en varones y < 50 mg/dL (1,3 mmol/L) en mujeres, o tratamiento específico.

***Tensión arterial** elevada: tensión arterial sistólica ≥ 130 mmHg o tensión arterial diastólica ≥ 85 mmHg, o tratamiento específico antihipertensivo.

*Elevación rápida de **glucosa** ≥ 100 mg/dL (5,6 mmol/L), o **diabetes tipo 2** diagnosticada previamente.

Sin embargo, esta definición no es la única. En 1999 un grupo consultor de la Organización Mundial de la Salud (**OMS**) sugirió una definición de trabajo que sería la primera unificada del mismo: presencia de diabetes mellitus, tolerancia anormal a la glucosa, glucemia de ayuno anormal o RI (definida como una captación de glucosa por debajo del cuartil inferior para la población en estudio, bajo condiciones de hiperinsulinemia y euglucemia) y, al menos, dos de los siguientes componentes:

***Tensión arterial elevada:** igual o superior a 140 mmHg para la tensión arterial sistólica e igual o superior a 90 mmHg para la tensión arterial diastólica.

***Dislipemia:** Triglicéridos plasmáticos elevados: igual o superior a 150 mg/dL (1,7 mmol/L) y/o HDL-colesterol bajo: inferior a 35 mg/dL (0,9 mmol/L) en hombres e inferior a 39 mg/dL (1,0 mmol/L) en mujeres.

***Obesidad central:** relación cintura/cadera superior a 0,90 para hombres y superior a 0,85 para mujeres y/o IMC > 30 kg/m².

***Microalbuminuria:** excreción de albúmina en orina igual o superior a 20 μ g/min o relación albúmina/creatinina en orina igual o superior 30 mg/g.

En el Tercer Informe del Programa Nacional de Educación en Colesterol (NCEP, del inglés National Cholesterol Education Program) en el Panel de Expertos en detección, evaluación y tratamiento de la hipercolesterolemia en adultos (Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults; Adult Treatment Panel III) (NCEP-ATP III, 2001), actualizados posteriormente por la **American Heart Association** (19), se establece la definición de **síndrome metabólico ante la presencia de 3 o más de los siguientes criterios:**

***Obesidad abdominal**, definida como perímetro de la cintura superior a 102 cm en hombres y superior a 88 cm en mujeres.

***Trigliceridemia elevada**, se considerará elevada cuando sea igual o superior a 150 mg/dL (1,7 mmol/L) o tratamiento específico.

***Niveles bajos de HDL- colesterol**, cuando sean inferiores a 40 mg/dL (1,1 mmol/L) en hombres e inferior a 50 mg/dL (1,3 mmol/L) en mujeres o tratamiento específico.

***Hipertensión arterial:** Tensión arterial elevada, cuando ésta sea igual o superior a 130 mmHg de tensión arterial sistólica o tensión arterial diastólica igual o superior a 85 mmHg o tratamiento antihipertensivo.

***Glucosa basal elevada**, es decir igual o superior a 100mg/dL (5,6 mmol/L) o **tratamiento.**

En la siguiente tabla, se establece una comparación entre los diferentes criterios para diagnosticar el síndrome metabólico, propuestos por IDF, OMS y NCEP-ATP III:

Comparación de los criterios diagnósticos de SM propuestos						
	IDF ¹		OMS ²		NCEP-ATP III ³	
	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer
Obesidad central (perímetro de cintura)	≥ 94 cm	y ≥ 80 cm	>90 cm o IMC >30 kg/m ²	> 85 cm o IMC >30 kg/m ²	>102 cm	>88cm
Triglicéridos	≥150 mg/dL* (1,7 mmol/L)		≥150mg/dL (1,7mmol/L)		>150 mg/dL*	
HDL- CT	<40 mg/dL* (1,1mmol/L)	<50 mg/dL* (1,3mmol/L)	<35 mg/dL (0,9mmol/L)	<39 mg/dL (1,0mmol/L)	<40 mg/dL*	<50 mg/dL*
TA	≥130 mmHg/ ≥ 85mmHg*		≥ 140/90 mmHg		≥130/ ≥85 mmHg*	
Glucemia	≥100 mg/dL (5,6 mmol/L)		DM, tolerancia anormal de la glucosa o RI		≥100 mg/dL*	

Tabla 1. Comparación de los criterios diagnósticos de síndrome metabólico propuestos por las distintas organizaciones ¹: obesidad + al menos dos de los demás criterios; ²: presencia diabetes mellitus, tolerancia anormal a la glucosa, glucemia de ayuno anormal o resistencia a la insulina (definida como una captación de glucosa por debajo del cuartil inferior para la población en estudio, bajo condiciones de hiperinsulinemia y euglucemia) + al menos, dos de los demás criterios; ³: al menos tres de los criterios marcados;*: o tratamiento específico.

La insulinoresistencia se considera el componente patogénico fundamental del síndrome metabólico, junto con el resultado de la combinación de factores genéticos y ambientales asociados al estilo de vida. Se caracteriza por la **disminución de la capacidad de la insulina** para producir una respuesta fisiológica sobre el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa (hiperinsulinismo con euglicemia) y se encuentra asociada fuertemente a la obesidad y a otros componentes del SM.

La resistencia a la insulina puede evaluarse utilizando un modelo homeostático (**índice HOMA**), derivado de las concentraciones de glucemia e insulinemia plasmáticas en ayunas, que fue desarrollado por Matthews y col. (20). En los últimos años, este método ha sido utilizado en varios estudios clínicos y epidemiológicos, utilizando en todos ellos individuos sanos para establecer rangos de normalidad. Los valores normales oscilan alrededor de la unidad y los sujetos insulino-resistentes exhiben valores mayores de 2,6. Existen estudios que establecen como punto de corte para el diagnóstico de la insulinoresistencia el valor de 3,16, mientras que otros determinan este punto para adultos en 2,5.

4.2.1.2.- Etiología del Síndrome Metabólico

Además de la susceptibilidad genética, para que se produzca la aparición de un síndrome metabólico, se precisa de la presencia de otros factores ambientales:

- *Obesidad central o abdominal.
- *Sedentarismo.
- *Dieta hipercalórica rica en grasas y carbohidratos.
- *Tabaquismo.

Otros factores relacionados con la resistencia a la insulina y el síndrome metabólico son:

- *Hiperuricemia o gota.
- *Hipercoagulabilidad y defectos de la fibrinólisis.
- *Hiperleptinemia o resistencia a la leptina.

*Y también: homocisteína (papel controvertido en la RI), leucocitosis, elevación de la velocidad de sedimentación globular, inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) elevado, hiperandrogenismo, hígado graso, cálculos biliares, osteoporosis, acantosis nigricans, síndrome del ovario poliquístico.

Múltiples evidencias demuestran una mayor probabilidad de desarrollar diabetes mellitus en los pacientes que presentan un síndrome metabólico. También se ha demostrado una mayor asociación con la cardiopatía isquémica y la progresión de la enfermedad cardiovascular (21).

Muchos son los factores de riesgo postulados para el desarrollo etiológico de un síndrome metabólico, aunque esto no está aún completamente esclarecido. Se ha indicado como posible mecanismo fisiopatológico un modelo que incluye efectos directos, como los neuroendocrinos, e indirectos, como los estilo de vida (22). En este sentido, también se le ha achacado un papel importante a la situación laboral del individuo, en concreto, al estrés laboral. De hecho, ciertos estudios han podido observar que los trabajadores expuestos de manera continuada a estrés laboral tienen más del doble de riesgo de presentar un síndrome metabólico que los que no sufren estrés laboral (OR ajustada por edad y clase ocupacional: 2,25), y además este efecto es independiente del efecto de otros factores de riesgo conocidos, como la realización de ejercicio físico o el

consumo de tabaco, alcohol, o vegetales y frutas. Por ende, se encontró una relación dosis-respuesta entre el estrés en el trabajo y el síndrome metabólico (23).

4.2.1.3.- Otras relaciones causales

No sólo se ha asociado el síndrome metabólico con un exceso de riesgo cardiovascular, sino con alteraciones de otra índole. Muchos son los estudios que asocian el síndrome metabólico con la enfermedad mental, ya que los pacientes con enfermedad mental, del tipo esquizofrenia o trastorno bipolar, tienen una mayor prevalencia de síndrome metabólico. Aunque la prevalencia de obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular, del tipo hiperglucemia, están aumentando en la población general, los pacientes con una enfermedad mental grave tienen una prevalencia aún mayor de sobrepeso y obesidad, hiperglucemia, dislipemia, hipertensión y hábito tabáquico, y una mortalidad sustancialmente mayor que la población general. Las personas con enfermedad mental pierden entre 25 y 30 años de vida potencial en comparación con la población general, principalmente debido a una mortalidad cardiovascular prematura (24).

Aunque también es cierto que este riesgo cardiovascular tan aumentado podría estar debido a factores no directamente relacionados con su enfermedad, del tipo pobreza, falta de acceso a los recursos sanitarios, así como a efectos adversos de la medicación tomada para su enfermedad mental.

4.2.1.4.- Epidemiología del Síndrome Metabólico

La **prevalencia** de este SM parece ser elevada, y estar en aumento, sin embargo, esto es a veces difícil de valorar, pues muchas veces se infradiagnostica. La prevalencia del SM varía en función de la edad, el sexo, el grupo étnico al que se pertenece y el estilo de vida. Cuando se emplean los criterios de la OMS, la prevalencia del SM varía del 1,6 al 15% según la población estudiada y el rango de edad (25). La prevalencia en EE.UU. se estima en un 22 %, y varía del 6,7 % en las edades de 20 a 43,5 años, al 43,5 % en los mayores de

60 años, y no se ha informado de diferencias entre sexo (23,4 % en mujeres y 24 % en hombres) (26).

Se han realizado estudios para valorar la prevalencia, obteniendo cifras del 43,2% de hombres y del 47,3% de mujeres en población indígena del sudoeste de EE.UU., o del 26,5% de los hombres y del 31,2% de las mujeres nacidos en Alaska, aunque los valores encontrados variaron mucho de una región a otra (27). También se ha estudiado la prevalencia de síndrome metabólico en pacientes diabéticos en la República Sudafricana. El riesgo cardiovascular es mucho menor en pacientes diabéticos africanos, en comparación con los caucásicos. Los resultados obtenidos muestran un 46,5% y un 74,1% de africanos y de caucásicos respectivamente con síndrome metabólico, con frecuencias similares en mujeres. El SM severo (es decir, más de 4 o 5 criterios) también resultó ser más frecuente en el grupo de los caucásicos, con un 73,1%, que en los africanos, con un 52,9% (28).

En poblaciones de alto riesgo, como la de familiares de personas con diabetes, la prevalencia aumenta considerablemente, hasta casi el 50 %; llega a más del 80 % en personas diabéticas y al 40 % en personas con intolerancia a la glucosa (26).

4.2.1.5.- Riesgo cardiovascular implícito

El riesgo cardiovascular del SM depende de los factores de riesgo presentes en ese individuo, pero por lo general triplica el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular (hasta el 80% de los pacientes que padecen SM mueren por complicaciones cardiovasculares). También se asocia a un incremento global de la mortalidad por cualquier causa.

Los individuos con este síndrome tienen un mayor riesgo de sufrir cardiopatía isquémica. Además de las anomalías metabólicas descritas previamente, se ha demostrado también que se acompañan de un aumento del inhibidor del activador del plasminógeno, que aumenta potencialmente la trombogénesis, y por tanto, un elemento más en el riesgo de sufrir un infarto agudo. No se ha podido establecer si es un síndrome homogéneo, pero sí se ha demostrado suficientemente el mayor riesgo que comporta

para desarrollar diabetes, cardiopatía isquémica u otras formas de enfermedad cardiovascular (29).

El riesgo cardiovascular de los pacientes con SM es variable y difícil de calcular al no contemplarse en las tablas algunos factores incluidos en la definición del síndrome (obesidad, hipertrigliceridemia o alteraciones glucémicas); utilizando los criterios del NCEP-ATP III el riesgo cardiovascular es algo menor que cuando se utilizan los criterios de la OMS. Según datos del estudio Framingham, el riesgo cardiovascular a los 10 años de los varones con síndrome metabólico generalmente está entre el 10-20% y el de las mujeres se situaría por debajo del 10% (19).

Los individuos con enfermedad cardiovascular establecida (enfermedad coronaria establecida, o formas no coronarias de enfermedad aterosclerótica), o bien diabetes, son considerados de alto riesgo. En los pacientes con niveles marcadamente elevados de algún factor de riesgo aislado el riesgo coronario debería ajustarse, entendiéndose como **factor de riesgo** (21):

***Colesterol** total ≥ 320 mg/dL

***LDL**- colesterol ≥ 240 mg/dL

***Tensión arterial** $\geq 180/110$ mmHg

*Individuos con **intolerancia a la glucosa o con glucemias basales alteradas**, que presentan un incremento del riesgo cardiovascular, siendo mayor para aquéllos que presentan intolerancia a la glucosa.

4.2.1.6.- Manejo del Síndrome Metabólico

Se deberían alcanzar los siguientes **objetivos** (21):

***Estilo de vida** saludable (incrementar y/o mantener la actividad física, realizar una dieta cardiosaludable y evitar la obesidad y el sobrepeso).

*Supresión del **hábito tabáquico**.

*Cifras de **tensión arterial**:

-Inferiores a 140/90 mmHg en población general.

-Inferiores a 130/80 mmHg en diabéticos y en prevención secundaria.

-Inferiores a 125/75 mmHg en pacientes con insuficiencia renal y/o proteinuria.

*Cifras de **colesterol** y otras fracciones lipídicas:

-En población general: colesterol total inferior a 200 mg/dL o LDL- colesterol inferior a 130 mg/dl.

-Pacientes con enfermedad cardiovascular establecida o diabéticos: colesterol total inferior a 175 mg/dL o LDL- colesterol inferior a 100 mg/dL

-**HDL-colesterol** superior a 40 mg/dL en varones y 50 mg/dL en mujeres, y cifras de triglicéridos inferiores a 150 mg/dL

*En pacientes con **diabetes** los objetivos para HbA1c serán inferiores a $\leq 6,1\%$, glucosa en plasma venoso inferior a 110 mg/dL y autocontroles preprandiales entre 70-90 mg/dL y posprandiales entre 70-135 mg/dL.

4.2.2.- Obesidad:

4.2.2.1.- Consideraciones generales

La obesidad está considerada como **uno de los principales factores de riesgo de un buen número de condiciones crónicas y problemas de salud**, incluyendo la enfermedad coronaria y cerebrovascular, la diabetes mellitus, la hipertensión arterial y algunos tipos de cáncer. Se ha estimado que la obesidad es responsable del 80% de los casos de diabetes del adulto, del 55% de los de hipertensión arterial en adultos y del 35% de los casos de la enfermedad coronaria (30).

Los sujetos obesos muestran un **incremento en el riesgo de mortalidad y mortalidad prematura** y se ha estimado que en Europa, al menos una de cada 13 muertes podría estar asociada a la obesidad (31). Este aumento del riesgo de mortalidad observado en sujetos obesos respecto a sujetos con un peso normal, que es de mayor magnitud para las enfermedades cardiovasculares, no sólo se debe al efecto directo de la presencia de un alto nivel de ácidos grasos libres circulantes en los individuos obesos, sino que está también mediado por un perfil metabólico alterado en el que destacan la resistencia a la insulina y la elevación de los lípidos plasmáticos, y por el aumento de la presión arterial, circunstancias todas ellas que se encuentran presentes con mayor frecuencia en los sujetos obesos que en aquellos con un peso relativo normal (32).

La revisión detallada de los grandes estudios epidemiológicos poblacionales nos indica que la obesidad aumenta en 2 o 3 veces el riesgo de tener concentraciones séricas elevadas de enzimas hepáticas, mientras que el riesgo de esteatosis ecográfica aumenta 3 veces en las personas con sobrepeso y hasta 15 veces en presencia de obesidad (33). Todos estos datos se han visto confirmados en diferentes estudios realizados en cohortes de pacientes con obesidad mórbida (34-37), en los que se ha observado que la mayoría de estos pacientes tiene esteatosis hepática (91%, rango: 85-98%), alrededor de un tercio tiene signos histológicos de esteatohepatitis (EHNA) (37%, rango: 24-98%), de los cuales el 20-40% presenta un estadio avanzado de fibrosis e incluso cirrosis en alrededor del 2 %.

La **definición** de obesidad viene dada por una **masa corporal grasa que supere un 25 y un 33% de la masa corporal total en hombres y mujeres respectivamente**. La imposibilidad de utilizar en estudios poblacionales las técnicas más adecuadas para estimar la importancia relativa de los distintos componentes corporales obliga al uso de la antropometría, indicadores indirectos del exceso de grasa corporal. Según el IMC, que es el indicador más utilizado, se define obesidad cuando el IMC es $\geq 30 \text{ kg/m}^2$, tanto en hombres como en mujeres (Tendencia de los Principales Factores de Riesgo de Enfermedades Crónicas. España 2001-2011/12. Información Y Estadísticas Sanitarias 2014. Ministerio De Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad).

	IMC (kg/m ²)	Riesgo de comorbilidad	
		Circunferencia cintura < 102/88	Circunferencia cintura > 102/88
Normopeso	18,5-24,9		aumentado
Sobrepeso (obesidad grado I)	25-29,9	aumentado	Alto
Obesidad Clase I	30-34,9	alto	muy alto
Obesidad Clase II	35-39,9	muy alto	muy alto
Obesidad Clase II	≥ 40	extremadamente alto	extremadamente alto

Tabla 2. IMC y riesgo de comorbilidad según la OMS.

4.2.2.2.- Epidemiología de la obesidad

La importancia de la alimentación como causa o determinante de la enfermedad se sospechaba desde la antigüedad, aunque no existieran evidencias científicas. En el Corpus Hipocraticum (460-370 a.C.) se consideraba como causa externa o determinante a

enfermar, entre otras, “una mala alimentación” (38). Hoy en día, no cabe ninguna duda acerca de la influencia que tiene la alimentación en la salud. Los malos hábitos alimentarios se relacionan con patologías de elevada prevalencia y/o mortalidad. Cada vez se dispone de evidencia más uniforme sobre el impacto de la obesidad en la mayor parte de las enfermedades crónicas, no sólo en relación con las enfermedades cardiovasculares sino también con otros problemas muy frecuentes como la diabetes mellitus tipo II, la artrosis y osteoporosis, la anemia, ciertos problemas psicológicos e incluso algunos tipos de cáncer (39).

El grupo de trabajo internacional en obesidad (IOTF, del inglés International Obesity Task Force, que en la actualidad forma parte de la World Obesity Federation) y la OMS han definido la obesidad como la epidemia del siglo XXI, por las dimensiones adquiridas a lo largo de las últimas décadas: alta prevalencia, evolución ascendente y alto impacto sobre las enfermedades crónicas, la morbimortalidad, la disminución de la calidad de vida y el gasto sanitario. La importante influencia sobre las enfermedades crónicas, sitúa a la obesidad como un significativo problema de salud pública, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo (40). Nos encontramos ante uno de los grandes retos del siglo XXI para la salud pública.

Según la OMS, **la obesidad tiene carácter de epidemia de distribución mundial**. La OMS cifró en el año 2005 en más de 1600 millones el número de personas con sobrepeso, y en unos 400 millones el número de obesos en todo el mundo, y 20 millones de niños menores de 5 años con sobrepeso en todo el mundo.

La IOTF habla de cifras del 2-3% de la población mundial entre 5 y 17 años con obesidad, y cifra los datos de obesidad y sobrepeso juntos en un 10% en todo el mundo (IOTF, 2005). La OMS, por otro lado, prevé que en el presente año 2015, 2300 millones de adultos tendrán sobrepeso y 700 millones serán obesos en todo el mundo. Se calcula, asimismo, que el 60% de la población de la Unión Europea será obesa en el año 2030 (OMS, 2007).

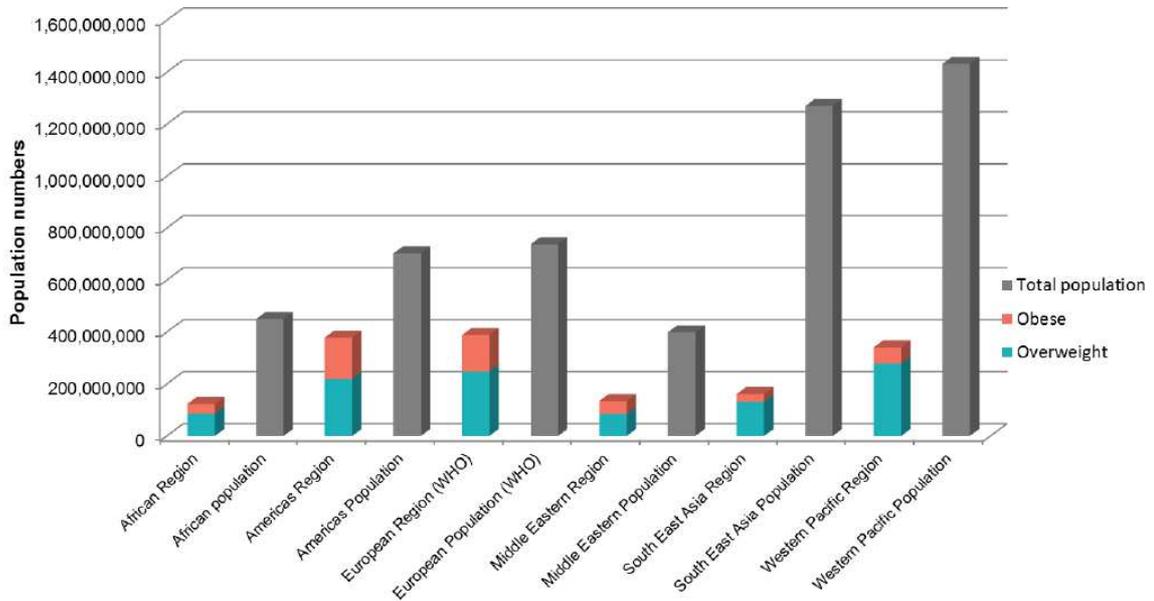


Figura 2. Nº de individuos mayores de 15 años con sobrepeso y obesidad según las regiones. (<http://www.worldobesity.org/resources/obesity-data-repository/resources/charts/16/>)

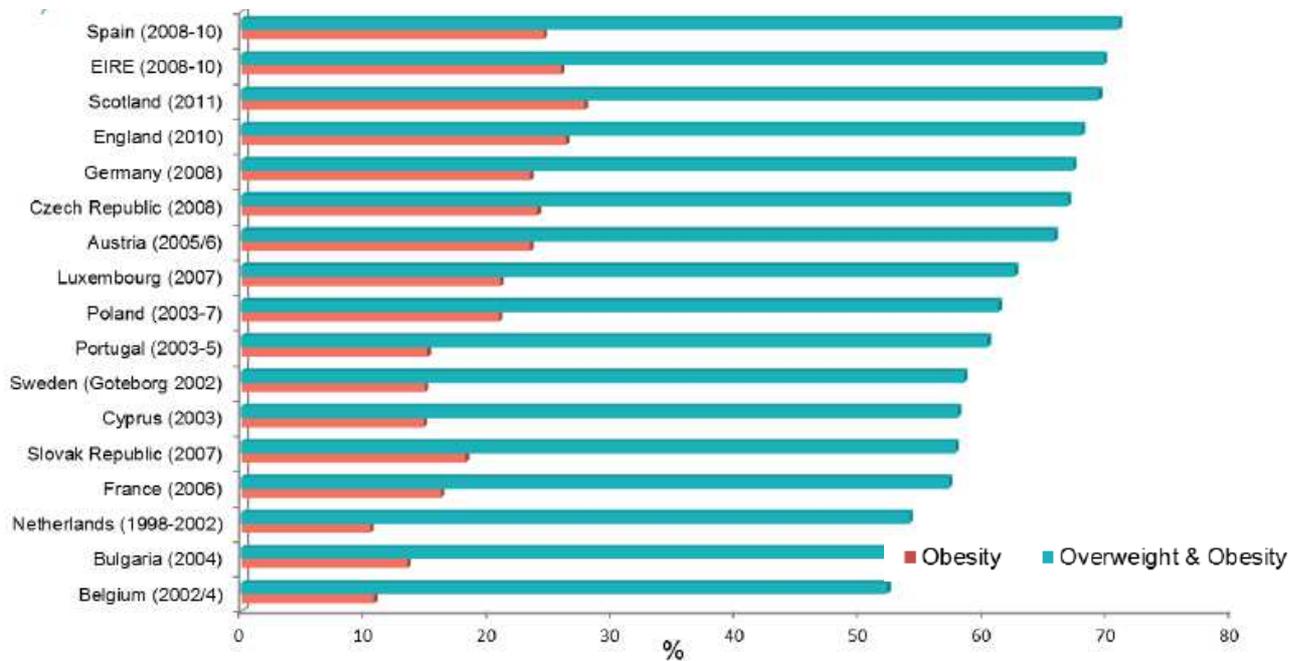


Figura 3. Sobrepeso y obesidad en varones adultos europeos según la World Obesity Federation – IOTF (<http://www.worldobesity.org/aboutobesity/world-map-obesity/>)

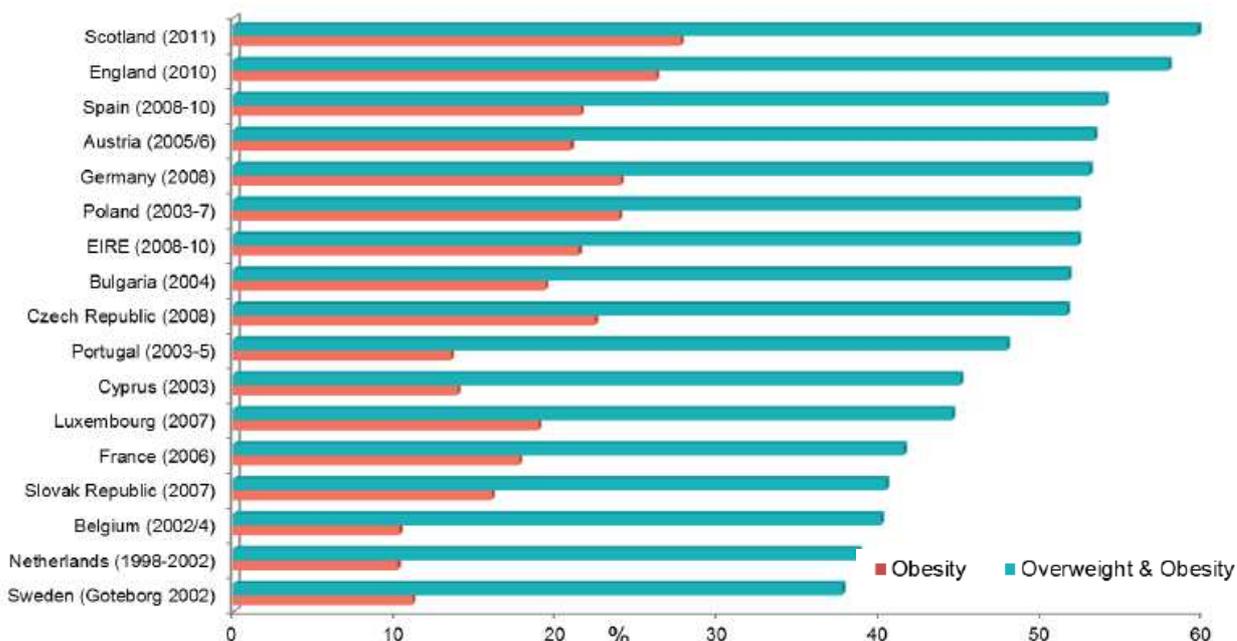


Figura 4. Sobrepeso y obesidad en mujeres adultas europeas según la World Obesity Federation – IOTF (<http://www.worldobesity.org/aboutobesity/world-map-obesity/>)

En **España**, según la Encuesta Nacional de Salud (41) publicada en 2006, uno de cada dos adultos pesaba más de lo recomendable: el 44,4% tenían sobrepeso y el 15,5% eran obesos. En el estudio SEEDO 2000 (Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad) se estimó una prevalencia de obesidad del 14,5% (IC del 95% 13,93-15,07%), en la población de 25 a 60 años, y el 39% de la población se tipificaba ponderalmente como con sobrepeso (42). Se observa cómo en estos últimos años el porcentaje de población con sobrepeso y obesidad ha ido en aumento.

En las encuestas analizadas en el trabajo *“Tendencia de los Principales Factores de Riesgo de Enfermedades Crónicas. España 2001-2011/12. Información Y Estadísticas Sanitarias 2014. Ministerio De Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad”*, que recogieron la información sobre el peso y la talla declarados por el entrevistado, se utilizó ese criterio para identificar a los sujetos obesos. Se analizaron los individuos de 18 años de edad y mayores.

En 2011/12, la prevalencia de obesidad en la población adulta española fue del 17,0%, porcentaje que ha venido aumentando ininterrumpidamente desde 2001, año en el que un 13,2% de la población adulta española fue considerada obesa (43) (Figura 5).

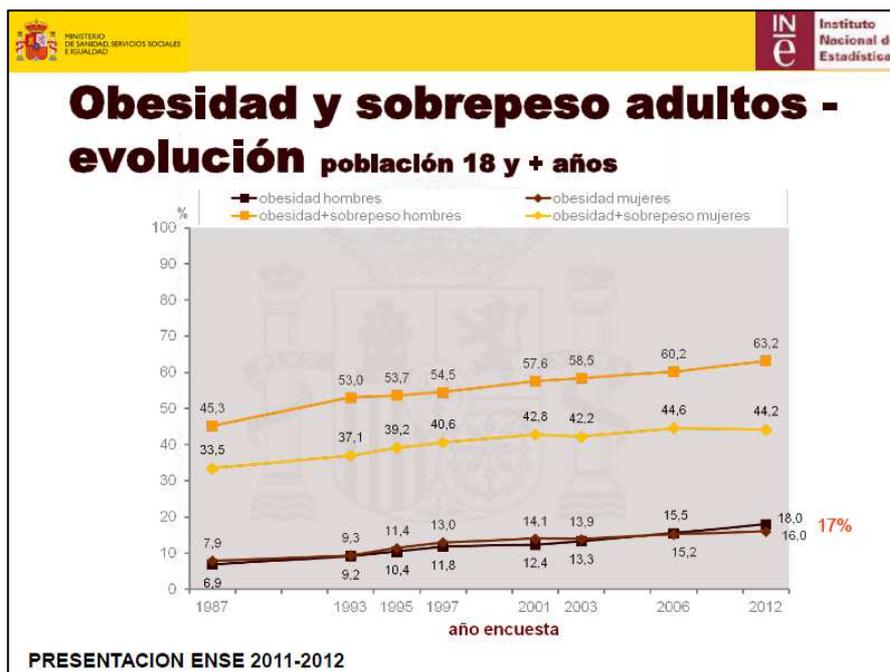


Figura 5. Encuesta Nacional de Salud Española 2011-2012.

En 2011/12, la frecuencia de obesidad fue mayor en los hombres (18%) que en las mujeres (16%). Esa mayor frecuencia de la obesidad en los hombres se viene observando desde 2006. Con anterioridad a ese año, la obesidad era más frecuente en las mujeres. Este patrón, que se observa sistemáticamente en muchas poblaciones occidentales, se debe posiblemente a que, por razones no bien conocidas, la obesidad aumentó más durante los últimos años en los hombres que en las mujeres: mientras que en éstas, la prevalencia creció en términos absolutos en un 2% entre 2001 y 2011/12, en los hombres aumentó, durante ese mismo periodo, en un 5,7%.

Otro fenómeno que se observa en muchas poblaciones es el incremento significativo que la prevalencia de la obesidad presenta con la edad. En 2011/12, por ejemplo, la frecuencia de la obesidad en la población española fue de 5,5% en los más jóvenes, de 12,4% en los individuos de 25 a 44 años, 21,3% en los de 45 a 64 años y 25,3% en los de 65 y más años. Este gradiente se mantuvo presente en el periodo sometido a estudio, y fue evidente tanto en hombres como, sobre todo, en mujeres, en las que las diferencias en la prevalencia de obesidad según la edad fueron aún mayores.

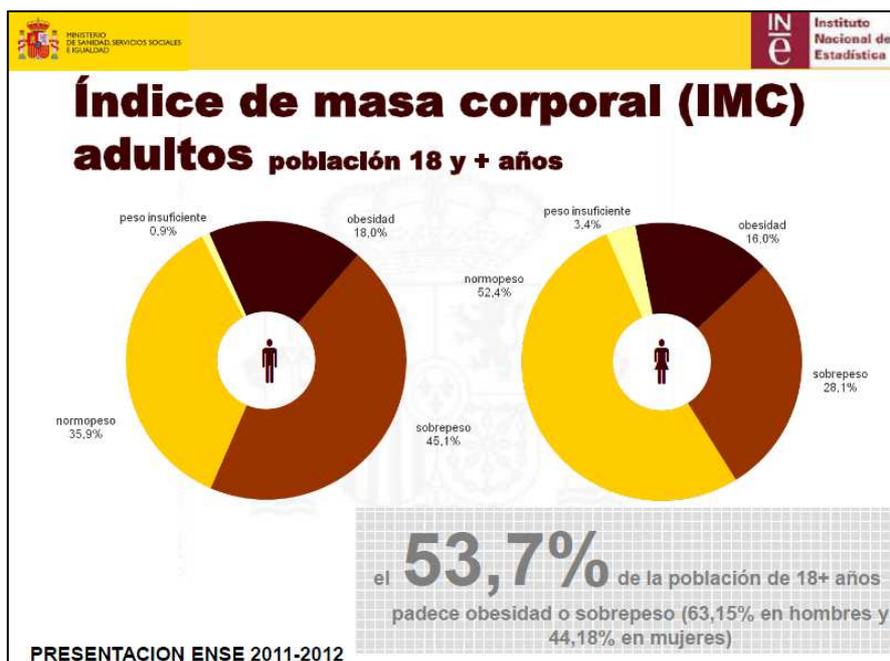


Figura 6. IMC en personas mayores de 18 años según la ENSE 2011-2012.

4.2.2.3.- Situación de la población joven

Más preocupante aún es la situación en las primeras etapas de la vida (infancia y juventud); la obesidad en esta etapa, en especial en la segunda década de la vida, es un potente predictor de la obesidad del adulto.

Además, diversos estudios longitudinales sugieren que la obesidad tras los tres años de edad está asociada a largo plazo con un mayor riesgo de obesidad en el adulto, una morbilidad y mortalidad aumentadas, y la persistencia de desórdenes metabólicos asociados, así como un riesgo aumentado de accidentes cerebro-vasculares (ACV) y algunos tipos de cáncer (43).

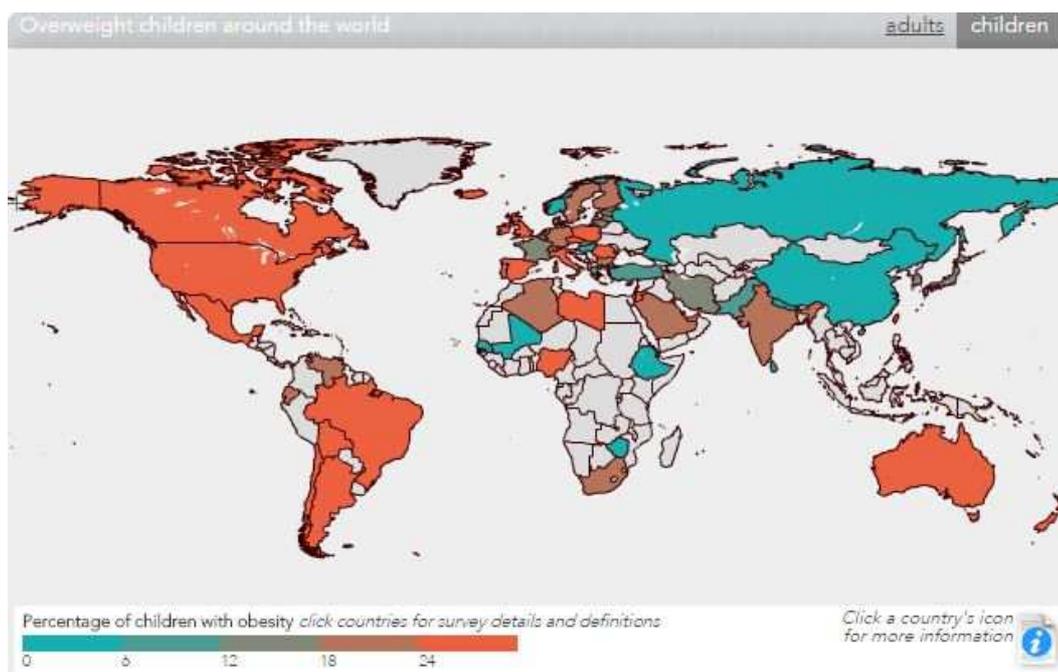


Figura 7. Porcentaje de niños con sobrepeso a lo largo del mundo según la World Obesity Federation–IOTF (<http://www.worldobesity.org/aboutobesity/world-map-obesity/>)

Según la IOTF, la obesidad infanto-juvenil ha aumentado mucho, encontrando la mayor prevalencia en los países del sur de Europa (20-35%) en comparación con los del norte (10-20%).

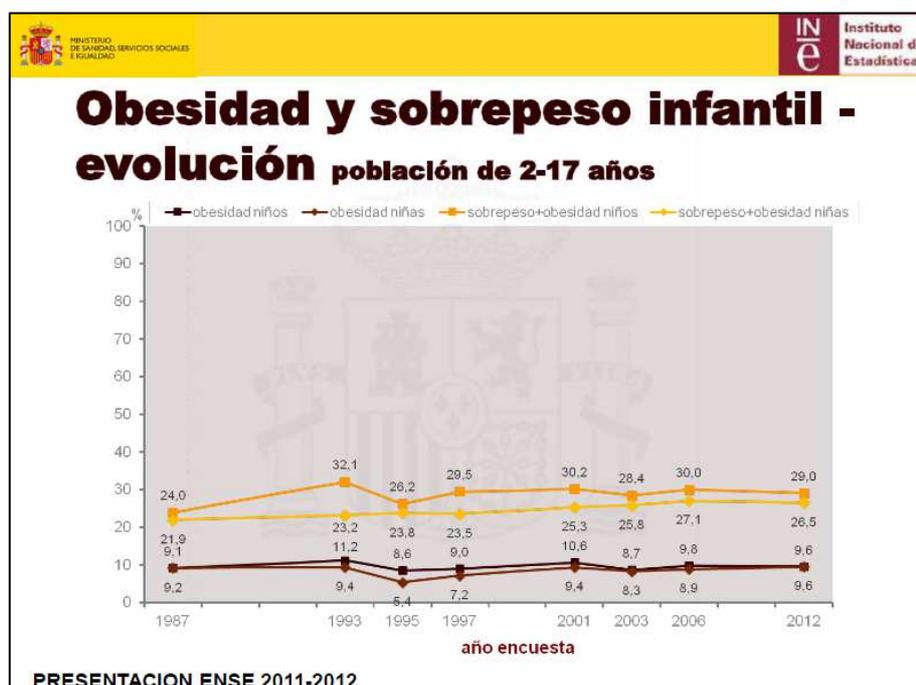


Figura 8. Evolución de la obesidad y sobrepeso infantil según la ENSE 2011-2012.

ESTUDIO EnKID

La inexistencia de cifras de prevalencia de obesidad infantil y juvenil a escala nacional motivó el estudio enKid, diseñado para evaluar los hábitos alimentarios y el estado nutricional de la población infantil y juvenil española. Fue el primer estudio epidemiológico observacional de diseño transversal con una muestra poblacional representativa con edades entre los 2 y los 24 años (44). Hubo algunos estudios previos, como PAIDOS'84 o Ricardin (Grupo Cooperativo Español para el Estudio de los Factores de Riesgo Cardiovascular en la Infancia y Adolescencia, 1995), pero no fueron tan sistemáticos ni recogieron tantas variables como el estudio enKid.

Según el estudio enKid, la prevalencia de la obesidad en población infanto-juvenil en España es del 13,9% (IC 95% 12,7-15,1). En las tablas de Orbeagozo (45) se define el sobrepeso como un valor del IMC comprendido entre el percentil 85 y el 97 (específicos por edad y sexo), y la obesidad, para valores iguales o mayores al percentil 97, y esa fue la referencia que se tomó para el estudio enKid. La prevalencia de sobrepeso y obesidad (es decir, valores superiores al p85) es del 26,3% (IC 95% 24,8-27,8) y la de sólo sobrepeso es del 12,4%.

Esto supone que uno de cada cuatro niños tiene exceso de peso. Según dicho estudio, la prevalencia de obesidad es mayor en varones (15,6%) que en mujeres (12,0%), con una OR de 1,95 (IC 95% de 1,14-2,46) y también de sobrepeso. Por edades, la obesidad es superior en edades más jóvenes (de 6 a 13 años). Por zonas geográficas, destacan Canarias (OR=2,96) y el sur (Andalucía; OR=1,78) por encima de la media, y el noreste por debajo, en ambos sexos (44).

En la siguiente tabla (tabla 6) se recogen las diferentes prevalencias de obesidad en la población de 18-24 años por sexo publicadas en el estudio enKid, según los criterios de Cole y col. (46), y según los percentiles 85 y 97 de Orbeagozo (45).

Criterios de Orbegozo	18-24 años	Criterios de Cole y col.	18-24 años
Total		Total	
Sobrepeso IMC \geq P85 <P97	13,2 (11,5-14,9)	Sobrepeso	15,8 (13,4-18,6)
Obesidad IMC \geq P97	13,7 (11,9- 15,5)	Obesidad	4,0 (2,3-5,5)
Sobrecarga ponderal total	26,9 (24,6- 29,2)	Sobrecarga ponderal total	19,9 (16,6- 23,3)
Hombres		Hombres	
Sobrepeso IMC \geq P85 <P97	14,8 (12,0- 17,8)	Sobrepeso	21,5 (17,5- 24,4)
Obesidad IMC \geq P97	12,6 (9,9-15,3)	Obesidad	5,9 (4,2- 8,4)
Sobrecarga ponderal total	27,5 (23,9- 31,1)	Sobrecarga ponderal total	27,4 (23,7- 31,4)
Mujeres		Mujeres	
Sobrepeso IMC \geq P85 <P97	11,3 (9,2- 13,4)	Sobrepeso	9,8 (8,0- 12,0)
Obesidad IMC \geq P97	14,9 (12,5- 17,3)	Obesidad	2,0 (1,5- 2,8)
Sobrecarga ponderal total	26,2 (23,3- 29,1)	Sobrecarga ponderal total	11,9 (9,9-14,2)

Tabla 3. Prevalencia de obesidad en la población de 18-24 años por sexo (estudio enKid) según los criterios de Cole y col., y según los percentiles 85 y 97 de Orbegozo, 2004.

En este estudio se observó que la obesidad en varones de 2 a 24 años era más elevada (15,6%) que en las mujeres (12%). Sin embargo, las tasas de prevalencia más altas en mujeres se observaron entre los 18 y los 24 años. Los criterios de Cole y col. (46), son los que propone la IOTF para la definición del sobrepeso y obesidad, con fines de comparaciones internacionales (40).

ESTUDIO ALADINO

Por los mismos motivos referidos arriba, la AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición) desarrolló un estudio de prevalencia de obesidad, denominado estudio ALADINO (Alimentación, Actividad física, Desarrollo Infantil y Obesidad) durante el curso escolar 2010/2011 en 7.659 niños y niñas de 6 a 9 años de edad pertenecientes a todas las Comunidades Autónomas de España, incluyendo Ceuta y Melilla, con el objetivo de estimar la prevalencia de la obesidad infantil en España y tratar de caracterizar los determinantes más importantes en ella y servir de punto de partida para una posterior evaluación de la tendencia de la epidemia.

El trabajo de campo se realizó en los centros escolares a través de personal específicamente preparado, tomando medidas antropométricas de los alumnos y recabando información sobre hábitos alimentarios y de actividad física de los niños y sus familias, así como datos sociales, culturales y económicos que permitían conocer mejor el

problema de la obesidad infantil y sus determinantes asociados utilizando los formularios diseñados por la OMS dirigidos a colegios, familias y examinadores.

La medición de la obesidad y el sobrepeso a través del Índice de Masa Corporal, que se calcula a partir del peso y la talla, es la forma más extendida y aceptada, pero así como en los adultos existen unos valores fijos que delimitan el sobrepeso y la obesidad, en los niños, al estar en continuo crecimiento, esos valores no pueden ser fijos, y es necesario establecerlos para cada momento de su vida, tanto en niños como en niñas.

Para establecer unos valores fijos, la OMS ha coordinado una iniciativa para la vigilancia de la obesidad infantil en Europa (WHO European Childhood Obesity Surveillance Initiative, COSI), con la implicación de 17 países, que debe realizarse con la misma metodología (diseño, época de realización, grupos de edad, protocolos de toma de datos, etc.) para facilitar la comparabilidad de la información entre los diferentes países.

La OMS ha elaborado unas tablas con unos estándares de crecimiento de niños y niñas, que hablan de cómo deberían desarrollarse en condiciones óptimas. A través de dichas tablas puede calcularse el porcentaje de niños y niñas que tienen un índice de masa corporal por encima de esos estándares, y estimar así la prevalencia de sobrepeso y obesidad.

A pesar de que el empleo de los estándares de crecimiento de la OMS pueden proporcionar cifras de obesidad más elevadas que las que ofrecen los otros valores de referencia, dado el carácter global de la epidemia de obesidad, es aconsejable tener herramientas de medida comunes con el resto de poblaciones, puesto que muchas de las medidas que se adoptan también son comunes. Esto favorece las sinergias entre administraciones, regiones y estados a la hora de la lucha contra la obesidad.

Tomando como referencia los estándares de la OMS, con el estudio ALADINO, se halló en España un 26,2% de niños (25,7% de las niñas y 26,7% de los niños) con sobrepeso y 18,3% de obesos (15,5% de las niñas y 20,9% de los niños).

Con el criterio de IOFT hay 24,2% de los estudiados con sobrepeso y 11,0% con obesidad mientras que según los puntos de corte de la Fundación Orbegozo se registran un 14,0% de niños con sobrepeso y un 16,8% de niños con obesidad, por lo que el exceso de peso (sobrepeso+obesidad) oscila entre 30,8% y 44,5% según el criterio que se utilice.

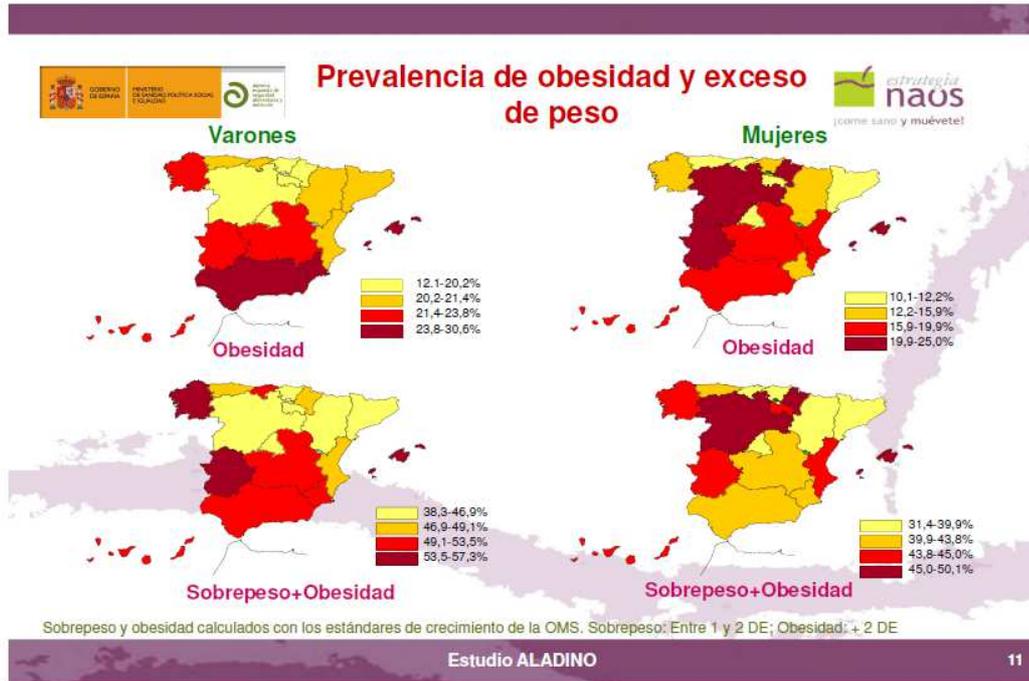


Figura 9. Prevalencia de obesidad y sobrepeso.

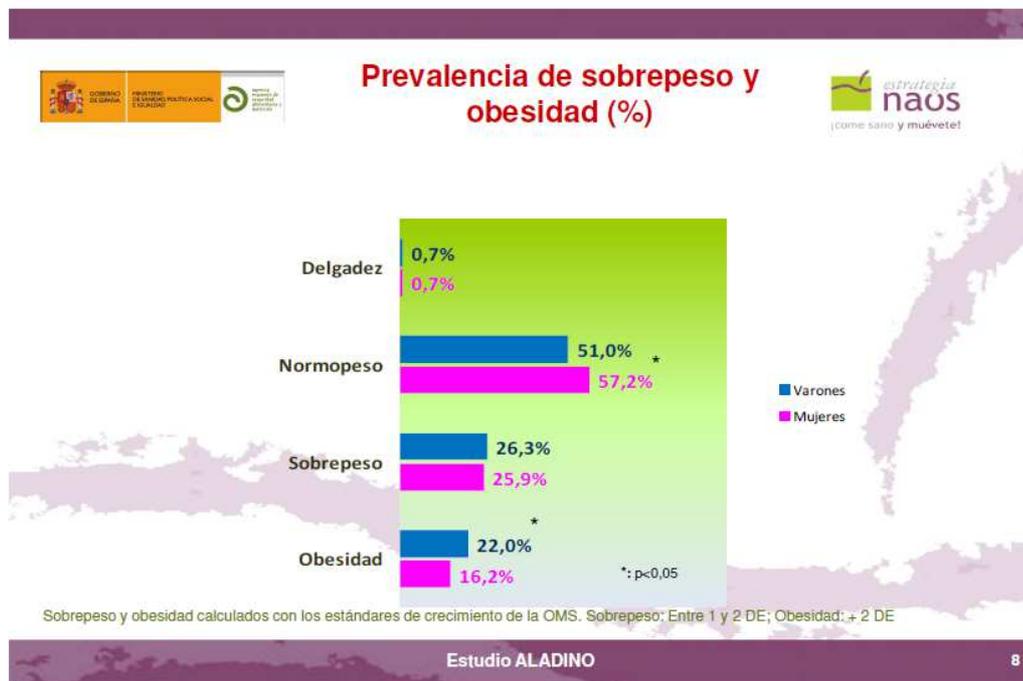


Figura 10. Prevalencia de obesidad y sobrepeso.

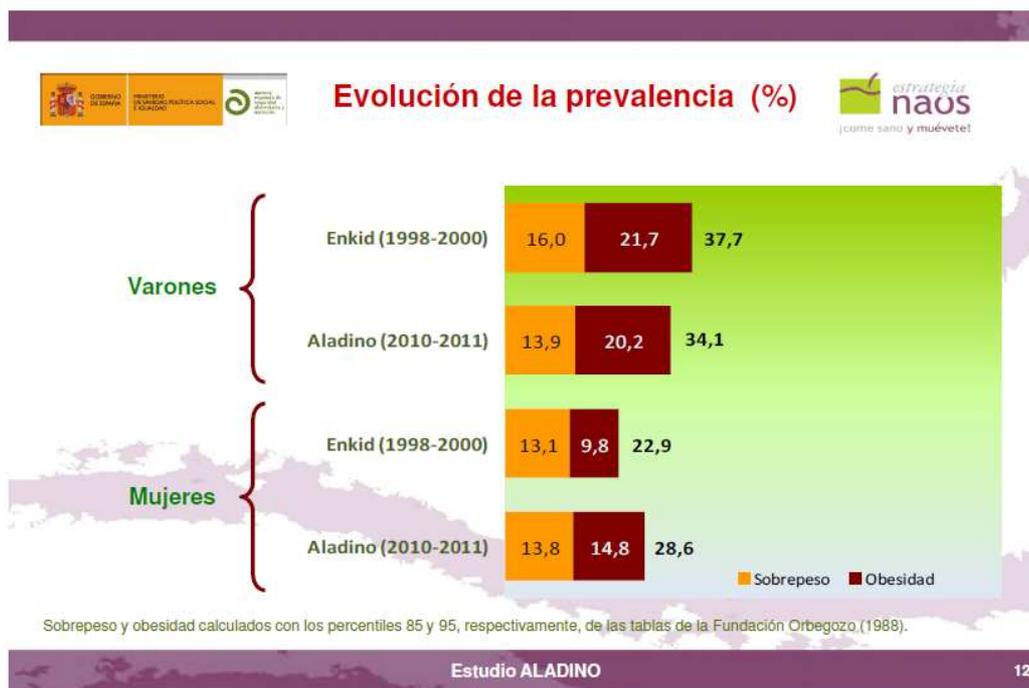


Figura 11. Evolución de la prevalencia a lo largo de los años.

Los resultados obtenidos en este estudio, que servirán de referencia para comparar datos antropométricos de otros colectivos y en futuras investigaciones, ponen de relieve que el sobrepeso y obesidad son problemas preocupantes que afectan a un porcentaje elevado de escolares y señalan las influencias asociadas con el exceso de peso sobre las que se puede actuar para frenar el problema en el futuro(47).

4.2.2.4. Tendencia al alza

Pero el dato más alarmante no es, sin cabe, estas tasas tan elevadas de sobrepeso juvenil, sino la tendencia al alza de este incremento del peso.

En tres de los últimos grandes estudios epidemiológicos sobre obesidad realizados en España -el estudio PAIDOS'84 (PAIDOS'84), que estimó la prevalencia de la obesidad nacional en una muestra al azar de niños españoles; el estudio Ricardin (1992) y el estudio enKid (1998-2000)-, muestran cómo el IMC de los niños de 10 años de edad ha pasado de 18,1 kg/m² en 1984 a 18,5 kg/m² en 1992 y a 18,8 kg/m² en 1998-2000, y en los niños de 13 años, de 18,4 kg/m² en 1984 a 20,4 kg/m² en 1992 y a 21,1 kg/m² en 1998-2000 (48). Esta evolución queda reflejada en la tabla 4.

	IMC a los 10 años	IMC a los 13 años
PAIDOS 1984	18,1	18,4
RICARDIN 1992	18,5	20,4
EnKID 2000	18,8	21,1

Tabla 4. Evolución al alza del IMC de los niños españoles en un intervalo de 16 años (48)

Comparando la evolución del percentil 95 por edades con los datos aportados por el estudio enKid, se observa un crecimiento incluso del 15,2% en función del grupo de edad, superior en niños de 6 y 14 años y en niñas de 6 años, y menor a los 14 años, donde incluso disminuye (48), como queda ilustrado en la tabla 5.

Tendencia 1992-2000						
Edad (15)	Varones p95			Mujeres p95		
	Ricardin 1992	EnKid 98-00	Incremento %	Ricardin 1992	EnKid 98-00	Incremento %
6	20,7	24,4	15,2	21	22,8	7,9
10	23,2	23,7	2,1	23,9	25	4,4
14	26,1	30,4	14,1	27,8	27,4	-1,5
18	29,5	30,1	2	27,6	28,3	2,5

Tabla 5. Tendencia en el percentil (p) 95 del índice de masa corporal en España, entre los años 1992 y 2000.

Por otra parte, según el estudio ALADINO, parece haber una estabilización en la prevalencia de la obesidad infantil en nuestro país, lo que no quiere decir, según los autores, que no sea necesario continuar incrementando los esfuerzos por emitir un mensaje de prevención al mayor número de personas posibles, así como acompañar dicho mensaje con estudios y desarrollo de fuentes de información óptimas (47).

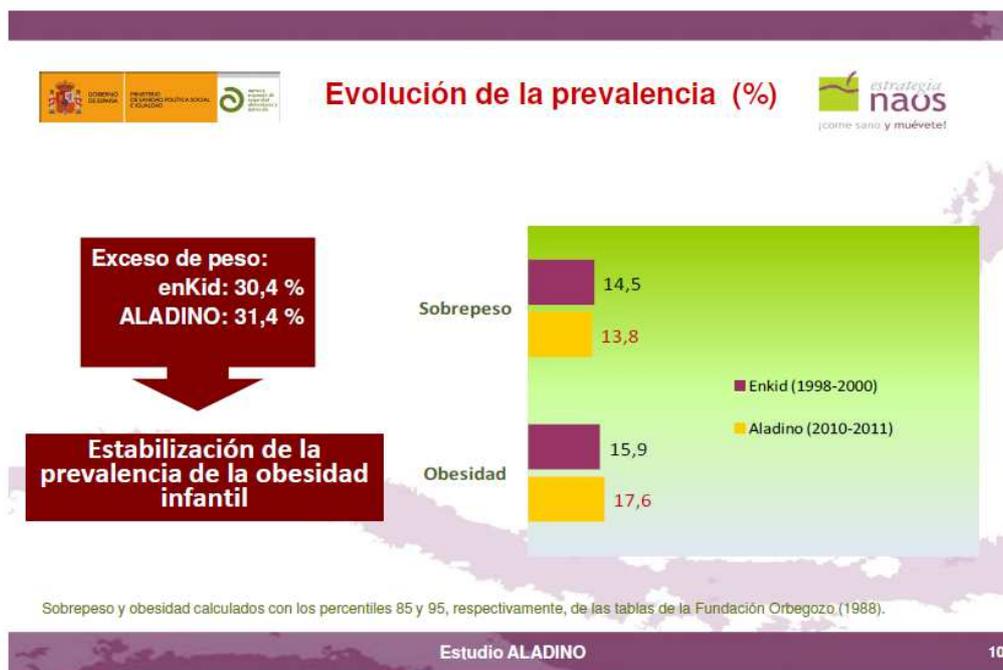


Figura 12. Evolución de la prevalencia.

4.2.2.5.- Obesidad como factor de riesgo cardiovascular

Como factor de riesgo cardiovascular, la obesidad tiene un impacto teórico modesto, pero conlleva una mayor frecuencia de otros factores de riesgo principales. La obesidad se asocia con un incremento notable del riesgo de padecer hipertensión arterial, diabetes mellitus, algunos procesos articulares, e incluso ciertos tipos de cáncer.

Estas y otras enfermedades crónicas, que muestran una fuerte asociación con la obesidad, son la principal causa de muerte y discapacidad en los países industrializados. El estudio DORICA puso de manifiesto una mayor frecuencia de factores de riesgo cardiovascular en sujetos obesos, respecto a los normopesos. El 58,8% de los sujetos obesos, entendiendo obesidad como un IMC igual o superior a 30, presentaban además al menos un factor de riesgo cardiovascular asociado. El 34,2% presentaban valores bajos de HDL-colesterol (es decir, HDL-colesterol <40 mg/dL en varones o HDL-colesterol <50 mg/dL en mujeres) y en el 30,8% de los sujetos analizados la trigliceridemia era >150mg/dL. En el 21,6% de ellos, se detectaron valores de glucemia basal >110mg/dL y las cifras de tensión arterial se clasificaron como normal-alta o hipertensión en grado variable

en el 76,7% de los casos. Se estimó una fracción atribuible (FA) de riesgo cardiovascular a la obesidad del 4% en varones, y del 5% en mujeres (49). En la siguiente figura se resumen los resultados expuestos:

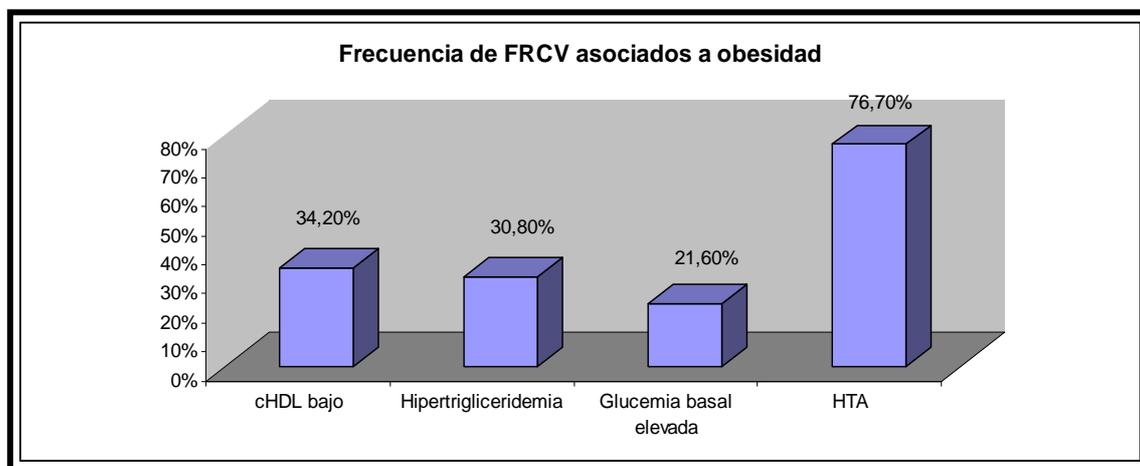


Figura 13. Esquema de la frecuencia de factores de riesgo cardiovascular asociados a obesidad, según los datos hallados en el estudio DORICA (49).

En concreto, la obesidad puede llegar a disminuir la esperanza de vida hasta 10 años. Según la OMS, las enfermedades crónicas prevenibles suponen el 77% de las enfermedades en Europa (OMS, 2003). Es más, la OMS estima que alrededor del 80% de las enfermedades cardiovasculares, los infartos y la diabetes mellitus tipo 2, y el 40% de los cánceres, podrían evitarse si se eliminasen los factores de riesgo relacionados con el estilo de vida.

Según datos de la OMS (2014), **un IMC elevado es un importante factor de riesgo de enfermedades no transmisibles, como:**

- las enfermedades **cardiovasculares** (principalmente cardiopatía y accidente cerebrovascular), que en 2012 fueron la causa principal de defunción;
- la **diabetes** y algunos **cánceres** (del endometrio, la mama y el colon);
- los trastornos del **aparato locomotor** (en especial la osteoartritis, una enfermedad degenerativa de las articulaciones muy discapacitante), y las enfermedades cardiovasculares (principalmente cardiopatía y accidente cerebrovascular), que en 2008 fueron la causa principal de defunción;

El riesgo de contraer estas enfermedades no transmisibles crece con el aumento del IMC.

La **obesidad infantil** se asocia con una mayor probabilidad de obesidad, muerte prematura y discapacidad en la edad adulta. Pero además de estos mayores riesgos futuros, los niños obesos sufren dificultad respiratoria, mayor riesgo de fracturas e hipertensión, y presentan marcadores tempranos de enfermedad cardiovascular, resistencia a la insulina y efectos psicológicos.

Muchos países de ingresos bajos y medianos actualmente están afrontando una "doble carga" de morbilidad. Mientras continúan lidiando con los problemas de las enfermedades infecciosas y la desnutrición, estos países están experimentando un aumento brusco en los factores de riesgo de contraer enfermedades no transmisibles como la obesidad y el sobrepeso, en particular en los entornos urbanos.

No es raro encontrar la desnutrición y la obesidad coexistiendo en un mismo país, una misma comunidad y un mismo hogar. En los países de ingresos bajos y medianos, los niños son más propensos a recibir una nutrición prenatal, del lactante y del niño pequeño insuficiente. Al mismo tiempo, están expuestos a alimentos hipercalóricos ricos en grasa, azúcar y sal y pobres en micronutrientes, que suelen ser poco costosos.

Estos hábitos alimentarios, juntamente con una escasa actividad física, tienen como resultado un crecimiento brusco de la obesidad infantil, al tiempo que los problemas de la desnutrición continúan sin resolver (OMS, 2014)

En la siguiente figura se describen los principales factores de riesgo identificados por la OMS, como causas de una mala salud en Europa. Como se puede observar, los puestos principales están ocupados por tensión arterial elevada, tabaco, alcohol, hipercolesterolemia e IMC elevado.

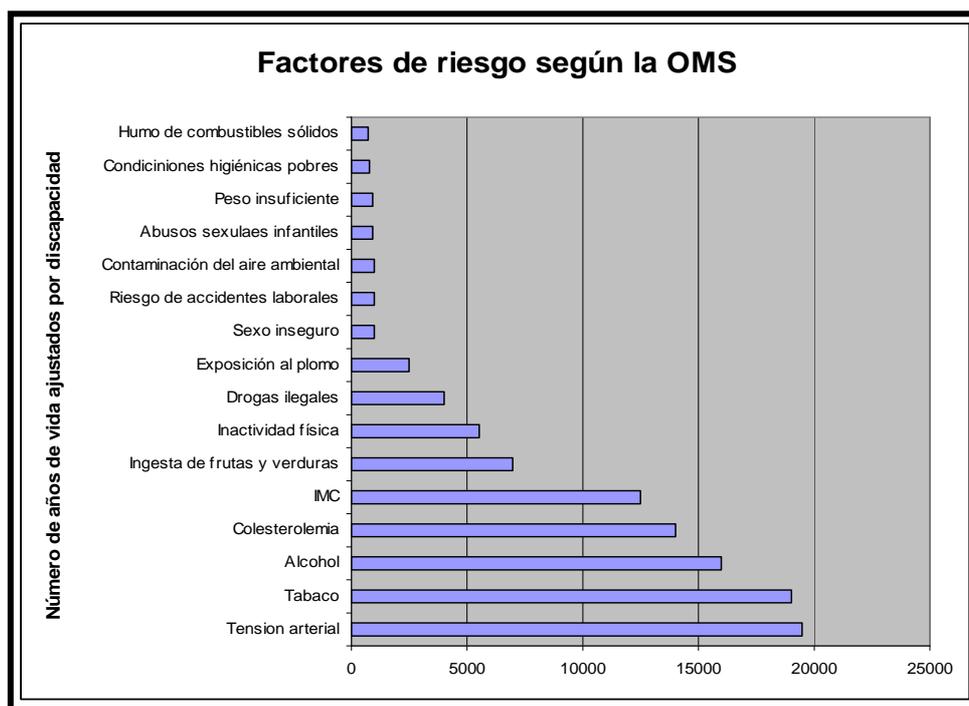


Figura 14. Principales factores de riesgo para una mala salud en Europa (OMS, 2002).

4.2.2.6.- Causas determinantes de obesidad

El estudio enKid identificó una serie de factores de riesgo infanto-juveniles para sufrir sobrepeso u obesidad. Entre ellos destacamos una mala alimentación (alto consumo de alimentos de alta densidad energética y bebidas azucaradas, o una disminución en el consumo de frutas y verduras), sumado a una disminución en la actividad física.

Según la SEEDO (Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad, 2007), la creciente prevalencia de obesidad no puede ser atribuida exclusivamente a cambios acontecidos en el componente genético, aunque puede ser que variantes genéticas que permanecieron “silenciosas” pueden ahora manifestarse debido a la alta disponibilidad de energía y por el alto nivel de sedentarismo que sufre esta sociedad.

El desequilibrio del balance energético puede ser debido a una falta de control en la ingesta o a un gasto energético disminuido, a fallos en la regulación de las reservas lipídicas o a desajustes en la distribución de nutrientes en los tejidos. **La SEEDO propone diversas etiologías para explicar la obesidad (2007):**

*Alteración de los **mecanismos neuroendocrinos**.

***Termogénesis** o aumento de la tasa metabólica basal, inducida por la acción de nutrientes y hormonas.

***Actividad metabólica alterada**, en concreto la dinámica de las reservas grasas del organismo. El adipocito tiene un papel paracrino y endocrino fundamental.

***Esteroides sexuales**. La disminución de los niveles normales de andrógenos o estrógenos se traducen generalmente en un aumento de la obesidad visceral.

*Variaciones en la actividad metabólica de enzimas implicados en la **síntesis de lípidos** (acetil CoA-carboxilasa), oxidación de sustratos (aconitasa) o almacenamiento de triglicéridos (glicerol-3-fosfato acetiltransferasa mitocondrial). Además, se ha observado que diversas moléculas reguladoras de tejido adiposo blanco pueden ser moduladas por el estímulo de nutrientes, modificándose su actividad. Es decir, si bien la actividad de estas enzimas puede deberse en última instancia a causas genéticas, dicha actividad puede modularse metabólicamente y, por tanto, estaría sujeta a las interacciones con los demás elementos de control.

*Se ha barajado la posibilidad de que la obesidad sea causada por **infecciones virales**. En humanos obesos se observa una mayor prevalencia de anticuerpos contra el adenovirus-36, y este, al ser inyectado en ratones y pollos promueve la acumulación de grasa.

*Se sugiere también que un **desequilibrio nutricional o metabólico** de la madre en los periodos críticos de la gestación.

El estudio enKid propone una serie de **factores socio-demográficos y de factores relacionados con el estilo de vida**, que tienen relación directa con el desarrollo de obesidad (40). Estos factores se recogen en la siguiente tabla:

Factores socio-demográficos	Factores relacionados con estilos de vida
	Ausencia de lactancia materna OR= 1,10 (IC 95%, 1,09-1,12)
Chico 6-13 años OR= 1,47 (IC 95%, 1,46-1,48)	Nº comidas/día (1-2 al día) OR= 1,35 (IC 95%, 1,34-1,36)
Bajo nivel educativo de la madre OR= 1,30 (IC 95%, 1,29-1,31)	Actividad sedentaria (>3 h TV/día) OR= 1,48 (IC 95%, 1,47-1,49)
Bajo nivel socioeconómico familiar OR= 1,21 (IC 95%, 1,20-1,22)	Ausencia de práctica deportiva habitual OR= 1,23 (IC del 95%, 1,22-1,24)
Región Sur: OR= 1,11 (IC 95%, 1,09-1,13) Canarias: OR= 1,20 (IC 95%, 1,19-1,22)	Consumo de frutas y verduras <4 raciones /día OR= 1,22 (IC 95%, 1,20-1,24)
	Ingesta usual de grasa >38% OR= 1,21 (IC 95%, 1,19-1,23)
	Consumo de bollería, refrescos, embutidos OR= 1,19 (IC del 95%, 1,17-1,21)

Tabla 6. Factores de riesgo socio-demográficos y relacionados con el estilo de vida asociados a la obesidad.

4.2.2.7.- Factores favorecedores del incremento de la obesidad

4.2.2.7.1.- Pérdida de la dieta mediterránea

La dieta mediterránea es probablemente uno de los modelos alimentarios más sanos, sólo comparable a algunas dietas asiáticas, como la japonesa. Los beneficios para la salud de la dieta mediterránea han sido demostrado en numerosos estudios (48). Dicha dieta está formada por alimentos como el aceite de oliva y los productos derivados del trigo, combinados con un estilo de vida activo. Sin embargo, se está perdiendo esta dieta mediterránea que tenemos el privilegio de disfrutar en España. Los cambios en la dieta mediterránea han ocurrido a expensas de la incorporación de alimentos bajos en nutrientes (como los refrescos, los dulces y la bollería) y de un estilo de vida sedentario. En el grupo de niños y adolescentes esta desestructuración de la dieta es más acusada.

4.2.2.7.2.- Alteración de un patrón nutricional correcto

Una correcta nutrición es un componente esencial para la salud de los niños y los jóvenes. Se sabe, por ejemplo, que omitir el desayuno, o tomar un desayuno inadecuado se relaciona, por un lado, con tener hábitos alimentarios malos en general, y por otro lado, con una dificultad de los niños para resolver problemas al final de la mañana (50) . Y se sabe que los hábitos alimentarios de los niños y jóvenes dejan mucho que desear. Según el estudio enKid, se estima que el 8,2% de la población infantil y juvenil española no desayuna habitualmente, y que existe una relación clara entre este mal hábito alimentario y la obesidad. Además, a esto se suma que, según este mismo estudio, el 59,5% de los niños y jóvenes dedican al desayuno menos de 10 minutos, lo que se asocia a una baja calidad nutricional del desayuno. Sólo un 7,5 % de los niños y jóvenes toman un desayuno equilibrado, compuesto por leche, fruta o zumo e hidratos de carbono.

Una alimentación adecuada es una herramienta de enorme potencial y rentabilidad para mejorar la salud comunitaria a largo plazo, puesto que el coste de las actividades de prevención y promoción resulta irrelevante, en comparación con los beneficios que se pueden derivar para el bienestar físico de nuestros ciudadanos. Reviste, además, una especial trascendencia las iniciativas orientadas a niños o jóvenes, ya que se trata de un segmento de nuestra población en riesgo nutricional, pues necesitan un aporte nutricional adecuado, para que consigan un crecimiento sano. Además, se encuentran en las fases de la vida en las que se adquieren los hábitos y costumbres que, en buena medida, les acompañarán a lo largo de sus vidas (44).

Finalmente, **otras condiciones** que se han asociado con EHGNA, independientemente de su relación con la obesidad, incluyen la colecistectomía (51), el síndrome de ovario poliquístico, el hipotiroidismo, la apnea obstructiva del sueño, el hipopituitarismo y el hipogonadismo (52).

5. Mecanismos fisiopatológicos de la Esteatohepatitis no Alcohólica (EHNA)

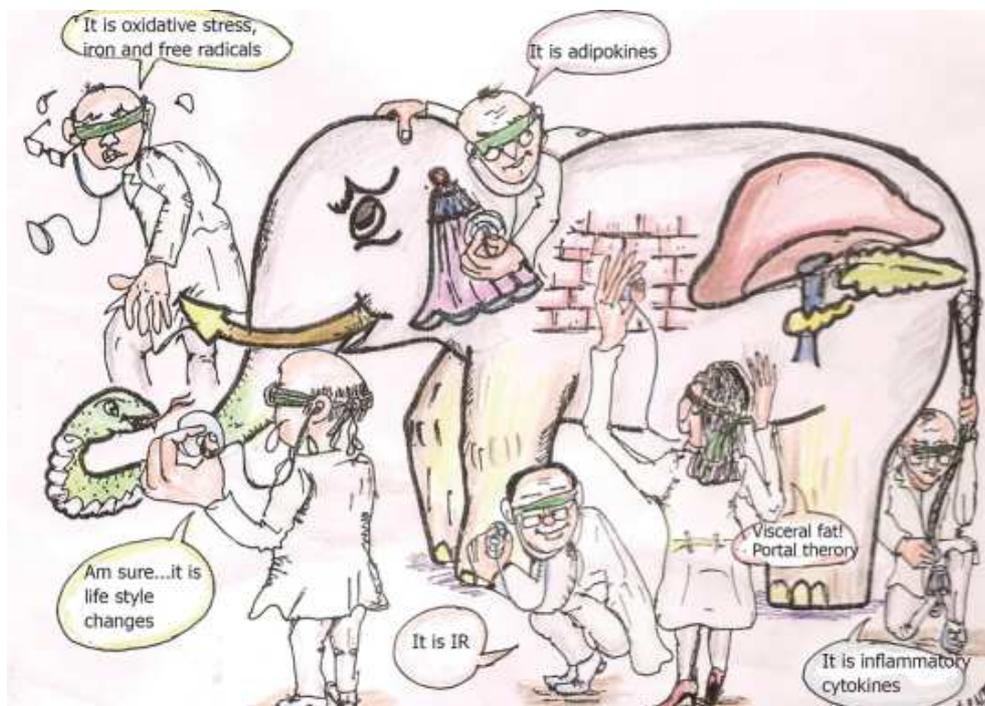


Figura 15. Las múltiples caras de la esteatohepatitis no alcohólica. (53)

5.1. No hepáticos

5.1.1. Distribución del tejido graso

En los humanos hay dos tipos de tejidos adiposos: el tejido adiposo blanco (WAT) y el tejido adiposo marrón o pardo (BAT). Ambos tejidos adiposos presentan diferencias importantes con relación a su funcionalidad, su morfología y su distribución. El WAT, además de ser el principal reservorio de energía, es un órgano secretor de un gran número de hormonas y citocinas que modulan el metabolismo del organismo. Por otro lado, el BAT está especializado en el gasto energético a través de la termogénesis. Por tanto, el desarrollo de la obesidad depende del balance entre el WAT y el BAT (54).

Dentro del **tejido adiposo blanco**, podemos diferenciar el **visceral** y el **subcutáneo**. Como se contempla en la **Figura 16**, en ambos tejidos existen diferencias en cuanto a su capacidad de movilización de ácidos grasos, su sensibilidad a los efectos lipolíticos de las catecolaminas y antilipolíticos de la insulina, además de una diferencial secreción de adipocinas. En este sentido se ha descrito que la obesidad periférica, caracterizada por una acumulación del tejido subcutáneo, no se ha asociado a un mayor riesgo de sufrir patologías asociadas. Sin embargo, la obesidad central o abdominal, que es más frecuente en hombres, se caracteriza por una acumulación del tejido adiposo visceral y se asocia con un mayor riesgo de padecer enfermedades como la resistencia a la insulina o la hipertensión, aumentando considerablemente el riesgo cardiovascular (54).

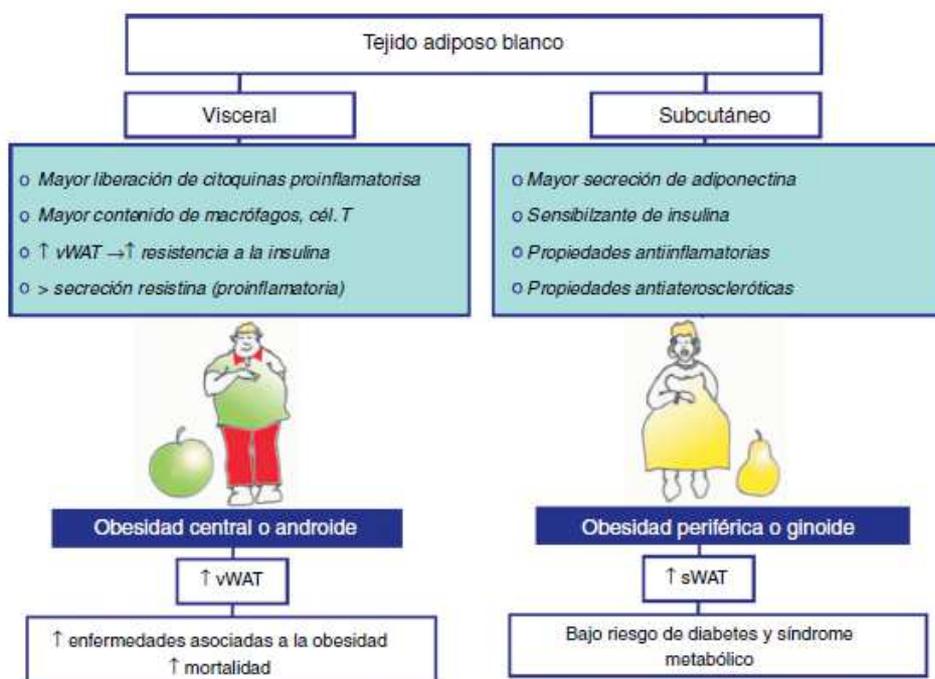


Figura 16. Diferencias entre el tejido adiposo blanco (WAT) visceral (vWAT) y subcutáneo (sWAT).

Incrementos en el tejido adiposo visceral y grasa intrahepática se correlacionan con aumento de la neoglucogénesis, de los niveles de ácidos grasos libres (AGL) y de la resistencia a la insulina (RI)(55). La grasa visceral también ha sido asociada con inflamación hepática y fibrosis en pacientes con EHNA, independientemente de que tuvieran resistencia a la insulina, un efecto mediado posiblemente por la interleukina-6 (una citocina proinflamatoria) (56). El aumento de la expresión de IL-6 intrahepático se correlaciona con la RI en otro trabajo (57). Otras citocinas y adipocinas implicadas en la

señalización del receptor de la insulina parecen estar alteradas en el tejido adiposo visceral de pacientes con EHNA (58). La activación de la enzima convertidora del factor de necrosis tumoral alfa se correlaciona con los niveles de resistencia a la insulina, esteatosis macrovesicular y degeneración balonizante en modelos animales (59). El aumento de la adiposidad activa la respuesta inflamatoria no sólo en el adipocito, sino también a través de la vía portal en el hígado.

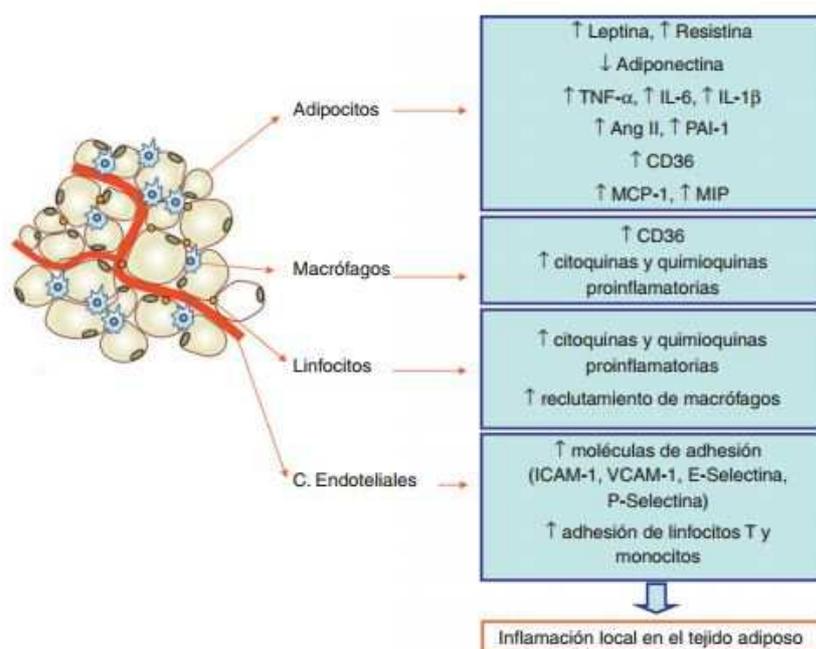


Figura 17. Contribución de los distintos tipos celulares a la inflamación local del tejido adiposo. La obesidad es un estado crónico inflamatorio de bajo grado en el que tanto los adipocitos como los macrófagos y linfocitos infiltrados, así como las células endoteliales de los capilares próximos a los adipocitos, están contribuyendo a esa inflamación local (54).

Esto sugiere que la acumulación lipídica en los hepatocitos o esteatosis podría inducir una respuesta inflamatoria subaguda en el hígado, que es similar a la inflamación en el tejido adiposo que sigue a la acumulación lipídica en el adipocito. Las moléculas proinflamatorias producidas en la grasa abdominal a través de la circulación portal podrían ser las responsables del inicio de la inflamación hepática. Además, en el propio hepatocito graso se produce la activación de NF- κ B y un aumento de la expresión de citoquinas, incluidas el TNF- α , el IL-6 y el IL 1 β . Las citoquinas proinflamatorias participan en el desarrollo de la resistencia a la insulina y activan a los macrófagos hepáticos residentes,

llamados células de Kupffer. El hígado está densamente poblado por células de Kupffer, que representan aproximadamente el 5% del total de las células.

En la obesidad, con el aumento de la adiposidad no aumenta el número de células de Kupffer, sino su activación. En el hígado, al igual que en el tejido adiposo, hay distintos tipos de células que participan en la inflamación y en la resistencia a la insulina a nivel local del hepatocito, como son las células inmunes y las células endoteliales. Por tanto, los mediadores proinflamatorios y proaterogénicos que son producidos por el tejido adiposo y el hígado y están asociados a las células inmunes generan una inflamación sistémica que produce resistencia a la insulina en el músculo esquelético y otros tejidos periféricos (54).

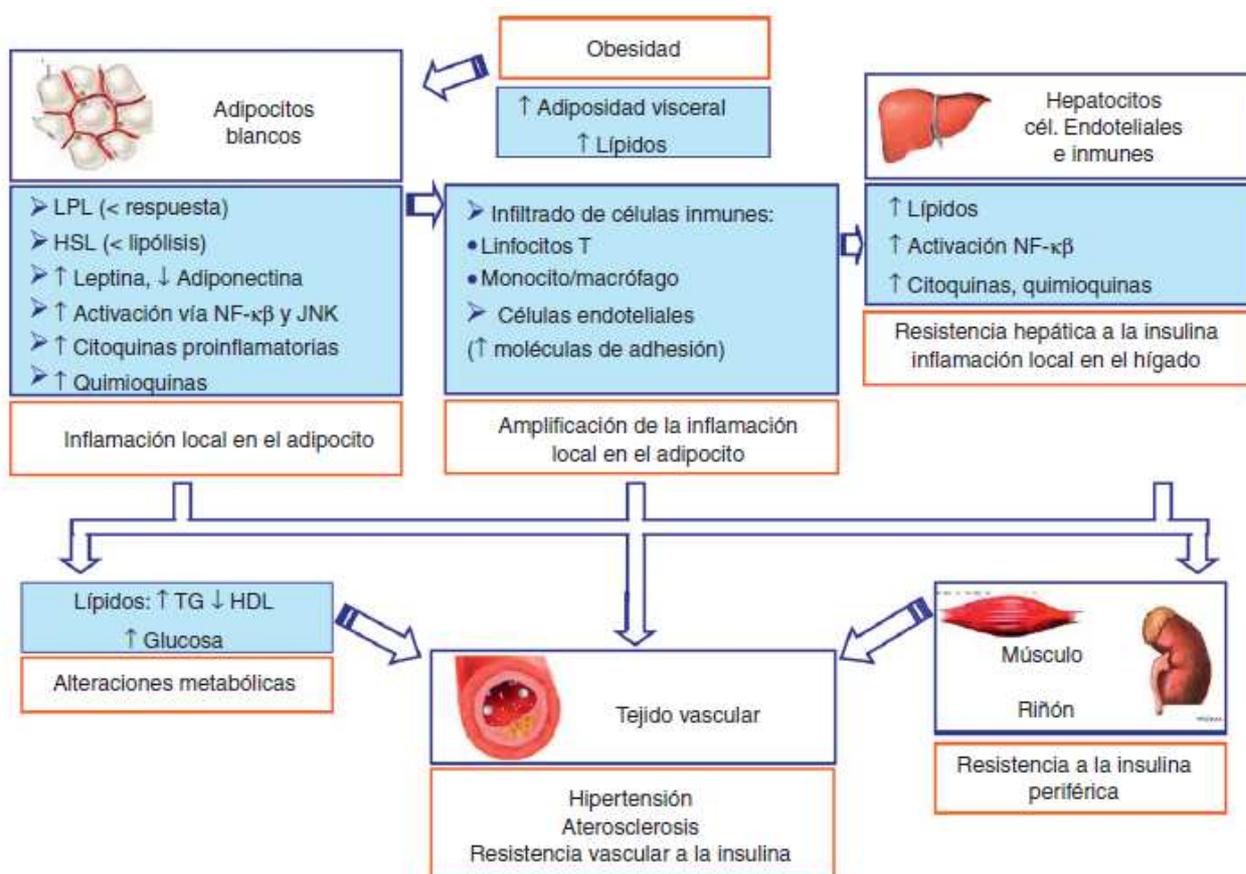


Figura 18. Contribución del tejido adiposo blanco (WAT) a la obesidad y las complicaciones metabólicas y vasculares asociadas. En una situación de obesidad se produce una acumulación de lípidos en los adipocitos, iniciándose un estrés en la célula y la activación de la vía de las JNK y del NF-κB, generándose una inflamación local en el adipocito blanco. Ésta, puede exportarse a través de la vía portal al hígado y, finalmente, a otros tejidos periféricos, como el territorio vascular, donde podría producir aterosclerosis, hipertensión y resistencia vascular a la insulina (54).

5.1.2. Estilo de vida

En un reciente trabajo (60) el hallazgo clave fue la mejoría significativa en la RI observándose un descenso en la circunferencia de la cintura y en el índice cintura-cadera, en el grupo que presentaba un IMC normal, sin reducción significativa de su IMC. Este descenso en la circunferencia de la cintura en este grupo, probablemente sea debido a un descenso en la reserva de grasa abdominal.

El ejercicio regular aeróbico parece redistribuir los depósitos de grasa en el cuerpo, que por último conduce a un descenso de la obesidad visceral y aumenta la respuesta a la insulina en el tejido adiposo. Datos provenientes de otros estudios sugieren que el ejercicio físico regular disminuye el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 o no insulino dependiente (DM-2) y mejora los niveles en sangre de colesterol (LDL y HDL), ambos, factores de riesgo significativos para desarrollar EHNA.

La modificación del estilo de vida ha mostrado resultados más esperanzadores que el uso de metformina en la prevención de la diabetes (58% Vs 31%) en el Programa de Prevención de la Diabetes. Como la DM-2 es el evento final de una severa resistencia a la insulina y la EHNA es considerada otra consecuencia de la resistencia a la insulina, también se prevendría la primera con la modificación del estilo de vida. La obesidad y la resistencia a la insulina con todas las consecuencias para la salud conocidas hasta ahora se consideran de alta prioridad; y es razonable pensar que la adopción generalizada por parte de la de la comunidad mundial de la modificación del estilo de vida, ayudará a superar la epidemia del siglo actual de la obesidad, tan relacionada con riesgos de salud, incluyendo la EHNA (60).

5.1.3. Resistencia a la insulina y desarrollo de esteatosis

Una combinación de factores genéticos y adquiridos contribuye a esta primera etapa de esteatosis, a través de una acumulación de exceso de triglicéridos en el hígado que ocurre como consecuencia de un incremento de la circulación de ácidos grasos libres y las posteriores interacciones de colecciones celulares entre el músculo esquelético, tejido adiposo e hígado. Este cúmulo de ácidos grasos libres y triglicéridos en el hígado es el resultado de varios procesos.

La RI es la que juega el papel fundamental en esta etapa y está caracterizada por un incremento circulante de los ácidos grasos libres como consecuencia del incremento de la lipólisis (61), y de la incapacidad del músculo periférico e hígado para oxidar los ácidos grasos libres. Como consecuencia de este cúmulo de ácidos grasos libres en músculo periférico e hígado se produce una alteración del metabolismo de la glucosa contribuyendo igualmente a ello la resistencia a la insulina. Además, el hiperinsulinismo asociado a la RI provoca un descenso de la síntesis de apolipoproteína B-100, un componente crítico de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lo cual disminuye el transporte de triglicéridos fuera de la célula y favorece su acumulación en el hígado (62, 63).

Shulman y col. (64) recientemente han propuesto que la acumulación de ácidos grasos libres en músculo e hígado permite una sobre expresión de la enzima lipoproteína lipasa en ambos órganos.

Las observaciones obtenidas de varios estudios pilotos apoyan cada vez más el papel de la RI, demostrando el beneficio de tratar a los pacientes que presentan EHGNA con fármacos como la rosiglitazona o la pioglitazona. El tratamiento con la primera de ellas reduce la expresión de reactantes de fase aguda hepáticos (la proteína C reactiva y amiloide sérico A), sugiriendo que la mejoría en la sensibilidad a la insulina se corresponde con una reducción de la inflamación (65). De forma similar, el tratamiento con pioglitazona conduce a una mejoría significativa de la esteatosis y necroinflamación en pacientes con EHNA y mejora la tolerancia a la glucosa, correlacionándose con descensos de la resistencia a la insulina del tejido adiposo (66). En otros artículos, los pacientes con EHGNA e intolerancia a la glucosa presentaban significativamente más RI que los pacientes con intolerancia a la glucosa sin esteatosis hepática (67, 68).

La resistencia a la acción de la insulina se traduce en importantes cambios en el metabolismo lipídico. Estos incluyen aumento de la lipólisis periférica, incremento de la síntesis de triglicéridos (69) e incremento de la llegada de ácidos grasos al hígado (70). Cada uno de ellos contribuye a la acumulación hepatocelular de triglicéridos, que se traduce en definitiva en una preferencia por la beta-oxidación de ácidos grasos libres en lugar de la beta-oxidación de carbohidratos, hecho que ha sido demostrado en pacientes con RI (70, 71).

Se ha observado un incremento significativo de los niveles de ácidos grasos libres en pacientes con EHGNA y DM-2 en comparación con individuos diabéticos tipo 2 pero sin EHGNA (68).

Los mecanismos moleculares que conducen a la resistencia a la insulina son complejos y no han sido aún completamente dilucidados. Diferentes moléculas parecen estar implicadas interfiriendo con las acciones de la insulina a nivel celular.

5.1.4. Papel de las citokinas y adipokinas

La patogenia de la EHNA es todavía un libro sin terminar que necesita más investigación experimental y clínica para llenar todas las páginas. Sobre la base de anteriores y recientes datos publicados, los personajes clave podrían ser las citokinas proinflamatorias y otras quimiokinas que son productos del tejido adiposo: las adipokinas.

a) TNF α : es una citokina proinflamatoria que se caracteriza por ejercer diferentes efectos biológicos, entre ellos, efectos metabólicos, inflamatorios, proliferativos, pero también necróticos, y que se expresa de forma elevada en el hígado y en el tejido adiposo, lo que hace de ella un papel de agente causal en la EHGNA. Es secretada por macrófagos que infiltran el tejido adiposo en modelos animales, por los hepatocitos, las células de Kupffer, y otros tipos celulares, como respuesta a una actividad inflamatoria crónica (72).

Los niveles del TNF α están incrementados en los pacientes con EHGNA y se ha visto que modula la señal a la insulina en el músculo aumentando su resistencia(73, 74). La expresión del RNAm de la adiponectina está disminuído en los pacientes con enfermedad hepática grasa no alcohólica, y se ha visto que su reposición en ratones con resistencia a la insulina decrece el contenido de triglicéridos en músculo e hígado. Además se ha sugerido que el TNF α puede disminuir la expresión de la adiponectina potenciando aún más la resistencia a la insulina (75).

b) Leptina: es un péptido producido principalmente en el tejido adiposo. En lo que se refiere al papel de la leptina en la patogenia de la enfermedad hepática grasa no alcohólica, los datos son controvertidos.

Estudios en animales: La ausencia de leptina se relaciona con obesidad de forma masiva en ratones (ob/ob) y en humanos. La leptina puede contribuir al desarrollo de fibrosis hepática. La leptina induce la defosforilación del substrato 1 del receptor de la insulina, convirtiendo a los hepatocitos en más insulino-resistentes (76); y los ratones obesos deficientes en leptina que están expuestos a una dieta deficiente en metionina-colina, una agresión necroinflamatoria, no desarrollan fibrosis hepática. La administración de leptina en el Sistema Nervioso Central (SNC) de ratones con hígado graso corrigió la RI y el hígado graso, mientras que su administración vía periférica, no lo hizo (77). Ello sugiere que la resistencia a la leptina a nivel del SNC podría ser más importante que la resistencia a nivel hepático en la patogénesis de la EHNA.

Estudios en humanos: Uygun y col. encontraron un incremento de los niveles séricos de leptina en los pacientes con esteatohepatitis no alcohólica y sugirieron que éste podría ser un factor predictivo independiente de la intensidad de la esteatosis hepática en los pacientes con EHNA (78). Esta correlación entre los niveles de leptina y la esteatosis hepática, podría ser explicada por el desarrollo de una resistencia a la acción de la insulina o por una relación cerrada entre los niveles de leptina y la cantidad de tejido graso visceral.

Sin embargo estos resultados podrían estar influenciados por el hecho que los sujetos del grupo control tenían un IMC más bajo que los pacientes con EHNA. Así pues, un subgrupo de pacientes de este estudio usó un grupo control homogéneo con el grupo con EHNA y no encontró correlación entre los niveles de leptina y la histología hepática, niveles séricos de transaminasas, niveles en ayunas de insulina o los niveles de RI.

En otro trabajo, los niveles en sangre de leptina se correlacionan con el desarrollo de fibrosis en pacientes con hepatitis crónica C (79) y por otro lado, en un estudio de 88 pacientes con EHNA no se encontró relación entre los niveles de leptina y el estadio de fibrosis (después de ajustar para posibles factores de confusión) (80).

Por lo tanto queda la puerta abierta a más estudios que aclaren el papel de la leptina en la patogenia de la enfermedad hepática grasa no alcohólica.

c) Adiponectina: es una hormona secretada exclusivamente por el tejido adiposo y que produce efectos beneficiosos en el metabolismo lipídico, incrementando tanto el aclaramiento de lípidos del plasma, como la beta-oxidación de ácidos grasos en el músculo (81). Esto también tiene directamente efectos antiinflamatorios, suprimiendo la producción de TNF-alfa en el hígado (81). En un trabajo, los niveles bajos de adiponectina en suero se correlacionaba con la presencia de EHGNA, fibrosis hepática y la severidad del síndrome metabólico (82). Además, la expresión de adiponectina estaba marcadamente reducida en el tejido adiposo de ratones ob/ob (deficientes en leptina). Este estudio en ratones obesos de causa no alcohólica (ob/ob) demostró mejoría significativa en la esteatosis hepática, hepatomegalia, y elevación de transaminasas después de la administración de adiponectina (81). Niveles circulantes reducidos de adiponectina se correlacionan con la severidad de la histología hepática en EHNA (83). La adiponectina parece tener un rol en la modulación de la sensibilidad a la insulina. En un trabajo, los niveles de adiponectina en plasma se correlacionaron significativamente con la sensibilidad a la insulina en el hígado (84). Además, la administración de pioglitazona incrementa los niveles de adiponectina, que se correlaciona con mejoría de la esteatosis hepática, necroinflamación y fibrosis (84, 85).

d) Resistina: es una proteína derivada de la grasa que podría tener un papel fisiopatológico importante en el desarrollo de la resistencia a la insulina. La sobreexpresión de resistina en un modelo de ratones condujo a intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia y a un deterioro en la supresión de los niveles de ácidos grasos libres (86). Además, la administración de oligonucleótidos contra el RNAm de la resistina, revirtió completamente la marcada elevación de los niveles de resistina y la severa resistencia a la insulina que se desarrolló en ratones alimentados con dietas de elevada cantidad en grasas (87).

e) Visfatina: es también una hormona cuyos niveles en plasma son asociado con la obesidad, la grasa visceral, diabetes tipo 2, así como con el Síndrome metabólico (SM). Se ha visto que la secreción de visfatina se incrementa por la administración de glucosa, y este aumento de la visfatina por acción de la glucosa puede ser interrumpido por la co-administración de insulina o somatostatina. En varios estudios, los niveles plasmáticos de

la visfatina fueron mayores en individuos obesos y aquellos con DM tipo II y SM. Otros trabajos, sin embargo, no confirmaron la asociación anterior. Hay escasa datos sobre el papel de visfatina de hígado graso no alcohólico. Aunque los niveles de visfatina fueron menores en pacientes con EHNA en comparación con otros sólo con esteatosis, se encontró una correlación positiva con la inflamación portal (72).

f) Interleukina 6 (IL-6): es una citocina pleiotrópica y proinflamatoria producida por los adipocitos, los hepatocitos, y por las las células inmunes y endoteliales. A pesar de ser menores en tamaño, los adipocitos viscerales producen más citokinas que los adipocitos subcutáneos, habiéndose observado que pacientes con NAFLD obesos y delgados pueden mostrar un perfil similar respecto a la producción de IL-6. La endotoxemia en la obesidad, que resulta de la proliferación bacteriana en el intestino delgado, estimula a los macrófagos a través de receptores “toll like” para producir TNF- α que posiblemente induce la producción de IL-6 por parte de los adipocitos y macrófagos infiltrados en el tejido adiposo. Aunque numerosos estudios en humanos han demostrado una correlación entre los niveles de IL-6 y EHGNA, los datos relativos a su relación con los diferentes estadios de evolución de la enfermedad son contradictorios (72).

5.1.5. Papel de la genética

Se ha sugerido que existe una base genética en la EHGNA, a la luz de estudios de agregación familiar, estudios de heredabilidad, estudios de genes candidatos, y estudios de asociación amplia del genoma (GWAS). La presencia de una base genética en el hígado graso no alcohólico no sólo arrojará luz en la identificación de individuos en riesgo de desarrollar hígado graso no alcohólico y su progresión, sino también la aclaración de la patogénesis hígado graso no alcohólico y el desarrollo de nuevas terapias (88).

La EHGNA es considerada una enfermedad compleja, ya que tiene un componente genético, pero sin un patrón mendeliano de herencia simple de un solo gen, como por ejemplo la enfermedad de Wilson. En la EHGNA, múltiples genes, los factores ambientales, los efectos de la edad, y sus interacciones, pueden estar involucrados (88).

Los estudios epidemiológicos genéticos se pueden dividir en dos grandes categorías: (a) de acuerdo con la relación entre los participantes (versus no pacientes no relacionados entre sí, o lo que se llama basados en la población); y (b) de acuerdo con el

conocimiento de los marcadores genéticos utilizados (basado en hipótesis o estudios de genes candidatos frente a estudios sin hipótesis o estudio de asociación amplia del genoma - GWAS). Un gen candidato se define como gen cuyo producto se considera que desempeña un papel en la patogénesis de la enfermedad (88).

5.1.5.1 Estudios de genes candidatos en la EHNA humana: Numerosos estudios de genes candidatos, aplicando la hipótesis fisiopatológica de los múltiples impactos (que desarrollaremos en el apartado 5.2) han estudiado los efectos de dichos genes en presencia de EHNA y en su progresión. La hipótesis previa puede simplificarse en los siguientes mecanismos (no mutuamente exclusivos): genes implicados en el metabolismo de los lípidos hepáticos (síntesis, el almacenamiento, la exportación, la oxidación), los genes implicados en la señalización de la insulina (resistencia a la insulina), y finalmente, los genes implicados en el estrés oxidativo y la inflamación (y por lo tanto, más probable que participen en la progresión a cirrosis) (88).

Nuestro grupo de trabajo ha estudiado diversos genes candidatos relacionados con varios de estos mecanismos, como la variante rs6923761 del receptor de GLP-1 en relación con mejoría de parámetros antropométricos, descenso de los niveles de insulina y del HOMA en respuesta a una dieta hipocalórica en pacientes obesos (89), además de otras asociaciones (90-97). Todos estos datos apoyan el papel de la genética en la patogénesis de la EHNA.

5.1.5.2. Estudios de Asociación Amplia del genoma (GWAS): Romeo y col. fueron los primeros en aplicar el método de GWAS utilizando un fenotipo basado en espectroscopia por resonancia magnética. Estudiaron 9.299 variaciones de secuencia no sinónimas e identificaron una mutación con cambio de sentido [Ile148 → MET148 (I148M)] en el gen PNPLA3, (dominio de la fosfolipasa-patatina 3; polimorfismo rs738409). PNPLA3, altamente expresado en el tejido adiposo y el hígado, está regulado por la insulina a través de una cascada de señalización que incluye LXR y SREBP-1c28 y, por lo tanto, aumentado con la ingesta en estudios con animales. Esta mutación es, de lejos, la marca genética más fuerte obtenida hasta la fecha y que ha mostrado un incremento de probabilidad de presentar hígado graso de 3,26 en el artículo original. Además, el gen PNPLA3 también podría ser responsable de la diferencia en la prevalencia de la

enfermedad de hígado graso entre los grupos étnicos y muestra una fuerte asociación también con la fibrosis hepática (98).

Desde el descubrimiento de la asociación entre la mutación PNPLA3, esteatosis y esteatohepatitis, varios polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) se han identificado asociados con EHNA (99). Sin embargo, a pesar de estas asociaciones individuales (SNPs), los mecanismos biológicos que distinguen los resultados clínicos alternativos o progresión de la enfermedad son en gran parte desconocidos.

Tanto los estudios de genes candidatos como los GWAS se basan en la asociación estadística de los marcadores genéticos y la enfermedad (fenotipo) de interés. Los marcadores genéticos más frecuentemente utilizados son los polimorfismos de un sólo nucleótido (SNPs), definidos como el cambio en un solo par de bases del DNA y que este cambio aparezca en más de el 1% de la población. El mayor problema en estos dos tipos de estudios es la presencia de falsos positivos y falsos negativos en las asociaciones que se encuentran. La falta de potencia estadística conduce a falsos negativos, es decir, verdaderas asociaciones que no se detectan en el estudio. Así que el investigador necesita estudiar el número de pacientes que debe ser reclutado para subsanar el error, aumentando la potencia en los cálculos. En los GWAS, donde no existe una hipótesis en el análisis estadístico, el problema es el contrario, y los SNPs se encuentran falsamente asociados a la enfermedad debido al azar, incluso tras la corrección estadística haciendo múltiples comparaciones. Por todo ello, la mayoría de las revistas recomiendan encarecidamente a los autores reproducir los hallazgos en una muestra diferente antes de aceptar el nuevo SNP como verdaderamente asociado a EHGNA (88).

5.2. Factores Hepáticos

El metabolismo lipídico en el hígado se mantiene mediante 3 mecanismos (100):

- a) **Captación de ácidos grasos libres** de sangre periférica y la síntesis de éstos de novo.
- b) La **eliminación de los ácidos grasos** mediante su oxidación o mediante la transformación en triglicéridos.
- c) La **exportación de triglicéridos** mediante las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) en conjunción con las APO-B.

Actualmente en la fisiopatología de la EHNA se propugna la teoría del triple impacto (101).

1. El primer paso necesario sería la **ESTEATOSIS HEPÁTICA**.
2. El segundo paso consiste en la **PRODUCCIÓN DE CITOKINAS** inflamatorias como consecuencia del aumento del estrés oxidativo producido al intentar compensar la alteración en la homeostasis lipídica que genera la esteatosis hepática.
3. El tercer paso consistiría en la **APOPTOSIS** del hepatocito como consecuencia de un **ESTRÉS OXIDATIVO MANTENIDO**. La muerte celular programada junto con el estímulo inflamatorio mantenido en el tiempo, generaría una respuesta reparadora anómala, y la consiguiente alteración en la arquitectura hepática.

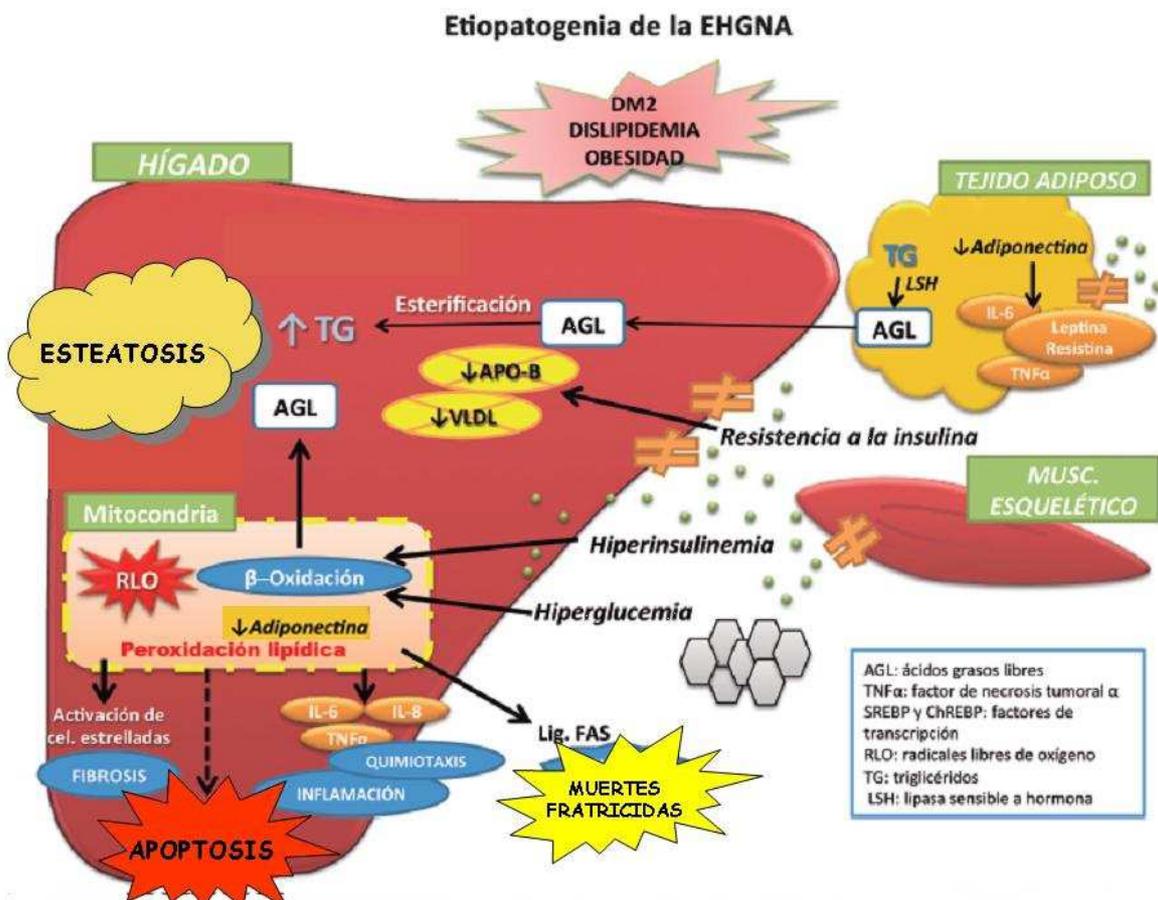


Figura 19. Etiopatogenia de la Esteatohepatitis no alcohólica. Modificado de Martín Domínguez (9).

TRIPLE IMPACTO:

1. **ESTEATOSIS HEPÁTICA:** En los pacientes con HGNA el metabolismo normal se ve alterado. Existe una captación y/o síntesis aumentada de ácidos grasos. La transformación

de ácidos grasos en triglicéridos se ve aumentada y el sistema de exportación de triglicéridos se encuentra saturado. Estos tres mecanismos favorecen la acumulación de triglicéridos en el hígado produciendo esteatosis (101).

2. PRODUCCIÓN DE CITOKINAS: En los pacientes con EHGNA se encuentran en el hepatocito una mayor cantidad de ácidos grasos libres. Estos ácidos grasos pueden ser directamente citotóxicos (102): estimulando la proliferación de peroxisomas, produciendo TNF α y disminución de los niveles de adiponectina. Todo esto favorece la presencia de un estado inflamatorio de bajo grado (101).

3. ESTRÉS OXIDATIVO MANTENIDO Y APOPTOSIS: La oxidación de los ácidos grasos se ve aumentada, por lo que puede superar a la defensa proporcionada por los sistemas antioxidantes, produciendo un exceso de radicales libres de oxígeno (ROS). El aumento de la oxidación de ácidos grasos libres supera los sistemas antioxidantes lo que conlleva a un exceso de producción de radicales libres de oxígeno (ROS); por otro lado, el exceso de ROS puede producir daño y disfunción mitocondrial, lo que compromete la síntesis de ATP por parte de la mitocondria, favoreciendo la muerte celular (70).

Por otra parte y como consecuencia de este estado inflamatorio crónico se liberan citocinas proinflamatorias, que actúan sobre el receptor de la insulina, alterando su fosforilación y por lo tanto desarrollo de resistencia a la insulina. Niveles elevados de estas tres sustancias se han detectado en pacientes con EHNA (101, 103).

La adiponectina constituye un factor patogénico clave. Es conocido, que al contrario que el TNF- α , la adiponectina es capaz de sensibilizar a la insulina a los diversos tejidos. Se produce en el tejido adiposo, y quizás también en las células estrelladas hepáticas. La adiponectina es capaz de prevenir la acumulación de lípidos en los tejidos, incluyendo el hígado (103). Niveles bajos de adiponectina se han asociado con el aumento de la actividad inflamatoria en el hígado (104).

El desequilibrio ocurrido en el hígado de los niveles de adiponectina frente a los de TNF alfa, puede activar al hepatocito y la producción de radicales libres de oxígeno, pudiendo ser esto un paso determinante para la generación de fibrosis hepática (105).

Un reciente estudio en este sentido, encontró que en los pacientes con EHNA los hepatocitos que sufren apoptosis se encontraban aumentados, hallando un aumento de bcl-2 (proteína antiapoptótica) probablemente de manera compensadora (106).

La persistencia en el tiempo del insulto inflamatorio en el hígado, junto con una respuesta reparadora que con el tiempo se vuelve anómala, es lo que condiciona la progresión de las formas no complicadas de hígado graso hacia las más evolucionadas.

5.2.1. Estrés oxidativo:

Si la RI juega un papel fundamental en la patogenia del hígado graso, el estrés oxidativo probablemente sea definitivo en la evolución desde esteatosis a EHNA y a las lesiones más avanzadas de la EGHNA (107).

Hemos explicado con anterioridad varias sustancias y mecanismos que contribuyen a este estrés oxidativo (niveles bajos de adiponectina, disfunción mitocondrial) y a continuación desarrollaremos algunos de ellos y otros que juegan también su papel en dicho estrés.

5.2.1.1. Disfunción mitocondrial: Aunque el origen de este estrés oxidativo en la EHNA es probablemente múltiple (oxidación de los ácidos grasos, citocromos microsomales, siderosis, citoquinas, células de Kupffer, etc.), la disfunción de las mitocondrias parece jugar un papel predominante. Las mitocondrias están implicadas tanto en la β -oxidación de los AGL como en la generación de los ROS. Diversos estudios han mostrado que las mitocondrias de los pacientes con EHNA son anormales tanto morfológica como funcionalmente. Las mitocondrias representan el lugar principal de β -oxidación de los AGL (107).

5.2.1.2. Hierro: La RI está asociada con un incremento de los niveles hepáticos de hierro (108), y la mejoría del control glucémico, a su vez se relaciona con descenso en la ferritina sérica y en la concentración hepática de hierro (109).

La prevalencia de individuos heterocigotos para el gen HFE de la hemocromatosis puede estar incrementada en individuos con EHNA a los que se le asocia incremento de

hierro hepático y elevación de GPT (110). En un trabajo, se demostró (siendo estadísticamente significativa) una prevalencia incrementada de mutaciones para el gen HFE y sobrecarga férrica en pacientes con hipertrigliceridemia primaria, condición que está asociada con EHGNA (111). Sin embargo, otro estudio no encontró asociación entre la presencia de una mutación del gen HFE o un genotipo específico de HFE con la severidad de la fibrosis hepática en pacientes con EHGNA (112).

El incremento de la concentración de hierro en el parénquima hepático en el contexto de EHNA parece correlacionarse con la severidad de la fibrosis (112, 113). Un estudio de 840 pacientes con EHGNA demostró que el patrón de distribución del hierro se correlacionaba con la severidad del daño histológico (114). Entre los 35 pacientes con EHGNA que presentaban incremento de hierro hepático, aquellos con un patrón de distribución del hierro dentro del sistema retículoendotelial (RES) tenían con más frecuencia inflamación portal, balonización hepatocelular, esteatohepatitis y fibrosis. Por tanto, los pacientes con un patrón de distribución del hierro en el RES tenían significativamente más probabilidad de presentar fibrosis avanzada.

El mecanismo específico por el cual el depósito de hierro hepático contribuye a la necroinflamación es desconocido, pero puede estar relacionado con la generación de radicales libres del oxígeno que ocurre en el proceso de reducción de Fe^{3+} a Fe^{2+} (115). En un estudio, el hierro, incluso a niveles normales, demostró ser un factor importante en relación con la sensibilidad a la insulina (67). Además, comparando pacientes con intolerancia a la glucosa sin EHGNA, los pacientes con intolerancia a la glucosa con EHGNA presentaban 2,5 veces más hiperinsulinemia basal. En aquellos con EHGNA, tanto la hiperinsulinemia como la elevación de GPT, raramente respondían a la depleción de hierro, incluso todos aquellos que presentaban índices normales de hierro. De forma interesante, en los pacientes intolerantes a la glucosa sin EHGNA, no se demostró una mejoría significativa en los niveles de insulina en ayunas tras realizar flebotomía.

La RI provoca concentraciones elevadas de ferritina sérica, mayor expresión de los receptores de transferrina y aumento de hierro hepático, lo que contribuye a la generación de radicales hidroxilo y a la acumulación de RLO; sin embargo, su papel en la patogenia de la EHGNA aún no está aclarado (35).

5.2.1.3. Déficit de antioxidantes

La **peroxidación lipídica, y los radicales libres del oxígeno** pueden disminuir las enzimas antioxidantes como el glutatión, la vitamina E, beta-caroteno, vitamina C, conduciendo al hígado a una susceptibilidad mayor al daño oxidativo (116, 117). Los niveles séricos de xantina oxidasa, un generador de especies reactivas del oxígeno, son mayores en pacientes con EHNA en comparación con controles, mientras que los niveles de múltiples enzimas antioxidantes están deplecionados (118). Además, la hemo-oxigenasa-1, una enzima antioxidante, interrumpe la progresión a esteatohepatitis por una vía antioxidante y suprimiendo citokinas proinflamatorias (119). También se ha descrito una correlación entre la severidad de la enfermedad y el incremento de la expresión de receptores de especies oxidativas (120). La serotonina ha sido implicada como fuente de especies reactivas del oxígeno en la EHNA. Un incremento en el catabolismo de la serotonina, se tradujo en un incremento de los niveles de reactivos oxidativos y necroinflamación en un modelo animal de EHNA (121).

Existe una evidencia indirecta que apoya el papel de los antioxidantes en la prevención del daño oxidativo hepático. La terapia con vitamina E normalizó la elevación de GPT sérica en niños con EHGNA (122). En otro artículo, una combinación de vitaminas E y C durante 6 meses, se tradujo en una mejoría histológica significativa, tanto en marcadores de fibrosis como de inflamación (123). En un tercer trabajo, la ingesta diaria de vitaminas antioxidantes fue significativamente menor en individuos con EHNA, en comparación con personas de la misma edad e IMC utilizados como grupo control (124). El efecto beneficioso de la terapia antioxidante podría estar mediado por células T reguladoras, que se encuentran disminuidas en ratones con esteatosis (125). Dicha terapia se traduciría en una disminución de la apoptosis de las células T reguladoras y en un descenso de la inflamación hepática.

5.2.1.4. Papel de la microbiota: El sobrecrecimiento bacteriano y una mayor translocación bacteriana a la circulación sistémica y portal, así como el aumento de los niveles séricos de lipopolisacáridos (LPS) bacterianos y endotoxinas, y la activación de la señalización proinflamatoria (TNF- α e IL-6) se ha observado en diferentes hepatopatías crónicas incluyendo la EHGNA (126).

En la etapa fetal comienza el desarrollo de una estrecha relación entre el hígado y el tracto gastrointestinal que perdurará toda la vida. Esto es debido a la localización central del tracto gastrointestinal que, junto con su vascularización única, le confiere al hígado un papel crítico a varios niveles: metabólico, inmunológico y detoxificante.

Se ha descrito que la microbiota intestinal puede ejercer su influencia tanto en la etiología como en la progresión de la esteatohepatitis. Esto es debido a que promueve tanto la obesidad como el desarrollo de resistencia a la insulina, altera el metabolismo de la colina y activa la liberación de citocinas proinflamatorias.

Los tipos bacterianos más comunes pertenecen a los filos *Firmicutes* y *Bacteroides*, los cuales de manera conjunta representan casi el 90% del microbioma tanto en ratones como en humanos. Trasplantes experimentales de microbioma en ratones señalan que este puede influir tanto en la absorción como en la digestión de nutrientes, así como en la producción de hormonas intestinales, como el glucagón, ejerciendo su efecto sobre el metabolismo general del hospedador.

Además, se ha detectado una posible relación entre el microbioma intestinal y la producción endógena de alcohol (127).

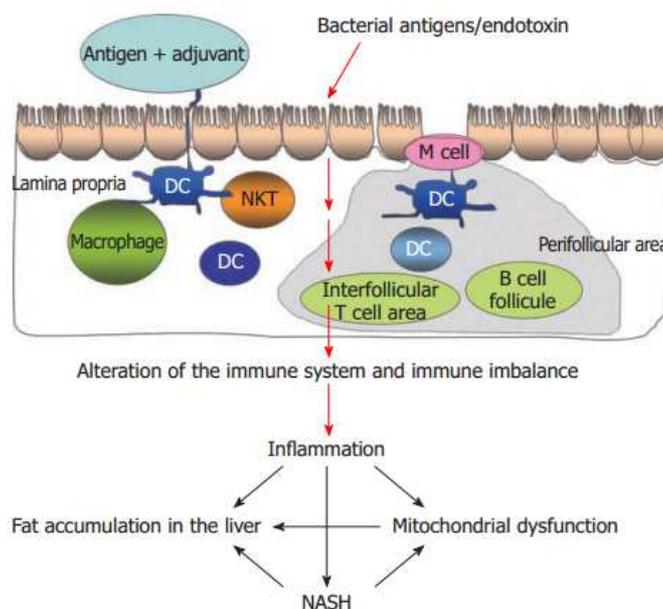


Figura 20. La translocación bacteriana se asocia con el desarrollo de EHNA (126).

5.2.2. Peroxidación lipídica: Los RLO pueden inducir la peroxidación de los lípidos, en especial de los ácidos grasos insaturados de las membranas celulares. Las consecuencias de esta agresión son variadas.

1. Por un lado, repercute sobre las propiedades físicoquímicas de las membranas y ello sobre la actividad de las enzimas y receptores situados en ella, la expresión de antígenos, las interacciones intercelulares y la permeabilidad de las membranas. Consecuencia de esto último puede ser que se produzcan cambios que comprometen la viabilidad de las células (paso de calcio a las células) y determinan su muerte por necrosis.

2. Una de las lesiones que caracteriza a la EHNA es la posible evolución a fibrosis hepática. Las células que principalmente están implicadas en la producción de esa fibrosis son las células estrelladas del hígado (CEH). En el hígado normal, las CEH se encuentran en un estado latente, sin capacidad para producir los componentes de la matriz extracelular. Cuando el hígado sufre una agresión, estas células se activan, cambian su morfología y función y sintetizan los diversos componentes de la matriz extracelular. En la EHNA humana y experimental se ha mostrado que estas células están activadas y muy aumentadas en número. Los mecanismos que conducen a la fibrosis hepática en la EHNA son probablemente múltiples.

3. A través de la activación del NF κ B que provoca el estrés oxidativo se pueden justificar el estado inflamatorio crónico que se encuentra en el hígado de la EHNA, ya que induce la expresión de genes de numerosos factores proinflamatorios, incluido el del TNF α , las interleuquinas 2, 6 y 8, el ICAM-1, la MCP-1, el MIP-2, el CINC (Cytokine-Induced Neutrophil Chemoattractant) y varias enzimas proinflamatorias (lipoxigenasa, ciclooxigenasa, iNOS).

4. En la EHNA, la muerte hepatocelular se produce, no sólo por necrosis sino también por apoptosis. Son varias las vías y factores que pueden conducir a esta muerte programada, incluyendo al propio estrés oxidativo, al TNF α y a los AGL (α). Los RLO aumentan la expresión de los ligandos Fas en la superficie de los hepatocitos y de esta manera pueden inducir la muerte por apoptosis (107).

6. Diagnóstico de la EHGNA

Ante una persona con alteración de la ALT y la presencia de esteatosis en la ecografía abdominal en el contexto de un paciente con Síndrome Metabólico (SM), tendremos que descartar siempre la presencia de otras hepatopatías, tales como tóxicas, víricas, autoinmunes y metabólicas.

En caso de descartar estas hepatopatías, estaremos ante un paciente con un probable EHGNA. En estos casos, lo más adecuado es adoptar una serie de medidas higienico-dietéticas durante 4 a 6 meses y ver cómo evoluciona la analítica. De manera que, si el paciente mejora haremos controles periódicos y en caso de continuar igual se le tendrá que derivar para hacer una biopsia o, mediante las herramientas diagnósticas actuales, estudiar si el paciente presenta fibrosis y, en función de la gravedad de la misma, plantear si tiene que hacerse un seguimiento especializado (ver figura 21) (128).

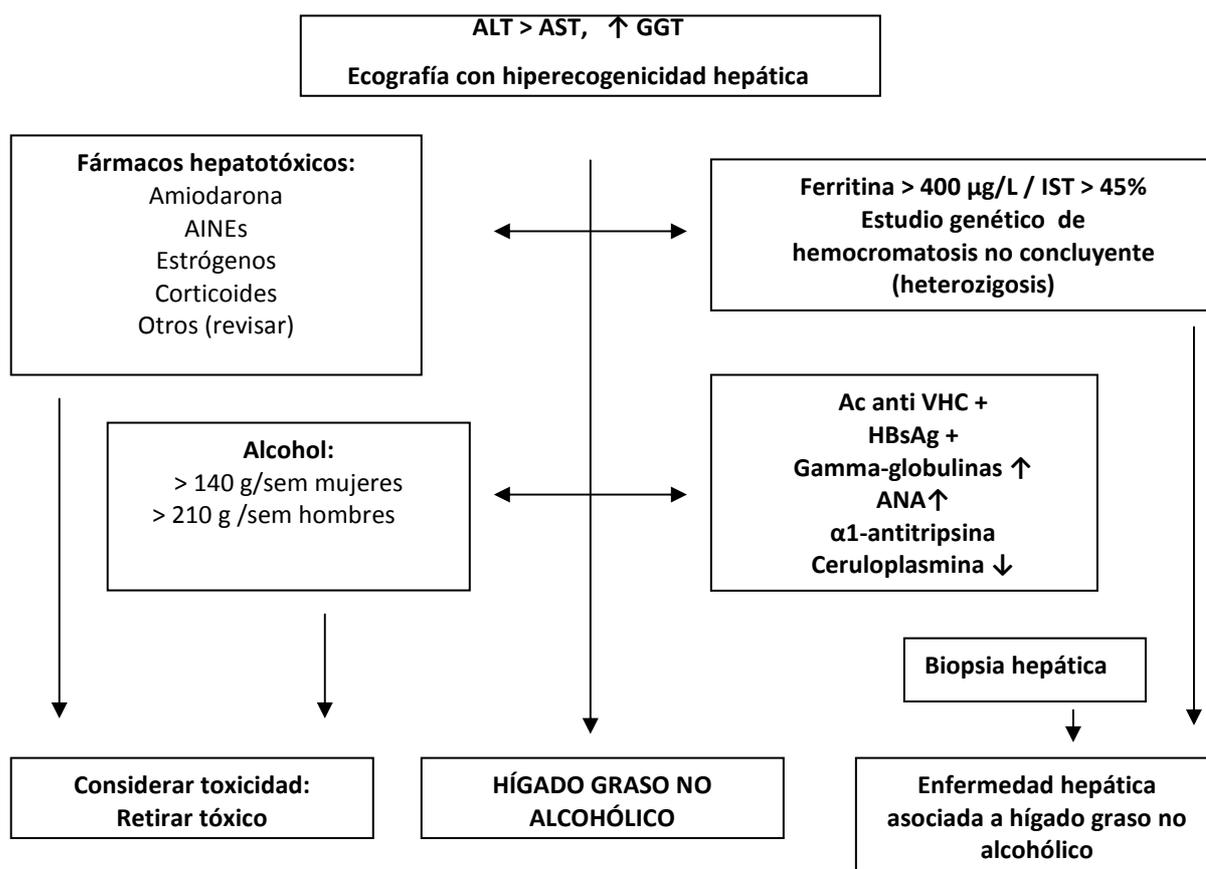


Figura 21. Diagnóstico de la EHGNA. AINE: antiinflamatorios no esteroideos; ALT: alaninoaminotransferasa; ANA: anticuerpos antinucleares; AST, aspartato aminotransferasa; GGT: gamma glutamiltransferasa; HBsAg; antígeno de superficie de la hepatitis B; EHGNA: enfermedad por hígado graso no alcohólico; IST: índice de saturación de la transferrina; VHC virus hepatitis C.

6.1 Sintomatología y signos clínicos

Cuando los pacientes están en una fase avanzada La mayoría de los pacientes no presenta alteraciones en la exploración física. Como dato más común, podemos detectar hepatomegalia en un 50% de los casos y dolor en hipocondrio derecho por distensión de la cápsula de Glisson. Probablemente los datos más llamativos sean los relacionados con la obesidad y con la resistencia a la insulina, como pueden ser la acantosis nigricans y, en mujeres, el hirsutismo.

Cuando los pacientes están en una **fase avanzada** de afectación hepática, podemos detectar todos los síntomas de la hepatopatía crónica: arañas vasculares, ascitis, eritema palmar, ginecomastia, telangiectasias o cirrosis (129).

6.2 Laboratorio

Analíticamente la mayoría de los enfermos presentan una alteración discreta de las pruebas de función hepática cuando se solicita una analítica general por cualquier motivo. La hipertransaminasemia leve o moderada es el principal hallazgo en los pacientes con HGNA. A veces cursan con una elevación discreta de los marcadores de colestasis, especialmente la GGT, lo que varios estudios han relacionado con la diabetes, la obesidad y más específicamente con la RI. Entre un 21 y un 40% de los pacientes cursan con un aumento moderado de la ferritina y del índice de saturación de la transferrina sin que se haya demostrado un aumento paralelo en la concentración intrahepática de hierro (128).

6.3. Estudios de imagen

6.3.1. Pruebas de imagen convencionales. Las pruebas de imagen convencionales (ecografía [US], tomografía computarizada [TC] y resonancia magnética [RM]) son de utilidad para visualizar los cambios en la morfología hepática secundarios a la acumulación de grasa en el hígado y permiten evidenciar con alta especificidad los cambios relacionados con cirrosis en caso de EHNA en evolución cirrótica. Por otro lado, ninguna de ellas hasta la fecha permite diferenciar de forma segura la esteatosis simple de la EHNA.

A) US. Es la prueba de imagen de primer nivel en caso de sospecha diagnóstica de HGNA debido a su bajo coste, seguridad, accesibilidad y posibilidad de repetición. Los signos diagnósticos de esteatosis incluyen: a) aspecto hiperecogénico (brillante) del hígado, que resulta más evidente en comparación con el aspecto del parénquima renal o esplénico; b) atenuación de la transmisión de los ultrasonidos a los segmentos posteriores del hígado y c) disminución de visualización de las paredes del árbol vascular intrahepático y de la vesícula biliar. El rendimiento de la US para diagnosticar esteatosis varía considerablemente entre estudios (sensibilidad: 60-94%; especificidad: 66-95%), principalmente a causa de su baja sensibilidad para diagnosticar esteatosis leve (< 20% de los hepatocitos). Por otra parte, la US con contraste permite confirmar la presencia de depósito focal de grasa y hacer el diagnóstico diferencial de lesiones focales.

B) TC. Permite diagnosticar esteatosis hepática sin emplear medio de contraste. La TC tiene un buen rendimiento para diagnosticar esteatosis > 30% (sensibilidad 73-100% y especificidad 95-100%), siendo similar al de la US.

C) RM. No utiliza radiación ionizante y tiene pocas contraindicaciones. El estudio, que en la actualidad es muy rápido y no requiere administración de contraste, permite diagnosticar esteatosis > 15% con alta fiabilidad. Sin embargo, la técnica es subóptima para diagnosticar esteatosis < 15%.

D) Espectroscopia por RM del hidrógeno. Esta técnica es la más exacta disponible hasta la fecha para cuantificar de forma no invasiva la esteatosis hepática. La cuantificación de la esteatosis obtenida por esta técnica se correlaciona estrechamente con la esteatosis histológica y puede diagnosticar niveles de contenido hepático en triglicéridos > 5%; además, es fiable para determinar los cambios ($\geq 0,5\%$) en el grado de esteatosis después de la disminución del peso (128).

E) DEMILI®: un nuevo software que utiliza el procesamiento de imágenes de resonancia magnética combinando el análisis óptico con la arquitectura de redes neuronales artificiales, y permite determinar tanto el grado como la distribución de la fibrosis y la presencia de esteatohepatitis en pacientes con NAFLD. Las AUROC obtenidas con este procedimiento son 0,91 para la fibrosis y 0,89 para detectar esteatohepatitis utilizando el mismo protocolo de resonancia magnética (127).

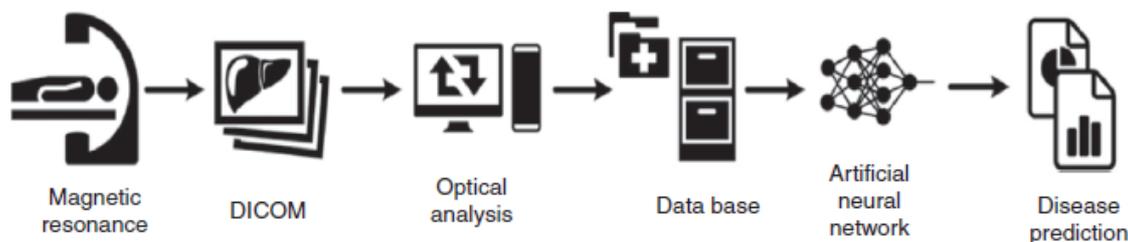


Figura 22. Diagrama de Detection of Metabolic Induced Liver Injury (DEMILI®) (127)

6.3.2. Métodos elastográficos. Los métodos elastográficos permiten cuantificar la rigidez de los tejidos, cuyo componente principal en el hígado es la fibrosis.

A) La elastografía de transición (ET, FibroScan®, Echosens, Francia): mide por ultrasonidos la velocidad de propagación de una onda mecánica expresada en kilo Pascales (kPa). A mayor velocidad de propagación, mayor rigidez del tejido. A nivel hepático, la velocidad de propagación del área explorada (1 cm de diámetro y 2-4 cm de longitud) se relaciona con el grado de fibrosis presente en el parénquima²⁸. En pacientes con HGNA/EHNA la ET tiene una aplicabilidad menor que en otras hepatopatías debido a la elevada prevalencia de obesidad en esta población: se han reportado fallos técnicos en el 10-16% de los sujetos, en gran parte debido a la atenuación de la onda elástica por parte de la grasa subcutánea en pacientes con un IMC > 30. Los resultados procedentes de los estudios con la sonda XL, que permite una mayor penetración de la onda, muestran una mejora del rendimiento diagnóstico y permitirá poder hacer la ET en estos enfermos. El rendimiento diagnóstico para diagnosticar fibrosis significativa (definida como fibrosis al menos perisinusoidal y portal/peripoportal) es inferior a la reportada en pacientes con hepatopatía por otras etiologías (AUROC: 0,84-0,88). En cambio, el rendimiento es bueno para diagnosticar fibrosis avanzada (AUROC: 0,91-0,93), y óptimo para diagnosticar cirrosis (AUROC: 0,95-0,99)⁷. Los valores de corte aceptados, según los resultados de varios estudios, en pacientes con HGNA son 7,0 kPa para fibrosis significativa; 8,7 kPa para fibrosis avanzada y 10,3 kPa para cirrosis. Los valores de corte para evaluar la fibrosis son inferiores a los de los enfermos con infección crónica del virus de la hepatitis C. Por estos motivos, hemos de recomendar prudencia ya que estos valores pueden variar considerablemente en diferentes poblaciones y se necesitan estudios de validación en nuestra población para ver cuáles serían los mejores valores.

B) Acoustic radiation force impulse imaging (ARFI). Este método de sonoelastografía se implementa en un equipo ecográfico tradicional (Siemens ACUSON S2000), y permite posicionar la zona de interés bajo control visual. Su aplicabilidad en pacientes obesos es superior a la de la ET; en los estudios disponibles hasta hoy su fiabilidad para diagnosticar fibrosis avanzada o cirrosis en pacientes con HGNA parece similar a la de la ET (AUROC: 0,90).

C) Elastografía por resonancia magnética. Es un nuevo método capaz de estudiar las propiedades elásticas en una región de interés del parénquima hepático. Por medio de una secuencia específica, esta técnica permite medir la propagación de las ondas mecánicas (vibraciones de baja frecuencia generadas externamente por un driver y transmitidas al paciente a través de una banda posicionada en la parte derecha del tórax), que se visualizan en forma de un elastograma cuantitativo (expresado en kPa). La fiabilidad de esta técnica para diagnosticar fibrosis hepática avanzada es superior al 85% y próxima al 100% para descartar la existencia de fibrosis. Además, la medición simultánea de rigidez hepática y esplénica se ha demostrado de utilidad para diagnosticar hipertensión portal. En un estudio llevado a cabo en 58 pacientes con HGNA, la rigidez hepática fue significativamente diferente en pacientes con HGNA, EHNA sin fibrosis y EHNA con fibrosis, y la técnica tuvo una óptima capacidad para discriminar entre HGNA y EHNA con fibrosis (AUROC = 0,93; mejor valor de corte: 2,74 kPa; sensibilidad 94% y especificidad 73%).

D) Controlled attenuation paramete (130). Es una nueva aplicación de la ET disponible en los aparatos de última generación, que permite estimar de forma inmediata y no invasiva la esteatosis; la medición es contemporánea a la de rigidez hepática y por tanto sufre de las mismas limitaciones. El CAP mide el grado de atenuación de la onda de ultrasonidos transmitida a través del hígado, que es proporcional a la cantidad de grasa hepática. Los datos publicados hasta la fecha indican que el CAP es capaz de diagnosticar esteatosis incluso en estadios leves (> 11%), y que puede discriminar entre esteatosis leve y grave, ya que tiene una buena correlación con el grado de esteatosis (128).

6.4. Diagnóstico histológico: Score NAS. Otros sistemas de clasificación no invasivos

A) Biopsia hepática: sigue siendo el método de elección para diagnosticar la EHGNA y el único capaz de distinguir entre el hígado graso simple y la EHNA. Además, permite clasificar la enfermedad de acuerdo al grado de actividad (grado de inflamación y de daño celular) y la intensidad de la fibrosis, lo que permitirá establecer el pronóstico. Para unificar criterios un grupo de expertos establecieron un índice de actividad (NAS score) que incluye la esteatosis (0-3), la inflamación lobular (0-3) y la degeneración hidrópica celular (0-2), de manera que un índice ≥ 5 permite el diagnóstico de certeza de EHNA, mientras que un índice ≤ 3 lo excluye (Tabla 7).

ITEM	PUNTUACIÓN	EXTENSION
ESTEATOSIS	0	< 5%
	1	5 – 33%
	2	> 33 – 66 %
	3	> 66%
BALONIZACIÓN (degeneración hidrópica)	0	Ninguna
	1	Pocas células
	2	Muchas células, balonización prominente
INFLAMACIÓN LOBULAR	0	Ningún foco
	1	< 2 focos/200x
	2	2-4 focos/200x
	3	> 4 focos/200x

Tabla 7. NAS-score

Dado que la fibrosis es la lesión que más condiciona el pronóstico, también se ha establecido una gradación en 4 estadios de fibrosis: 1 pericelular, 2 portal, 3 con puentes y 4 cirrosis.

La biopsia hepática tiene una serie de inconvenientes o limitaciones como son el error de muestreo, el tamaño de la biopsia, la variabilidad en la interpretación por parte del patólogo, el coste y, aunque baja, la morbilidad inherente a todo procedimiento invasivo (128).

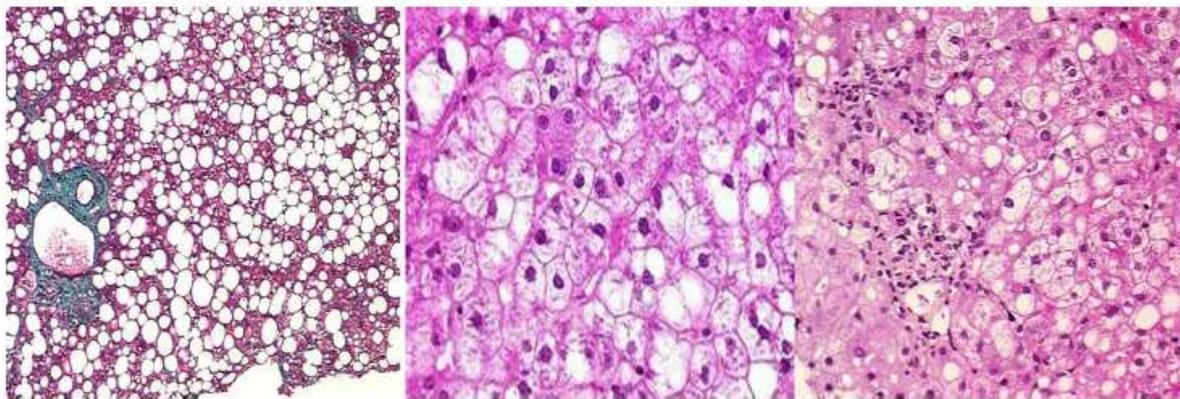


Figura 23. Hallazgos histopatológicos: acumulación de esteatosis en el hepatocito, inflamación lobulillar y degeneración balonzante (127).

B) Diagnóstico no invasivo:

a) Marcadores de EHGNA: La presencia de factores de riesgo coexistentes como diabetes, SM y obesidad con elevación de las transaminasas (sobre todo la ALT) aumenta las posibilidades de presentar HGNA como causa del aumento de la ALT. No obstante, aunque la ALT es un test útil no es válido para predecir la presencia de HGNA dado que puede cursar con ALT normal. La combinación de marcadores serológicos y alguna técnica de imagen mejoran el rendimiento diagnóstico.

b) Marcadores de EHNA: La diferenciación entre HGNA y EHNA tiene implicaciones pronósticas y no se pueden diferenciar mediante los signos clínicos y los síntomas, por lo que se han evaluado numerosos marcadores séricos para predecir la existencia de EHNA, como marcadores inflamatorios que incluyen la proteína C reactiva, interleukina 6, ácido hialurónico, TNF alfa, o marcadores de estrés oxidativo, como lipoproteína de baja densidad oxidizada, entre otros. Sin embargo, tanto unos como otros han sido evaluados en series cortas o estudios piloto y con resultados contradictorios por lo que, de momento, no son recomendables en la práctica clínica diaria (128).

Es bien conocido que la apoptosis desempeña un papel fundamental en la patogenia de la EHNA. Entre los diferentes marcadores de apoptosis, la citoqueratina 18 (CK-18) es uno de los biomarcadores más prometedores en la detección no invasiva de la EHNA. Los niveles plasmáticos de la CK-18 están significativamente aumentados en pacientes con EHNA en comparación con pacientes con HGNA. Estas observaciones se han

podido reproducir en otros estudios y en un reciente metaanálisis se ha observado que los niveles plasmáticos de CK-18 tienen una sensibilidad del 78%, una especificidad del 86% y una AUROC de 0,82 para identificar EHNA en pacientes con HGNA (131), lo que hace que la CK-18 sea el parámetro sencillo más consistente para diferenciar el HGNA de la EHNA. No obstante, este análisis no está disponible comercialmente. De hecho, la AASLD aún no lo recomienda en la práctica clínica diaria.

Recientemente un grupo español ha desarrollado un test no invasivo basado en la metabolómica que permite evaluar la progresión de la EHNA, el OWL Liver Test (132). Los autores estudiaron el perfil metabólico de 467 pacientes con biopsia hepática (90 normal, 246 con HGNA y 131 con EHNA), y observaron que el perfil metabólico dependía del IMC, evidenciando que el mecanismo patogénico del HGNA podía ser diferente según el nivel individual del grado de obesidad, y que permitía diferenciar entre EHNA y HGNA. Mediante un modelo multivariante pudieron separar a los pacientes con y sin EHNA con una buena especificidad y sensibilidad. El test ya está validado y comercializado y en estos momentos se encuentra en fase de difusión.

c) Marcadores de fibrosis avanzada: Aunque se han evaluado biomarcadores sencillos para predecir la presencia de fibrosis significativa y/o cirrosis como el ácido hialurónico o el colágeno S tipo iv, los 2 test más prometedores y estudiados son el Enhanced Liver Fibrosis (ELF Score) y el NAFLD Fibrosis Score (NFS).

El **ELF** Score se evaluó en más de 1.000 pacientes, incluyendo 61 con HGNA, combinando la edad y la determinación de los niveles de 3 proteínas del recambio de la matriz celular (ácido hialurónico, TIMP-1 y P3NP). El AUROC para fibrosis avanzada fue de 0,87, aumentando a 0,9 cuando el mismo sistema de puntuación, excluyendo la edad, se aplicó a 196 pacientes (133). La limitación de este estudio es la cohorte relativamente pequeña estudiada de pacientes con HGNA.

El **NFS** es el sistema de puntuación más estudiado. El índice incluye 6 variables fáciles de obtener (edad, IMC, glucemia, recuento de plaquetas, albúmina y la relación AST/ALT) y se calcula utilizando la fórmula publicada (<http://naflscore.com>). En el metaanálisis al que nos referimos más arriba (131), de 13 estudios incluyendo 3.064 pacientes, el NFS presentó una AUROC de 0,85 en la predicción de fibrosis avanzada (fibrosis en puentes o cirrosis), de modo que una puntuación $< -1,455$ tuvo una

sensibilidad del 90% y una especificidad del 60% para excluir fibrosis avanzada, mientras que una puntuación $> 0,676$ tuvo una sensibilidad del 67% y una especificidad del 97% para identificar la presencia de fibrosis avanzada. Más recientemente en otro estudio el NFS discriminó bien a los pacientes con HGNA según el grado de fibrosis (leve, moderada o grave) en la predicción de complicaciones relacionadas con la enfermedad hepática, así como con la probabilidad de trasplante o fallecimiento (134).

7. Tratamiento

7.1. Tratamiento dietético. Modificación del estilo de vida

Con respecto a la estrategia terapéutica en la esteatosis hepática, la primera aproximación debe ser la dieta. En un trabajo llevado a cabo por nuestro grupo, mostramos cómo la disminución de un 5% de peso de los pacientes con esteatosis hepática mejora claramente los niveles de transaminasas. Además de la reducción de los niveles de GOT y GPT, también se registró un claro descenso en la insulinoresistencia, que como hemos visto, está relacionada con las alteraciones metabólicas que presentan estos pacientes.

Consiste en una pérdida progresiva mediante una dieta equilibrada con el objetivo de perder un 10% del peso corporal en los primeros 6 meses a un ritmo de 0,5-1 kg por semana. Una pérdida de peso excesivamente rápida mediante una dieta muy estricta es contraproducente, ya que se produce una movilización de los ácidos grasos libres del tejido adiposo al hígado, el cual también se ve privado de proteínas y otros nutrientes esenciales, provocando un aumento de la esteatosis y empeoramiento de las lesiones (128).

En estudios en humanos se ha demostrado que la dieta de los pacientes con esteatosis hepática es rica en grasa y colesterol, así como pobre en ácidos grasos poliinsaturados, fibra, vitamina E y vitamina C (124). En algunos trabajos de intervención se ha demostrado cómo en mujeres obesas la disminución de la grasa produce una disminución del contenido de grasa del hígado. Esto se ha demostrado con disminuciones del porcentaje de grasas en la dieta del 36% al 16% y además se ha probado que la grasa

hepática aumentaba al instaurar de nuevo una dieta rica en grasas (56%) (135). Otro trabajo ha demostrado cómo una intervención durante un año basada en consejo dietético conseguía disminuir la resistencia a la insulina y mejorar la histología hepática de la esteatohepatitis con tan sólo un promedio de pérdida de peso de 2.9 kg (136). La crítica que reciben todos estos estudios es la falta de un diseño aleatorizado.

Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), tipo n3PUFA y los ácidos grasos monoinsaturados (aceite de oliva, pescado azul, frutos secos, verduras entre otros) tienen un papel protector importante para la prevención y tratamiento de la EHNA y, por tanto, los suplementos de n3PUFA en la dieta tienen un efecto protector en el HGNA, aunque su dosis óptima no se conoce. Por el contrario, los n6PUFA (aceite de girasol, algunas semillas, algunos frutos secos, especialmente las nueces) se relacionan con HGNA, de manera que una relación n6PUFA/n3PUFA aumentada podría estar implicada en promover la necroinflamación en estos pacientes.

Un consumo excesivo de proteínas, especialmente procedentes de la carne, se ha relacionado con el HGNA y elevación de la ALT, y un consumo excesivo de hidratos de carbono, superior al 54% del aporte calórico de la dieta, se ha evidenciado que aumenta el riesgo de EHNA. En este sentido, un reciente estudio ha mostrado cómo la dieta mediterránea, constituida en un 40% de ácidos grasos monoinsaturados y un 40% de hidratos de carbono, ha supuesto un descenso importante de la grasa intrahepática en comparación con una dieta pobre en grasas y rica en hidratos de carbono. Si bien no parece que la pérdida de peso sea más significativa, el descenso de la grasa intrahepática mejora el riesgo no solo de enfermedad hepática sino también del riesgo cardiovascular asociado en estos enfermos.

Habitualmente los pacientes con sobrepeso y obesidad suelen consumir productos aditivos tales como azúcar, fructosa, bebidas light que provocan un aumento de los triglicéridos, pueden inducir RI, aumento de la permeabilidad intestinal favoreciendo la endotoxemia y, por tanto, provocar inflamación y empeoramiento de la esteatosis, siendo por tanto una buena medida desaconsejar su consumo.

En general se recomienda abstinencia de alcohol si bien algunos estudios sugieren que un consumo muy moderado de vino, menos de un vaso al día, podría tener un efecto protector, ya que parece mejorar la RI y los factores relacionados con el SM (128).

La realización de ejercicio sin pérdida de peso también ha demostrado mejorar el perfil hepático, en relación con la disminución de la resistencia a la insulina (137). Parecería razonable recomendar la práctica de un ejercicio aeróbico, es decir, caminar o correr durante un periodo de tiempo entre 30-45 min al menos 4 días por semana. Para ello debemos de insistir, sobre todo, en el abandono del sedentarismo y convencer al paciente de los beneficios sobre la salud de aumentar la actividad física aunque sea discreta (128).

7.2. Tratamiento farmacológico

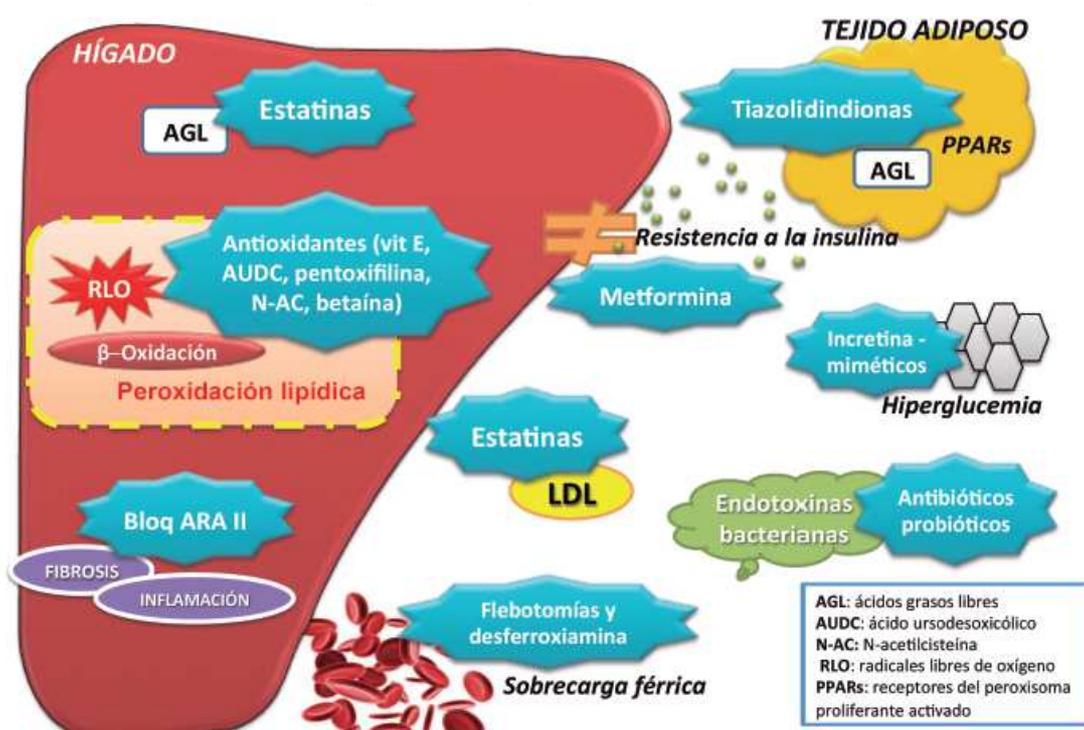


Figura 24. Mecanismos de acción del tratamiento farmacológico de la EHNA (9).

Obesidad: Hay pocos estudios con orlistat y sus resultados no demuestran un beneficio evidente. La colocación de un balón intragástrico también provoca una mejoría, si bien suele ser transitoria en la mayoría de los casos. En otro apartado comentaremos el papel de la cirugía bariátrica.

Dislipidemia: Las estatinas son medicamentos seguros para pacientes con enfermedades hepáticas, incluyendo el hígado graso ya sea con esteatosis o esteatohepatitis. Aunque las estatinas pueden provocar elevaciones en las enzimas hepáticas, en muy pocas ocasiones son causa de toxicidad hepática. En cambio, son muy eficaces en el tratamiento de la dislipidemia y, por tanto, su uso está indicado en pacientes dislipidémicos con hígado graso. No hay estudios que demuestren su eficacia en el HGNA sin dislipidemia asociada. Las mismas consideraciones se pueden aplicar a los fibratos para pacientes con hipertrigliceridemia aislada.

Diabetes mellitus tipo 2 y resistencia a la insulina: La frontera entre la RI y la aparición de DM-2 es tenue. En pacientes con hígado graso y con glucemias basales por encima de la normalidad sin mejoría con dieta, hay que establecer con precisión el diagnóstico de diabetes e iniciar tratamiento con hipoglucemiantes. No obstante, la evolución de la enfermedad hepática dependerá sobre todo del control adecuado de la glucemia independientemente del tratamiento que se utilice. Los fármacos más estudiados son la metformina y las glitazonas (tiazolidindionas). No hay evidencia suficiente para tratar la RI sin diabetes.

La metformina puede mejorar la alteración de las enzimas hepáticas pero no tiene eficacia sobre las lesiones histológicas, por lo que debería restringirse a pacientes con DM-2 y por esta indicación. Las glitazonas son antidiabéticos que actúan incrementando la sensibilidad a la insulina y en pacientes con hígado graso sin DM-2 mejoran los niveles de transaminasas, la esteatosis y la esteatohepatitis, pero no tienen efecto sobre la fibrosis.

La pioglitazona ha sido recomendada por la AASLD (American Association for the Study of Liver Diseases) (8) para pacientes con EHNA sin DM-2 ni ninguna otra enfermedad hepática concomitante. Sin embargo, esta recomendación debería ser matizada ya que no tiene en cuenta la duración de tratamiento, que debería ser indefinida, ni que la evidencia no se basa en estudios con gran número de pacientes. Por otra parte, hay que considerar que en la mayoría de los estudios en pacientes con hígado graso sin DM-2, la pioglitazona se asocia a un incremento de peso considerable en los pacientes tratados. La rosiglitazona se estudió con resultados similares a los de la pioglitazona pero en el 2010 se retiró del mercado por su riesgo cardiovascular.

Estrés oxidativo, inflamación y fibrosis: La pentoxifilina es un fármaco con efecto anti-TNF y es uno de los pocos tratamientos específicos para la hepatitis alcohólica grave. Por este motivo, se ha ensayado en pacientes con HGNA. La administración de pentoxifilina se asocia a una mejoría de los niveles de las enzimas hepáticas y también de las alteraciones histológicas inflamatorias. Recientemente se han publicado los resultados de un estudio en fase 2 en donde se demuestra que la pentoxifilina mejora la esteatosis y la degeneración hidrópica celular; sin embargo, los cambios globales en relación con los parámetros bioquímicos y hallazgos histológicos no fueron significativos con relación al grupo control. Tampoco se conoce cuál es el mecanismo de acción en estos pacientes porque su administración no se asocia a una disminución de los niveles de IL-6 ni de TNF alfa. Se necesitan estudios con un número amplio de pacientes para determinar su verdadera utilidad.

La vitamina E administrada a dosis de 800 mg/día durante 96 semanas se asocia a mejora de las enzimas hepáticas, de la esteatosis e inflamación en pacientes con HGNA con EHNA, pero no mejora la fibrosis. Estos resultados están en consonancia con los hallazgos de otros estudios previos, aunque no tan extensos.

La AASLD recomienda este tratamiento en pacientes con EHNA, sin diabetes y con ausencia de enfermedad hepática avanzada. No debe administrarse en personas que tomen anticoagulantes, estrógenos o con algún riesgo de trombosis. Tampoco se conocen bien los riesgos y beneficios de la administración prolongada de vitamina E. Por tanto, su indicación debería ser en pacientes con EHNA confirmada por biopsia, con control estricto por la posibilidad de efectos adversos y retirándola si aparece cualquier otra enfermedad. Por otro lado, no se debe de prolongar su administración si en una biopsia de seguimiento (12-18 meses) no hay mejoría clara de los parámetros histológicos (128).

Se ha visto que los probióticos (microorganismos vivos) pueden mejorar los parámetros de histolisis hepática y la histología en los pacientes con EHGNA. Un trabajo de nuestro grupo (ensayo clínico aleatorizado doble ciego) evaluó los efectos de *Lactobacillus bulgarius* y *Streptococcus thermophilus* (un comprimido cada día) en 28 pacientes en un período de 3 meses. Los resultados fueron que los niveles de GOT, GPT y GGT descendieron (138).

Tanto los prebióticos como los probióticos parece que pueden ser útiles en pacientes con EHGNA, sin embargo se necesitan ensayos clínicos longitudinales a largo plazo para poder determinar la dosis óptima y su composición (139).

El ácido ursodeoxicólico, ya sea considerado como hepatoprotector o antioxidante, no ha demostrado eficacia sobre parámetros histológicos en estudios suficientemente bien diseñados en pacientes con HGNA. En la actualidad no debe considerarse útil para el tratamiento de esta enfermedad (8).

El papel concreto de los incretín-miméticos, agonistas de GLP-1, está por ver. Varios agentes están en estudio, y parece que podrían reducir la esteatosis hepática (140).

Se ha probado el uso de losartán y del telmisartán por la implicación del sistema renina-angiotensina en el desarrollo de la fibrosis hepática que se asocia a la EHNA. Aunque se han tratado pocos enfermos parece que su administración mejora la fibrosis y su indicación estaría recomendada en pacientes con HGNA e hipertensión arterial (128).

Por último, varios agentes con diferentes mecanismos de acción están siendo evaluados en ensayos clínicos, y que otros, ya conocidos como “protectores hepáticos”, se están utilizando en la práctica clínica, como la combinación de silimarina y vitamina E. También existen varias medicaciones recientemente aprobadas por la FDA (Food and Drug Administration) para la pérdida de peso, que pueden ser prometedoras para el manejo de pacientes con EHGNA (140).

7.3. Tratamiento quirúrgico de la obesidad

Es frecuente la existencia de EHGNA en personas con obesidad mórbida; de hecho, la prevalencia de EHGNA en esta población se encuentran entre el 75-100%. La cirugía bariátrica induce una pérdida de peso mediante la reducción del tamaño del estómago, bien reseca una parte del estómago, utilizando una banda gástrica o realizando un bypass gástrico. Se consideran candidatos a estos procedimientos los sujetos con un IMC superior a 40 Kg /m² o con un IMC de 35 que presentan comorbilidades asociadas a la obesidad.

Tanto estudios prospectivos como retrospectivos, han asociado la cirugía bariátrica con una mejoría de la resistencia a la insulina, esteatosis e inflamación. Moschen y col., encontraron en un estudio prospectivo que la pérdida de peso tras la cirugía bariátrica mejoraba la resistencia a la insulina, los test de función hepática y la histología en 18 pacientes con EHGNA. De forma similar, el estudio prospectivo de Furuya y col., asoció significativamente la pérdida de peso durante los 2 años siguientes a la cirugía bariátrica con una mejoría en la esteatosis y la fibrosis en 18 pacientes con EHGNA.

Sin embargo, una reciente revisión de la Cochrane concluyó que existen datos insuficientes para concluir que la cirugía bariátrica sea un tratamiento efectivo para la EHGNA, debido a la falta de estudios bien diseñados, controlados y aleatorizados (139).

Las recomendaciones de la última Guía de práctica clínica sobre la EHGNA establecen que sería prematuro considerar la cirugía bariátrica como una opción de tratamiento específica para la EHGNA (8).

7.4. Trasplante hepático

El manejo de los pacientes con cirrosis debida a EHGNA es similar al de los pacientes cuya etiología es diferente, incluyendo el manejo de la hipertensión portal, cribado de hepatocarcinoma, y evaluación para trasplante hepático en pacientes con cirrosis descompensada.

Los pacientes que desarrollan una cirrosis y presentan complicaciones (por ejemplo, ascitis, sangrado por varices esofágicas) o tienen un MELD (model for end liver disease) score mayor o igual a 10, deben ser derivados a un centro para valoración de trasplante hepático.

2. OBJETIVOS

OBJETIVOS

1. DESCRIBIR LAS VARIABLES ANALÍTICAS Y SU RELACION CON LA PRESENCIA DE ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHÓLICA (EHNA) Y DE FIBROSIS HEPÁTICA DE UNA MUESTRA DE PACIENTES CON HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO (HGNA)
2. DESCRIBIR LOS VALORES ANTROPOMÉTRICOS EN UNA MUESTRA DE PACIENTES CON HGNA Y SU RELACIÓN CON LA PRESENCIA DE FIBROSIS HEPÁTICA
3. DESCRIBIR LA INGESTA DIETÉTICA Y SU DESVIACIÓN DE LAS RECOMENDACIONES INTERNACIONALES EN UNA MUESTRA DE PACIENTES CON HGNA CON Y SIN FIBROSIS HEPÁTICA
4. RELACIONAR LOS DATOS ANALÍTICOS, LOS VALORES ANTROPOMÉTRICOS Y LA INGESTA DIETÉTICA CON LA SEVERIDAD DE LA FIBROSIS HEPÁTICA
5. ANALIZAR SI EL SCORE NO INVASIVO DE FIBROSIS HEPÁTICA “NAFLD-FS” SE ASOCIA CON LA PRESENCIA Y SEVERIDAD DE LA FIBROSIS HEPÁTICA DETERMINADA MEDIANTE BIOPSIA

3. JUSTIFICACIÓN DE LA TESIS

3. JUSTIFICACIÓN de la tesis

La Enfermedad por hígado graso no alcohólico (EHGNA) es la causa más frecuente de hepatopatía crónica en nuestro medio con una prevalencia del 20 al 30% y va en aumento en relación con el incremento de la obesidad, diabetes mellitus tipo 2 y dislipemia.

Aunque en general la EHGNA como esteatosis hepática sigue un curso benigno, un subgrupo de estos pacientes puede presentar una esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) que se caracteriza por la presencia de inflamación lobular con o sin fibrosis que puede evolucionar a cirrosis hepática incluso a hepatocarcinoma.

Es primordial identificar a los pacientes que desarrollan grados iniciales de fibrosis así como factores asociados a la misma con el objetivo de actuar sobre esos factores estableciendo estrategias de prevención antes de que avancen a estadios más severos de la enfermedad (fibrosis avanzada o cirrosis).

Por ello, nos planteamos realizar un estudio que evalúe tanto los factores analíticos como antropométricos o ligados a la ingesta dietética que nos permitan identificar a estos pacientes.

Dado que en la actualidad el "gold estándar" para el diagnóstico de la EHGNA sigue siendo la biopsia hepática, que es un método invasivo y no exento de riesgos, nos planteamos valorar la precisión diagnóstica de un índice (NAFLD-FS score) en nuestra muestra de pacientes con EHGNA del área Este de Valladolid, con el objeto de poder identificar de forma no invasiva y sencilla con parámetros empleados en la práctica médica habitual, a los pacientes con fibrosis ahorrando los costes y morbilidad asociado a una técnica invasiva como es la biopsia hepática.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Diseño del estudio

Considerando los objetivos señalados previamente, se eligió un diseño de estudio observacional, transversal y descriptivo durante un período de 2004 a 2014.

2. Ámbito de realización

El estudio ha sido realizado entre los pacientes diagnosticados de Enfermedad por hígado graso no alcohólica (EHGNA) del Área de Salud Este de Valladolid, atendidos en el Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Clínico Universitario valorados en Consulta Externa, y remitidos a la misma desde Atención Primaria, Medicina Interna u otros Servicios.

3. Población de estudio

La población accesible ha estado formada por pacientes entre 19 y 80 años que acuden a la Consulta de A. Digestivo del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, derivados a la misma por presentar elevación de transaminasas no filiada y/o con un diagnóstico ecográfico de esteatosis hepática.

3.1. Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión:

Todos los pacientes con **biopsia** hepática diagnóstica de EGHNA, con una edad comprendida entre 19 y 80 años (muestreo no probabilístico consecutivo), que acuden a la Consulta del Servicio de Digestivo del Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

Criterios de exclusión:

En todos los pacientes se deben descartar las siguientes situaciones:

1. **Más de dos** bebidas alcohólicas al día (>20 g alcohol/día).
2. Positividad al antígeno de superficie del **virus de la hepatitis B**.

3. Positividad al anticuerpo de la **hepatitis C**.
4. Saturación elevada de **transferrina** (>45% en varones y >40% en mujeres).
Ferritina> 1000 ng/ml.
5. Diagnóstico de **diabetes mellitus** (glucemia basal en ayunas >126 mg/dl, glucemia al azar > 200 mg/dl ó test de sobrecarga oral de glucosa con determinación a las dos horas > a 200 mg/dl), **en tratamiento con fármacos**.
6. Positividad de **autoanticuerpos**.
7. Déficit de **Alfa1 Antitripsina**.
8. Déficit de **ceruloplasmina**.
9. Enfermedad **tiroidea**.

4. Variables estudiadas

Características generales	Antropometría	Impedanciometría	Encuesta nutricional	Bioquímica	Adipokinas
Edad		Resistencia			
Sexo	Peso, talla e IMC	Reactancia		Glucosa	Il-6
Patologías	Cintura, cadera e ICC	Ángulo de fase	Energía total	Insulina	Adiponectina
Tratamiento farmacológico habitual	Pliegue tricípital	Agua intracelular, extracelular y corporal total	Macronutrientes	Albúmina	Leptina
TAS y TAD	Circunferencia braquial	Masa magra y masa grasa total	Micronutrientes	Plaquetas	Resistina
Ejercicio		Gasto metabólico basal		Perfil hepático	Visfatina
Hábitos (alcohol, drogas)		Calorimetría		Lipidemia	TNF-alfa

Tabla 8. Resumen de variables analizadas en este estudio. TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; IMC: índice de masa corporal; ICC: índice cintura-cadera. Los macronutrientes analizados fueron proteínas (con su desglose en aminoácidos), hidratos de carbono, lípidos (con desglose en ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico y colesterol), y fibra.

Los micronutrientes analizados fueron:

- minerales: fósforo, magnesio, calcio, hierro, zinc, sodio, potasio, yodo, selenio, cobre y flúor
- vitaminas: A, complejo B (B1, B2, B3, B6, B9 y B12), C, D y E.

4.1. Variables epidemiológicas

Se registró la edad y sexo de cada paciente.

También se recogieron datos sobre los hábitos tóxicos de los pacientes como la adicción a drogas (ex-adicción a drogas por vía parenteral –ADVP-) y el consumo de alcohol (si la ingesta enólica superaba los 30 g / día en varones y los 20 g / día en mujeres, se excluían del estudio).

Se registró igualmente si el paciente realizaba algún tipo de actividad física de manera regular.

4.2. Evaluación clínica

A cada uno de los pacientes incluidos en el estudio se le realizó una exploración física para determinar el valor de su tensión arterial, así como las posibles patologías asociadas y se les preguntó si seguían un tratamiento farmacológico de manera habitual, y sus hábitos de vida, excluyendo del estudio aquellos pacientes tratados con fármacos potencialmente esteatogénicos y/o hepatotóxicos.

4.3. Evaluación antropométrica

Se realizó una valoración antropométrica de todos los pacientes determinando el peso, la talla, y el índice de masa corporal (IMC); el perímetro de la cintura, el perímetro de la cadera y el índice cintura-cadera (ICC); el pliegue tricípital y la circunferencia del brazo.

Peso, talla e IMC

El peso se midió sin ropa con una precisión de $\pm 0,5$ kg, empleando una báscula manual hasta el 0,1 kg más cercano. La altura se midió con el paciente en posición erguida hasta el centímetro más cercano, empleando un estadómetro. Se calculó el IMC mediante la fórmula:

$$\text{IMC} = \frac{\text{peso (kg)}}{\text{talla}^2 \text{ (m}^2\text{)}}$$

Cintura, cadera e ICC

El perímetro de la cintura se determinó con el sujeto en bipedestación, sin ropa y relajado. Se localizó el borde superior de las crestas ilíacas y, por encima de ese punto, se rodeó la cintura del individuo con una cinta métrica. La lectura se realizó al final de una espiración normal. Se midió en centímetros. El perímetro de la cadera se determinó de la misma manera, pero eligiendo como puntos anatómicos ambos trocánteres. El índice cintura- cadera se determinó con la siguiente fórmula:

$$\text{Índice cintura-cadera: } \frac{\text{Cintura (cm)}}{\text{Cadera (cm)}}$$

La relación cintura-cadera es un método utilizado para describir la distribución, tanto subcutánea como intraabdominal, del tejido adiposo. Resulta de dividir el perímetro de la cintura por el perímetro de la cadera (todo en centímetros).

Pliegue tricípital y circunferencia braquial

El pliegue tricípital y la circunferencia braquial, fueron medidos por antropometristas experimentados, siguiendo las recomendaciones habituales, y las normas estándar de la Sociedad Internacional para el Avance de la Kinantropometría, empleando para su análisis las tablas de referencias de Frisancho y Alastrué (141-143).

El pliegue tricípital se mide en el punto medio entre el borde inferior del acromion y el olécranon, en la cara posterior del brazo. El pliegue es vertical y corre paralelamente al eje longitudinal del brazo (144). Para medir dicho pliegue tricípital se mantuvo al paciente en bipedestación y con el brazo colgando libremente. No existe acuerdo acerca de qué lado debe medirse. Se aconseja tener en cuenta el lado empleado en las tablas de referencia a utilizar. En este caso, en las tablas de Frisancho se utilizó el lado derecho (144).

A continuación, se localizó en la cara posterior el punto medio entre el acromion y el olécranon, por encima del tríceps. Se pellizcó suavemente la piel y el tejido celular subcutáneo en este punto y se aplicó un calibrador (lipocalibre) regulado a presión (10 g/mm²) durante 3 segundos (Langer, Cambridge Scientific Industries). La medición se realizó tres veces y se tomó la media de éstas expresada en milímetros.

También se determinó la circunferencia braquial, empleando una cinta métrica calibrada en milímetros hasta el milímetro más cercano, en el mismo lugar del brazo donde se realizó la medición del pliegue tricípital. Es decir, con el brazo flexionado 90° con respecto al antebrazo, se localiza la mitad de la distancia entre el acromion y el olécranon, se marca y se pasa la cinta alrededor del brazo (relajado), sobre la marca de referencia en un plano perpendicular al eje del mismo (144). La medición se realizó tres veces y se tomó la media.

En la siguiente tabla se resumen las variables analizadas en este apartado (tabla 9):

Tipo de variable	Unidad	Forma de medición
Sexo	♀ - ♂	-----
Edad	Años	-----
Talla	cm	Estadiómetro
Peso	kg	Báscula manual
IMC	kg/m ²	peso/talla ²
PT	mm	Plicómetro tipo Langer
Circunferencia brazo	cm	Cinta métrica
Cintura y cadera	cm	

Tabla 9. Resumen de las variables antropométricas analizadas. ♀: mujer; ♂: hombre; IMC: índice de masa corporal; PT: pliegue tricípital; kg: kilogramos; cm: centímetros; mm: milímetros

4.4. Evaluación por impedancia bioeléctrica

En todos los sujetos del estudio se realizó un análisis de impedancia bioeléctrica (AIB) para estimar la biorresistencia, la reactancia y el ángulo de fase α ; la calorimetría, el gasto metabólico total, la cantidad de agua corporal intracelular, extracelular y total, la masa magra o masa libre de grasa y la masa grasa total.

El fundamento del AIB se basa en el principio de la impedancia (Z), mediante la cual se estudia la respuesta de un cilindro lleno de líquido al paso de la corriente eléctrica. Las cargas iónicas de los iones presentes en el fluido se oponen al paso de la corriente, y esto se conoce como resistencia (R). La resistencia medida a través de un cilindro se relaciona directamente con la longitud del mismo (L) e inversamente a su diámetro. El cuerpo humano se puede conceptualizar como un cilindro cuya longitud es la altura y su diámetro, constante. De esta forma, la resistencia medida a través del cuerpo corregida para la altura refleja el volumen corporal (AT).

La relación entre la impedancia y la resistencia se expresa por la ecuación:

$$Z = R^2 + X_c^2$$

donde X_c es la reactancia que constituye la capacitancia de las membranas, también expresada en Ohms.

La tangente entre resistencia y reactancia se conoce como **ángulo de fase**. Así pues, conocidas la altura, peso, edad sexo, resistencia y reactancia y ángulo de fase, nos permite determinar el agua total, el agua extracelular, al agua intracelular, masa celular, músculo y grasa (145).

El AIB se realizó en todos los sujetos después de un ayuno de al menos 5 horas, según las instrucciones del fabricante. Dado que puede verse influenciado por el grado de hidratación, se advirtió a los sujetos que no podían realizar ejercicio físico o beber alcohol en las 48 horas previas a la realización de la prueba (146). Se produjo una corriente eléctrica de 0,8 mA y 50 kHz por un generador de señal calibrada (Biodynamics Model

310e, Biodynamics Corp., Seattle, Wa, EEUU) y se aplicó sobre la piel de las extremidades derechas, empleando unos electrodos adhesivos.

Mediante el aparato de bioimpedancia se obtuvieron la reactancia y la resistencia, que se emplearon para calcular el agua corporal total. La masa libre de grasa se obtuvo a partir del agua corporal total al asumir una hidratación constante de 0,732 (147) y la grasa corporal se calculó como el peso corporal total menos la masa libre de grasa (147, 148).

Se propone un cálculo del **ángulo de fase α** a partir de la siguiente fórmula (149-151):

$$\alpha = (X_c \times 180^\circ) / (R \times \pi)$$

El ángulo de fase se calculó mediante la fórmula propuesta por Barbosa y col. (152):

$$\text{Ángulo de fase} = \text{arc-tangent reactancia/resistencia} \times 180^\circ / \pi$$

Algunos autores utilizan una ecuación simplificada:

$$\alpha = \text{reactancia} / \text{resistencia, convertido en grados}$$

Aunque esto no es estrictamente correcto, la ecuación simplificada da resultados similares, porque los valores de la razón entre reactancia y resistencia son muy bajos. En esta situación, al calcular el arco tangente se obtienen resultados similares. Esto no ocurriría si los valores fueran mayores.

En la siguiente tabla se muestran los valores de referencia obtenidos por Barbosa y col. (152):

Grupo de edad	Ángulo de fase ¹		p ²
	Hombres	Mujeres	
18-20	7,90 ±0,47 (6.97, 8.75)	7,04 ±0,85 (5.90, 8.91)	<0,001
20-29	8,02 ±0,75 (6.83, 9.17)	6,98 ±0,92 (5.64, 8.55)	<0,001
30-39	8,01 ±0,85 (6.64, 9.48)	6,87 ±0,84 (5.57, 8.36)	<0,001
40-49	7,76 ±0,85 (6.53, 9.00)	6,91 ±0,85 (5.57, 8.33)	<0,001
50-59	7,31 ±0,89 (6.12, 8.68)	6,55 ±0,87 (5.48, 7.96)	<0,001
60-69	6,96 ±1,10 (5.40, 8.88)	5,97 ±0,83 (4.69, 7.48)	<0,001
≥70	6,19 ±0,97 (4.77, 8.01)	5,64 ±1,02 (4.22, 7.04)	<0,001

Tabla 10: ángulo de fase según grupos de edad y sexo (152)

¹: todos los valores son media ± DE, en paréntesis se muestran los percentiles 5 y 95. ²: prueba t.

Los parámetros analizados en el AIB se recogen en la siguiente tabla:

Nombre variable	Unidad	Forma de medición
Resistencia	Ohms	AIB Biodynamics Model 310e
Reactancia	Ohms	
Ángulo de fase α	º	
Agua corporal total	L	
Agua extracelular	L	
Agua intracelular	L	
Masa magra o libre de grasa	Kg	
Masa grasa	Kg	
Gasto metabólico basal	kcal/día	
Calorimetría	kcal/día	

Tabla 11. Resumen de las variables analizadas por AIB. º: grados; L: litros; kg: kilogramos; kcal: kilocalorías.

4.5. Evaluación bioquímica

Se realizó un estudio de los siguientes parámetros bioquímicos en todos los pacientes:

*glucosa, albúmina y plaquetas.

*parámetros de perfil lipídico: LDL-colesterol, HDL-colesterol, colesterol total y triglicéridos;

*perfil hepático: bilirrubina total, GOT, GPT y GGT;

*proteínas reactivas: proteína C reactiva (PCR) y fosfatasa alcalina;

*ferritina;

*hormonas: insulina;

Se extrajo una muestra de sangre de cada uno de los sujetos de estudio en ayunas y condiciones basales, y se realizaron las determinaciones en el laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Clínico Universitario en los analizadores Hitachi 917 (Roche Diagnostics®, Switzerland) (parámetros bioquímicos) e Image (Beckman Coulter Inc.®, USA) (proteínas séricas).

Los valores de referencia informados por el laboratorio de Análisis Clínicos fueron mostrados en la siguiente tabla:

Parámetro	Valores de referencia	Parámetro	Valores de referencia
Glucosa	75 – 110 mg/dL	Albúmina	3.5-5 g/dL
LDL-colesterol	130 – 160 mg/dL	HDL-colesterol	35 – 70 mg/dL
Colesterol total	110 – 240 mg/dL	Triglicéridos	50 – 170 mg/dL
Bilirrubina	0,3 – 1,4 mg/dL	GOT	1 – 37 UI/L
GPT	1 - 40 UI/L	GGT	1 – 50 UI/L
Insulina	2 – 30 µU/mL	Fosfatasa alcalina	98 – 279 UI/L
Plaquetas	150 – 400 x 10 ³ / µl	Ferritina	15-150 ng/ml
		Hierro	50-150 µg/dL

Tabla 12. Resumen de los valores de referencia de las diferentes variables analizadas en laboratorio. PCR: proteína C reactiva; g: gramos; mg: miligramos; µg: microgramos; UI: unidades internacionales.

Los parámetros glucemia, colesterol, triglicéridos y HDL- colesterol, se analizaron con un Autoanalizador Hitachi 917 (Roche Diagnostics®). El LDL- colesterol se analizó con la Fórmula de Friedewald, y la insulina, con el Architect i2000 (Abbott Laboratorios®).

La determinación de LDL- colesterol no suele hacerse de manera directa, se calcula mediante la fórmula de Friedewald (siempre que los triglicéridos no superen los 400 mg/dL - 4.45 mmol/L):

$$\text{LDL- colesterol} = \text{colesterol total} - \text{HDL- colesterol} - \frac{\text{triglicéridos}}{5} \text{ (en mg/L) o } \frac{\text{triglicéridos}}{2.1} \text{ (en mmol/L)}$$

4.6. Adipokinas. Determinación mediante ELISA de proteínas relacionadas con el tejido adiposo

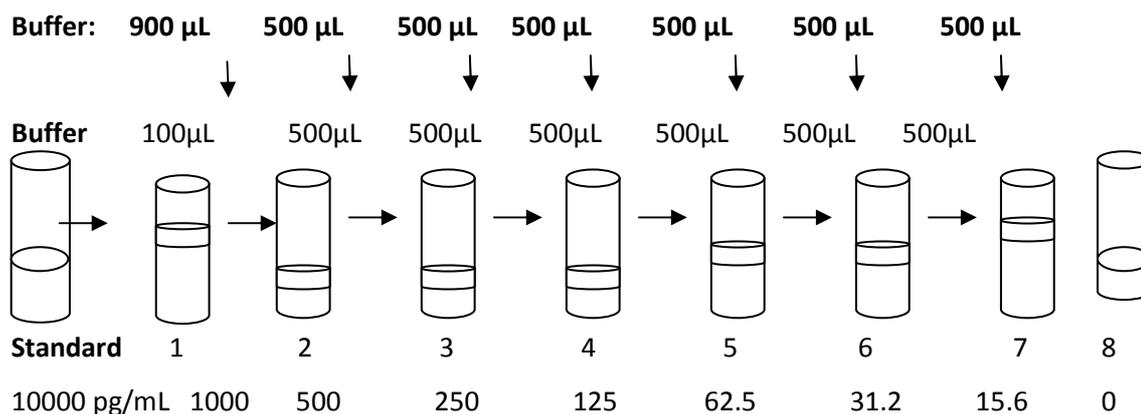
4.6.1. TNF- α (R&D SYSTEMS®)

Preparación de reactivos: acondicionar a temperatura ambiente antes de su uso.

Calibración:

Reconstituir TNF- α Standard con 1.0 mL de agua destilada o desionizada para obtener una concentración de 10,000 pg/mL. Mezclar y mantener a temperatura ambiente 15 minutos antes de su uso.

Pipetear 900 μ L de Calibrador Diluent en el primer tubo de la serie de calibradores y 500 μ L al resto de los tubos. Añadir 100 μ L de TNF- α Standard en el primer tubo, mezclar y trasvasar 500 μ L al siguiente, realizar pases sucesivos hasta llegar al séptimo tubo. Como standard concentración 0 puede utilizarse el mismo Calibrador Diluent.



Procedimiento:

1. 50 µL Assay Diluent RD1F
 2. 200 µL Standard, control o muestra.
 3. Tapar e incubar 2 horas a temperatura ambiente
 4. Lavar 4 veces. Retirar sobre papel secante el exceso de líquido de los pocillos.
 5. Wash Buffer: 20 mL + 480 mL agua destilada (500 mL). Si se observa la presencia de cristales en el concentrado, mantener a temperatura ambiente y mezclar bien hasta su completa disolución. La solución refrigerada es estable un mes.
 6. 200 µL de TNF- α Conjugate
 7. Tapar e incubar 2 horas a temperatura ambiente.
- Preparar 15 min. antes de completar el tiempo Substrate Solution: 10 mL Color Reagents A + B (10 mL+ 10 mL= 20 mL). El volumen requerido para los 96 pocillos es de 19,2 mL.
8. Lavar 4 veces. Retirar sobre papel secante el exceso de líquido de los pocillos.
 9. 200 µL Substrate Solution, proteger de la luz.
 10. Incubar 20 minutos a temperatura ambiente
 11. 50 µL Stop Solution
 12. Lectura a 450 nm (color amarillo uniforme). No sobrepasar los 30 minutos.

Cálculo de los resultados:

Crear una curva standard logistica de 4 parámetros (4-PL).

Si las muestras han sido diluidas, multiplicar por el factor de dilución.

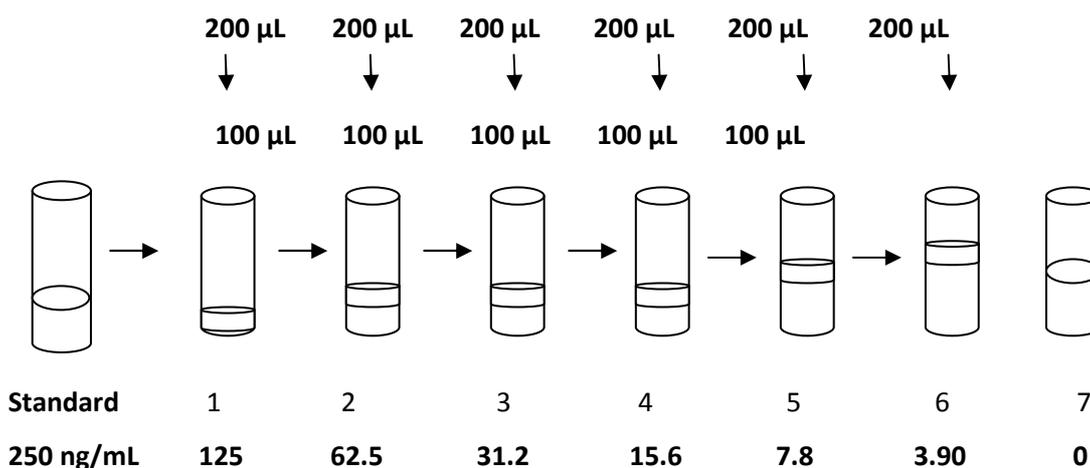
4.6.2. ADIPONECTINA (R&D SYSTEMS®)

Preparación de reactivos: acondicionar a temperatura ambiente antes de su uso.

Calibración:

Reconstituir Adiponectin Standard con 2.0 mL de agua destilada para obtener una concentración de 250 ng/mL. Mezclar y mantener a temperatura ambiente 15 minutos antes de su uso.

Pipetear 200 μ L de Calibrador Diluent RD5-5 en cada uno de los tubos. Añadir 200 μ L del standard reconstituido en el primer tubo de la serie de calibradores, mezclar y trasvasar 200 μ L al siguiente, realizar pases sucesivos hasta llegar al séptimo tubo. Como standard concentración 0 puede utilizarse el mismo Calibrador Diluent.



Procedimiento:

1. 100 μ L Assay Diluent RD1W
2. 50 μ L Standard, control o muestra.

Las muestras requieren dilución al 1/100: 1 μ L muestra + 99 μ L Calibrador Diluent RD6-39

3. Tapar e incubar 2 horas a temperatura ambiente
4. Lavar 4 veces. Retirar sobre papel secante el exceso de líquido de los pocillos. Wash Buffer: 20 mL + 480 mL agua destilada (500 mL). La solución refrigerada es estable un mes.
5. 200 μ L de Adiponectin Conjugate

6. Tapar e incubar 2 horas a temperatura ambiente.

Preparar 15 min. antes de completar el tiempo Substrate Solution: 10 mL Color Reagents A + B (10 mL+ 10 mL= 20 mL). El volumen requerido para los 96 pocillos es de 19,2 mL.

7. Lavar 4 veces. Retirar sobre papel secante el exceso de líquido de los pocillos.

8. 200 μ L Substrate Solution, proteger de la luz.

9. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente

10. 50 μ L Stop Solution

11. Lectura a 450 nm (15 min, o color amarillo uniforme). No sobrepasar los 30 minutos.

Cálculo de los resultados:

Crear una curva standard lineal.

Si las muestras han sido diluidas, multiplicar por el factor de dilución.

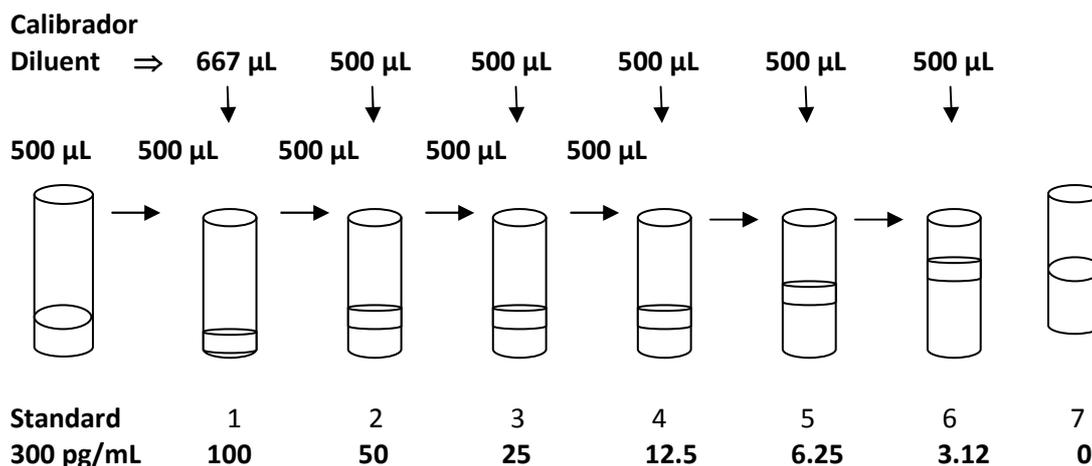
4.6.3. IL-6 (R&D SYSTEMS®)

Preparación de reactivos: acondicionar a temperatura ambiente antes de su uso.

Calibración:

Reconstituir IL-6 Standard con 5.0 mL de agua destilada para obtener una concentración de 300 pg/mL . Mezclar y mantener a temperatura ambiente 15 minutos antes de su uso.

Pipetear 667 μ L de Calibrador Diluent RD6F en el segundo tubo y 500 en el resto. Añadir 333 μ L del standard reconstituido en el primer tubo de la serie de calibradores, mezclar y trasvasar 500 μ L al siguiente, realizar pases sucesivos hasta llegar al séptimo tubo. Como standard concentración 0 puede utilizarse el mismo Calibrador Diluent.



Procedimiento:

1. 100 μL Assay Diluent RD1A
 2. 100 μL Standard, control o muestra.
 3. Tapar e incubar 2 horas a temperatura ambiente
 4. Lavar 4 veces. Retirar sobre papel secante el exceso de líquido de los pocillos. Wash Buffer: 20 mL + 480 mL agua destilada (500 mL). La solución refrigerada es estable un mes.
 5. 200 μL de IL-6 Conjugate
 6. Tapar e incubar 2 horas a temperatura ambiente.
- Preparar 15 min. antes de completar el tiempo Substrate Solution: 10 mL Color Reagents A + B (10 mL+ 10 mL= 20 mL). El volumen requerido para los 96 pocillos es de 19,2 mL.
7. Lavar 4 veces. Retirar sobre papel secante el exceso de líquido de los pocillos.
 8. 200 μL Substrate Solution, proteger de la luz.
 9. Incubar 20 minutos a temperatura ambiente
 10. 50 μL Stop Solution
 11. Lectura a 450 nm (color amarillo uniforme). No sobrepasar los 30 minutos.

Cálculo de los resultados:

Crear una curva standard logistica de 4 parámetros (4-PL).

Si las muestras han sido diluidas, multiplicar por el factor de dilución.

4.6.4. LEPTINA (DSL®)

Preparación de reactivos: acondicionar a temperatura ambiente antes de su uso.

Calibración:

Reconstituir el vial de calibración A con 2mL de agua destilada para obtener una concentración de 0 ng/mL. Reconstituir el resto de viales (B-F) con 0.5 mL de agua destilada para obtener las siguientes concentraciones:

Calibrador	Concentración (ng/mL)
A	0
B	0.5
C	2.5
D	10.0
E	25.0
F	50.0

Mezclar y mantener a temperatura ambiente 15 minutos antes de su uso.

Procedimiento:

1. 25 µL Standard, control o muestra.
2. 100 µL Assay Buffer E
3. Incubar 2 horas a temperatura ambiente agitando la placa a 500-700 rpm.
4. Lavar 5 veces. Retirar sobre papel secante el exceso de líquido de los pocillos. Wash Buffer: 60 mL + 1500 mL agua destilada (30 mL + 750 mL). La solución es estable un mes a temperatura ambiente.
5. Preparar Antibody-Enzime Conjugate Solution. Diluir al 1:50 con Assay Buffer E, del siguiente modo: 2,5 µL de Atibody-Enzime + 125 µL de Asay Buffer por cada pocillo (240 µL+12 mL para una placa de 96 pocillos).
Añadir 100 µL
6. Incubar 1 hora a temperatura ambiente agitando la placa a 500-700 rpm.
7. Lavar 5 veces. Retirar sobre papel secante el exceso de líquido de los pocillos.
8. 100 µL de TMB Chromogen Solution

9. Incubar 10 minutos a temperatura ambiente agitando la placa a 500-700 rpm. Proteger de la luz.
10. 100 μL de Stopping Solution.
11. Lectura a 450 nm (color amarillo uniforme). No sobrepasar los 30 minutos.

Cálculo de los resultados:

Crear una curva standard con el logaritmo de la concentración en el eje X frente a la absorbancia en el eje Y.

Si las muestras han sido diluidas, multiplicar por el factor de dilución.

4.6.5. RESISTINA (Biovendor®)

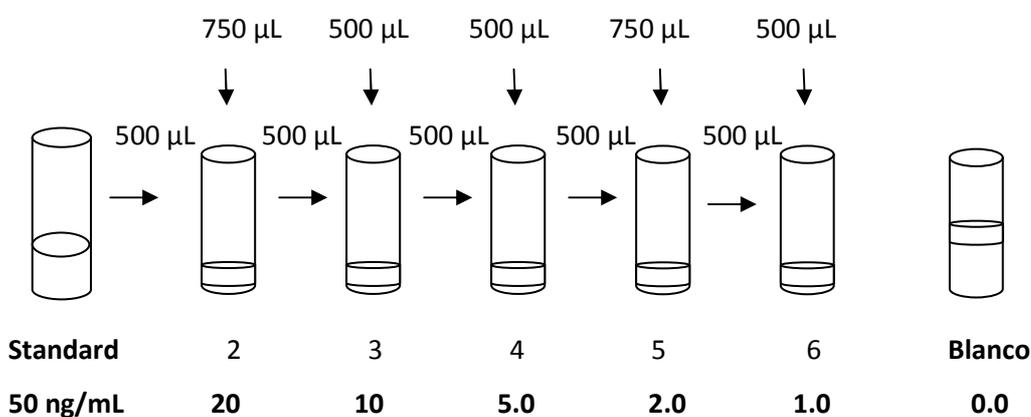
Preparación de reactivos: acondicionar a temperatura ambiente antes de su uso.

Calibración:

Reconstituir Resistin Master Calibrator con 1 mL de Dilution Buffer (50 ng/mL).

Mezclar y mantener a temperatura ambiente 15 minutos antes de su uso.

Pipetear 200 μL de Calibrador Diluent RD5-5 en cada uno de los tubos. Añadir 200 μL del standard reconstituido en el primer tubo de la serie de calibradores, mezclar y trasvasar 200 μL al siguiente, realizar pases sucesivos hasta llegar al séptimo tubo. Como estandar concentración 0 puede utilizarse el mismo Calibrador Diluent.



Diluir cada uno de los calibradores al 1:3 con Dilution Buffer antes de su uso (100 μ L +200 μ L).

Muestras: diluir las muestras a 1:3 con Dilution Buffer (50 μ L+ 100 μ L).

Controles:

Pueden ser congelados. La concentración de los dos niveles de control (High y Low) depende del lote de fabricación y debe consultarse en la hoja adjunta al insert del producto.

Diluir ambos controles con Dilution Buffer a 1:3 (100 μ L + 200 μ L en el caso de duplicados).

Procedimiento:

1. 100 μ L Standard, control o muestra.

Las muestras y los controles requieren dilución al 1:3: 50 μ L muestra + 100 μ L Dilution Buffer

2. Incubar 1 hora a temperatura ambiente agitando la placa a 300 rpm.

3. Lavar 3 veces. Retirar sobre papel secante el exceso de líquido de los pocillos.

Wash Buffer: 100 mL + 900 mL agua destilada (50 mL + 450 mL). La solución refrigerada es estable un mes.

4. 100 μ L de Biotin Labelled Anti-Resistin Antibody Solution.

5. Incubar 1 hora a temperatura ambiente agitando la placa a 300 rpm.

6. Lavar 3 veces. Retirar sobre papel secante el exceso de líquido de los pocillos.

7. 100 μ L de Steptetavidin-HRP Conjugate

8. Incubar 1 hora a temperatura ambiente agitando la placa a 300 rpm. Lavar 3 veces. Retirar sobre papel secante el exceso de líquido de los pocillos.

9. 100 μ L de Substrate Solution. Tapar con una lámina de aluminio. Proteger de la luz.

10. Incubar 10 minutos a temperatura ambiente (hasta 20 min.)

11. 100 μ L de Stop Solution

12. Lectura a 450 nm (color amarillo uniforme). No sobrepasar los 15 minutos.

Calculo de los resultados:

Crear una curva standard oponiendo el logaritmo de la concentración (X) frente a la absorvancia (Y) mediante una función de cuatro parámetros.

Si las muestras han sido diluidas, multiplicar por el factor de dilución.

4.7. Evaluación nutricional de la ingesta dietética

Todos los sujetos respondieron a una encuesta nutricional de recuerdo de las últimas 48 horas para valorar la ingesta de calorías, macronutrientes, minerales y vitaminas. A dicha encuesta se le incorporaron escalas de alimentos y modelos para mejorar los resultados de la misma (144).

Para la encuesta nutricional, se solicitó a los individuos participantes que realizaran un recuerdo de todo lo ingerido en las últimas 48 horas. Todos los participantes en el estudio recibieron instrucciones para realizar un recordatorio escrito de los alimentos ingeridos durante los dos días previos, de forma diaria, con la ayuda de unas escalas de alimentos para facilitar la precisión en el tamaño de las raciones. Se preguntó también acerca del modo de preparación de dichos alimentos. Los registros fueron revisados por una dietista del Centro de Investigación de Endocrinología y Nutrición Clínica (www.ienva.org) y analizados por un sistema informático de tratamiento de datos (Dietsource®). La ingesta total de calorías fue empleada como indicador de la ingesta nutritiva. Ningún sujeto tomaba suplementos dietéticos o realizaba algún tipo de dieta en el momento del estudio o en los 6 meses previos del mismo.

Se midió la ingesta nutricional en valores absolutos (en kilocalorías, gramos, miligramos o microgramos) y también en porcentajes de las ingestas dietéticas de referencia, valorando el porcentaje de sujetos que cumplían dichas recomendaciones para cada uno de los nutrientes (153).

Se entiende por Ingesta Dietética de Referencia (IDR, encontrándose a veces también las siglas RDI, del inglés Recommended Dietary Intake) la cantidad de un nutriente determinado capaz de facilitar un normal funcionamiento del metabolismo del ser humano en casi la totalidad de una población (154, 155). Es decir, son los valores de referencia de nutrientes que debe contener una dieta para prevenir las enfermedades deficitarias, reducir las enfermedades crónicas, y conseguir una salud óptima, aprovechando el potencial máximo de cada nutriente (156). Se utilizaron las RDI establecidas por el Consejo de Alimentación y Nutrición del Instituto Norteamericano de Medicina 1997-2001 (154, 155). Los rangos aceptables de macronutrientes (RAM) dan los porcentajes de la distribución de los macronutrientes en la dieta diaria recomendados

junto con las IDR. Adjuntamos un modelo de encuesta como el que se empleó con los pacientes, para la recogida de datos de esta tesis:

ENCUESTA NUTRICIONAL (2 días)

1.- Anote todos los alimentos consumidos durante el día. Indique:

Plato (por ejemplo: pollo en salsa).

Ingredientes (por ejemplo: pechuga de pollo, tomate natural, cebolla, ajo, vino, sal y aceite de oliva).

Cantidad expresada según peso o porción aproximada (por ejemplo: 200 gramos ó ½ pechuga; un cazo sopero de lentejas o nº de gramos de estas pesadas en crudo).

Forma de preparación (por ejemplo: empanado y frito).

2.- No olvide indicar las salsas, condimentos, guarniciones, que acompañan al plato principal. Anote el peso o una estimación de la cantidad consumida (por ejemplo: 5 rodajas de tomate, 3 patatas medianas, 4 cucharadas soperas de salta de tomate). También el pan.

3.- Indique siempre el aceite o tipo de grasa utilizada en la preparación del plato (por ejemplo: aceite de oliva, girasol, mantequilla,...).

4.- Incluya la cantidad y tipo de bebidas alcohólicas y refrescantes consumidas (por ejemplo: 2 cervezas de lata, 1 cerveza de botellín, 1 vaso de vino, ...).

5.- Dé información detallada (nombre del producto y etiqueta si es posible) de los alimentos precocinados (por ejemplo: croquetas, pizzas congeladas), o productos elaborados industrialmente (por ejemplo: mahonesas, productos de bollería...).

Desayuno	a) Platos	b) Ingredientes	c) Cantidad	d) Forma preparación
8,30 horas	Café con leche	Café líquido	100 ml	Expreso
		leche entera	100 ml	
		Azúcar	10 g	
	Tostadas	Pan de molde	50 g	Tostado
		Margarina sin sal	20 g	
		Mermelada con azúcar	30 g	
Comida	a) Platos	b) ingredientes	c) Cantidad	d) Forma preparación
		Lentejas	60 g	Cocido
	Lentejas	Arroz	15 g	
		Aceite	7 ml	
		cebolla, ajo, ...		
	Pechuga	Pollo	100 g	Plancha
14 horas		Aceite	5 ml	
		Lechuga	100 g	Crudo
	Ensalada mixta	Tomate	100 g	
		Aceite	10 ml	
	Fruta	Naranja	1 pieza	Cruda
	Pan	fresco integral	30 g	
	Vino	Tinto	1 vaso	

FORMA DE PREPARACIÓN:

Cocidos

Fritos

Asados

Al horno

A la plancha

Empanados

Crudos (verduras, hortalizas, etc.)

Guisados (en agua y aceite)

FORMA DE EXPRESAR ALGUNAS CANTIDADES:ALIMENTOS LÍQUIDOS

- Vaso:

- pequeño (vino)
- mediano (agua)
- grande (especificar tipo)

- Taza:

- pequeña (de moka)
- mediana (de té)
- grande o tazón

ALIMENTOS SÓLIDOS

- Cucharón, cuchara o espumadera de servir.

- Cuchara:

- sopera
- mediana
- pequeña

- Plato llano o soperero:

- colmado
- raso

- Pan:

- pan de molde
- pan tostado
- pan blanco
- pan integral

- Fruta, por piezas.

- Aperitivos, por unidades (adjuntar siempre el envoltorio).

Nombre _____

Día de la semana _____ Fecha ___/___/___

Merienda	a) Platos	b) Ingredientes	c) Cantidad	d) Forma preparación
Cena	a) Platos	b) Ingredientes	c) Cantidad	d) Forma preparación
Antes de dormir	a) Platos	b) Ingredientes	c) Cantidad	d) Forma preparación

Mediante la encuesta dietética se valoró la ingesta de energía total, medida en kilocalorías, así como de los diferentes macronutrientes: proteínas, hidratos de carbono, grasas y fibra, todos ellos medidos en gramos. Se calculó igualmente la cantidad de proteínas ingeridas por kilogramo de peso corporal.

Se analizó la ingesta de todos los aminoácidos esenciales (es decir, fenilalanina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano, valina, arginina e histidina) así como de cistina y de tirosina.

Se analizó la ingesta de diferentes ácidos grasos, como los ácidos grasos saturados (ácido mirístico o C14:0, ácido palmítico o C16:0 y ácido esteárico o C18:0); los ácidos grasos monoinsaturados (ácido palmítico o C16:1 y ácido oleico o C18:1) y los ácidos grasos poliinsaturados (ácido linoleico o C18:2 y ácido linolénico o C18:3), así como la ingesta de colesterol, y de ácido eicosapentaenoico (EPA) y de ácido docosahexaenoico (DHA).

Por otro lado, se analizó la ingesta de diversos minerales, como el fósforo, magnesio, calcio, hierro, zinc, sodio, potasio, yodo, selenio, cobre y flúor, y de las principales vitaminas, como la A, diversas vitaminas del complejo B (B1, B2, B3, B6, B9 y B12), y vitaminas C, D y E.

La ingesta calórica de reposo recomendada (Requerimientos Energéticos Estimados, REE) para cada paciente se calcula según la fórmula de Harris-Benedict en función del IMC, la edad, la talla y el peso, todo ello corregido por el factor de estrés recomendado (coeficiente de ajuste, CA) para las distintas patologías, en el caso de que las hubiera.

Adultos >19 años IMC 18,5-25	Hombre	$REE = 662 - (9,53 * edad) + CA * (15,91 * peso + 539,6 * talla)$
	Mujer	$REE = 354 - (6,91 * edad) + CA * (9,36 * peso + 726 * talla)$
Adultos >19 años IMC >25	Hombre	$REE = 1.086 - (10,1 * edad) + CA * (13,7 * peso + 416 * talla)$
	Mujer	$REE = 448 - (7,95 * edad) + CA * (11,4 * peso + 619 * talla)$

Tabla 13. Fórmula de Harris-Benedict: para el cálculo de los requerimientos energéticos estimados (REE) en función del IMC, el sexo, la edad, el peso y la talla. CA: coeficiente de ajuste.

Los cálculos nutricionales se realizaron empleando el software Nutrient data system for research (Sistema de datos nutricionales para la investigación) versión 4.0,

desarrollado por la Universidad de Minnesota, en Minneapolis. Calidiet[®] Tob B Mataix y col. Los datos relativos a los registros de la ingesta se analizaron con el software Minnesota Nutrition Data System NDS-93, Food Database version 26.

$$\text{Varones} = 66,4730 + (13,7516 \times \text{Peso}) + (5,0033 \times \text{Talla}) - (6,7550 \times \text{Edad})$$

$$\text{Mujeres} = 655,0955 + (9,5634 \times \text{Peso}) + (1,8496 \times \text{talla}) - (4,6756 \times \text{Edad})$$

A continuación se muestra una tabla resumen de las variables (macro y micronutrientes) analizados en este estudio:

Variable	Unidad	Variable	Unidad	Forma de medición
Ingesta calórica	kcal/día	Arginina	mg	Encuesta Nutricional Programa Dietsource [®]
Proteínas	g	Cistina	mg	
Hidratos carbono	g	Fenilalanina	mg	
Grasas	g	Histidina	mg	
Fibra	g	Isoleucina	mg	
Colesterol	mg	Lisina	mg	
Grasas saturadas (C14:0, C16:0 y C18:0)	g	Metionina	mg	
Grasas monoinsaturadas (C16.1 y C18.1)	g	Tirosina	mg	
Grasas poliinsaturadas (C18.2 y 18.3)	g	Treonina	mg	
EPA	g	Triptófano	mg	
DHA	g	valina	mg	
Calcio	mg	Vit. A	mg	
Hierro	mg	Vit B1	mg	
Yodo	µg	Vit B2	mg	
Magnesio	mg	Vit B3	mg	
Zinc	mg	Vit. B6	mg	
Sodio	mg	Vit. B9	Mg	
Potasio	mg	Vit B12	Mg	

Variable	Unidad	Variable	Unidad	Forma de medición
Fósforo	mg	Vit C	mg	Encuesta Nutricional Programa Dietsource®
Selenio	µg			
Cobre	µg	Vit D	mg	
Flúor	µg			
Ac. fólico libre	µg			
Ac. fólico total	µg			
Etanol	g	Vit. E	mg	

Tabla 14. Resumen de los macro y micronutrientes analizados por medio de la encuesta nutricional. EPA: ácido eicosapentaenoico; DHA: ácido docosahexaenoico; kcal: kilocalorías; g: gramos; mg: miligramos; µg: microgramos.

4.8. Biopsia hepática percutánea

Se realizó biopsia hepática percutánea al total de los pacientes, previo consentimiento informado y preparación según las guías (157):

*realización de historia clínica completa y exploración física

*hemograma

*coagulación con INR y TTPA

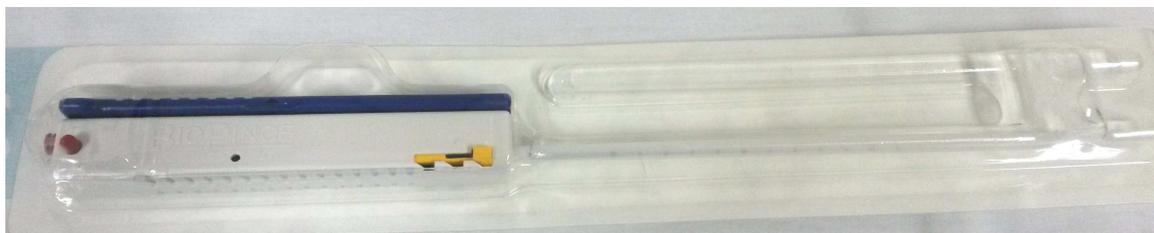
*medicaciones que recibe el paciente que pueden aumentar el riesgo de sangrado durante o después del procedimiento (clopidogrel, aspirina, AINEs en general y por supuesto anticoagulantes) evaluando y valorando su suspensión días antes de la realización de la biopsia según el fármaco concreto (una semana antes los AINEs y antiagregantes) y pautando si es el caso un protocolo de retirada y reintroducción según la indicación de cada paciente que reciba anticoagulantes.

Todos los pacientes fueron ingresados en planta de hospitalización antes de la realización de la biopsia y permanecieron 24h desde la realización de la misma

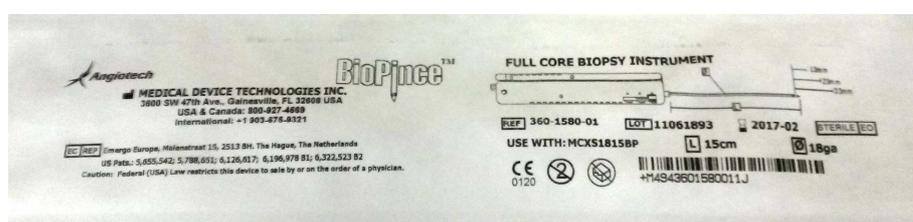
Instrumental:

Desde 2004 hasta 2012, el instrumento utilizado para la obtención de la muestra fue una aguja de succión, en este caso de Menghini, y desde 2012 una aguja precargada

Full Core biopsy instrument BioPince™, de 15 cm de longitud y 18 g de grosor (menos invasiva.)



Figuras 25 y 26. Aguja de biopsia precargada.



Técnica:

Con el paciente en decúbito supino y su mano derecha detrás de la cabeza, se percute sobre el hemotórax derecho en la línea media axilar, que es donde se halla el punto máximo de matidez hepática (normalmente entre 6º y 9º espacio intercostal, siendo el 8º el más frecuente). En ese punto, se coloca la sonda del ecógrafo para confirmar el lugar apropiado para realizar la biopsia, marcando sobre la piel el lugar elegido y fijándonos en la orientación de la sonda.

El operador se coloca unos guantes estériles, sitúa un paño también estéril en el campo de trabajo y limpia la zona de la piel del paciente con solución de povidona yodada.



Figura 27. Instrumental

Posteriormente, se inyectan 20 ml de solución de mepivacaína al 2% introduciendo la aguja sobre el borde superior de la costilla para evitar así los vasos intercostales que atraviesan a lo largo del borde inferior de cada costilla.



Figura 28. Anestésico local

Se realiza después una pequeña incisión con una hoja de bisturí, una vez anestesiada la zona, y se introduce la aguja de biopsia ya precargada a través de la incisión, atravesando el tejido subcutáneo y el peritoneo parietal.

Una vez en esa situación, se quita el seguro de la aguja y con el paciente conteniendo la respiración en fase de espiración, se realiza un “disparo” mediante el cual se ha extraído un cilindro de tejido hepático como máximo de 29 mm de longitud (con un golpe de aguja de 33mm) permaneciendo tan sólo décimas de segundo en el tejido hepático). Posteriormente se extrae la aguja, y mediante un sencillo mecanismo, la muestra, que se envía en un anaclín con formol a Anatomía Patológica.

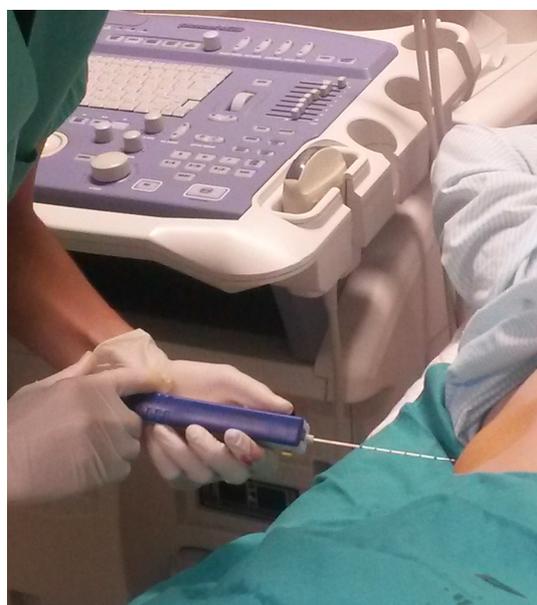


Figura 29. Realización de la biopsia.

Análisis de las muestras y clasificación histológica

Todas las biopsias fueron evaluadas por el mismo patólogo. Fueron procesadas de manera rutinaria, se seccionaron y se tiñeron con hematoxilina-eosina y tricrómica de Masson.

Se empleó el NAS-score de Kleiner, un sistema de puntuación semicuantitativa de hígado graso no alcohólico. Se define como la suma ponderada de las puntuaciones de: esteatosis (<5% = 0, de 5 a 33% = 1, > 33 al 66% = 2, > 66% = 3). Inflamación lobular (sin focos = 0, <2 focos de 200 por campo = 1; de 2 a 4 de 200 focos por campo = 2; > 4 focos de 200 por campo = 3). Balonización o degeneración hidrópica (ninguna célula = 0; pocas células balonizadas = 1, muchas células / balonización prominente = 2) La fibrosis no se incluye en el NAS. La puntuación máxima es de 8.

El score definitivo de EHNA se definió como una puntuación NAS >= 5.

ITEM	PUNTUACIÓN	EXTENSION
ESTEATOSIS	0	< 5%
	1	5 – 33%
	2	> 33 – 66 %
	3	> 66%
BALONIZACIÓN (degeneración hidrópica)	0	Ninguna
	1	Pocas células
	2	Muchas células, balonización prominente
INFLAMACIÓN LOBULAR	0	Ningún foco
	1	< 2 focos/200x
	2	2-4 focos/200x
	3	> 4 focos/200x

Tabla 15. NAS-score de Kleiner.

ESTADIO 1	Zona 3 fibrosis perivenular, pericelular o perisinusoidal, pudiendo ser extensa o focal
ESTADIO 2	Zona 3 fibrosis perivenular, pericelular o perisinusoidal, pudiendo ser extensa o focal, con fibrosis portal tanto focal como extensa
ESTADIO 3	Puentes de fibrosis, extensa o focal
ESTADIO 4	Cirrosis con o sin sibrosis perisinusoidal

Tabla 16. Estadiaje de fibrosis

4.9. Diagnóstico no invasivo de fibrosis: NAFLD Fibrosis Score.

En un estudio multicéntrico internacional (158), se analizaron los datos de 733 pacientes con hígado graso no alcohólico confirmado con biopsia para crear (n = 480) y validar (n = 253) un sistema de puntuación para distinguir entre pacientes con fibrosis avanzada (grado 3-4) y sin fibrosis avanzada (grado 0-2), utilizando el sistema de clasificación de Kleiner. El NADLF-score se ha creado usando seis variables que se muestran a continuación:

NAFLD FIBROSIS SCORE

$$-1.675 + 0.037 \times \text{edad [años]} + 0.094 \times \text{IMC [kg/m}^2\text{]} + 1.13 \times \text{IFG}$$

$$\text{Diabetes [sí:1, no:0]} + 0.99 \times \text{AST/ALT ratio} - 0.013 \times \text{plaquetas [} \times 10^9/\text{l]} - 0.66 \times \text{albúmina [g/dl]}$$

Figura 30. NAFLD Fibrosis Score

Si el sujeto tiene un **NAFLD-FS menor de -1,45**, el médico interpretará que ese paciente tiene baja probabilidad de presentar fibrosis avanzada.

Si el sujeto tiene un **NAFLD-FS mayor de 0,675**, el médico puede afirmar que ese paciente presenta una fibrosis significativa con alta probabilidad.

Si el sujeto tiene un **NAFLD-FS entre -1,45 y 0,675**, el índice no ofrece información certera sobre el grado de probabilidad (intermedia o alta) de fibrosis hepática avanzada.

En nuestro estudio utilizamos este marcador de fibrosis no invasiva y lo comparamos con el grado de fibrosis obtenida en la biopsia hepática, particularmente dividiendo los pacientes en dos grupos: F0-2 y F3-4, ya que el NAFLD-FS discrimina con precisión la presencia de fibrosis avanzada.

4.10. Valoración de los factores de riesgo cardiovascular

Para valorar los posibles factores de riesgo cardiovascular presentes en los pacientes a estudiar, se utilizaron los criterios propuestos por la Federación Internacional de Diabetes (IDF, del inglés International Diabetes Federation). Estos criterios incluyen los siguientes factores (159):

***Obesidad central.** La obesidad central se valora de manera sencilla mediante el perímetro de cintura. Se considera obesidad central si el perímetro de la cintura es ≥ 94 cm en hombres y ≥ 80 cm para mujeres

***Hipertensión arterial,** entendida como tensión arterial sistólica ≥ 130 mmHg o tensión arterial diastólica ≥ 85 mmHg, o tratamiento específico antihipertensivo

***Glucemia basal elevada.** Elevación rápida de la glucosa ≥ 100 mg/dL (5,6 mmol/L), o diabetes tipo 2 diagnosticada previamente

***Hipertrigliceridemia.** Nivel de triglicéridos elevado, igual o superior a 150 mg/dL (1,7 mmol/L), o tratamiento específico

***Niveles séricos de HDL- colesterol bajos,** < 40 mg/dL (1,1 mmol/L) en varones y < 50 mg/dl (1,3 mmol/ L) en mujeres, o tratamiento específico

Los límites propuestos por la IDF se recogen en la siguiente tabla:

FRCV propuestos IDF	Límite
Obesidad central (perímetro de cintura)¹	94 cm en hombres
	80 cm en mujeres
Tensión arterial¹	TAS \geq 130 mmHg
	TAD \geq 85 mmHg
Glucemia basal¹	\geq 100 mg/dL
Trigliceridemia¹	\geq 150 mg/dL
Niveles séricos de HDL-colesterol²	< 40 mg/dL en hombres
	< 50 mg/dl en mujeres

Tabla 17. Criterios de factores de riesgo cardiovascular propuestos por la IDF, con sus respectivos límites. FRCV: factores de riesgo cardiovascular; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; ¹: límite por encima del cual se considera patológico; ²: límite por debajo del cual se considera patológico.

Por otro lado, se emplearon los criterios de la IDF, igualmente, para definir el **Síndrome metabólico (SM)**. Los criterios de la IDF para diagnosticar dicho síndrome comprenden la presencia en un mismo individuo de obesidad central, más, al menos, dos factores cualesquiera de los cuatro siguientes (159):

- *hipertensión arterial
- *hipertrigliceridemia
- *hiperglucemia
- *niveles séricos bajos de HDL-colesterol

Los criterios diagnósticos del SM según la IDF se exponen en la siguiente figura:

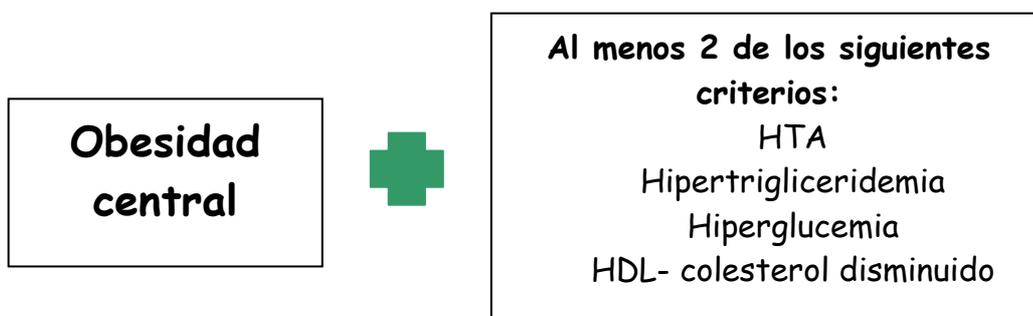


Figura 31. Esquema de los criterios diagnósticos de síndrome metabólico según la IDF.
HTA: hipertensión arterial

En el Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III)¹ (NCEP- ATP III), se establece la definición de SM ante la presencia de tres o más de los siguientes criterios (160):

***obesidad abdominal**, definida como perímetro de la cintura superior a 102 cm en hombres y superior a 88 cm en mujeres;

***trigliceridemia elevada**: se considerará elevada cuando sea igual o superior a 150 mg/dL (1,7 mmol/L) o tratamiento específico;

***niveles séricos de HDL – colesterol bajos**, cuando sean inferiores a 40mg/dL (1,1 mmol/dL) en hombres e inferior a 50mg/dL (1,3 mmol/dL) en mujeres, o tratamiento específico;

***hipertensión arterial**: tensión arterial elevada, cuando esta sea igual o superior a 130 mmHg de tensión arterial sistólica, o una tensión arterial diastólica igual o superior a 85 mmHg, o tratamiento antihipertensivo.

***glucemia basal elevada**, es decir, igual o superior a 100 mg/dL (5,6 mmol/L), o en tratamiento.

Como vemos, los valores límites de los factores de riesgo cardiovascular propuestos por la NCEP- ATP III se recogen en la siguiente tabla:

FRCV propuestos NCEP- ATP III	Límite
Obesidad central (perímetro de cintura)¹	102 cm en hombres
	88 cm en mujeres
Tensión arterial¹	TAS \geq 130 mmHg
	TAD \geq 85 mmHg
Glucemia basal¹	\geq 100 mg/dL
Trigliceridemia¹	\geq 150 mg/dL
Niveles séricos de HDL-colesterol²	< 40 mg/dL en hombres
	< 50 mg/dl en mujeres

Tabla 18. Criterios de factores de riesgo cardiovascular propuestos por la NCEP- ATP III, con sus respectivos límites. FRCV: factores de riesgo cardiovascular; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; 1: límite por encima del cual se considera patológico; 2: límite por debajo del cual se considera patológico.

¹ Tercer Informe del Programa Nacional de Educación para el Colesterol (NCEP). Panel de Expertos en Detección, Evaluación y Tratamiento del Colesterol Sanguíneo Elevado en adultos (III Panel de Tratamiento en Adultos)

Como se puede observar, los criterios de riesgo cardiovascular son muy similares en ambas clasificaciones, excepto para la obesidad central, donde el límite es más “permisivo” en los criterios de la NCEP ATP III:

En esta tesis, no se consideraron los criterios de la OMS para diagnosticar el síndrome metabólico, pues uno de los criterios diagnósticos que se proponen en dicha clasificación es la microalbuminuria, entendida como la excreción de albúmina en orina igual o superior a 20 µg/min, o relación albúmina/creatinina en orina igual o superior 30 mg/g. no se realizó análisis de orina en nuestra muestra de pacientes, por lo que en este punto, nos limitamos a las clasificaciones de la IDF y de la NCEP- ATP III para diagnosticar el síndrome metabólico.

Por último, incluimos el hábito tabáquico como factor de riesgo cardiovascular.

Por otro lado, se analizaron una serie de variables, en relación a la presencia o no de **factores de riesgo cardiovascular en la población de estudio:**

***Características generales y riesgo cardiovascular:** se analizó la posible asociación entre presencia de riesgo cardiovascular y la edad, el sexo, los niveles de tensión arterial, la práctica de ejercicio físico y el consumo de alcohol.

***Variables antropométricas y riesgo cardiovascular:** de igual manera, se analizó la posible asociación entre factores de riesgo cardiovascular y distintas variable antropométricas: peso, talla e IMC, cintura, cadera e índice cintura-cadera, pliegue tricúspital, circunferencia del brazo y área muscular braquial

***Impedanciometría y riesgo cardiovascular:** se analizaron las diferentes variables obtenidas por impedanciometría en función de la presencia de factores de riesgo cardiovascular en los sujetos analizados. Las variables obtenidas por impedanciometría analizadas fueron: resistencia, reactancia, ángulo de fase, agua corporal total, agua intra y extracelular, masa libre de grasa, masa grasa, gasto metabólico basal y calorimetría

***Encuesta nutricional y riesgo cardiovascular:** en este punto se analizó igualmente la presencia o no de factores de riesgo cardiovascular, en función del patrón de consumo de lo individuos analizados. Se estudió la posible asociación con la ingesta de:

- **macronutrientes:** proteínas, hidratos de carbono y lípidos así como de la energía total

- desglose de los diferentes lípidos:

ácidos grasos:

saturados: C14:0, C16: 0 y C18: 0

monoinsaturado: C16:1 y C18:1

poliinsaturados: C18:2 y C18:3

colesterol, ácido eiosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA).

- **aminoácidos:** triptófano, treonina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, cistina, fenilalanina, tirosina, valina, arginina e histidina.

- **ingesta de diversos minerales:** fósforo, magnesio, calcio, hierro, zinc, sodio, potasio, yodo, selenio, cobre y flúor.

- **vitaminas:** A, complejo B (B1, B2, B3, B6, B9 y B12), C, D y E

Los parámetros de ingesta dietética analizados fueron:

***energía total ingerida**, medida en kilocalorías

***macronutrientes:** proteínas, lípidos e hidratos de carbono, medido en gramos, ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, así como colesterol ingesta de sodio y potasio, para relaciona dicha ingesta con los niveles de tensión arterial.

Estos nutrientes se correlacionaron con parámetros antropométricos:

***índice de masa corporal**

***perímetro de cintura**

***índice cintura- cadera**

***pliegue tricípital**

***masa libre de grasa (masa magra)**

***masa grasa**

***tensión arterial sistólica**

***tensión arterial diastólica**

Así mismo, **enfrentamos estos mismos nutrientes analizados con diversos parámetros bioquímicos:**

- *glucemia
- *colesterol total en sangre
- *trigliceridemia
- *niveles séricos de HDL- colesterol
- *niveles séricos de LDL- colesterol
- *hallazgos de la histología hepática valorada por el NAS-Score

5. Análisis estadístico

Los datos fueron tratados empleando el paquete estadístico SPSS (IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp).

Las variables continuas se describieron como media \pm DS en caso de distribución normal o como mediana y rango si la distribución fue no normal. Las variables cualitativas fueron descritas mediante frecuencias absolutas y relativas (porcentajes). Los datos se recogieron en tablas y se representaron en los gráficos más adecuados para cada tipo de variable (diagrama de barras para las variables cualitativas, histograma de frecuencias para las cuantitativas).

Para estudiar la asociación entre variables cualitativas se utilizó la prueba de Chi cuadrado, con corrección de Yates y test exacto de Fisher cuando las condiciones lo requirieron. En el caso de las variables cuantitativas se utilizó el test de Kolmogorov-Smirnov para determinar la normalidad de las distribuciones. Para estudiar las diferencias entre medias independientes se utilizaron los tests estadísticos paramétricos o no paramétricos exigidos por las condiciones de aplicación (t de Student o U de Mann-Whitney en caso de dos categorías; ANOVA con prueba post-hoc de Bonferroni o H de Kruskal-Wallis para comparaciones de más de dos categorías). Finalmente, la relación entre variables cuantitativas se analizó mediante las pruebas de correlación de Pearson (en condiciones paramétricas) o de Spearman (en condiciones no paramétricas) El nivel de significación fue fijado convencionalmente en una $p \leq 0,05$.

6. Tratamiento informático y control de calidad de los datos

El tratamiento informático de los datos, adecuadamente codificados, fue realizado en un ordenador personal portátil HP Pavillion, con procesador Pentium, sistema operativo Windows 7 y herramientas de Microsoft Office 2003.

La búsqueda bibliográfica se efectuó a través de Internet en Chrome. Los datos recogidos fueron introducidos en una base de datos (IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp) diseñada ex profeso.

Se aseguró la calidad de los datos comprobándose al menos en dos ocasiones, y por dos investigadores, antes de su procesamiento definitivo para detectar datos perdidos, omisiones o errores. La base de datos fue registrada en la Agencia Nacional de Protección de Datos (ANPD), dentro del Sistema de Información del Grupo de Investigación Biomédica (SIGIB).

7. Revisión bibliográfica

La revisión bibliográfica ha sido realizada a través de la página de Internet PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), un servicio de acceso libre a la Base de datos Medline proporcionado por la National Library of Medicine (NLM). Para la búsqueda inicial se han empleado términos libres y vocabulario controlado (non alcoholic fatty liver disease; fibrosis; insuline resistance; cardiovascular disease; obesity; hypertension; diabetes mellitus; cholesterol; sedentarism; metabolic syndrome; nutrition; nutrition assessment; dietary intake; vitamin intake; vitamin B12; vitamin B3; folate; mineral intake; BIA; anthropometry; body mass index; BMI; body composition, y un largo etcétera).

La búsqueda libre ha sido completada con la utilización de vocabulario controlado (MeSH) restringiéndola a un término o ampliándola a varios si ha sido preciso. Los términos de búsqueda han sido relacionados mediante operadores lógicos e implementado mediante truncadores, limitándose a los años 1980-2015, todos los idiomas, investigación en humanos y artículos con resumen. De los artículos recuperados

han sido seleccionados los que aportaban la información más válida e importante según criterio personal.

La base de datos de la revista Nutrición Hospitalaria (con acceso completo a sus artículos) ha sido consultada también a través de Internet mediante suscripción.

Han sido utilizados libros de texto, monografías y manuales actualizados de interés revelante. Una parte de la bibliografía ha sido obtenida a través de los estudios o revisiones procedentes de las fuentes anteriores.

Se ha utilizado asimismo en gran medida la Biblioteca Cochrane Plus (www.bibliotecacochrane.net), con acceso libre y gratuito en todo el territorio español gracias a una suscripción realizada por el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, así como la base de datos UpToDate®, con acceso privado gratuito para profesionales gracias a la Biblioteca Sanitaria online de Castilla y León.

5. RESULTADOS

5.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO

5.1.1. Características generales de la muestra:

A) VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS

Estudiamos un total de 76 pacientes. A continuación se muestran las variables epidemiológicas, analíticas de los mismos.

N total=76	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Edad	19,00	68,00	44,51	11,36
índice masa corporal	22,14	47,60	30,45	5,14
HOMA IR	,52	14,69	4,33	3.01
N total=76	N	%		
Hombre	56	73,7		
Mujer	20	26.3		
Ejercicio (3h/sem)	29	38,7		
Fumador	16	21,3		
EHNA	24	31,6		
Fibrosis	39	51,3		

Tabla 19. Variables epidemiológicas generales de la muestra.

N total= 76	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Albúmina (g/dl)	3,50	5,30	4,31	0,44
Plaquetas (x 10 ³ / μl)	92,00	456,00	284,53	63,66
Triglicéridos (mg/dl)	5,00	450,00	141,10	83,36
colesterol total (mg/dl)	68,00	348,00	208,06	50,68
LDL (mg/dl)	42,00	298,00	127,67	43,20
HDL (mg/dl)	31,00	188,00	53,09	21,67
Glucosa (mg/dl)	73,00	260,00	110,57	33,04
Insulina (μU/mL)	2,90	70,00	15,45	9,84
Bilirrubina (mg/dl)	,20	2,65	,72	,35
GOT (UI/L)	15,00	165,00	46,61	25,53
GPT (UI/L)	24,00	328,00	82,31	47,14

N total= 76	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
GGT (UI/L)	14,00	380,00	92,21	70,42
FA (UI/L)	44,00	215,00	85,09	32,72
hierro (µg/dL)	42,00	224,00	108,96	35,52
Ferritina (ng/ml)	7,20	946,00	214,72	178,62

Tabla 20. Variables bioquímicas.

B) HISTOLOGÍA HEPÁTICA

A continuación se presentan el número y el porcentaje de pacientes con y sin esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), y la puntuación según el NAS-score en la muestra de tejido hepático.

N total=76		N	%
NAS-score (Kleiner)	1	6	7,9
	2	16	21,1
	3	14	18,4
	4	16	21,1
	5	13	17,1
	6	6	7,9
	7	3	3,9
	8	2	2,6
NAS-score	≥5	24	31,6
	<5	52	68,4

Tabla 21. Clasificación NAS. Si es ≥5 se establece que tienen EHNA.

En la siguiente tabla se observa que más de la mitad de nuestros pacientes tienen fibrosis en la biopsia y se muestran los diferentes grados.

N total=76		N	%
Fibrosis (grado)	0	37	48,7
	1	28	36,8
	2	5	6,6
	3	3	3,9
	4	3	3,9
Fibrosis	presente	39	51,3
	ausente	37	48,7

Tabla 22. Clasificación de la fibrosis hepática.

C) VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS

Los resultados de la antropometría se resumen en la tabla 23:

N total=76	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Medida cintura (161)	69	79,00	136,80	99,84	12,32
Medida cadera (161)	73	86,50	133,00	106,64	8,89
índice cintura cadera	64	0,78	1,14	0,94	0,07
Pliegue tricípital (mm)	76	7,40	46,60	22,12	9,01
Circunferencia braquial (161)	76	25,50	46,00	33,08	3,86
IMC	76	22,14	47,60	30,45	5,14

Tabla 23. Medidas de las variables antropométricas fundamentales para nuestro estudio. IMC: índice de masa corporal.

D) IMPEDANCIOMETRÍA

Los resultados del análisis por bioimpedancia se resumen en la tabla 25:

N total=76	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Ag. total (Kg)	41	28,80	58,20	42,82	7,42
Ag. total %	41	38,45	81,90	52,39	8,20
Ag. extra (Kg)	41	11,30	28,70	17,90	3,47
Ag. extra %	41	36,64	66,55	41,96	5,56
masa grasa (Kg)	40	4,62	47,23	24,02	8,47
masa grasa %	40	5,93	58,44	29,61	9,62
masa magra (Kg)	41	40,60	84,60	58,90	10,47
masa magra %	41	55,39	98,21	71,83	9,29
gasto energético basal (kcal/día)	41	1326,00	2533,00	1773,26	279,38
ángulo de fase α (°)	76	,20	17,40	7,56	2,00

Tabla 24. Composición corporal y otros parámetros calculados mediante impedanciometría.

E) SÍNDROME METABÓLICO

Se observa que más de la mitad de nuestros pacientes presenta un Síndrome Metabólico (56,8 %),, definido como tal por la presencia de obesidad central, junto con al menos otros dos criterios, ya expuestos en la sección de Material y Métodos (Clasificación de S. Metabólico según Criterios ATP III).

N total=76		N	%
Síndrome Metabólico	0	10	13,5
	1	7	9,5
	2	15	20,3
	3	20	27,0
	4	13	17,6
	5	9	12,2

Tabla 25. Puntuación para valorar la presencia de S. Metabólico.

Tensión arterial

N total=76	Mínimo	Máximo	Media	Desv.típ.
Tensión sistólica (mm Hg)	90,00	175,00	133,33	18,74
Tensión diastólica (mm Hg)	50,00	110,00	79,25	18,40

Tabla 26. Medidas de TA sistólica y diastólica.

Diabetes mellitus tipo 2 (DM-2)

Un pequeño porcentaje de nuestros pacientes es diabético.

N total=76		N	%
DM-2	NO	62	81,6
	SÍ	14	18,4

Tabla 27. Pacientes con DM-2.

F) ENCUESTA NUTRICIONAL

En esta tabla se exponen los promedios de la ingesta dietética obtenidos de la encuesta nutricional de dos días realizada por los pacientes y analizados por el programa Dietsource®.

N total=76	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Calorías de la dieta (kcal/día)	964,30	3863,50	2118,53	698,05
Proteínas (g)	53,40	159,60	93,54	24,95
Proteínas %	12,00	31,00	18,63	3,87
Lípidos (g)	32,70	182,60	88,16	37,59
Lípidos (%)	23,00	57,00	37,30	7,32
hidratos de carbono (g)	97,50	1871,00	252,54	213,26
H de carbono (%)	26,00	60,00	44,07	7,89
Fibra (g)	4,20	47,70	16,62	7,62
Fósforo (mg)	612,80	2465,90	1420,65	422,57
Magnesio (mg)	124,80	587,30	262,35	90,54
Calcio (mg)	233,30	1955,40	977,12	356,45
Hierro (mg)	6,30	27,30	13,61	4,47
Zinc (mg)	5,00	24,10	11,25	4,00
Sodio (mg)	457,00	6333,90	2024,88	1135,14
Potasio (mg)	1344,00	5444,20	2816,05	878,35
Yodo (µg)	2,20	394,50	59,15	61,02
Selenio (µg)	16,20	602,00	79,87	73,94
Cobre (µg)	189,00	3157,70	1041,05	566,29
Flúor (µg)	30,00	1556,20	447,96	310,16
vitamina C (mg)	20,50	453,70	143,38	94,54
vitamina B1 (mg)	,50	3,40	1,63	,65
vitamina B2 (mg)	,80	3,80	1,66	,58
Niacina (B3) (mg)	7,60	45,50	21,05	8,17
Piridoxina (B6) (mg)	,50	4,60	1,80	,82
vitamina A (µg)	145,30	5818,50	1700,38	1052,51
vitamina D (µg)	0,00	34,90	5,54	7,45
vitamina E (mg)	2,00	26,70	8,64	4,50
ácido fólico libre (µg)	31,50	293,10	111,55	53,53
ácido fólico total (µg)	62,40	507,80	212,60	94,84

N total=76	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Cianocobalamina (B12) (µg)	,90	25,50	5,51	3,69
Ácidos grasos saturados (g)	5,70	55,60	24,00	12,03
Ácidos grasos monoinsaturados (g)	9,10	86,20	39,53	18,36
Ácidos grasos poliinsaturados (g)	1,90	26,90	9,16	5,47
EPA (g)	0,00	1,30	,14	,21
DHA (g)	0,00	2,20	,27	,37
Colesterol (mg)	92,70	1278,30	435,83	233,83
Triptófano (mg)	299,90	1814,40	939,17	348,13
Treonina (mg)	924,50	6178,30	3210,92	1185,52
Isoleucina (mg)	1180,10	8382,70	4382,55	1734,78
Leucina (mg)	1870,00	11551,60	5983,50	2147,75
Lisina (mg)	599,90	11191,80	5448,76	2240,41
Metionina (mg)	455,50	3537,40	1753,77	667,91
Cistina (mg)	124,00	1258,50	548,11	255,47
Fenilalanina (mg)	199,70	6473,70	3378,35	1269,51
Tirosina (mg)	431,50	3889,70	1553,84	689,18
Valina (mg)	1307,00	7876,40	4077,60	1481,75
Arginina (mg)	555,70	5811,50	2424,02	1149,66
Histidina (mg)	320,90	3168,60	1251,11	594,96
Etanol (g)	0,00	58,50	5,21	11,33

Tabla 28. Resultados de la composición de la dieta derivados de la encuesta dietética llevada a cabo por los pacientes. EPA: ácido eicosapentaenoico. DHA: ácido docosahexaenoico

G) ADIPOCITOKINAS

En la siguiente tabla se resumen los valores de las Adipocitokinas en plasma. Como se puede observar, estas determinaciones no estaban disponibles en la totalidad de los pacientes debido a problemas técnicos.

N total=76	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
TNF (pg/mL)	66	0,10	15,21	6,67	3,94
Leptina (ng/mL)	71	2,20	175,76	30,65	29,25
Il-6 (ng/mL)	66	0,06	48,65	4,17	8,39
Adiponectina (microg/mL)	72	2,80	125,66	21,69	23,90
Resistina (ng/mL)	68	1,03	11,63	3,37	1,90
Visfatina (ng/mL)	66	4,35	35,41	13,48	6,30

Tabla 29. Valores en plasma de las diferentes citocinas relacionadas con el tejido adiposo.

5.1.2. Características de la muestra en función de edad y sexo

GRUPOS DE EDAD

La mediana de edad (44 años) fue utilizada para clasificar a los pacientes en dos grupos: ≤ 44 años y >44 años.

Existieron diferencias significativas en la edad media de nuestros pacientes en función de su sexo (**mujeres $55.6 \pm 6,02$ años; hombres $40.55 \pm 10,14$ años; $p = 0,000$**).

<i>p-valor=0,000</i>		Edad		N Total
		≤ 44	> 44	
sexo	hombre	37	19	56
	mujer	1	19	20
N Total		38	38	76

Tabla 30. Diferencias de edad en función del sexo de los pacientes.

A) Parámetros histológicos:

En primer lugar, se compara el NAS-score, en función del sexo y la mediana de edad, dividiendo la muestra en dos grupos según las diferentes puntuaciones. Observamos que no existen diferencias significativas entre hombres y mujeres a la hora de presentar EHNA en la biopsia hepática.

<i>p-valor = 0,591</i>		NAS-score		N Total
		< 5	≥ 5	
Sexo	hombre	40	16	56
	mujer	13	7	20
N Total		53	23	76

Tabla 31. Puntuación NAS-score según el sexo.

No se aprecian diferencias estadísticamente significativas según la mediana de edad.

<i>p</i> -valor = 0,491		NAS-score		N Total
		< 5	≥5	
Mediana de edad	≤ 44	25	13	38
	> 44	28	10	38
N Total		53	23	76

Tabla 32. Puntuación NAS-score según la mediana de edad.

En cuanto a la **inflamación lobulillar y portal** (suma de ambas puntuaciones), se observa que es más frecuente en las mujeres que en los hombres, no encontrando diferencias estadísticamente significativas en la comparación con la mediana de edad.

<i>p</i> -valor = 0,006		Inflamación L-P		N Total
		NO	SÍ	
sexo	Hombre	34	22	38
	mujer	5	15	38
N Total		39	37	76

Tabla 33. Inflamación lobulillar y portal según el sexo.

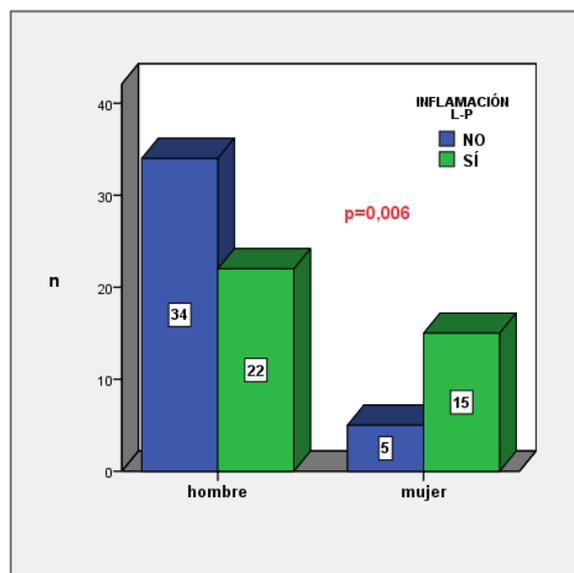


Figura 32. Inflamación lobulillar y portal según el sexo.

<i>p</i> -valor = 0,251		Inflamación L-P		N Total
		NO	SÍ	
mediana de edad	≤ 44	22	16	38
	> 44	17	21	38
N Total		39	37	76

Tabla 34. Inflamación lobulillar y portal según la mediana de edad.

La presencia de **esteatosis simple** (sin inflamación ni fibrosis), es más frecuente en los hombres, mientras que las mujeres tienden a presentar esteatosis con algún signo ya de inflamación y/o fibrosis, es decir, estadios más avanzados de la enfermedad. En cuanto a la mediana de edad no se observan diferencias estadísticamente significativas.

<i>p</i> -valor = 0,012		Esteatosis simple		N Total
		NO	SÍ	
sexo	Hombre	37	19	56
	mujer	19	1	20
N Total		56	20	76

Tabla 35. Presencia de esteatosis simple según el sexo.

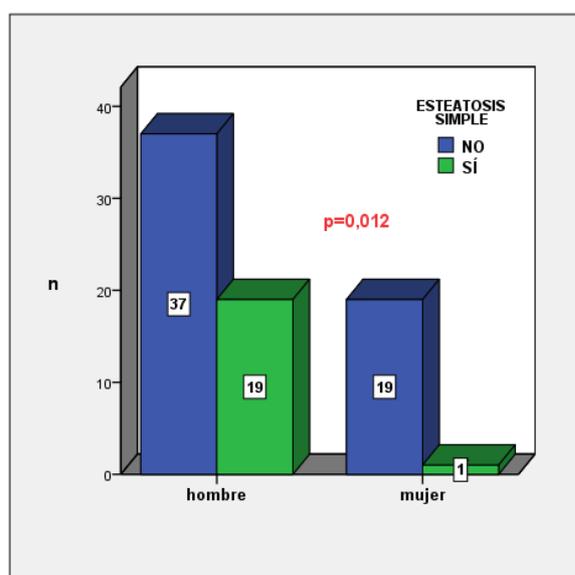


Figura 33. Presencia de esteatosis simple según el sexo.

<i>p</i> -valor = 0,297		Esteatosis simple		N Total
		NO	SÍ	
mediana de edad	≤ 44	26	12	38
	> 44	30	8	38
N Total		56	20	76

Tabla 36. Presencia de esteatosis simple según la mediana de edad.

En las siguientes dos tablas y gráfico 34, se aprecia cómo las mujeres presentan, en nuestra muestra, **fibrosis** hepática con más frecuencia que los hombres, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. No aparecen diferencias significativas según la mediana de edad.

<i>p</i> -valor = 0,000		Fibrosis (biopsia)		N Total
		NO	SÍ	
sexo	Hombre	34	22	56
	mujer	3	17	20
N Total		37	39	76

Tabla 37. Presencia de fibrosis según el sexo.

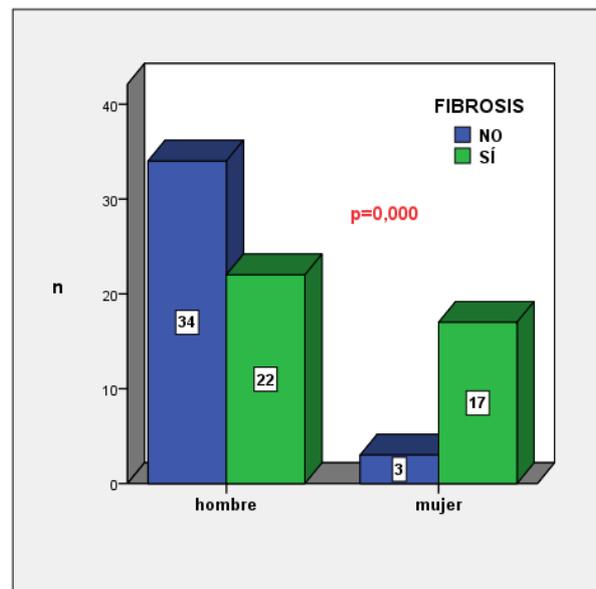


Figura 34. Presencia de fibrosis según el sexo.

<i>p-valor = 0,108</i>		Fibrosis (biopsia)		N Total
		NO	SÍ	
mediana de edad	≤ 44	22	16	38
	> 44	15	23	38
N Total		37	39	76

Tabla 37. Fibrosis según la mediana de edad.

B) Parámetros radiológicos (ecografía):

En la tabla 37 y gráfico 35 se muestra cómo el grupo de pacientes mayores de 44 años (mediana de edad) presentan con más frecuencia esteatosis hepática en la ecografía abdominal, que los que tienen 44 o menos años, siendo esta diferencia estadísticamente significativa

<i>p-valor = 0,041</i>		Esteatosis en ECO		N Total
		NO	SÍ	
mediana de edad	≤ 44	15	21	36
	> 44	7	29	36
N Total		22	50	72

Tabla 38. Presencia de esteatosis en la ecografía según la mediana de edad.

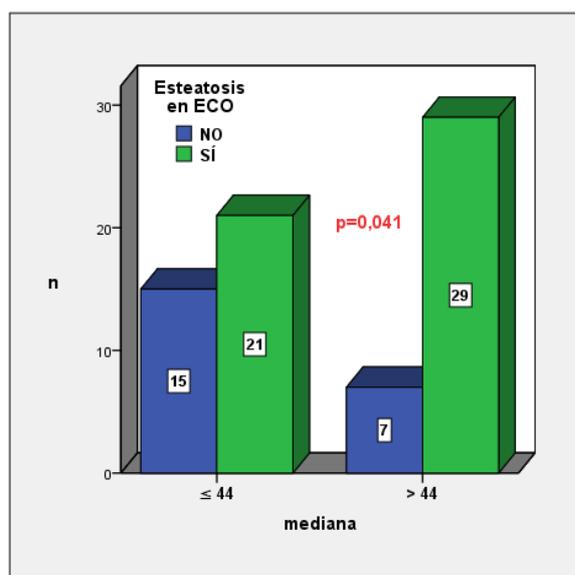


Figura 35. Presencia de esteatosis en la ecografía según la mediana de edad.

Asimismo, se aprecia según la tabla 39 y gráfico 36, que en nuestra muestra las mujeres presentan esteatosis hepática en la ecografía con más frecuencia que los hombres, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

<i>p-valor = 0,019</i>		Esteatosis en ECO		N Total
		NO	SÍ	
sexo	Hombre	20	32	52
	mujer	2	18	20
N Total		22	50	72

Tabla 39. Presencia de esteatosis en la ecografía según el sexo.

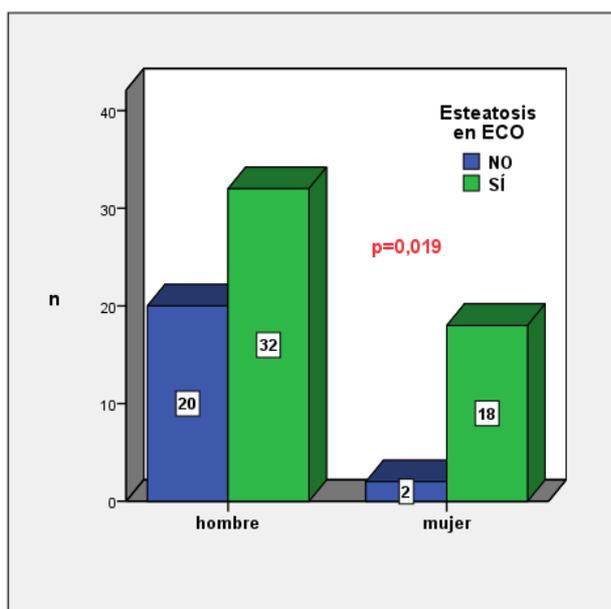


Figura 36. Presencia de esteatosis en la ecografía según el sexo.

C) Parámetros bioquímicos en relación con edad y sexo:

En las siguientes tablas se muestra que no se observaron diferencias significativas en función de edad y sexo en cuanto a los parámetros analíticos, fundamentalmente de la bioquímica hepática.

Sólo los niveles de ferritina sérica fueron significativamente más bajos en las mujeres que en los hombres.

<i>p</i> -valor = 0,188		GOT (UI/L)		N Total
		≤ 40	>40	
mediana de edad	≤ 44	21	16	37
	> 44	14	22	37
N Total		35	38	74

Tabla 40. Niveles de GOT según la mediana de edad.

<i>p</i> -valor = 0,153		GOT (UI/L)		N Total
		≤ 40	>40	
sexo	Hombre	29	25	54
	mujer	7	13	20
N Total		37	38	74

Tabla 41. Niveles de GOT según el sexo.

<i>p</i> -valor = 0,643		GPT (UI/L)		N Total
		≤ 40	>40	
mediana de edad	≤ 44	2	35	37
	> 44	3	34	37
N Total		5	69	74

Tabla 42. Niveles de GPT según la mediana de edad.

<i>p</i> -valor = 0,499		GPT (UI/L)		N Total
		≤ 40	>40	
sexo	Hombre	3	51	54
	mujer	2	18	20
N Total		5	69	74

Tabla 43. Niveles de GPT según el sexo.

<i>p</i> -valor = 1,000		GGT (UI/L)		N Total
		< 40	≥ 40	
mediana de edad	≤ 44	11	26	37
	> 44	11	26	37
N Total		22	52	74

Tabla 44. Niveles de GGT según la mediana de edad.

<i>p</i> -valor = 0,546		GGT (UI/L)		N Total
		< 40	≥ 40	
sexo	Hombre	15	39	54
	mujer	7	13	20
N Total		22	52	74

Tabla 45. Niveles de GGT según el sexo.

		Albúmina (g/dl) N=38	Plaquetas (x 10 ³ / μl) N=38	Ferritina (UI/L) N=33
mediana de edad	≤ 44	4,40	298,94	202,90
	> 44	4,23	273,65	228,94
<i>p</i>		0,116	0,076	0,561

Tabla 46. Niveles de albúmina, plaquetas y ferritina en sangre según la edad.

		Albúmina (g/dl) N=38	Plaquetas (x 10 ³ / μl) N=38	Ferritina (UI/L) N=33
sexo	Hombre	4,36	292,16	250,64
	Mujer	4,21	269,90	107,45
<i>p</i>		0,202	0,171	0,005

Tabla 47. Niveles de albúmina, plaquetas y ferritina en sangre según el sexo.

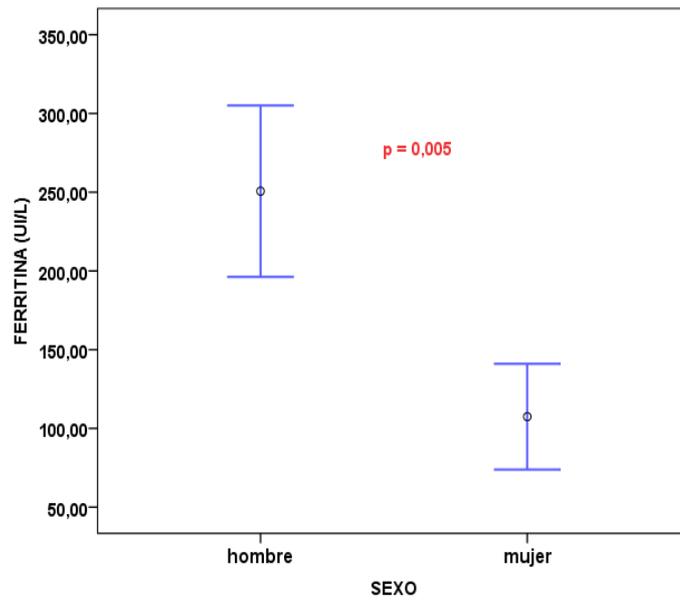


Figura 37. Niveles de ferritina en sangre según el sexo.

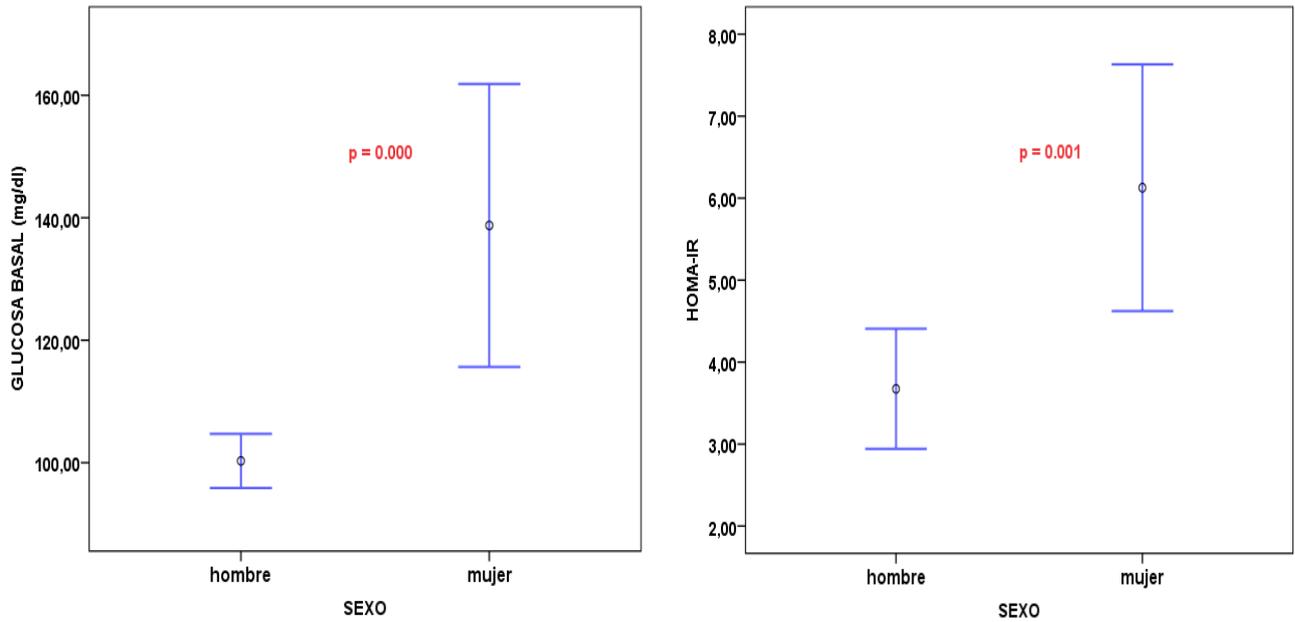
D) Síndrome Metabólico en relación con edad y sexo

- Metabolismo de la glucosa

Al estratificar por sexo, en cuanto a los niveles de glucosa basal y el HOMA, las mujeres mostraron unos niveles significativamente más altos.

	Hombre	Mujer	P
	n=55	n=20	
Glucosa basal (mg/dl)	100,29	138,75	0,000
	n=54	n=20	
Insulina basal (μU/L)	14,68	17,70	0,250
HOMA-IR	3,67	6,12	0,001

Tabla 48. Metabolismo de la glucosa: diferencias por sexo.



Figuras 38 y 39. Glucosa basal y HOMA-IR: diferencias por sexo.

Diabetes mellitus tipo 2 (DM-2): diferencias por sexo y edad

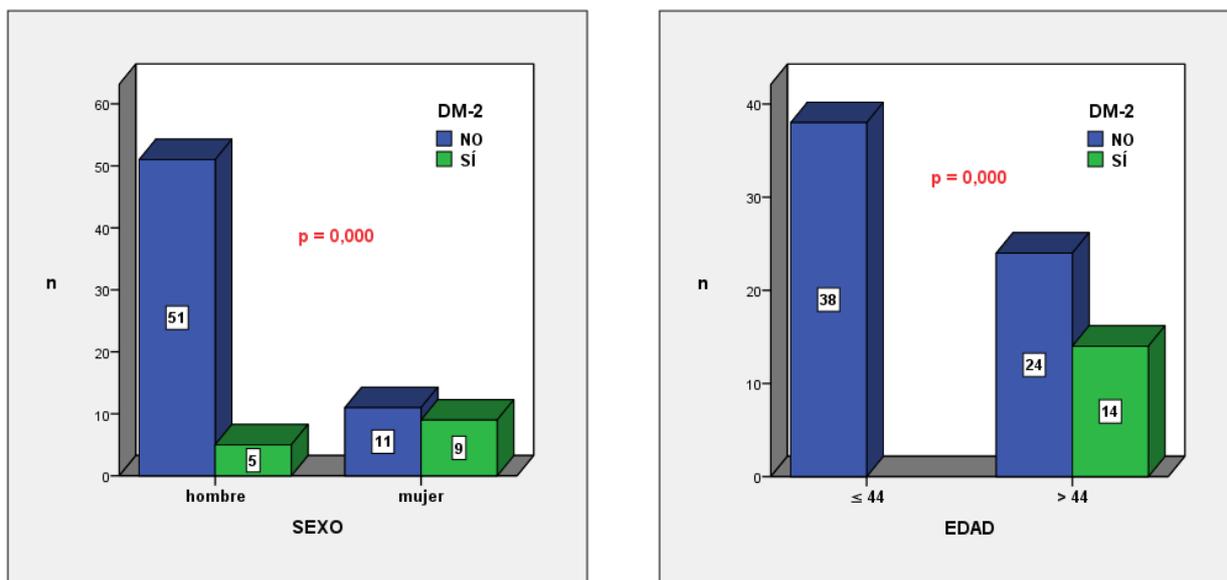
Observamos que entre nuestros pacientes, existe significativamente más DM-2 entre las mujeres que entre los hombres. En cuanto a la edad, todos los pacientes diabéticos son mayores de 44 años, siendo esta asociación significativa.

<i>p-valor = 0,000</i>		DM-2		N Total
		NO	SÍ	
sexo	Hombre	51	5	56
	mujer	11	9	20
N Total		62	14	76

Tabla 49. Presencia de DM-2: diferencias por sexo.

<i>p-valor = 0,000</i>		DM-2		N Total
		NO	SÍ	
mediana de edad	≤ 44	38	0	38
	> 44	24	14	38
N Total		62	14	76

Tabla 50. Presencia de DM-2: diferencias por edad.



Figuras 40 y 41. DM-2: diferencias por edad y sexo.

Cálculo de Resistencia a la Insulina con HOMA-IR

En la tabla 51, se muestran los valores calculados de mediana o percentil 50 (p50) y el rango intercuartílico, el percentil 25 (p25) y el percentil 75 (p75) para la insulinemia en ayunas, para el índice HOMA-IR. Se considera diagnóstico de hiperinsulinemia los valores de insulinemia en ayunas superiores al percentil 75 y, diagnóstico de Resistencia a la Insulina, los índices con valores superiores al percentil 75, superiores a la población general sin EHGNA.

	N	P25	P50	P75
Insulinemia en ayunas (μU/ml)	76	9,9	12,3	19,2
HOMA-IR	76	2,3	3,2	4,9

Tabla 51. Percentiles Resistencia a Insulina por insulinemia y HOMA.

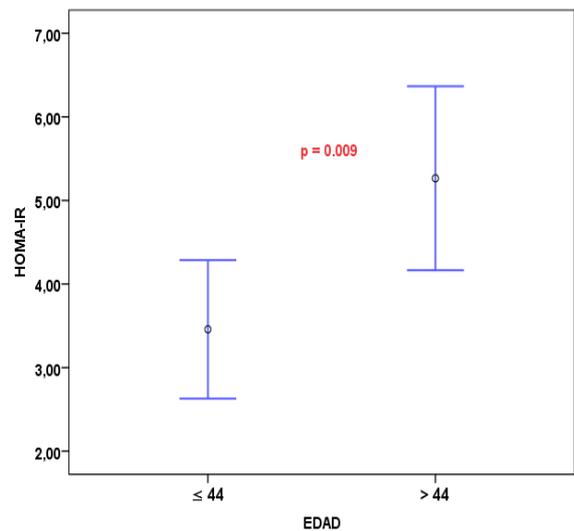
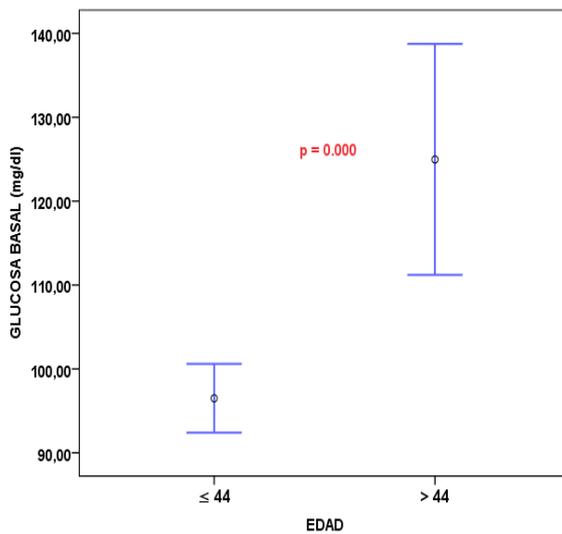
La **prevalencia** de resistencia a la insulina global fue de 26%. La **prevalencia** de resistencia a la insulina calculada con el índice HOMA, fue 14,3% en **hombres** y de 57,1% en **mujeres**, encontrándose diferencias estadísticamente significativas por género ($p < 0,0000$).

Con respecto a las diferencias por edad, los niveles de **glucosa basal**, y **HOMA-IR** fueron significativamente más altos en el grupo de mayores de 44 años.

No hubo diferencias significativas entre ambos grupos en la insulina basal, pero sí una tendencia a presentar niveles más altos en el grupo de mayor edad.

	≤ 44	> 44	P
	n=38	n=37	
Glucosa basal(mg/dl)	96,5	124,973	0,000
	n=38	n=36	
Insulina basal (μU/L)	14,3724	16,6931	0,320
HOMA-IR	3,4577	5,2651	0,009

Tabla 52. Metabolismo de la glucosa: diferencias por edad.



Figuras 42 y 43. Glucosa basal y HOMA-IR: diferencias por edad.

- Lipidograma

Al estratificar por sexo, los niveles de triglicéridos, colesterol total, HDL y LDL no presentaron diferencias significativas.

	Hombre	Mujer	P
	n=55	N=20	
Colesterol total(mg/dl)	210,47	205,9	0,733
	n=46	N=18	
Triglicéridos(mg/dl)	144,5	138,88	0,812
	n=15	N=18	
HDL(mg/dl)	53,48	51,72	0,776
LDL(mg/dl)	129,4	127,5	0,877

Tabla 53. Lipidograma: diferencias entre sexos.

Con respecto a la edad, tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas:

	≤ 44	> 44	P
	n=38	n=37	
Colesterol total(mg/dl)	205,7895	212,8108	0,553
	n=31	n=33	
Triglicéridos(mg/dl)	137,4839	148,0303	0,62
	n=32	n=31	
HDL(mg/dl)	55,125	50,7742	0,437
LDL(mg/dl)	122,5625	135,3548	0,245

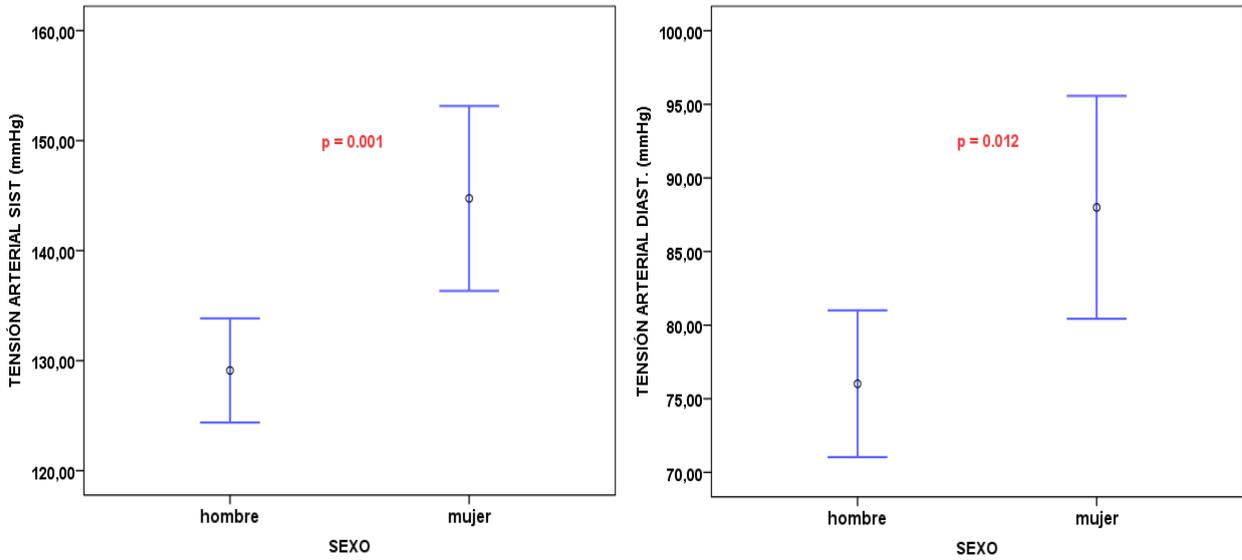
Tabla 54. Lipidograma: diferencias por edad.

- Tensión arterial

La tensión arterial tanto sistólica como diastólica fue significativamente más alta en las mujeres:

	Hombre	Mujer	P
	N=54	n=20	
Tensión sistólica (mm Hg)	129,1111	144,75	0,001
Tensión diastólica (mm Hg)	76,0185	88	0,012

Tabla 55. Tensión arterial: diferencias entre sexos.



Figuras 44 y 45. Tensión arterial sistólica y diastólica (mmHg): diferencias por sexo.

Con respecto a la edad, tensión arterial sistólica fue significativamente mayor en el grupo de edad superior a 44 años.

	≤ 44	> 44	P
	n=38	n=36	
Tensión sistólica (mm Hg)	128,0263	138,9444	0,011
Tensión diastólica (mmHg)	75,2632	83,4722	0,055

Tabla 56. Tensión arterial: diferencias por edad.

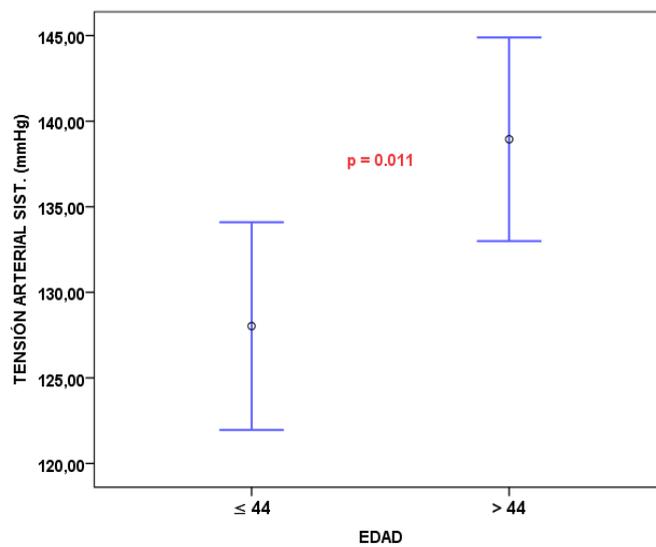


Figura 46. Tensión arterial sistólica (mmHg): diferencias por edad.

E) Parámetros antropométricos en función de edad y sexo:

- IMC

En las tablas 57 y 58, no se observan diferencias significativas al comparar el índice de masa corporal fijado en 25 (BMI>25 se considera sobrepeso), con la mediana de edad y sexo.

<i>p-valor = 0,692</i>		IMC		N Total
		≤ 25	> 25	
mediana de edad	≤ 44	4	34	38
	> 44	3	35	38
N Total		7	69	76

Tabla 57. IMC según la mediana de edad.

<i>p-valor = 0,448</i>		IMC		N Total
		≤ 25	> 25	
sexo	Hombre	6	50	56
	mujer	1	19	20
N Total		7	69	76

Tabla 58. IMC según el sexo.

En las tablas 59 y 60 con sus correspondientes gráficos (46 y 47), se aprecia que en nuestra muestra, los pacientes mayores de 44 años y las mujeres, presentan con más frecuencia un IMC mayor de 30 (que define la obesidad), siendo estas diferencias estadísticamente significativas en el caso de la edad.

Lo mismo sucede en las mujeres si analizamos los pacientes con obesidad mórbida (IMC > 40)(tablas 61 y 62), pero, en este caso, no se encuentran diferencias estadísticamente significativas al comparar con la mediana de edad.

<i>p-valor = 0,022</i>		IMC		N Total
		≤ 30	> 30	
mediana de edad	≤ 44	25	13	38
	> 44	15	23	38
N Total		40	36	76

Tabla 59. IMC según la mediana de edad.

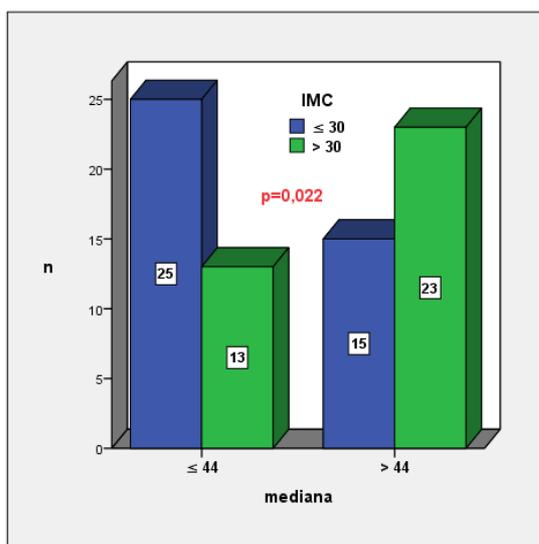


Figura 47. IMC según la mediana de edad.

<i>p-valor = 0,066</i>		IMC		N Total
		≤ 30	> 30	
sexo	Hombre	33	23	56
	mujer	7	13	20
N Total		40	36	76

Tabla 60. IMC según el sexo.

<i>p-valor = 0,089</i>		IMC		N Total
		≤ 40	> 40	
mediana de edad	≤ 44	37	1	38
	> 44	33	5	38
N Total		70	6	76

Tabla 61. IMC según la mediana de edad.

<i>p-valor = 0,019</i>		IMC		N Total
		≤ 40	> 40	
sexo	Hombre	54	2	56
	mujer	16	4	20
N Total		70	6	76

Tabla 62. IMC según el sexo.

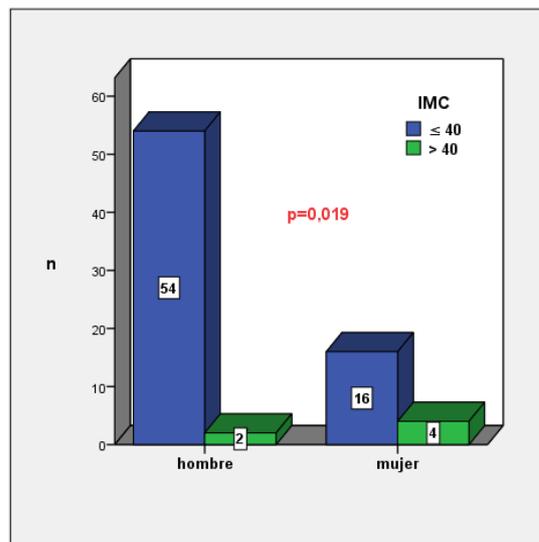


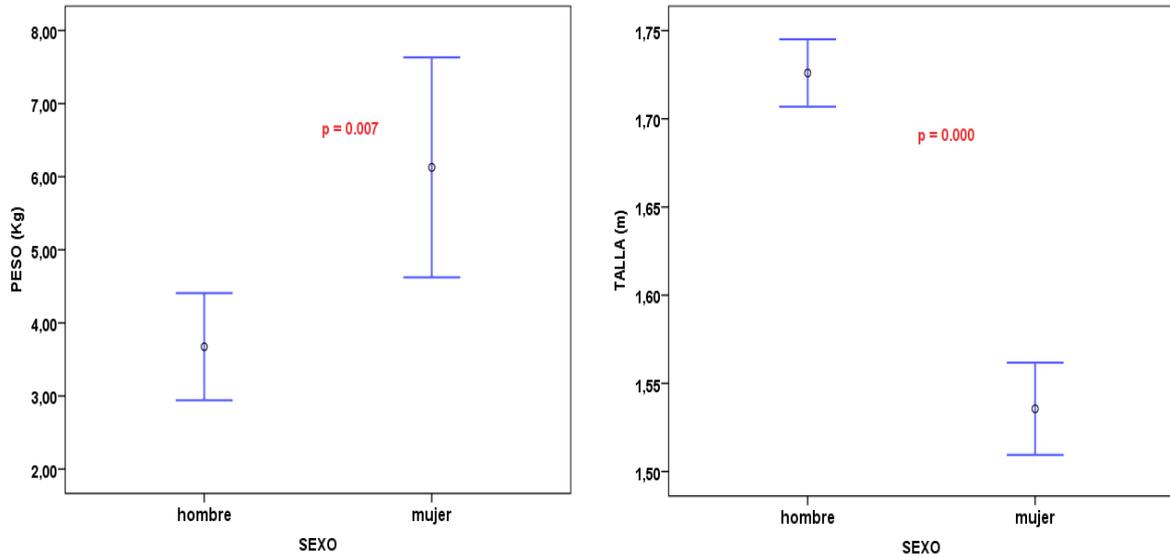
Figura 48. IMC según el sexo.

- Peso y talla

Al estratificar por sexo, el peso fue significativamente mayor en las mujeres, y la talla, significativamente menor en las mismas.

	Hombre n=56	Mujer n=20	P
Peso (kg)	88,08	77,65	0,007
Talla (m)	1,72	1,53	0,000

Tabla 63. Peso y talla: diferencias por sexo.



Figuras 49 y 50. Peso y talla.

Al estratificar por edad, se observa que los pacientes mayores de 44 años presentan una estatura significativamente más baja que el otro grupo de edad. Para el peso no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

	≤ 44 n=38	> 44 n=38	P
Peso (kg)	88,41	82,25	0,073
Talla (m)	1,73	1,61	0,000

Tabla 64. Peso y talla: diferencias por edad.

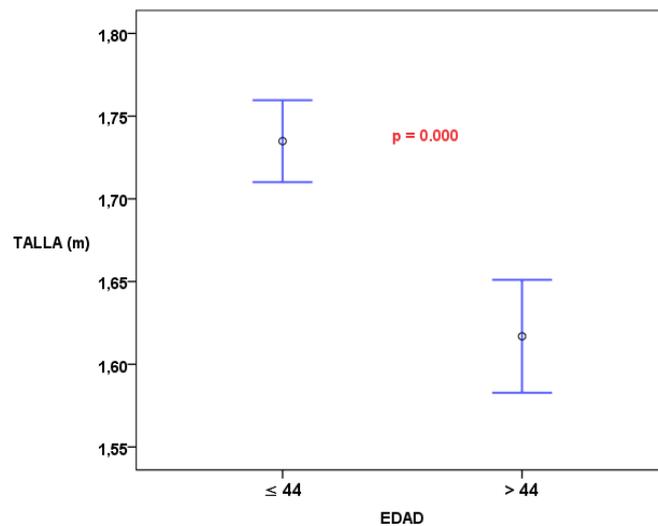


Figura 51. Talla: diferencia por grupos de edad.

- Cintura, cadera e ICC

Los hombres presentaron un índice de cintura/cadera mayor que las mujeres, siendo esta diferencia estadísticamente significativa, no así al comparar las circunferencias de cintura y cadera por separado.

	Hombre n=49	Mujer n=19	P
Cintura (cm)	99,36	99,15	0,949
	N=53	n=18	
Cadera (cm)	105,31	109,81	0,62
	N=46	n=16	
ICC	0,95	0,90	0,007

Tabla 65. Cintura, cadera, e ICC: diferencias por sexo. ICC: Índice Cintura /Cadera

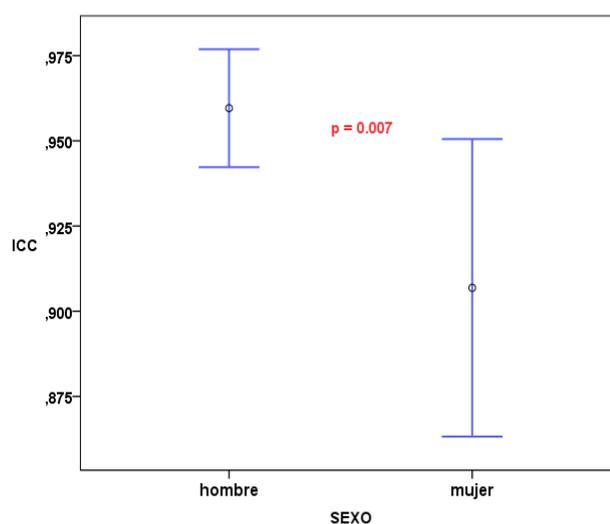


Figura 52. ICC: diferencia por sexo. ICC: Índice Cintura /Cadera.

Con respecto a la edad, no se encontraron diferencias entre el grupo de más edad y el de menos, en estos mismos parámetros.

	≤ 44 n=34	> 44 n=34	P
Cintura (cm)	98,52	100,17	0,584
	N=35	n=36	
Cadera (cm)	105,60	107,28	0,429
	N=29	n=33	
ICC	0,94	0,94	0,971

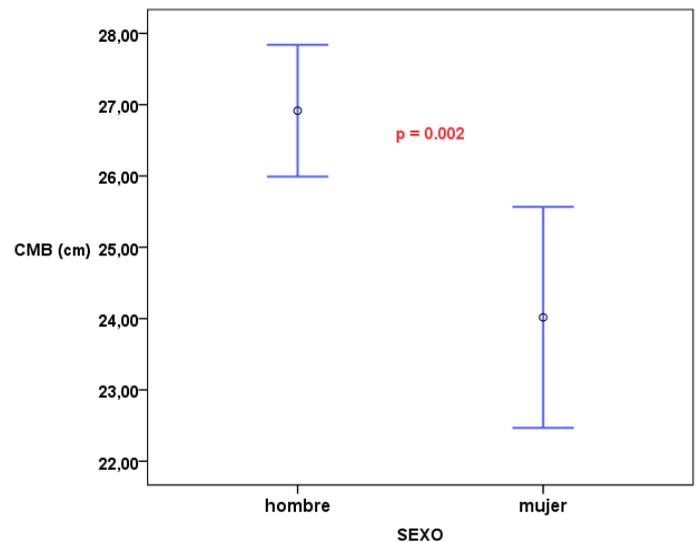
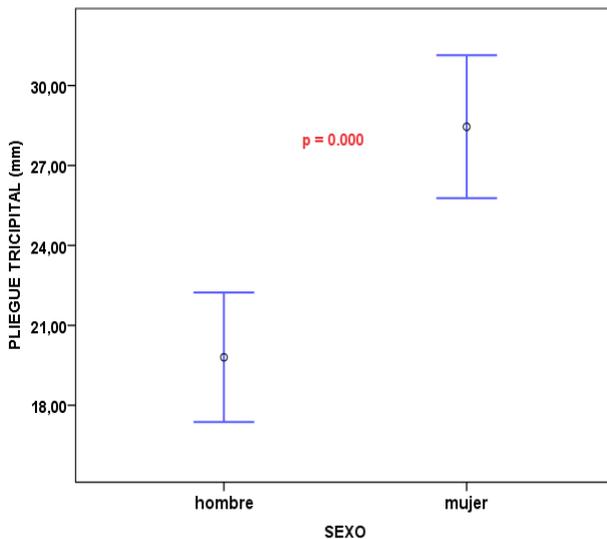
Tabla 66. Cintura, cadera, e ICC: diferencias por edad. ICC: Índice Cintura /Cadera.

- Pliegue tricpital, circunferencia braquial y circunferencia muscular del brazo (CMB)

Al analizar en función del sexo, el pliegue tricpital fue mayor en las mujeres, de forma significativa, y también lo fue la circunferencia muscular del brazo, que en este caso presentó un valor más bajo que en los hombres. En la medida de la circunferencia braquial no se encontraron diferencias.

	Hombre n=56	Mujer n=19	P
Circunferencia braquial (cm)	33,12	32,95	0,868
Pliegue tricpital (mm)	19,80	28,45	0,000
CMB (cm)	26,91	24,01	0,002

Tabla 67. Pliegue tricpital, circunferencia braquial y CMB: diferencias por sexo.



Figuras 53 y 54. Pliegue tricpital y CMB: diferencias por sexo..

Entre los dos grupos de edad se encontró que la medida de la CMB fue menor en el grupo de pacientes mayores de 44 años.

	≤ 44 n=38	> 44 n=37	P
Circunferencia braquial (cm)	33,64	32,5	0,201
Pliegue tricipital (mm)	21,14	22,86	0,416
CMB (cm)	27,01	25,32	0,042

Tabla 68. Pliegue tricipital, circunferencia braquial y CMB: diferencias por edad.

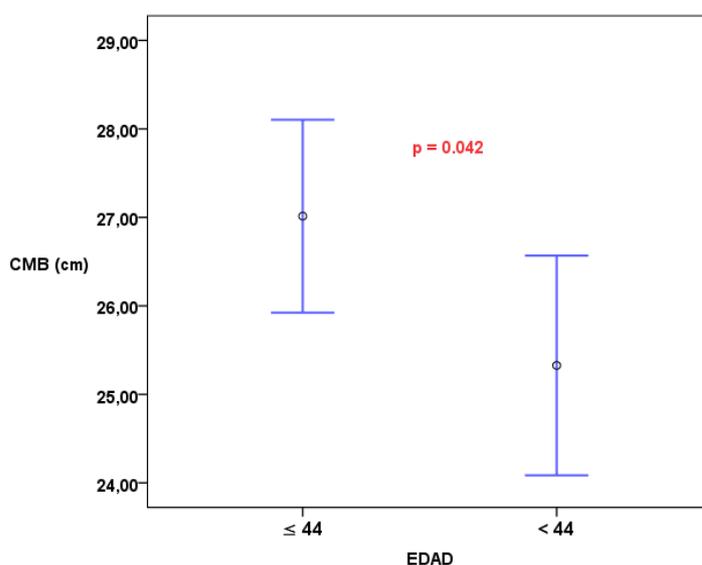


Figura 55. Circunferencia muscular del brazo (CMB): diferencia por edad.

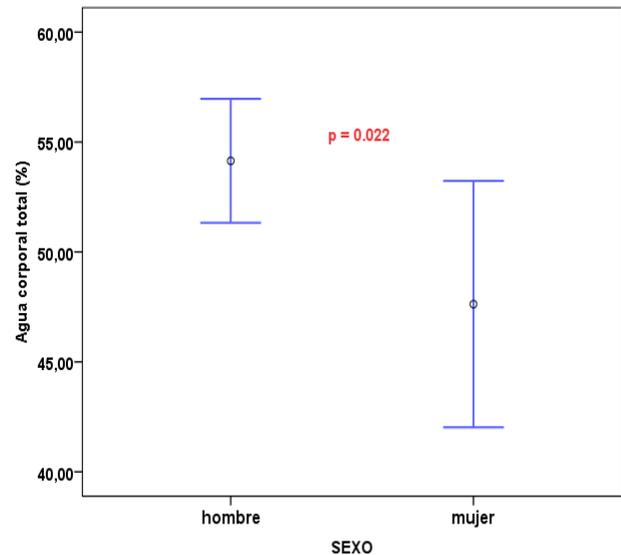
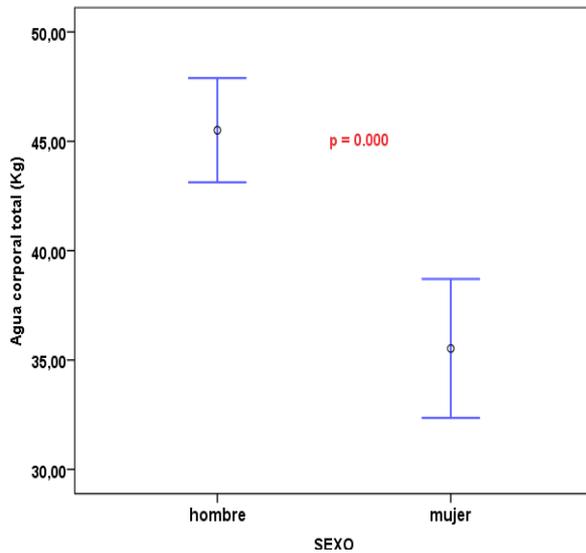
F) Impedanciometría

Los resultados de bioimpedancia estratificados por sexo se recogen en la siguiente tabla. Se objetivaron valores más altos significativamente en hombres de agua corporal total, agua extracelular, masa magra, así como del gasto energético basal; por el contrario, en las mujeres se observaron valores significativamente superiores del porcentaje de masa grasa.

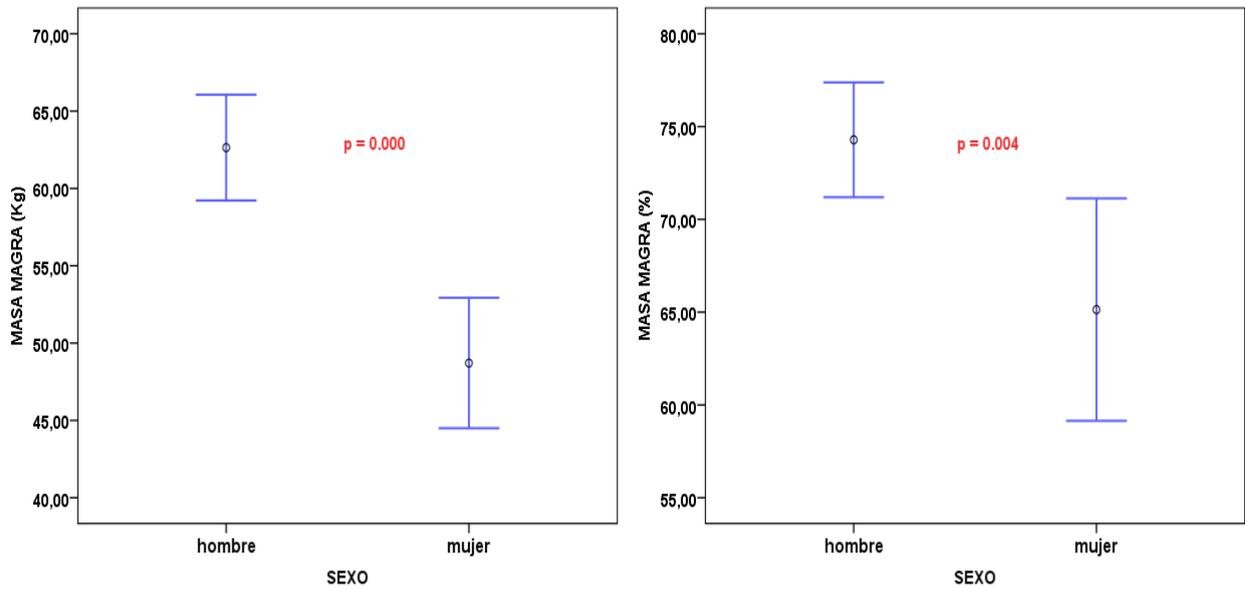
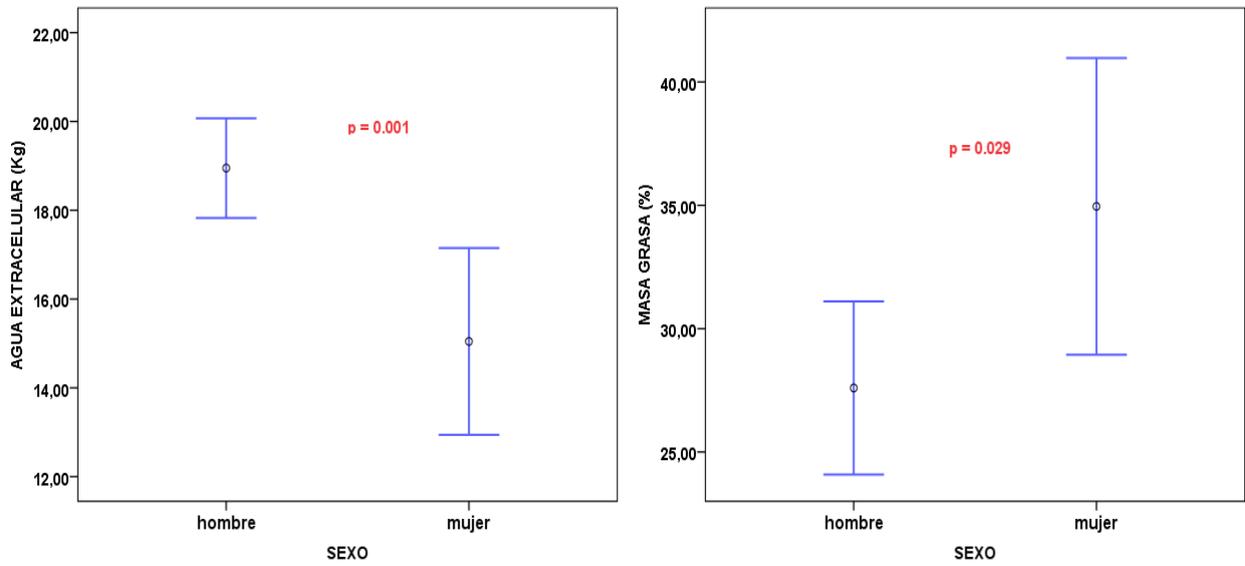
En cuanto al ángulo de fase, también se obtuvo una cifra significativamente más alta en los hombres que en las mujeres.

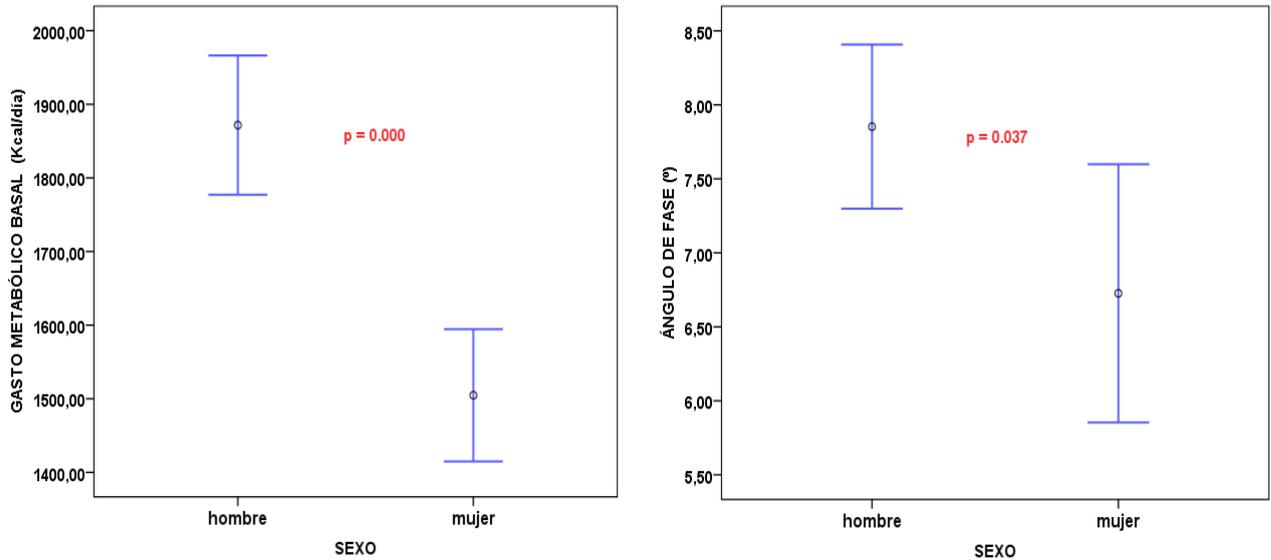
	Hombre n=30	Mujer n=11	P
Agua corporal total (Kg)	45,50	35,52	0,000
Agua corporal total (%)	54,1	47,62	0,022
Agua extracelular (Kg)	18,95	15,04	0,001
Agua extracelular (%)	41,92	42,06	0,947
	n=29	n=11	
Masa grasa(Kg)	22,77	27,31	0,132
Masa grasa(%)	27,59	34,95	0,029
	n=30	n=11	
Masa magra (Kg)	62,64	48,70	0,000
Masa magra (%)	74,28	65,13	0,004
Gasto metabólico basal (Kcal/día)	1871,73	1504,72	0,000
	n=55	n=19	
Angulo de fase(°)	7,85	6,72	0,037

Tabla 69. Impedanciometría: diferencias por sexo.



Figuras 56 y 57. Agua corporal total: diferencias por sexo.





Figuras 62 y 63. Gasto metabólico basal: diferencias por sexo. Ángulo de fase: diferencias por sexo

Al estratificar por edad se observan los siguientes parámetros en la tabla 60, donde puede apreciarse que no hay diferencias significativas entre los dos grupos de edad.

	≤ 44 n=21	> 44 n=20	P
Agua corporal total (Kg)	44,48	41,09	0,145
Agua corporal total (%)	53,38	51,35	0,434
Agua extracelular (Kg)	18,71	17,04	0,124
Agua extracelular (%)	42,59	41,29	0,463
	N=20	n=20	
Masa grasa(Kg)	24,04	24,00	0,988
Masa grasa(%)	29,80	29,43	0,904
	N=21	n=21	
Masa magra (Kg)	61,04	56,65	0,183
Masa magra (%)	72,98	70,61	0,422
Gasto metabólico basal (Kcal/día)	1850,47	1692,2	0,069
	N=37	n=37	
Angulo de fase(°)	7,95	7,17	0,098

Tabla 69. Impedanciometría: diferencias por edad.

G) Hábitos de vida en función de edad y sexo

No se observaron diferencias significativas entre los dos grupos, divididos según la mediana de edad y según el sexo, en cuanto a los hábitos de realización de ejercicio físico (3 horas semanales de ejercicio aeróbico), hábito tabáquico y la toma de alcohol (>20 g/día las mujeres y >30 g/día los hombres).

<i>p-valor = 0,117</i>		Ejercicio		N Total
		NO	SÍ	
mediana de edad	≤ 44	26	11	37
	> 44	20	18	38
N Total		46	29	75

Tabla 70. Hábito del ejercicio físico según la mediana de edad.

<i>p-valor = 0,497</i>		Ejercicio		N Total
		NO	SÍ	
sexo	Hombre	35	20	55
	mujer	11	9	20
N Total		46	29	75

Tabla 71. Hábito del ejercicio físico según el sexo.

<i>p-valor = 0,533</i>		Tabaco		N Total
		NO	SÍ	
mediana de edad	≤ 44	28	9	37
	> 44	31	7	38
N Total		59	16	75

Tabla 72. Hábito tabáquico según la mediana de edad.

<i>p-valor = 0,865</i>		Tabaco		N Total
		NO	SÍ	
sexo	Hombre	43	12	55
	mujer	16	4	20
N Total		59	16	75

Tabla 73. Hábito tabáquico según el sexo.

<i>p</i> -valor = 0,638		Alcohol		N Total
		NO	SÍ (<20g/día)	
mediana de edad	≤ 44	26	9	35
	> 44	30	8	38
N Total		56	17	73

Tabla 74. Hábito alcohólico según la mediana de edad.

<i>p</i> -valor = 0,099		Alcohol		N Total
		NO	SÍ (<20g/día)	
sexo	Hombre	38	15	53
	mujer	18	2	20
N Total		56	17	73

Tabla 75. Hábito alcohólico según el sexo.

H) Encuesta nutricional en función de edad y sexo

- Macronutrientes

En la tabla 76 se objetiva que los hombres presentaron una ingesta significativamente más alta de calorías, proteínas, hidratos de carbono, lípidos totales, ácidos grasos tanto saturados como insaturados, y de colesterol total, todo ello por día.

	Hombre	Mujer	p
	n=50	n=18	
Calorías(Kcal)	2315,55	1670,22	0,001
Proteínas(g)	97,90	84,83	0,057
Hidratos de carbono(g)	281,60	182,96	0,099
Lípidos (g):	99,67	61,82	0,000
Ác. Grasos Saturados (g)	27,92	15,18	0,000
Ác. Grasos Monoinsaturados(g)	44,12	29,16	0,003
Ác. Grasos Poliinsaturados (g)	10,44	6,36	0,006
EPA (g)	0,15	0,11	0,544
DHA (g)	0,32	0,17	0,166
Colesterol (mg)	482,42	347,53	0,034
Fibra(g)	16,37	17,82	0,495

Tabla 76. Ingesta de macronutrientes: diferencias por sexo. EPA: ácido eicosapentaenoico. DHA: ácido docosahexaenoico.

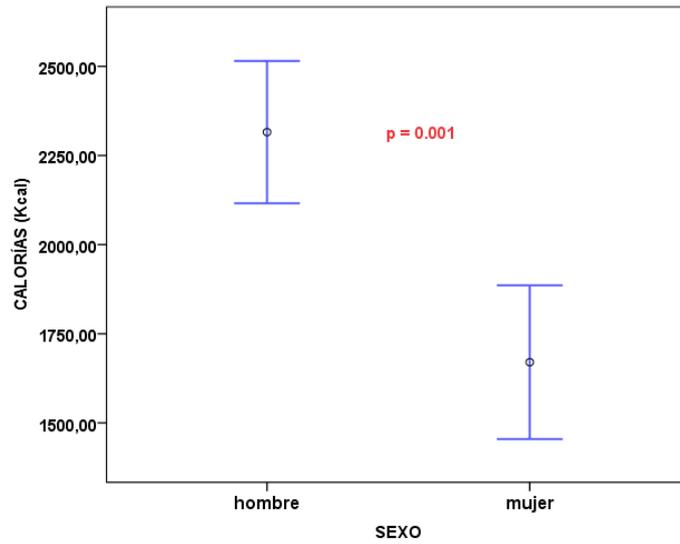
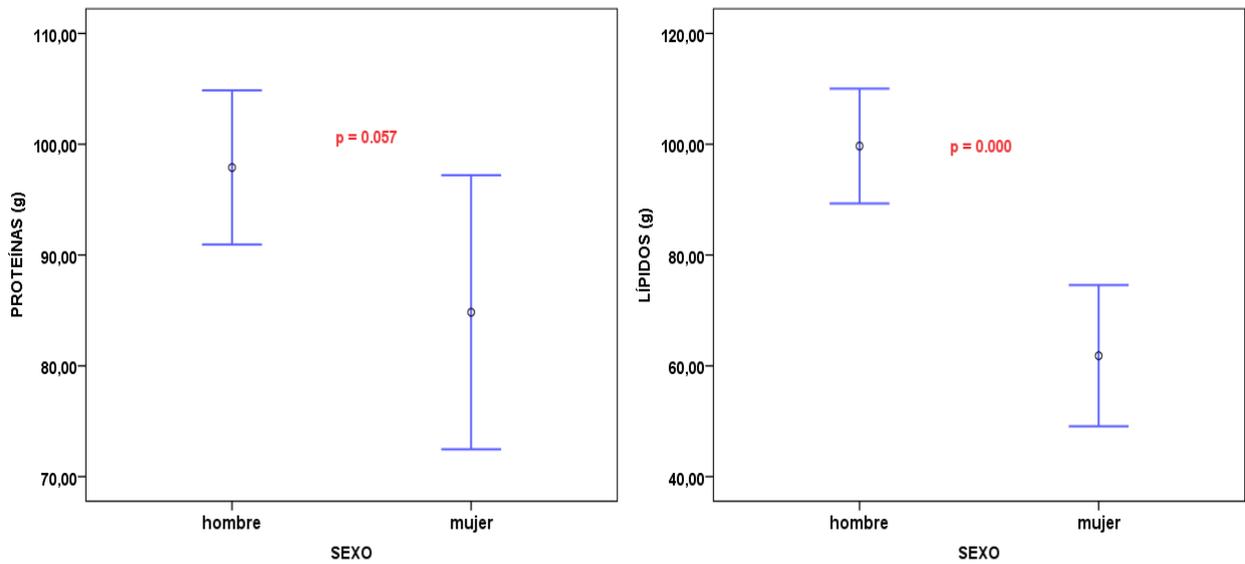
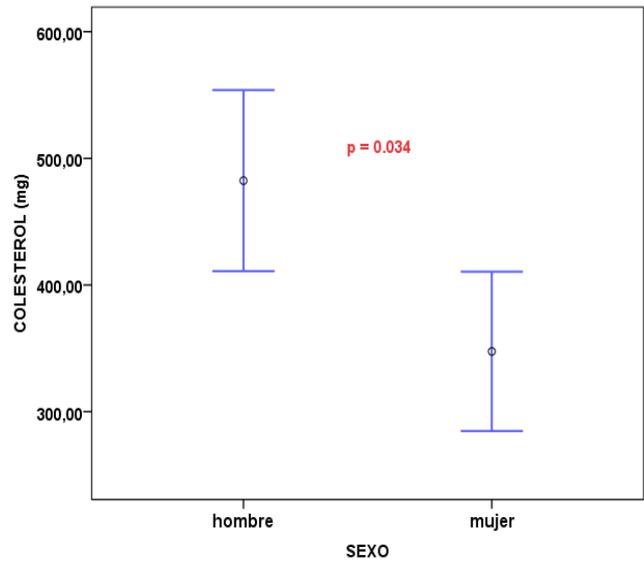
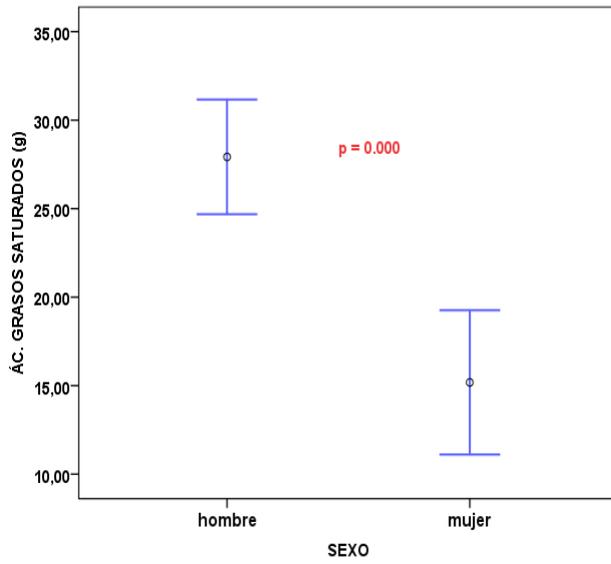


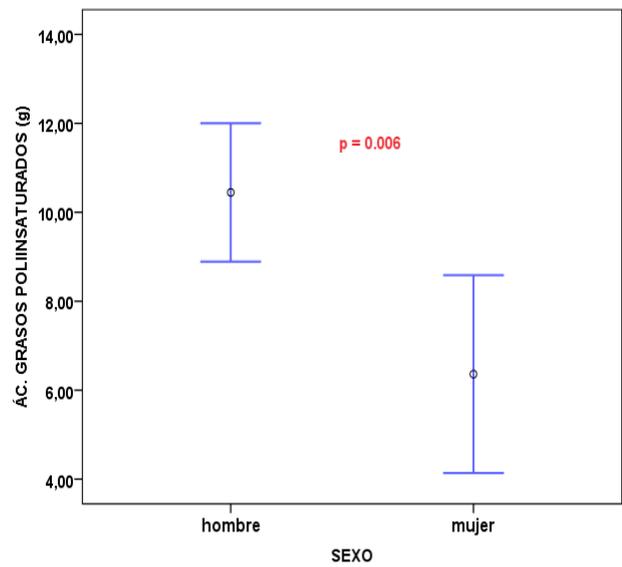
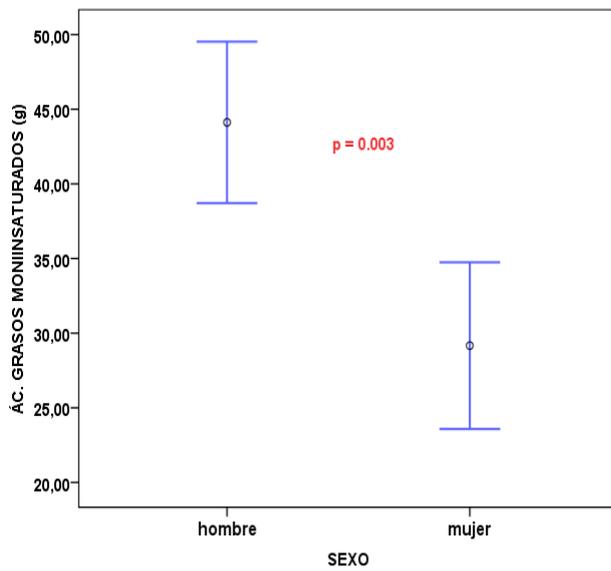
Figura 64. Calorías de la dieta: diferencias por sexo



Figuras 65 y 66. Proteínas y lípidos de la dieta (g): diferencias por sexo.



Figuras 67 y 68. Ácidos grasos saturados (g) y colesterol (mg): diferencias por sexo.



Figuras 69 y 70. Ácidos grasos mono y poliinsaturados (g): diferencias por sexo.

A continuación se muestra la diferencia de la ingesta de macronutrientes en función de la edad:

	≤ 44	> 44	P
	N=33	N=35	
Calorías(Kcal)	2349,46	1951,69	0,018
Proteínas(g)	98,43	90,68	0,205
Hidratos de carbono(g)	247,19	263,31	0,762
Lípidos (g):	104,29	75,85	0,001
Ác. Grasos Saturados (g)	29,58	19,80	0,001
Ác. Grasos Monoinsaturados(g)	45,93	34,72	0,011
Ác. Grasos Poliinsaturados (g)	10,96	7,85	0,019
EPA (g)	0,12	0,16	0,547
DHA (g)	0,28	0,28	0,932
Colesterol (mg)	492,17	403,85	0,118
Fibra(g)	14,66	18,72	0,027

Tabla 77. Ingesta de macronutrientes: diferencias por edad. EPA: ácido eicosapentaenoico. DHA: ácido docosahexaenoico.

Al estratificar por edad, encontramos que los pacientes que tienen 44 años o menor edad, consumen significativamente más calorías, lípidos totales y ácidos grasos saturados e insaturados. Por otra parte observamos que los pacientes mayores de 44 años consumen, de forma significativa, más fibra que los más jóvenes.

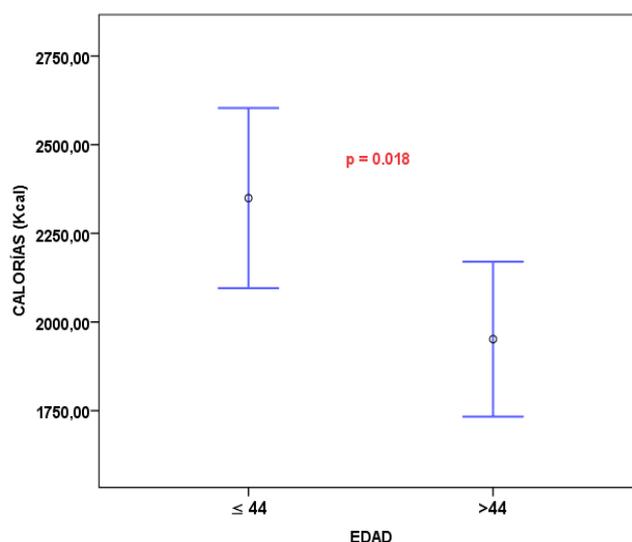
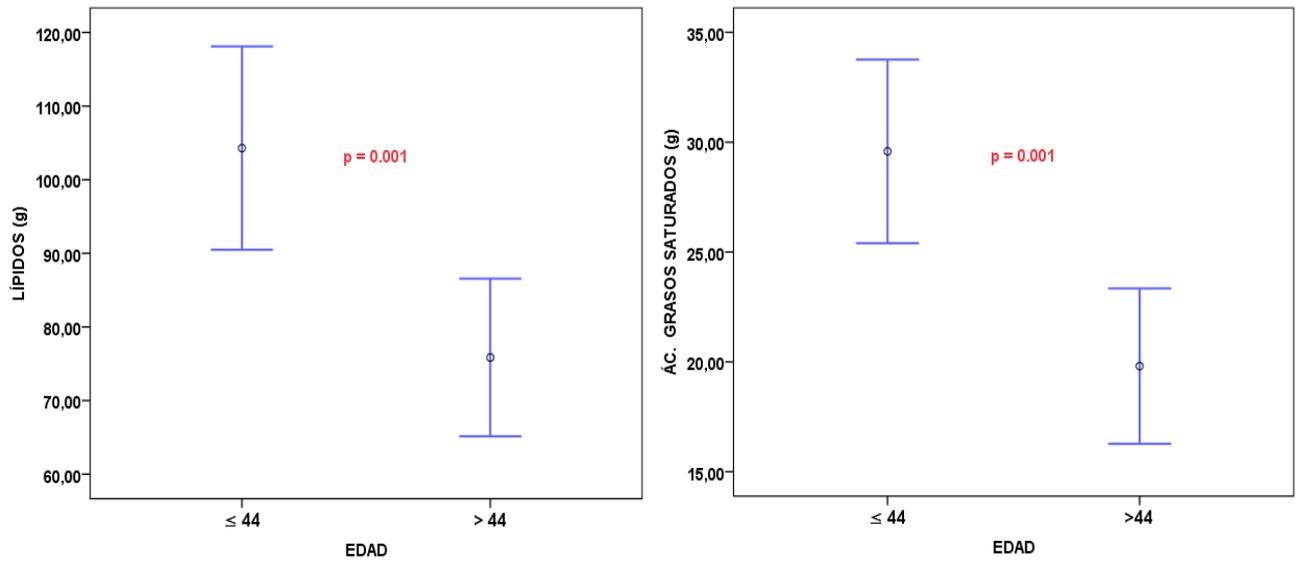
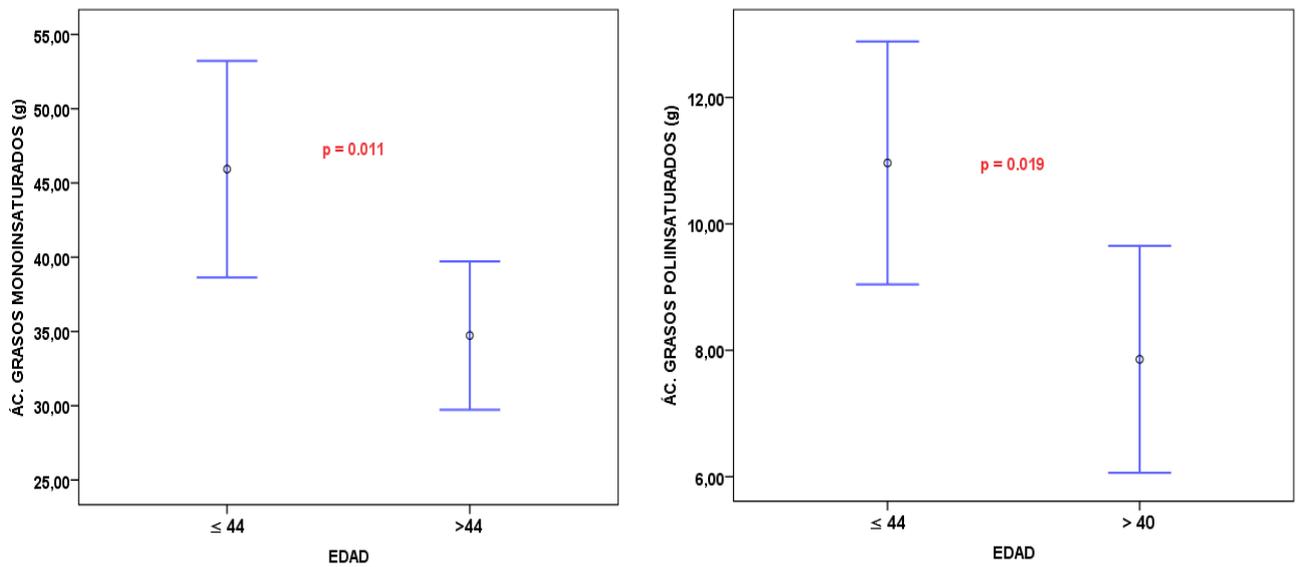


Figura 71. Calorías de la dieta (Kcal): diferencias por edad.



Figuras 71 y 72. Lípidos y ácidos grasos saturados (g) en la dieta: diferencias por edad.



Figuras 73 y 74. Ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados (g) en la dieta: diferencias por edad.

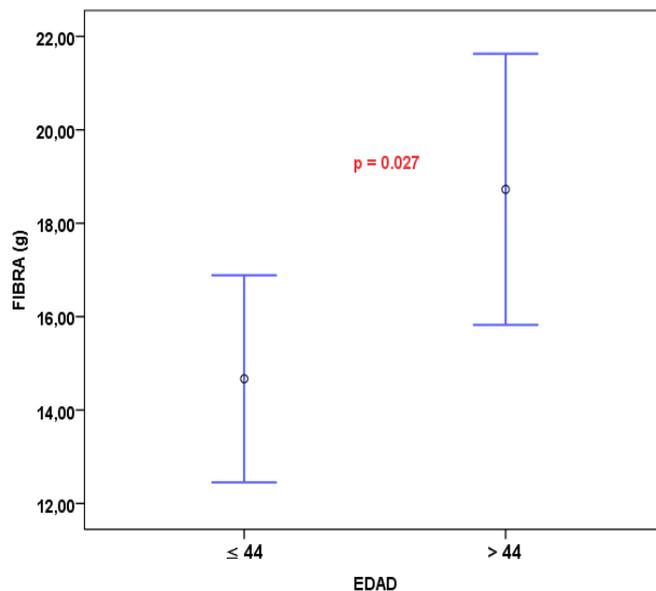


Figura 75. Fibra en la dieta (g): diferencias por edad.

- Minerales

La ingesta de sodio fue significativamente más alta en hombres. En el resto de minerales se objetivó una tendencia no significativa a un consumo también más alto en los hombres, excepto en el yodo y flúor (tabla 78).

Minerales / día	Hombre	Mujer	P
	n=50	n=18	
Fósforo (mg)	1460,57	1363,55	0,411
Magnesio (mg)	269,36	254,48	0,557
Calcio (mg)	1006,44	932,92	0,449
Hierro (mg)	14,30	12,35	0,113
Zinc (mg)	11,786	10,34	0,191
Sodio (mg)	2265,51	1516,43	0,016
Potasio (mg)	2879,85	2737,25	0,562
Yodo (microg)	60,35	62,69	0,892
Selenio (microg)	89,94	53,09	0,075
Cobre (microg)	1129,37	875,11	0,103
Flúor (microg)	424,57	513,21	0,305

Tabla 78. Ingesta de minerales: diferencias por sexo.

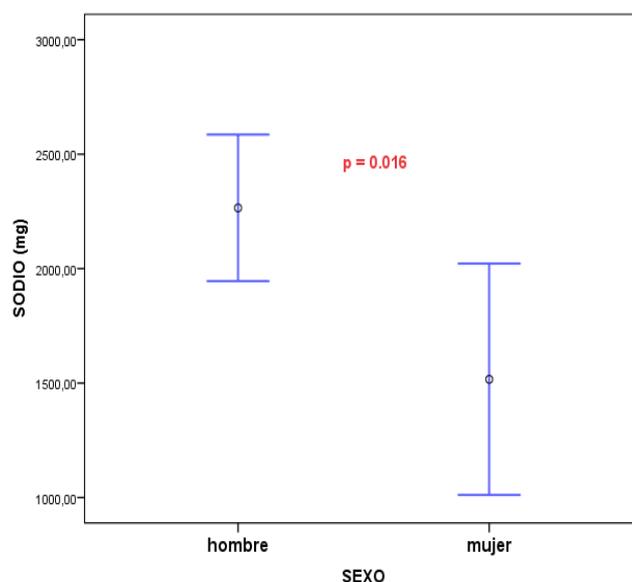


Figura 76. Ingesta de Sodio en la dieta (mg) por día: diferencias por sexo.

Con respecto a la edad, el consumo de flúor es significativamente mayor en los pacientes de más de 44 años. No se observan otras diferencias significativas, aunque sí tendencias como el mayor consumo de potasio en los pacientes de más de 44 años, y menor consumo de sodio en éste mismo grupo.

Minerales	≤ 44	> 44	P
	n=33	N=35	
Fósforo (mg)	1431,96	1437,65	0,957
Magnesio (mg)	261,30	269,31	0,721
Calcio (mg)	990,78	983,39	0,931
Hierro (mg)	14,30	13,30	0,362
Zinc (mg)	11,82	11,00	0,404
Sodio (mg)	2336,06	1813,76	0,059
Potasio (mg)	2659,05	3014,57	0,099
Yodo (microg)	58,37	63,42	0,738
Selenio (microg)	82,94	77,59	0,772
Cobre (microg)	1174,17	956,36	0,114
Flúor (microg)	363,86	527,40	0,03

Tabla 79. Ingesta de minerales: diferencias por edad

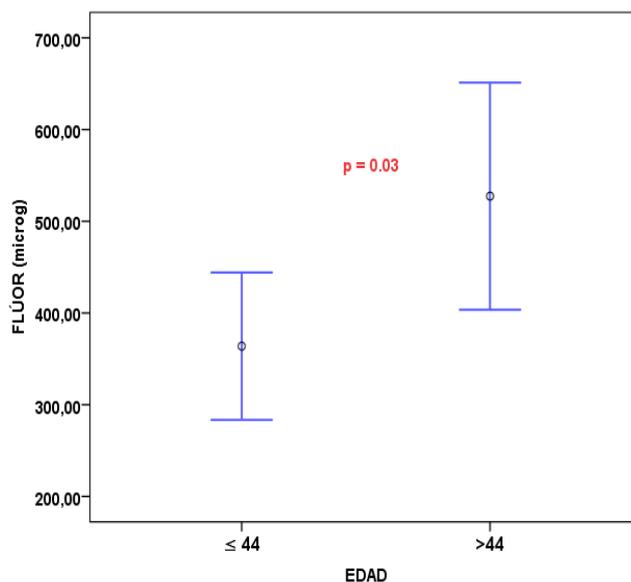


Figura 77. Flúor en la dieta (5): diferencias por edad.

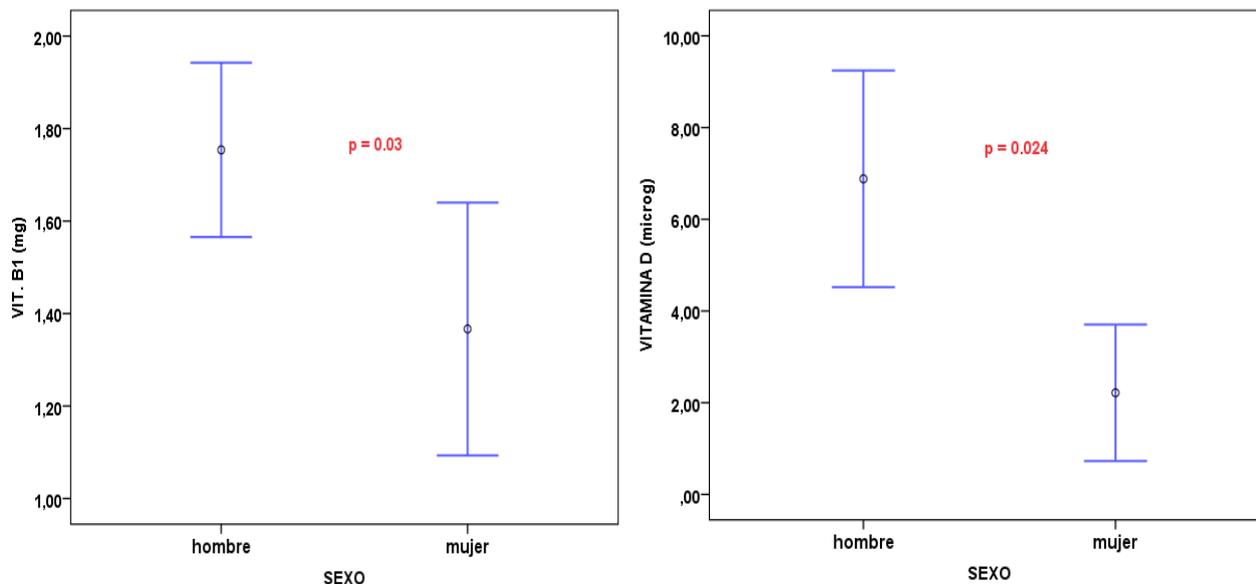
- Vitaminas

Se objetivó una ingesta significativamente más baja de vitaminas D y B1 en mujeres que en hombres. También se aprecia una tendencia al mayor consumo de vitamina A por parte de las mujeres y a un mayor consumo de vitamina B12 por parte de los hombres, sin diferencias significativas.

Todo ello se muestra en la tabla 80.

Vitaminas	Hombre	Mujer	P
	N=50	n=18	
Vitamina A (microg)	1636,54	2005,13	0,207
Vitamina B1 (mg)	1,75	1,36	0,03
Vitamina B2 (mg)	1,71	1,61	0,545
Niacina (mg)	22,23	18,72	0,121
Vitamina B6 (mg)	1,82	1,83	0,942
Vitamina B12 (microg)	6,04	4,50	0,134
Vitamina C (mg)	146,24	136,42	0,709
Vitamina D (microg)	6,88	2,21	0,024
Vitamina E (mg)	8,73	8,67	0,964
Ac. Fólico libre (microg)	114,14	107,06	0,637
Ac. Fólico total (microg)	210,21	223,81	0,605

Tabla 80. Ingesta de vitaminas: diferencias por sexo.

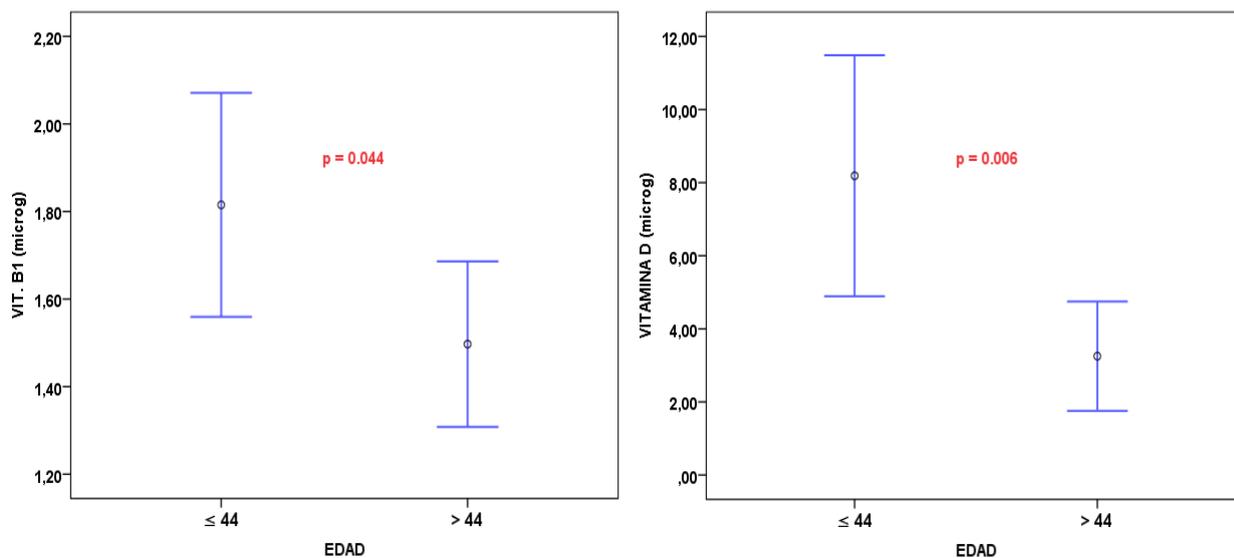


Figuras 78 y 79. Vitaminas B1 y D (5) en la dieta: Diferencias por sexo.

Al clasificar por edad, se observa que los pacientes menores de 44 años consumen significativamente más vitaminas B1 y D que aquellos mayores de 44 años. En los demás parámetros no se observan otras diferencias significativas.

Vitaminas	≤ 44	> 44	P
	n=33	n=35	
Vitamina A (microg)	1513,59	1942,03	0,095
Vitamina B1 (mg)	1,81	1,49	0,044
Vitamina B2 (mg)	1,62	1,75	0,379
Niacina (mg)	21,74	20,9	0,676
Vitamina B6 (mg)	1,68	1,96	0,166
Vitamina B12 (microg)	5,78	5,5	0,758
Vitamina C (mg)	136,70	150,18	0,561
Vitamina D (microg)	8,18	3,25	0,006
Vitamina E (mg)	8,00	9,38	0,216
Ac. Fólico libre (microg)	108,02	116,26	0,534
Ac. Fólico total (microg)	199,45	227,38	0,228

Tabla 81. Ingesta de vitaminas: diferencias por edad.



Figuras 80 y 81. Vitaminas B1 y D (5) en la dieta: Diferencias por edad.

I) Adipocitokinas en función de edad y sexo

Al estratificar por sexos, los niveles de leptina fueron claramente superiores en las mujeres que en los hombres, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. En el resto no se aprecian diferencias reseñables.

	Hombre	Mujer	P
	n=47	n=17	
TNF (pg/mL)	6,56	6,57	0,998
il-6 (ng/mL)	3,82	4,23	0,864
Visfatina	13,78	12,48	0,469
	n=20	n=20	
Adiponectina (microg/mL)	20,83	25,22	0,495
	n=49	n=17	
Resistina	3,19	4,10	0,089
	n=50	n=19	
Leptina (ng/mL)	20,76	57,49	0,000

Tabla 82. Adipocitokinas: diferencias entre sexos.

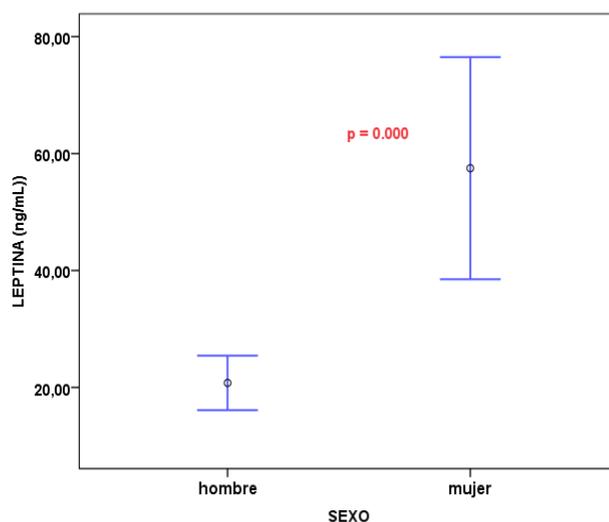


Figura 82. Leptina: diferencias por sexo.

Con respecto a las diferencias por grupos de edad, los niveles de leptina se mostraron superiores de forma significativa en los pacientes mayores de 44 años.

	≤ 44	> 44	P
	N=33	n=31	
TNF (pg/mL)	6,8791	6,2406	0,520
il-6 (ng/mL)	3,8348	4,0416	0,921
Visfatina	13,7021	13,1601	0,734
	N=35	n=35	
Adiponectina (microg/mL)	21,0371	23,1351	0,719
	N=34	n=32	
Resistina	3,2653	3,6047	0,473
	N=35	n=34	
Leptina (ng/mL)	22,3314	39,6826	0,014

Tabla 83. Adipocitokinas: diferencias por edad

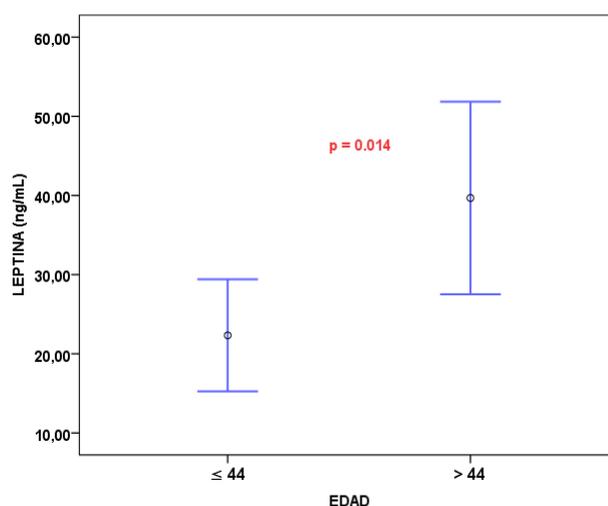


Figura 83. Leptina: diferencias por edad.

5.2. ESTADÍSTICA INFERENCIAL

5.2.1. Análisis de las diferentes variables estudiadas en función del diagnóstico de EHNA según el NAS-score (Kleiner). Se define esteatohepatitis no alcohólica cuando es ≥ 5 .

A) Parámetros histológicos:

Comprobamos de forma significativa que la mayoría de los pacientes sin esteatohepatitis no alcohólica según el NAS-score (puntuación mayor o igual a 5), no presentan fibrosis en la biopsia hepática. En cambio, observamos cómo aunque haya pacientes que no cumplen los criterios histológicos de EHNA, van a presentar fibrosis.

<i>p-valor = 0,000</i>		NAS-score		N Total
		< 5	≥ 5	
Fibrosis	NO	33	4	37
	SÍ	20	19	39
N Total		53	23	76

Tabla 84. Comparación del NAS-score según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia.

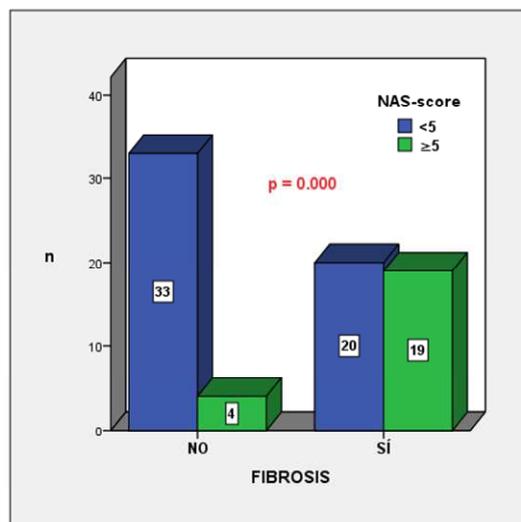


Figura 84. Comparación del NAS-score según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia.

B) Parámetros epidemiológicos:

Expuesto en 5.1.2. Apartado A). Remitimos a **Tablas 31 y 32.**

C) Parámetros radiológicos (ecografía):

Se aprecia de forma significativa, que los pacientes que no presentan EHNA en la muestra de biopsia hepática tampoco presentan esteatosis en la ecografía.

Y también de forma significativa observamos que los que presentan esteatosis leve no van a mostrar EHNA en la biopsia hepática.

<i>p-valor = 0,002</i>		NAS -score		N Total
		< 5	≥5	
Esteatosis en ecografía	NO	21	1	22
	SÍ	30	20	50
N Total		51	21	72

Tabla 85. Comparación del NAS según la presencia o ausencia de esteatosis en ecografía.

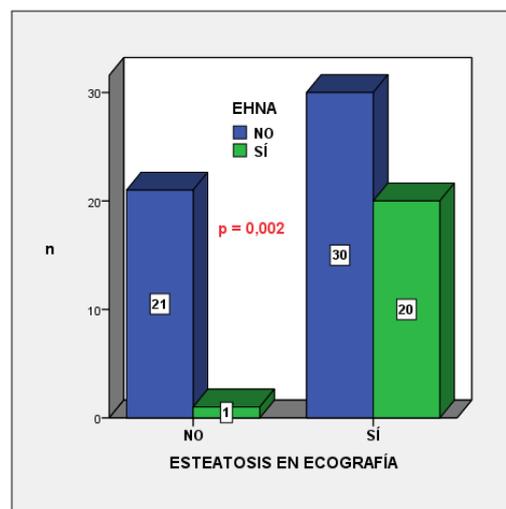


Figura 85. Comparación del NAS según presencia o ausencia de esteatosis en ecografía.

D) Parámetros analíticos:

Se observa que la albúmina es significativamente más baja en los pacientes con EHNA en la biopsia hepática. En el resto no se aprecian diferencias significativas.

	NAS-score		p
	< 5	≥5	
	N = 52	N= 22	
GOT (UI/L)	45,94	49,27	0,615
GPT (UI/L)	79,23	91,95	0,296
GGT (UI/L)	102,05	70,00	0,076
	N = 45	N= 21	
Ferritina (UI/L)	220,11	206,96	0,785
	N = 53	N= 23	
Albúmina (g/dl)	4,39	4,15	0,035
Plaquetas (x 10 ³ / μl)	293,70	269,26	0,116

Tabla 86. Comparación del NAS según las diferentes variables bioquímicas.

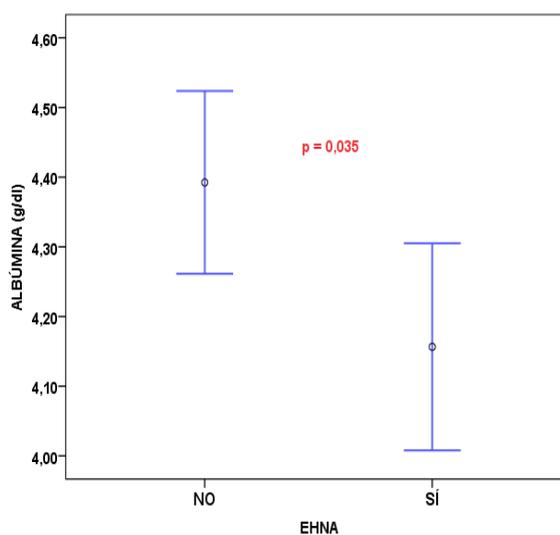


Figura 86. Comparación del NAS según los valores de albúmina en sangre.

E) Síndrome metabólico

Sólo 4 de los pacientes que no tienen Síndrome metabólico muestran EHNA en la biopsia hepática, siendo esta diferencia estadísticamente significativa frente a los que tienen Síndrome metabólico.

p-valor = 0,005		NAS-score		N Total
		< 5	≥5	
S. Metabólico	NO	29	4	33
	SÍ	24	17	41
N Total		53	21	74

Tabla 87. Comparación del NAS según la presencia o ausencia de S. Metabólico

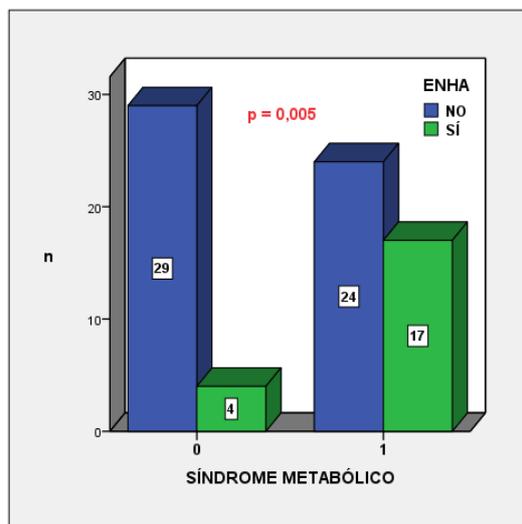


Figura 87. Comparación del NAS según la presencia o ausencia de S. Metabólico.

- Metabolismo de la glucosa

Los pacientes con NASH en la biopsia hepática muestran significativamente mayor resistencia a la insulina medida por el HOMA-IR.

	NAS-score		P
	< 5	≥5	
	N=53	N=22	
Glucosa basal(mg/dl)	107,05	118,95	0,161
	N=53	N=21	
Insulina basal (μU/L)	14,33	18,43	0,111
HOMA-IR	3,86	5,52	0,032

Tabla 88. Metabolismo de la glucosa: diferencias según la presencia de EHNA.

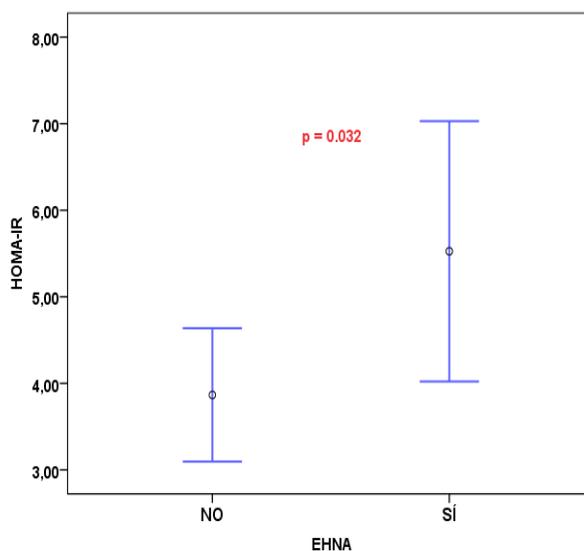


Figura 88. Metabolismo de la glucosa: diferencias según la presencia de EHNA.

Diabetes mellitus tipo 2 (DM-2)

No encontramos asociación significativa entre la DM-2 y la presencia de EHNA en la biopsia hepática de nuestros pacientes.

p-valor = 0,623		NAS-score		N Total
		< 5	≥5	
DM-2	NO	44	18	33
	SÍ	9	5	41
N Total		53	21	74

Tabla 89. DM-2: diferencias según la presencia de EHNA.

- Lipidograma

No encontramos diferencias significativas en el perfil lipídico en sangre de los pacientes sin EHNA y con EHNA en la biopsia hepática (Tabla 87).

	NAS-score		P
	< 5	≥5	
	N=53	N=22	
Colesterol total(mg/dl)	213,66	198,63	0,246
	N=44	N=20	
Triglicéridos(mg/dl)	141,20	146,70	0,811
	N=44	N=19	
HDL(mg/dl)	51,52	56,36	0,427
LDL(mg/dl)	133,93	117,10	0,159

Tabla 90. Lipidograma: diferencias según la presencia de EHNA.

- Tensión arterial

La tensión arterial, conocido factor de riesgo cardiovascular, parece mostrarse también relevante en la enfermedad hepática grasa no alcohólica, siendo la tensión arterial sistólica más elevada en los pacientes con ENHA en la muestra de biopsia hepática.

	NAS-score		P
	< 5	≥5	
	N=53	N=21	
Tensión sistólica (mmHg)	130,00	141,76	0,014
Tensión diastólica (mmHg)	77,26	84,28	0,140

Tabla 88. Tensión arterial: diferencias según la presencia de EHNA.

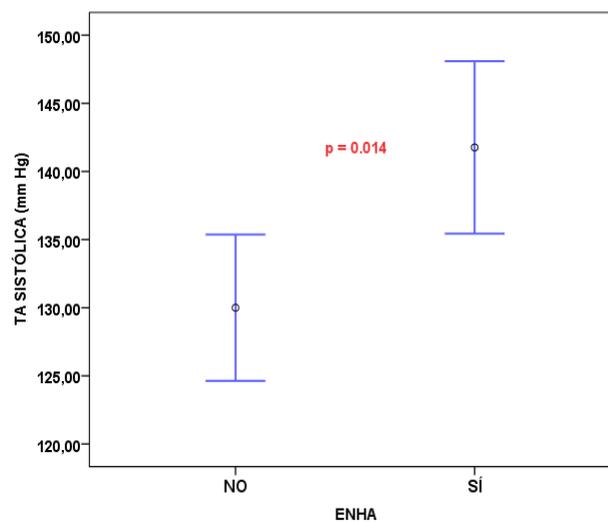


Figura 89. Tensión arterial sistólica: diferencias según la presencia o ausencia de EHNA en la muestra de biopsia hepática.

F) Parámetros antropométricos:

En cuanto a los parámetros antropométricos, se encuentra que de los pacientes que tienen EHNA en la muestra de biopsia hepática, más de la mitad presentan un IMC (índice de masa corporal) mayor de 30 de forma significativa, no encontrándose diferencias cuando el corte se establece en 25 (tabla 91) o en 40 (tabla 93).

p-valor = 0,067		NAS-score		N Total
		< 5	≥5	
IMC	≤ 25	7	0	7
	>25	46	23	69
N Total		53	23	76

Tabla 91. IMC: diferencias según la presencia de EHNA.

p-valor = 0,040		NAS-score		N Total
		< 5	≥5	
IMC	≤ 30	32	8	40
	>30	21	15	30
N Total		53	23	76

Tabla 92. IMC: diferencias según la presencia de EHNA.

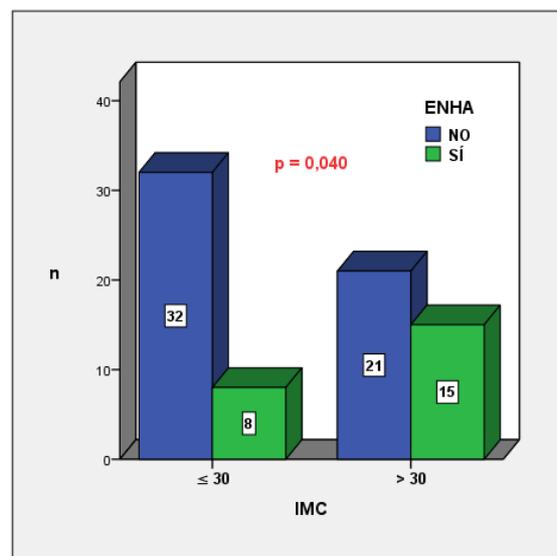


Figura 90. IMC: diferencias según la presencia o ausencia de EHNA en la muestra de biopsia hepática.

p-valor = 0,273		NAS-score		N Total
		< 5	≥5	
IMC	≤ 40	50	20	70
	> 40	3	3	6
N Total		53	23	76

Tabla 93. IMC: diferencias según la presencia de EHNA.

- Cintura, cadera e ICC

No se encuentran diferencias significativas de las medidas de cintura y cadera entre los pacientes con y sin EHNA en la biopsia hepática.

	NAS-score		P
	< 5	≥5	
	N=48	N=20	
Cintura (cm)	98,82	100,46	0,597
	N=50	N=21	
Cadera (cm)	105,21	109,40	0,069
	N=43	N=19	
ICC	0,946	0,945	0,971

Tabla 94. Cintura, cadera, e ICC: diferencias según la presencia de EHNA. ICC: Índice Cintura /Cadera

No se aprecian diferencias significativas entre la el peso, la talla y el IMC de los pacientes con y sin EHNA en la biopsia hepática.

	NAS-score		p-valor
	< 5	≥5	
Peso (kg)	83,81	88,84	0,181
Talla (m)	1,67	1,67	0,823
IMC (kg/m2)	29,83	31,90	0,106

Tabla 95. Peso, talla e IMC según la preseca de EHNA. IMC: índice de masa corporal.

- Pliegue tricipital, circunferencia braquial y circunferencia muscular del brazo

Los pacientes con ENHA en la muestra de biopsia hepática, presentan un pliegue tricipital mayor, medido en mm, que los pacientes sin ENHA, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. Se observa en tabla 93 y gráfico 98.

	NAS-score		P
	< 5	≥5	
	N = 52	N = 23	
Pliegue tricipital (mm)	19,80	26,93	0,001
Circunferencia braquial (cm)	32,64	34,06	0,146
CMB (cm)	26,43	25,61	0,369

Tabla 95. Pliegue tricipital, circunferencia braquial y circunferencia muscular del brazo (CMB): diferencias según la presencia de ENHA.

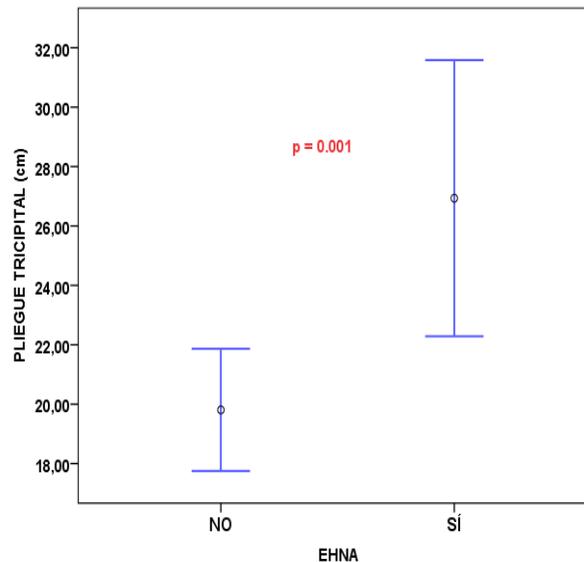


Figura 91. Pliegue tricipital (161): diferencias según la presencia de ENHA

G) Impedanciometría

En cuanto al análisis de la bioimpedancia en relación con la presencia de ENHA, no se encuentran diferencias estadísticamente significativas.

	NAS-score		P
	< 5	≥5	
	N = 25	N = 16	
Agua corporal total (Kg)	42,33	43,60	0,598
Agua corporal total (%)	53,76	50,25	0,184
Agua extracelular (Kg)	17,98	17,77	0,854
Agua extracelular (%)	42,73	40,76	0,276
	N=24	N=16	
Masa grasa(Kg)	22,77	25,90	0,257
Masa grasa(%)	29,54	29,72	0,955
	N=25	N=16	
Masa magra (Kg)	57,45	61,16	0,275
Masa magra (%)	72,76	70,37	0,430
Gasto metabólico basal (Kcal/día)	1725,44	1848,00	0,174
	N=51	N=23	
Angulo de fase(°)	7,53	7,63	0,851

Tabla 96. Impedanciometría: diferencias según la presencia de EHNA.

H) Hábitos de vida

En cuanto a los hábitos de vida, no se aprecian diferencias significativas entre los pacientes con y sin EHNA en la biopsia hepática.

p-valor = 0,792		NAS-score		N Total
		< 5	≥5	
Ejercicio físico (3h/sem)	NO	32	14	46
	SÍ	21	8	29
N Total		53	22	75

Tabla 97. Comparación de la realización de ejercicio físico según la presencia o ausencia de EHNA.

p-valor = 0,668		NAS-score		N Total
		< 5	≥5	
Fumador	NO	41	18	59
	SÍ	12	4	16
N Total		53	22	75

Tabla 98. Comparación del hábito tabáquico según la presencia o ausencia de EHNA.

p-valor = 0,498		NAS-score		N Total
		< 5	≥5	
Alcohol	NO	38	18	56
	SÍ(<20g/día)	13	4	17
N Total		51	22	73

Tabla 99. Comparación del hábito alcohólico según la presencia o ausencia de EHNA.

I) Encuesta nutricional

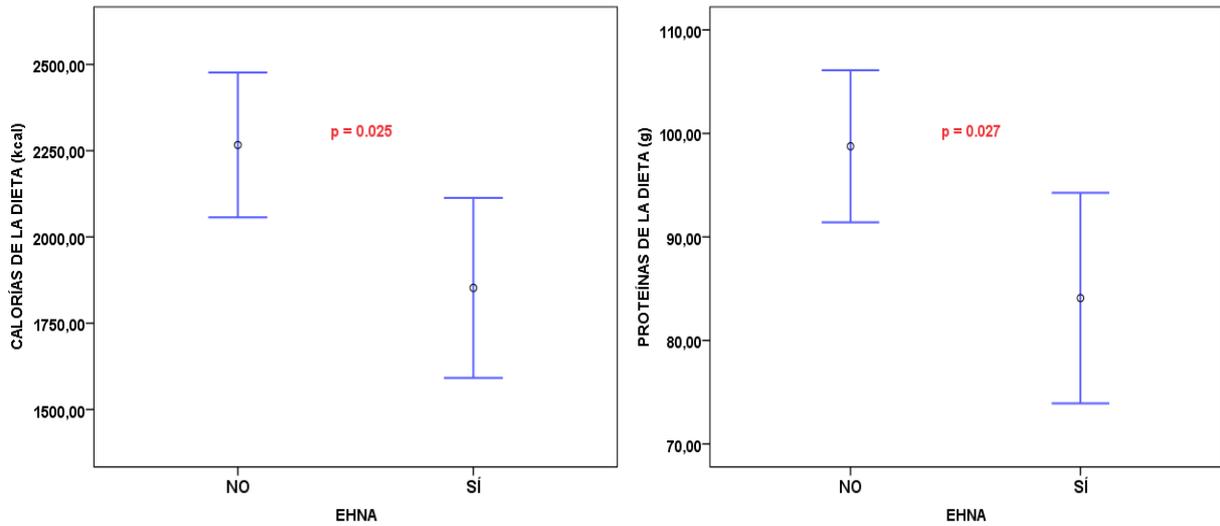
A continuación se presentan las tablas (98-100) y gráficos (99-107) que muestran las diferencias de los componentes de la dieta de los pacientes con y sin EHNA en la muestra de biopsia, dividido en función de los tipos de nutrientes.

- Macronutrientes

En la tabla 98 y gráficos siguientes, se puede ver cómo los pacientes con EHNA en la biopsia hepática ingieren una dieta menos calórica, menor cantidad de proteínas, y menor cantidad de fibra. Todo con diferencias estadísticamente significativas.

	NAS-score		P
	< 5	≥5	
	N = 48	N = 20	
Calorías(Kcal)	2266,58	1852,29	0,025
Proteínas(g)	98,75	84,09	0,027
Hidratos de carbono(g)	280,42	195,67	0,144
Lípidos (g)	94,43	78,18	0,106
Ác. Grasos Saturados (g)	26,25	20,45	0,069
Ác. Grasos Monoinsaturados(g)	42,57	34,37	0,096
Ác. Grasos Poliinsaturados (g)	9,61	8,76	0,566
EPA (g)	0,13	0,16	0,706
DHA (g)	0,26	0,32	0,614
Colesterol (mg)	476,61	374,96	0,10
Fibra(g)	18,05	13,63	0,030

Tabla 100. Ingesta de macronutrientes: diferencias según la presencia de EHNA. EPA: ácido eicosapentaenoico. DHA: ácido docosahexaenoico.



Figuras 92 y 93. Ingesta de macronutrientes: diferencias según la presencia de EHNA.

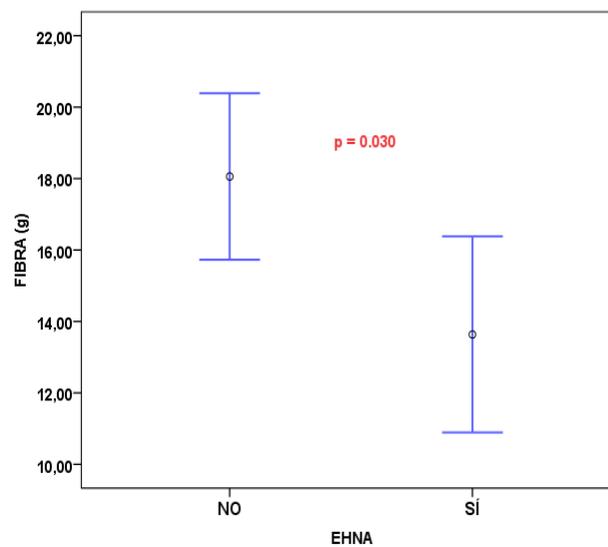


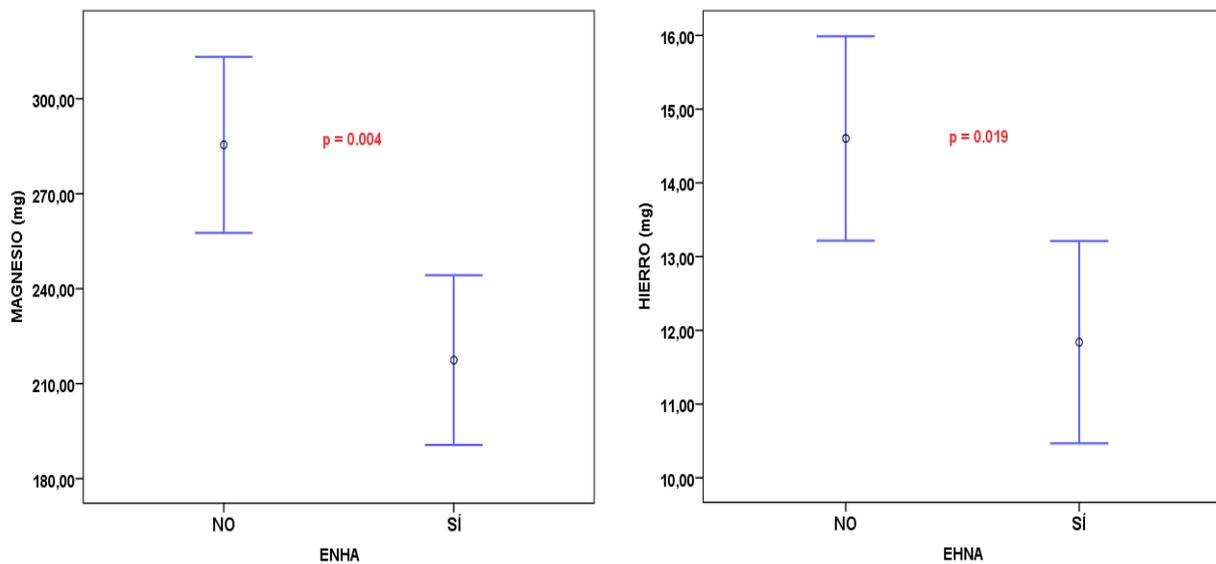
Figura 94. Ingesta de fibra: diferencias según la presencia de EHNA.

- Minerales

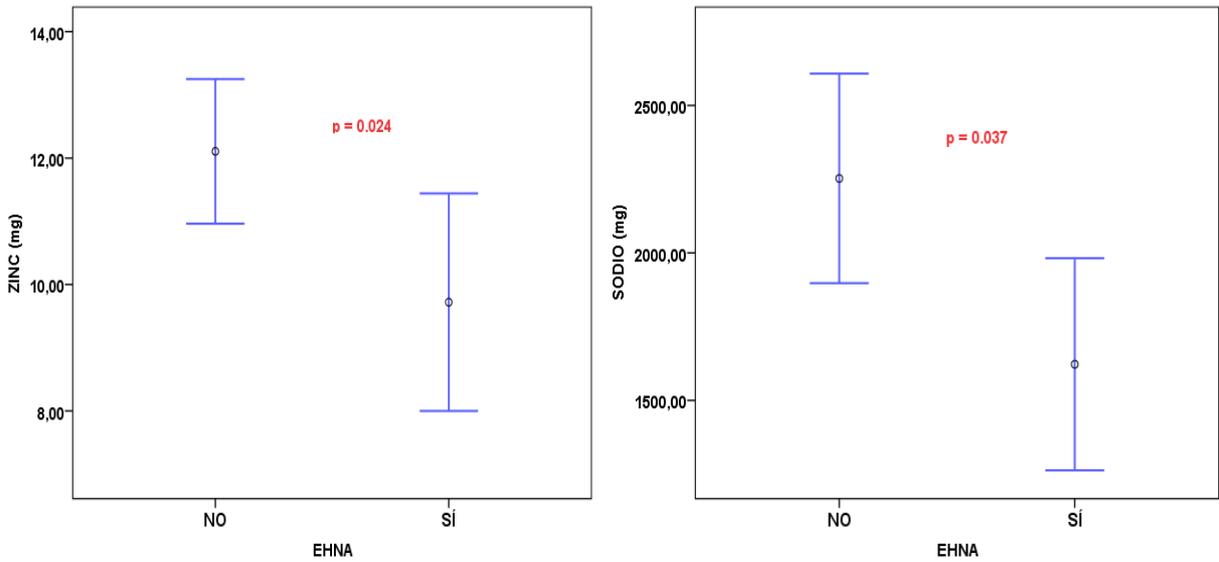
En la tabla 101 se observa que la ingesta de sodio, magnesio, hierro, zinc, potasio y flúor de los pacientes que presentan EHNA en la muestra de biopsia hepática es menor que en los que no presentan EHNA. Las diferencias son estadísticamente significativas.

Minerales	NAS-score		P
	< 5	≥5	
	N=48	N =20	
Fósforo (mg)	1497,70	1284,14	0,059
Magnesio (mg)	285,42	217,44	0,004
Calcio (mg)	1034,20	873,64	0,085
Hierro (mg)	14,60	11,84	0,019
Zinc (mg)	12,10	9,72	0,024
Sodio (mg)	2252,57	1622,41	0,037
Potasio (mg)	2983,13	2503,41	0,042
Yodo (microg)	66,57	47,53	0,249
Selenio (microg)	88,21	60,93	0,176
Cobre (microg)	1057,95	1071,93	0,927
Flúor (microg)	524,82	263,74	0,001

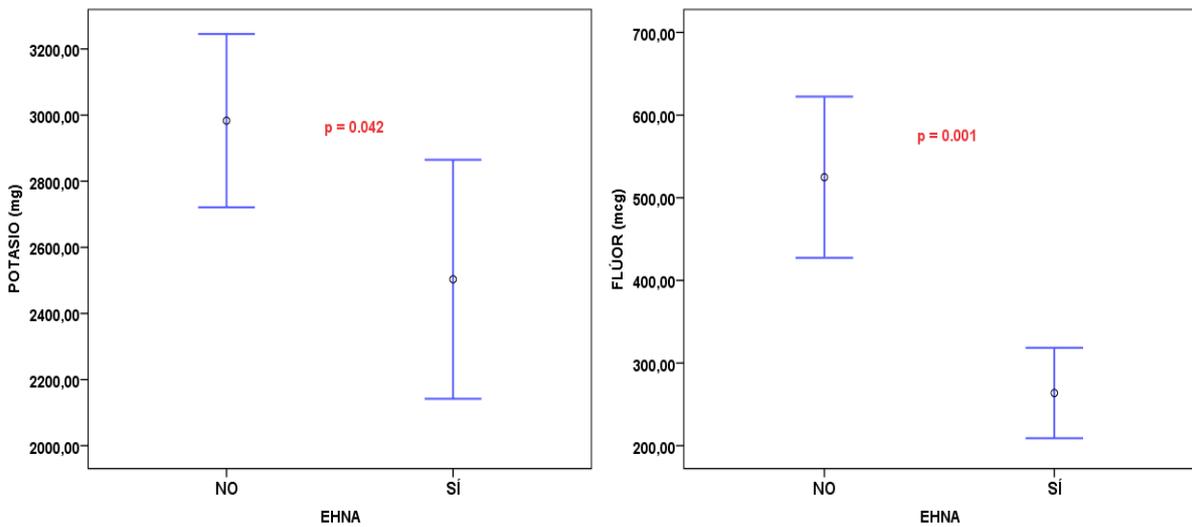
Tabla 101. Ingesta de minerales: diferencias según la presencia de EHNA.



Figuras 95 y 96. Ingesta de magnesio y hierro: diferencias según la presencia de EHNA.



Figuras 97 y 98. Ingesta de zinc y sodio: diferencias según la presencia de EHNA.



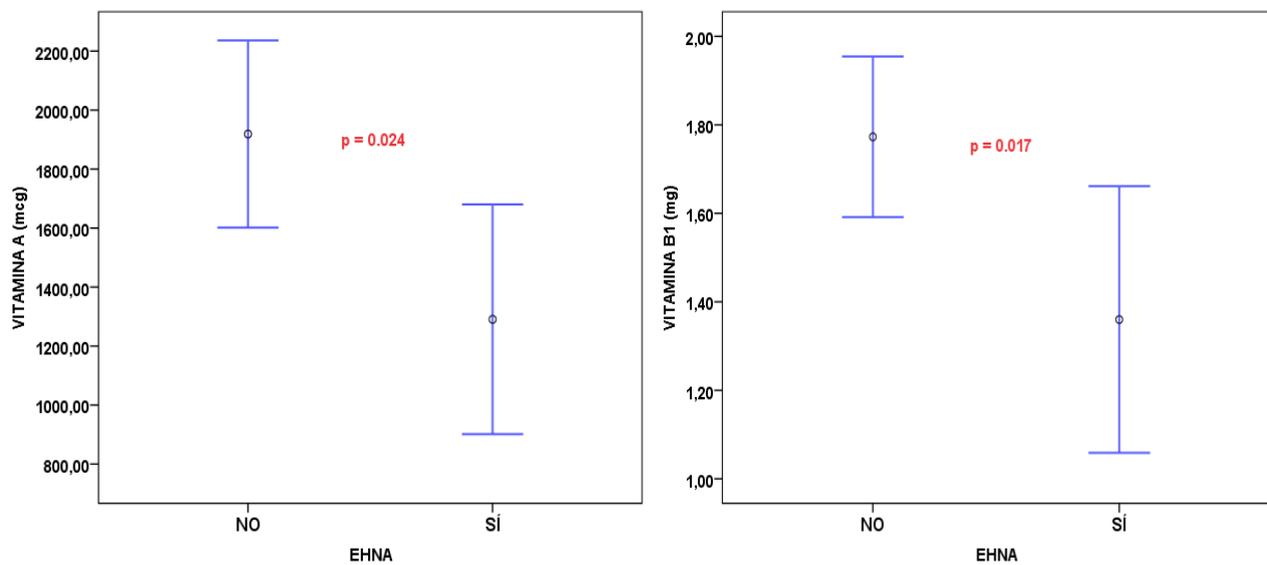
Figuras 99 y 100. Ingesta de potasio y flúor: diferencias según la presencia de EHNA.

- Vitaminas

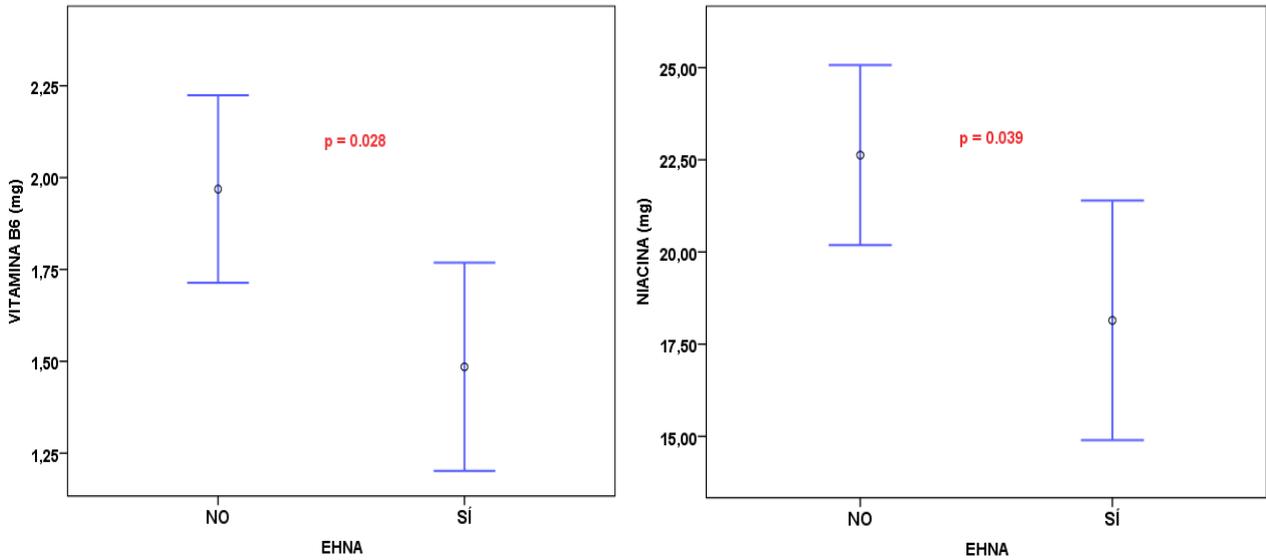
Se aprecian que los pacientes con EHNA en la muestra de biopsia hepática consumen significativamente menos vitaminas A, B1, niacina y B6.

	NAS-score		P
	< 5 N=48	≥ 5 N=20	
Vitamina A (microg)	1918,89	1290,63	0,024
Vitamina B1 (mg)	1,77	1,36	0,017
Vitamina B2 (mg)	1,77	1,49	0,080
Niacina (mg)	22,62	18,14	0,039
Vitamina B6 (mg)	1,96	1,48	0,028
Vitamina B12 (microg)	5,76	5,32	0,654
Vitamina C (mg)	146,01	137,95	0,752
Vitamina D (microg)	5,43	6,15	0,726
Vitamina E (mg)	9,18	7,58	0,190
Ac. Fólico libre (microg)	113,74	108,71	0,729
Ac. Fólico total (microg)	222,55	192,82	0,241

Tabla 102. Ingesta de vitaminaas: diferencias según la presencia de EHNA.



Figuras 101 y 102. Ingesta de vitaminas A y B1: diferencias según la presencia de EHNA.



Figuras 103 y 104. Ingesta de vitaminas B6 y niacina: diferencias según la presencia de EHNA.

J) Adipocitokinas

La leptina en suero muestra valores significativamente más elevados en los pacientes con ENHA en la muestra de biopsia.

	NAS-score		P
	< 5 N=44	≥ 5 N=20	
TNF (pg/mL)	6,78	6,09	0,519
il-6 (ng/mL)	3,35	5,20	0,410
Visfatina (ng/mL)	12,52	15,45	0,084
	N=49	N=21	
Adiponectina (microg/mL)	22,49	21,12	0,829
	N=46	N=20	
Resistina (ng/mL)	3,41	3,46	0,929
	N=49	N=20	
Leptina (ng/mL)	25,15	44,91	0,011

Tabla 103. Adipocitokinas: diferencias según la presencia de EHNA.

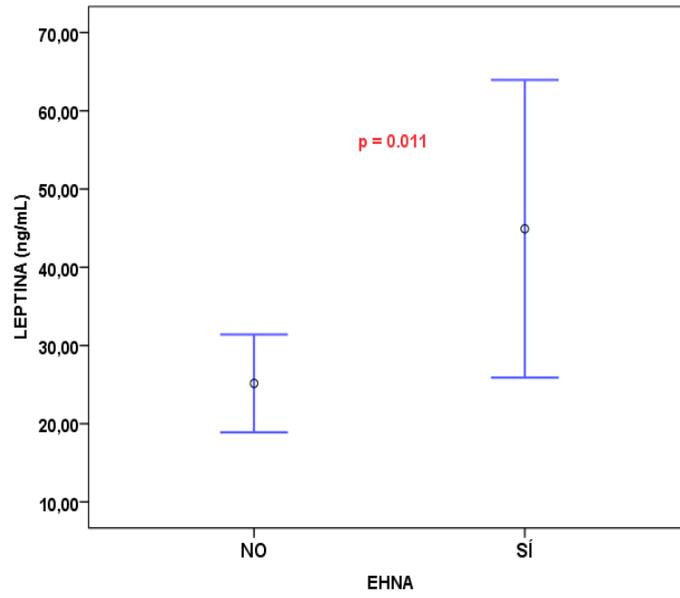


Figura 105. Leptina: diferencias según la presencia de EHNA.

5.2.2. Análisis de las diferentes variables estudiadas en función de la presencia/ausencia de fibrosis en la muestra de biopsia

A) Parámetros histológicos:

Ver 5.2.1. Apartado A), **Tabla 84**, donde se muestra que de forma significativa que la mayoría de los pacientes sin esteatohepatitis no alcohólica según el NAS-score de Kleiner (puntuación mayor o igual a 5), no presentan fibrosis en la biopsia hepática.

B) Parámetros epidemiológicos:

De forma significativa observamos que en nuestro grupo de pacientes, las mujeres presentan más fibrosis comparado con los hombres.

<i>p-valor = 0,000</i>		Sexo		N Total
		hombre	Mujer	
Fibrosis	NO	34	3	37
	SÍ	22	17	39
N Total		56	20	76

Tabla 104. Comparación del sexo según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.

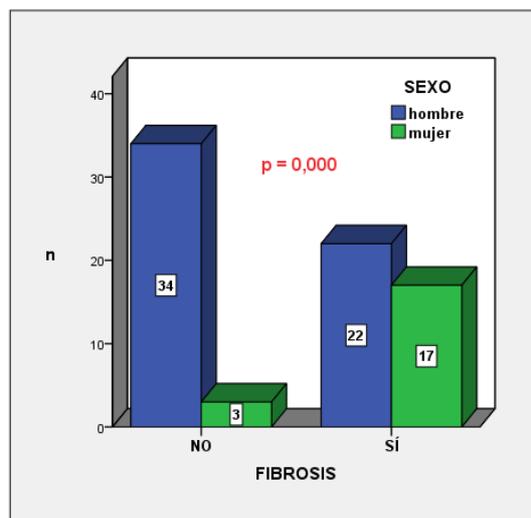


Figura 106. Comparación del sexo según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.

En relación a la edad, no se encuentran diferencias significativas en cuanto a la presencia o ausencia de fibrosis en los dos grupos de pacientes en que queda dividida la muestra según la mediana de edad (44 años).

p-valor = 0,108		Mediana de Edad		N Total
		≤ 44	> 44	
Fibrosis	NO	22	15	37
	SÍ	16	23	39
N Total		38	38	76

Tabla 105. Comparación de la edad según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática

C) Parámetros radiológicos (ecografía):

En las siguientes tablas y gráficos se refleja cómo los pacientes que muestran en la ecografía abdominal datos de esteatosis hepática, presentarán de forma significativa fibrosis en la muestra de biopsia, y sobre todo aquéllos en los que el grado de esteatosis en la ecografía se juzga como moderado o severo (tabla 79 y gráfico 88).

p-valor = 0,028		Esteatosis en ECO		N Total
		NO	SÍ	
Fibrosis	NO	15	20	35
	SÍ	7	30	37
N Total		22	50	72

Tabla 106. Comparación de la esteatosis en ecografía según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.

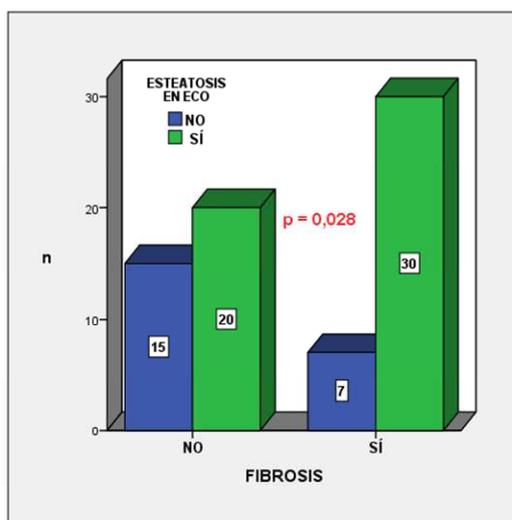


Figura 107. Comparación de la esteatosis en ecografía según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.

D) Parámetros analíticos:

En las siguientes tablas se observa que la GOT, GPT y GGT en sangre no están relacionadas de forma significativa con la presencia de fibrosis en la muestra de biopsia.

p-valor = 0,247		GOT		N Total
		≤ 40	> 40	
Fibrosis	NO	20	16	36
	SÍ	16	22	38
N Total		36	38	74

Tabla 107. Comparación de la GOT en sangre según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.

p-valor = 0,689		GPT		N Total
		≤ 40	> 40	
Fibrosis	NO	2	34	36
	SÍ	3	35	38
N Total		5	69	74

Tabla 108. Comparación de la GPT en sangre según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.

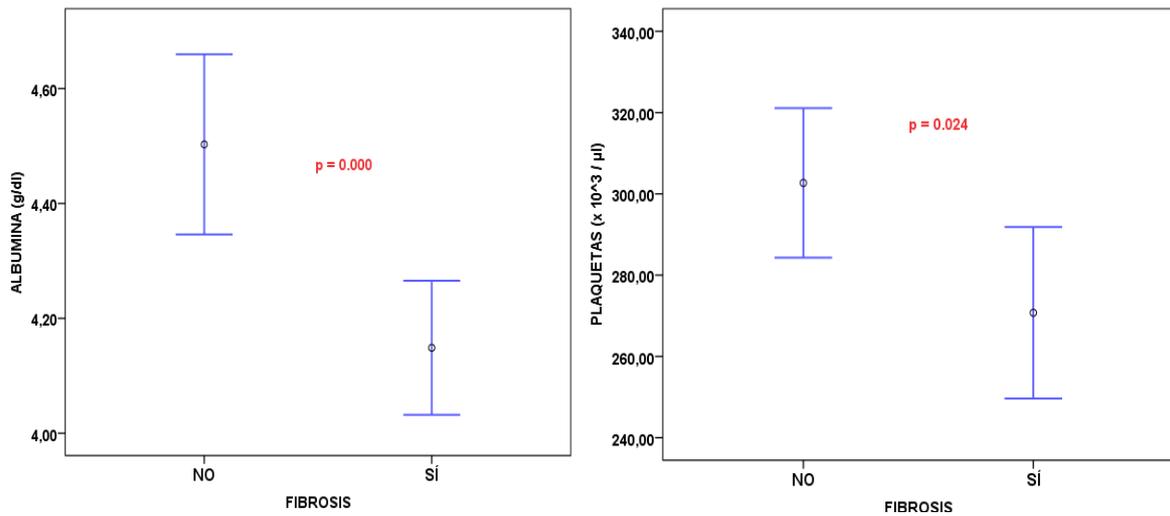
p-valor = 0,386		GGT		N Total
		< 40	≥40	
Fibrosis	NO	9	27	36
	SÍ	13	25	38
N Total		22	52	74

Tabla 109. Comparación de la GPT en sangre según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.

Por otra parte, los niveles de albúmina y plaquetas en sangre se correlacionan de forma significativa con la presencia de fibrosis en la muestra de biopsia, como vemos a continuación.

	FIBROSIS		P
	NO N=37	SÍ n=39	
Albúmina (g/dl)	4,502	4,148	0,000
Plaquetas (x 10 ³ / μl)	302,702	207,743	0,024
Ferritina (UI/L)	188,80	241,80	0,232

Tabla 110. Comparación de la determinación de albúmina y plaquetas en sangre según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.



Figuras 108 y 109. Albúmina y plaquetas: diferencias según la presencia de fibrosis

E) Síndrome metabólico (SM)

Tampoco se encuentra relación significativa entre el diagnóstico de Síndrome metabólico y la presencia de fibrosis en la biopsia hepática.

Pero en cuanto a los factores de riesgo cardiovascular, la insulina basal y el HOMA-IR muestran diferencias significativas en los dos grupos de pacientes, estando los dos valores significativamente más elevados en los pacientes con fibrosis en la muestra de biopsia, dejando intuir el importante factor que supone la resistencia a la insulina en el desarrollo de la enfermedad del hígado graso no alcohólica y en la esteatohepatitis no alcohólica, así como en las fases más avanzadas de la enfermedad, en las que existe fibrosis.

p-valor = 0,102		S. Metabólico		N Total
		NO	SÍ	
Fibrosis	NO	20	17	37
	SÍ	13	24	37
N Total		33	41	74

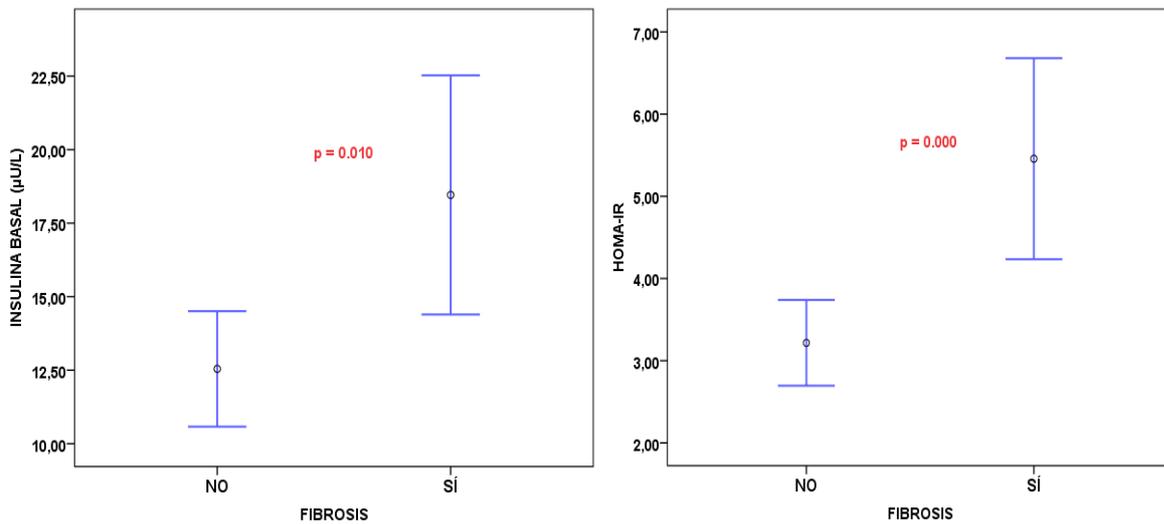
Tabla 111. Comparación de la presencia de SM según la presencia o ausencia de fibrosis

- Metabolismo de la glucosa

La insulinemia y la resistencia a la insulina (medida por el HOMA-IR) se asocian significativamente con la presencia de fibrosis en la biopsia hepática.

	FIBROSIS		P
	NO N=37	SÍ n=38	
Glucosa basal(mg/dl)	103,1892	117,9105	0,059
	N=37	N=37	
Insulina basal (µU/L)	12,5432	18,4595	0,010
HOMA-IR	3,2168	5,4753	0,000

Tabla 112. Metabolismo de la glucosa: diferencias según la presencia de fibrosis



Figuras 110 y 111. Insulina basal y HOMA-IR: diferencias según la presencia de fibrosis.

Diabetes mellitus tipo 2 (DM-2)

La presencia de fibrosis en la biopsia hepática se asocia significativamente con la DM-II en nuestros pacientes.

<i>p-valor = 0,024</i>		Fibrosis		N Total
		NO	SÍ	
DM-2	NO	34	28	62
	SÍ	3	11	14
N Total		37	39	76

Tabla 113. DM-2: diferencias según la presencia de fibrosis

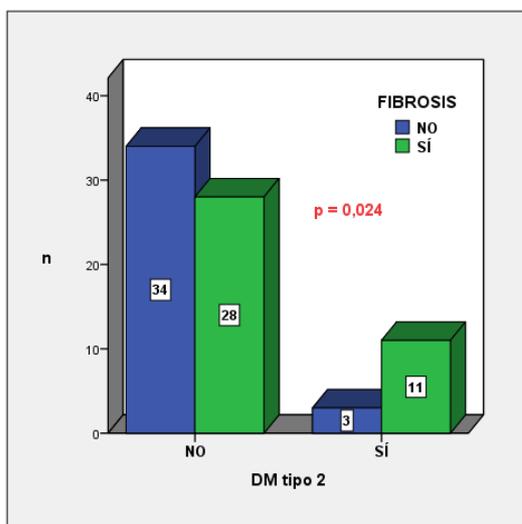


Figura 112. DM-2: diferencias según la presencia de fibrosis

- Lipidograma

No se encuentran diferencias estadísticamente significativas en los dos grupos de pacientes (con o sin fibrosis hepática en la biopsia) en cuanto a los valores de los distintos tipos de lípidos en sangre.

	FIBROSIS		P
	NO N=37	SÍ n=38	
Colesterol total(mg/dl)	218,9730	199,7895	0,102
	N=30	N=74	
Triglicéridos(mg/dl)	137,0333	148,1176	0,602
	N=30	N=33	
HDL(mg/dl)	52,8333	53,1212	0,959
LDL(mg/dl)	130,6667	127,2121	0,755

Tabla 114. Lipidograma: diferencias según la presencia de fibrosis.

- Tensión arterial

La tensión arterial, conocido factor de riesgo cardiovascular, parece mostrarse también relevante en la enfermedad hepática grasa no alcohólica, siendo la tensión arterial sistólica más elevada en los pacientes con fibrosis en la muestra de biopsia hepática.

	FIBROSIS		P
	NO N=37	SÍ n=37	
Tensión sistólica (mmHg)	128,6486	138,0270	0,030
Tensión diastólica (mmHg)	77,2973	81,2162	0,363

Tabla 115. Tensión arterial: diferencias según la presencia de fibrosis.

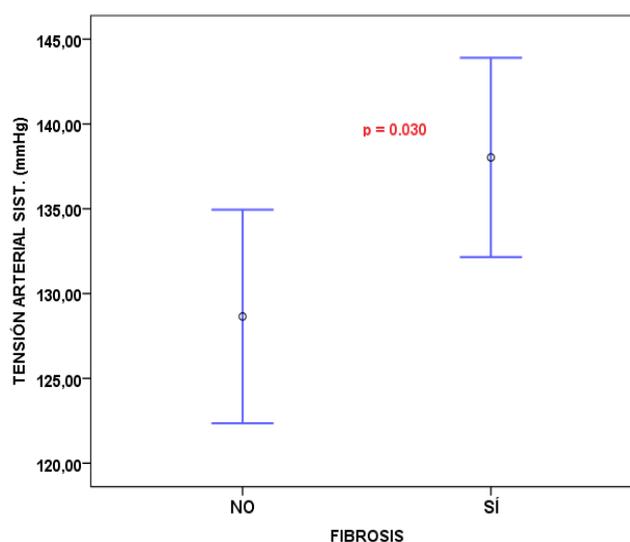


Figura 113. Tensión arterial sistólica (mmHg): diferencias según la presencia de fibrosis.

F) Parámetros antropométricos:

En cuanto a los parámetros antropométricos, se encuentra que más de la mitad de los pacientes con fibrosis hepática en la biopsia, tienen un IMC mayor de 30, con diferencias estadísticamente significativas.

También observamos en nuestra muestra que todos los pacientes que presentan un IMC mayor de 40 (obesidad mórbida), tienen fibrosis hepática (tabla 118 y figura 115), aunque hay que resaltar que esta población es la minoría en nuestra muestra.

p-valor = 0,638		IMC		N Total
		≤ 25	>25	
Fibrosis	NO	4	33	37
	SÍ	3	36	39
N Total		7	69	76

Tabla 116. Comparación del IMC (Índice de masa corporal) según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.

p-valor = 0,037		IMC		N Total
		≤ 30	>30	
Fibrosis	NO	24	13	37
	SÍ	16	23	39
N Total		40	36	76

Tabla 117. Comparación del IMC (Índice de masa corporal) según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.

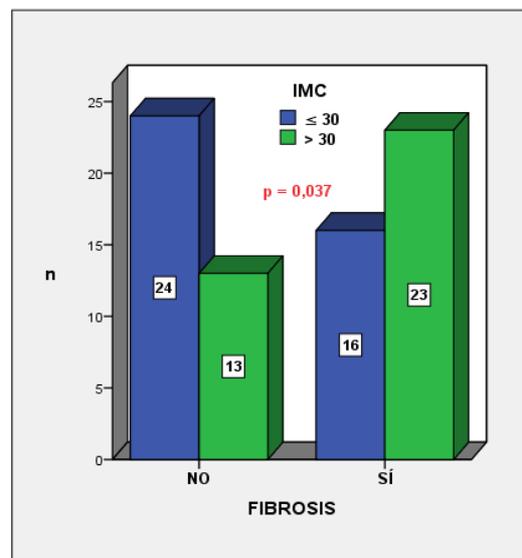


Figura 114. Comparación del IMC (Índice de masa corporal) según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.

p-valor = 0,013		IMC		N Total
		≤ 40	>40	
Fibrosis	NO	37	0	37
	SÍ	33	6	39
N Total		70	6	76

Tabla 118. Comparación del IMC (Índice de masa corporal) según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.

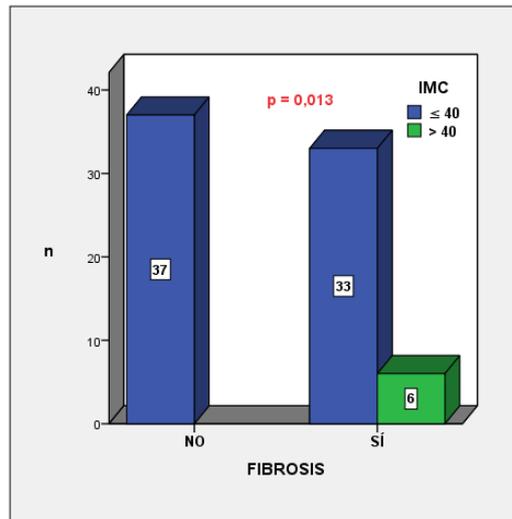
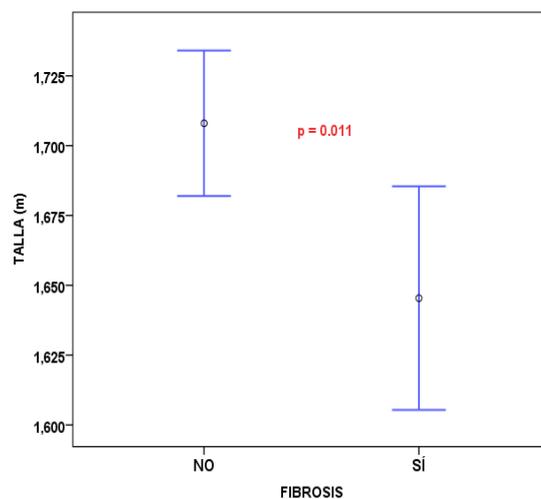
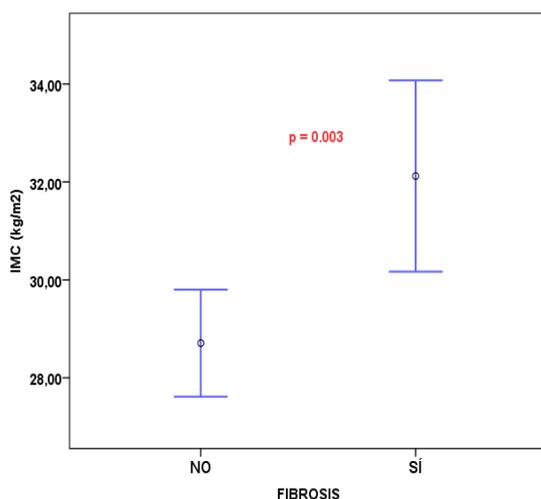


Figura 115. Comparación del IMC (Índice de masa corporal) según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia.

En la siguiente tabla y gráficos observamos cómo los pacientes que presentan fibrosis en la muestra de biopsia hepática, tienen menor talla y, sobre todo y más relevante, un mayor IMC que los que no presentan fibrosis. Estas diferencias son estadísticamente significativas.

	FIBROSIS		P
	NO N=37	SÍ n=39	
Peso (kg)	83,72	86,86	0,364
Talla (m)	1,70	1,64	0,011
IMC (kg/m²)	28,70	32,12	0,003

Tabla 119. Índice de masa corporal (IMC): diferencias según la presencia de fibrosis.



Figuras 116 y 117. Índice de masa corporal (IMC) y talla: diferencias según la presencia de fibrosis.

- Cintura, cadera e ICC

Se aprecia a continuación que la medida de la cadera, en cm, se relaciona directamente con la presencia de fibrosis en la muestra de biopsia. Aquellos pacientes que presentan fibrosis en la biopsia hepática, tienen una mayor longitud en la medida de la cadera que los que no presentan fibrosis, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

	FIBROSIS		P
	NO N=33	SÍ n=35	
Cintura (cm)	97,26	101,22	0,159
	N=36	n=36	
Cadera (cm)	104,07	108,90	0,021
	N=31	n=31	
ICC	0,94	0,94	0,833

Tabla 120. Cintura, cadera, e ICC: diferencias según la presencia de fibrosis. ICC: Índice Cintura /Cadera

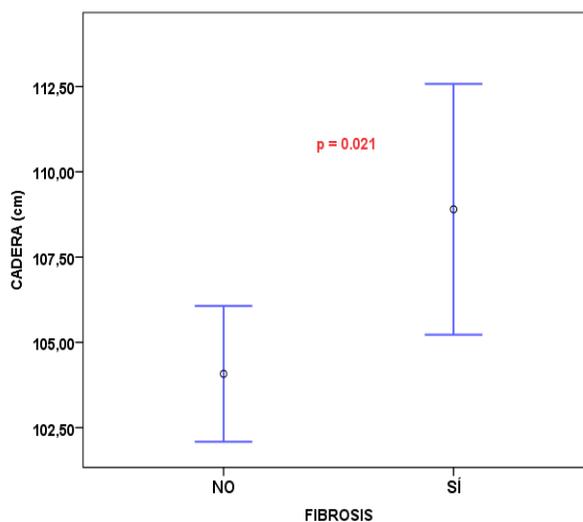


Figura 118. Medida cadera (161): diferencias según la presencia de fibrosis

- Pliegue tricipital, circunferencia braquial y circunferencia muscular del brazo

Los pacientes con fibrosis en la muestra de biopsia hepática, presentan un pliegue tricipital mayor, medido en mm, que los pacientes sin fibrosis, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. Se observa en tabla 119 y gráfico 126.

	FIBROSIS		P
	NO N=37	SÍ n=38	
Circunferencia braquial (cm)	32,40	33,73	0,138
Pliegue tricpital (mm)	18,70	25,20	0,002
CMB (cm)	26,54	25,83	0,397

Tabla 121. Pliegue tricpital, circunferencia braquial y circunferencia muscular del brazo (CMB): diferencias según la presencia de fibrosis.

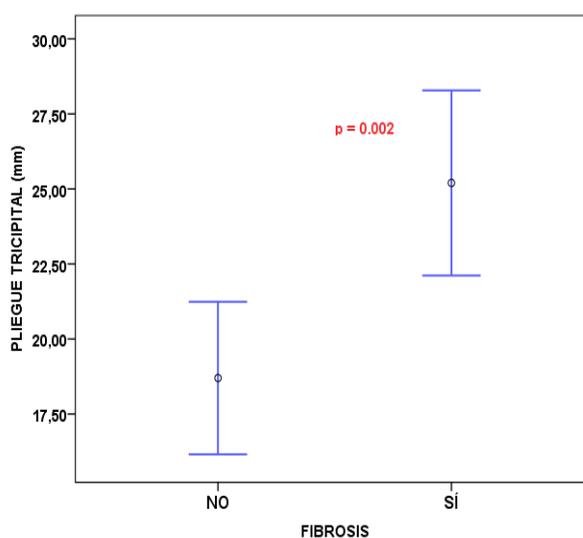


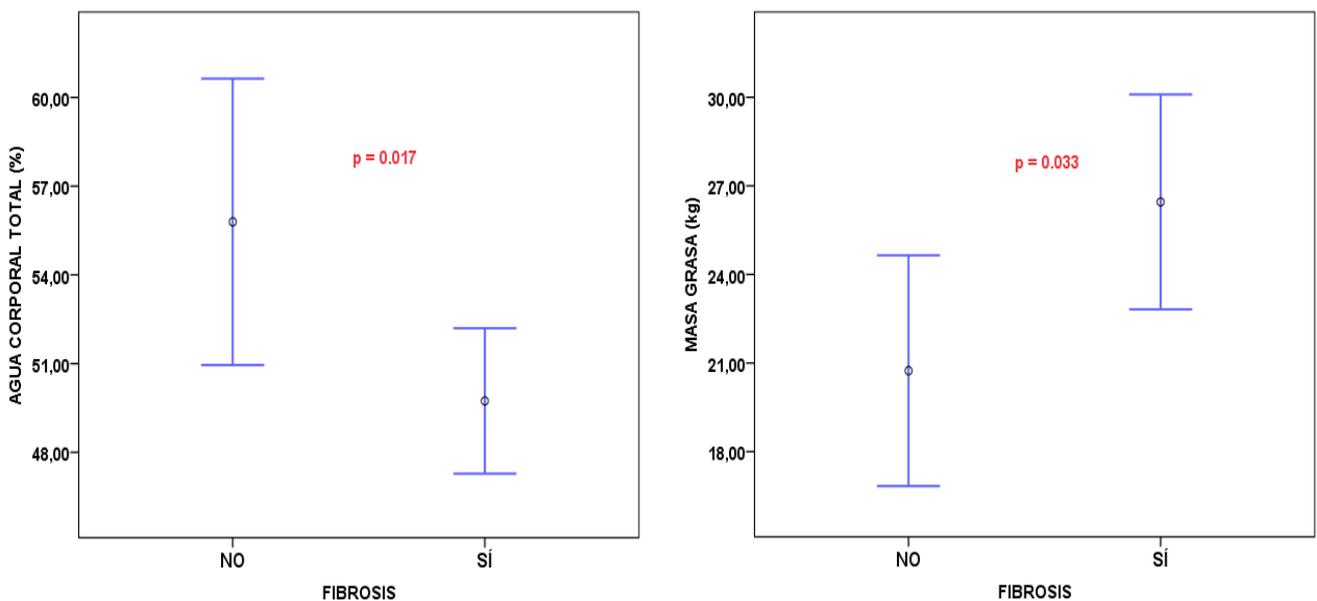
Figura 119. Pliegue tricpital: diferencias según la presencia de fibrosis

G) Impedanciometría

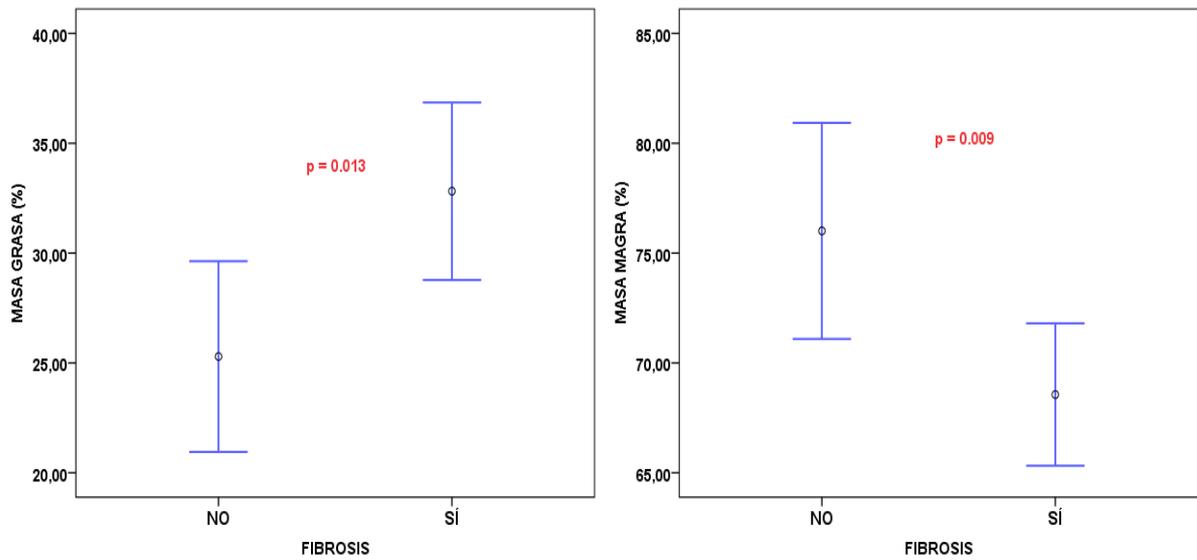
En cuanto al análisis de la bioimpedancia en relación con la fibrosis, se encuentra que los pacientes que presentan fibrosis en la muestra de biopsia hepática tienen: un porcentaje mayor de agua corporal total, más masa grasa tanto en peso (kg) como en porcentaje, y menor porcentaje de masa magra. Todas estas diferencias son estadísticamente significativas.

	FIBROSIS		P
	NO N=18	SÍ n=23	
Agua corporal total (Kg)	44,67	41,38	0,161
Agua corporal total (%)	55,79	49,73	0,017
Agua extracelular (Kg)	18,92	17,10	0,095
Agua extracelular (%)	42,74	41,35	0,436
	N=17	N=23	
Masa grasa(Kg)	20,73	26,45	0,033
Masa grasa(%)	25,29	32,81	0,013
	N=18	N=23	
Masa magra (Kg)	61,06	57,20	0,247
Masa magra (%)	76,01	68,56	0,009
Gasto metabólico basal (Kcal/día)	1826,77	1731,39	0,284
	N=36	N=38	
Angulo de fase(º)	7,82	7,31	0,292

Tabla 122. Impedanciometría: diferencias según la presencia de fibrosis.



Figuras 120 y 121. Agua corporal total (%) y masa grasa (kg): diferencias según la presencia de fibrosis.



Figuras 122 y 123. Masa grasa (%) y masa magra (%): diferencias según la presencia de fibrosis.

H) Hábitos de vida

En cuanto a los hábitos de vida, se aprecia que el que presencia una asociación significativa con la presencia de fibrosis hepática en la muestra de biopsia, es el ejercicio físico (considerando la realización del algún tipo de ejercicio aeróbico durante al menos 3 horas semanales), mostrando los resultados que la ausencia de ejercicio físico se relaciona con la presencia de fibrosis.

<i>p-valor = 0,026</i>		Ejercicio		N Total
		NO	SÍ	
Fibrosis	NO	18	19	37
	SÍ	28	10	38
N Total		46	29	75

Tabla 123. Comparación de la realización de ejercicio físico según la presencia o ausencia de fibrosis.

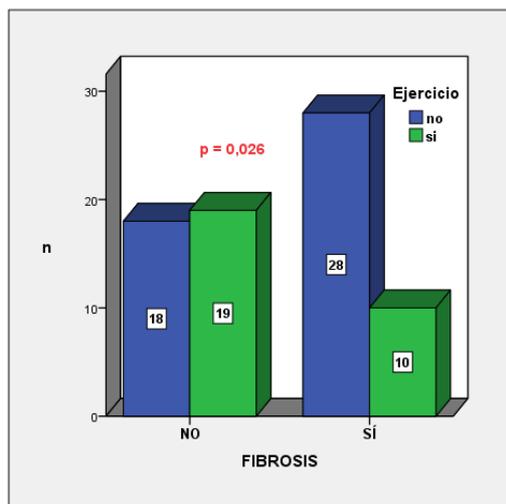


Figura 124. Comparación de la realización de ejercicio físico según la presencia o ausencia de fibrosis.

p-valor = 0,615		Tabaco		N Total
		NO	SÍ	
Fibrosis	NO	30	7	37
	SÍ	29	9	38
N Total		59	16	75

Tabla 124. Comparación del tabaquismo según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia.

p-valor = 0,371		Alcohol		N Total
		NO	SÍ (<20g/día)	
Fibrosis	NO	26	10	36
	SÍ	30	7	37
N Total		56	17	73

Tabla 125. Comparación de la ingesta de alcohol según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia.

I) Encuesta nutricional

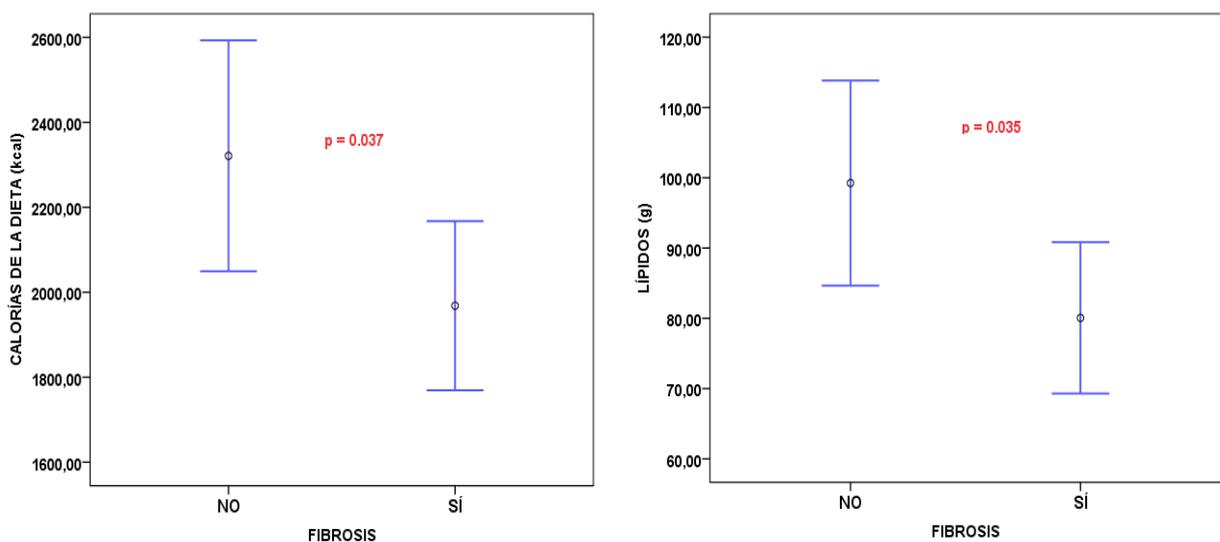
A continuación se presentan las tablas (124-126) y gráficos (132-136) que muestran las diferencias de los componentes de la dieta de los pacientes con y sin fibrosis hepática en la muestra de biopsia, dividido en función de los tipos de nutrientes.

- Macronutrientes

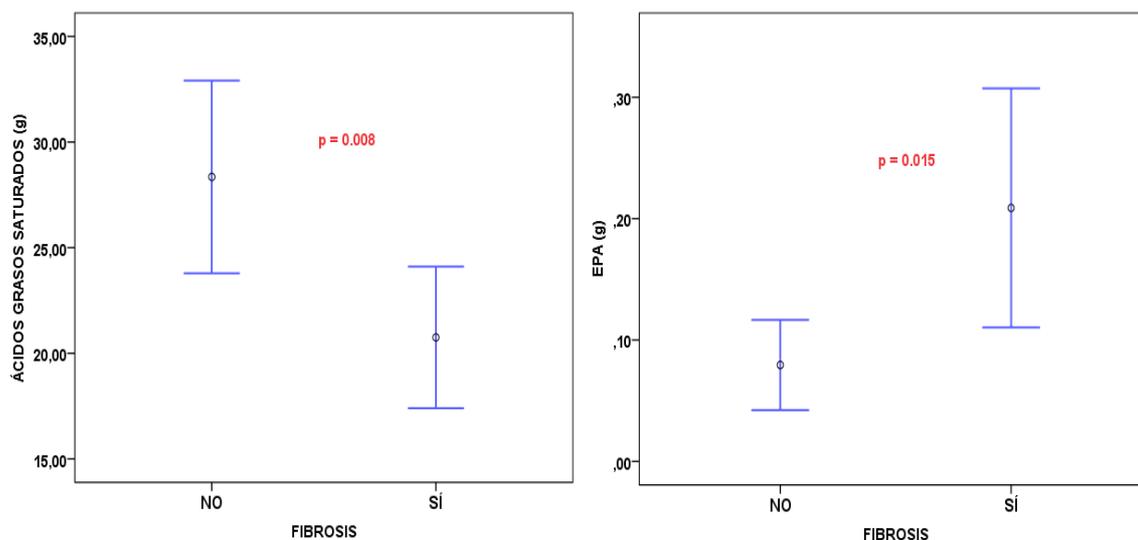
En la tabla 124 y gráficos siguientes, se puede ver cómo los pacientes con fibrosis en la biopsia hepática ingieren una dieta menos calórica, menor cantidad de lípidos y ácidos grasos saturados, y en cambio, la ingesta de ácido eicosapentaenoico (EPA) es mayor. Todo con diferencias estadísticamente significativas.

	FIBROSIS		P
	NO N=34	SÍ n=34	
Calorías(Kcal)	2321,16	1968,29	0,037
Proteínas(g)	96,62	92,26	0,478
Hidratos de carbono(g)	303,96	207,02	0,065
Lípidos (g):	99,24	80,06	0,035
Ác. Grasos Saturados (g)	28,35	20,75	0,008
Ác. Grasos Monoinsaturados(g)	43,96	36,36	0,090
Ác. Grasos Poliinsaturados (g)	9,85	8,87	0,469
EPA (g)	0,0794	0,20	0,015
DHA (g)	0,19	0,37	0,058
Colesterol (mg)	490,02	403,40	0,125
Fibra(g)	16,96	16,0	0,828

Tabla 126. Ingesta de macronutrientes: diferencias según la presencia de fibrosis. EPA: ácido eicosapentaenoico. DHA: ácido docosahexaenoico.



Figuras 125 y 126. Calorías y lípidos de la dieta: diferencias según la presencia de fibrosis



Figuras 127 y 128. Ácidos grasos saturados y ácido eicosapentaenoico (EPA): diferencias según la presencia de fibrosis.

- Minerales

En la tabla 100 se observa que la ingesta de sodio de los pacientes que presentan fibrosis en la muestra de biopsia hepática es menor que en los que no presentan fibrosis. Las diferencias son estadísticamente significativas.

Minerales	FIBROSIS		P
	NO N=34	SÍ n=34	
Fósforo (mg)	1435,21	1434,56	0,995
Magnesio (mg)	267,63	263,22	0,844
Calcio (mg)	1041,71	932,25	0,199
Hierro (mg)	14,35	13,22	0,303
Zinc (mg)	12,23	10,57	0,087
Sodio (mg)	2356,44	1778,02	0,036
Potasio (mg)	2823,00	2861,08	0,861
Yodo (microg)	54,36	67,58	0,381
Selenio (microg)	94,89	65,47	0,108
Cobre (microg)	1056,10	1068,03	0,932
Flúor (microg)	456,85	439,21	0,818

Tabla 127. Ingesta de minerales: diferencias según la presencia de fibrosis.

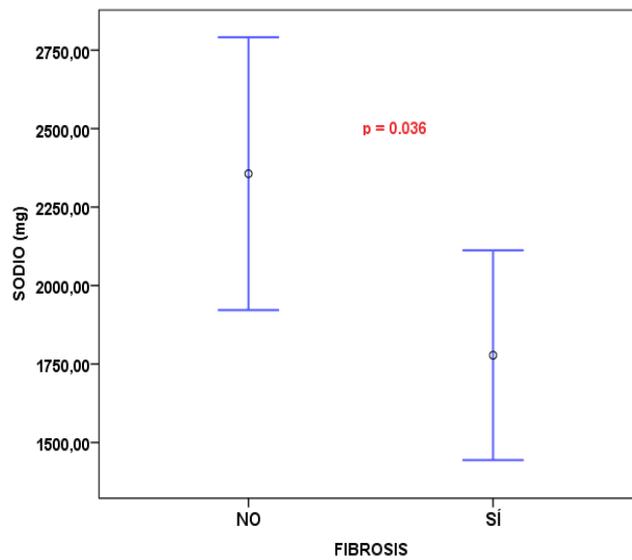


Figura 129. Cantidad de sodio en la dieta: diferencias según la presencia de fibrosis.

- Vitaminas

No se aprecian diferencias significativas en la ingesta de vitaminas de los pacientes con o sin fibrosis en la muestra de biopsia hepática.

	FIBROSIS		P
	NO N=34	SÍ n=34	
Vitamina A (microg)	1799,01	1669,21	0,616
Vitamina B1 (mg)	1,71	1,58	0,408
Vitamina B2 (mg)	1,69	1,68	0,919
Niacina (mg)	21,28	21,33	0,979
Vitamina B6 (mg)	1,83	1,81	0,931
Vitamina B12 (microg)	5,41	5,86	0,662
Vitamina C (mg)	140,25	147,03	0,770
Vitamina D (microg)	6,661	4,67	0,295
Vitamina E (mg)	8,71	8,71	0,996
Ac. Fólico libre (microg)	108,97	115,56	0,619
Ac. Fólico total (microg)	205,42	222,20	0,469

Tabla 128. Ingesta de minerales: diferencias según la presencia de fibrosis.

J) Adipocitokinas

La leptina en suero muestra valores significativamente más elevados en los pacientes con fibrosis en la biopsia hepática.

	FIBROSIS		P
	NO N=29	SÍ n=35	
TNF (pg/mL)	6,16	6,9029	0,461
il-6 (ng/mL)	3,65	4,1666	0,807
Visfatina (ng/mL)	13,28	13,5702	0,857
	N=33	N=37	
Adiponectina (microg/mL)	21,46	22,63	0,841
	N=31	N=35	
Resistina (ng/mL)	3,29	3,55	0,582
	N=33	N=36	
Leptina (ng/mL)	18,38	42,33	0,001

Tabla 129. Adipocitokinas: diferencias según la presencia de fibrosis.

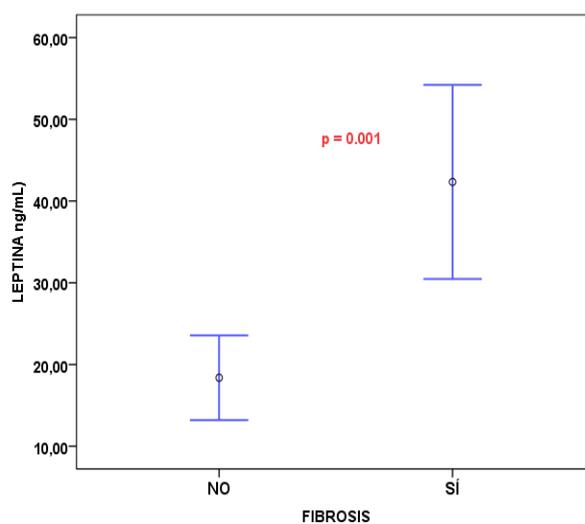


Figura 130. Leptina en suero (ng/mL): diferencias según la presencia de fibrosis.

K) NAFLD FIBROSIS SCORE

En los siguientes tablas y gráfico observamos la relación existente entre la fibrosis hepática determinada por biopsia y mediante el NAFLD Fibrosis Score como método no invasivo.

	FIBROSIS		P
	NO N=36	SÍ N=38	
NAFLD-FS	-3,20±1,05	-1,84±1,63	0,000

Tabla 130. NAFLD-FS: relación con la presencia de fibrosis en biopsia hepática.

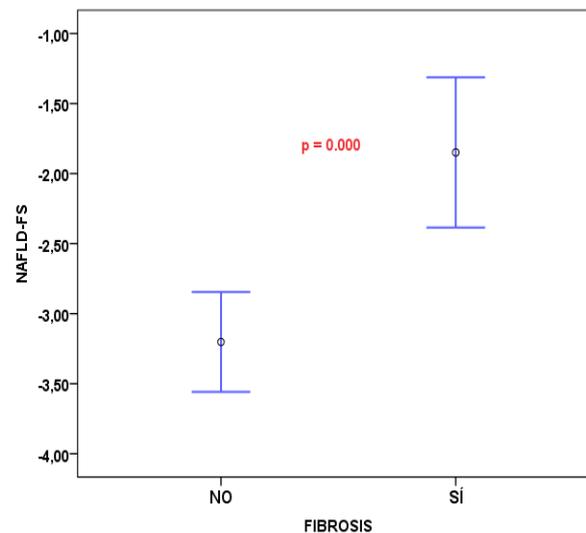


Figura 131. NAFLD-FS: relación con la presencia de fibrosis en biopsia hepática.

En nuestro estudio utilizamos este marcador de fibrosis no invasiva y lo comparamos con el grado de fibrosis obtenida en la biopsia hepática, particularmente dividiendo los pacientes en dos grupos: F0-2 y F3-4, ya que el NAFLD-FS discrimina con precisión la presencia de fibrosis avanzada.

En la siguiente tabla y gráfico observamos cómo el NAFLD-FS se asocia significativamente con el grado de fibrosis hepática, discriminando con gran precisión a los pacientes con ausencia de fibrosis avanzada (F3-4) cuando este score es menor de -1,45.

Mediante la aplicación del punto de corte menor (-1.45), la presencia de fibrosis avanzada en nuestros pacientes puede ser excluida con gran precisión, con un **valor predictivo negativo del 98%**. Mediante la aplicación del punto de corte mayor (0.676), la presencia de fibrosis avanzada puede ser diagnosticada con un **valor predictivo positivo del 60%**.

<i>p = 0,000</i>	FIBROSIS		N
	F0-2	F3-4	
NAFLD-FS < -1,45	57	1	58
-1,45 < NAFLD-FS < 0,675	11	2	13
NAFLD-FS > 0,675	2	3	5
N total	70	6	76

Tabla 131. NAFLD-FS: relación con la fibrosis hepática según el grado.

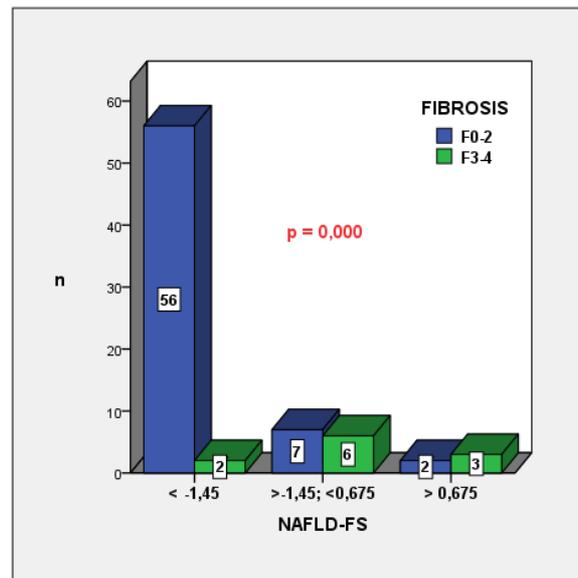


Figura 132. NAFLD-FS: relación con la fibrosis hepática según el grado.

5.2.3. Análisis de las diferentes variables en función de los grados de SEVERIDAD de la fibrosis

Mediante el Análisis de la varianza (ANOVA), se muestran las diferencias significativas que existen entre las variables que se relacionan con la presencia de fibrosis en el tejido hepático obtenido en la biopsia, en función de los diferentes grados de la misma [ausencia de fibrosis (F0), fibrosis leve (F1), fibrosis moderada (F2) y fibrosis severa (F3 y F4)].

	F0 N=37	F1 N=28	F2 N=5	F3-F4 N=6
EDAD (15)	40,9 \pm 10,2	46,2 \pm 12	48,6 \pm 8,3	55,1 \pm 7,9***
CC (161)	97,2 \pm 7,8	100,2 \pm 13	112,6 \pm 9	97,2 \pm 19
Albúmina (g/dL)	4,5 \pm 0,4	4,2 \pm 0,3	4,1 \pm 0,2	3,7 \pm 0,2***
Plaquetas (x 10 ³ / μ l)	302 \pm 55	300 \pm 39	231 \pm 27**	166 \pm 59***
TG (mg/dL)	137 \pm 71	140 \pm 86	223 \pm 165	128 \pm 54
TAS (mm Hg)	128 \pm 18	137 \pm 18	133 \pm 22	141 \pm 9
TAD (mm Hg)	77 \pm 18	81 \pm 17	75 \pm 21	85 \pm 18
HOMA-IR	3,2 \pm 1,5	5,1 \pm 3,3	5,6 \pm 5,7	6,7 \pm 3,8***
BT (mg/dL)	07 \pm 0,2	0,7 \pm 0,4	0,6 \pm 0,3	0,5 \pm 0,1
AST(UI/L)	42,3 \pm 21,7	49,9 \pm 28,2	37,8 \pm 15	68,5 \pm 34
ALT(UI/L)	74,1 \pm 34,6	89,7 \pm 56,9	61,6 \pm 24,1	124 \pm 63
GGT(UI/L)	99,5 \pm 67	92 \pm 83	88 \pm 63	56,5 \pm 34
FA(UI/L)	79,6 \pm 28	84,1 \pm 27	101,4 \pm 49	98,5 \pm 58
Colesterol Total(mg/dL)	218,9 \pm 50	197,8 \pm 44	240 \pm 74	175 \pm 37,9
LDL (mg/dL)	130,6 \pm 43	124,5 \pm 29	170,7 \pm 90	105,6 \pm 43
HDL (mg/dL)	52,8 \pm 15	49,7 \pm 12	76,7 \pm 74	50,2 \pm 5,2
Ferritina (ng/ml)	188,4 \pm 117	197,1 \pm 196	420,6 \pm 300**	264,3 \pm 206
IMC	28,7 \pm 3,2	31,1 \pm 5,6	37,3 \pm 3,40**	32,4 \pm 7,7
ICC	0,94 \pm 0,1	0,94 \pm 0,1	0,98 \pm 0,1	0,93 \pm 0,1
KCal dieta	2321 \pm 779	2028 \pm 568	2054 \pm 664	1590 \pm 419
% proteínas	17,5 \pm 3,5	19,9 \pm 3,8	18,3 \pm 3,5	19,8 \pm 3,5
% Hidratos de Carbono	44 \pm 7,1	41 \pm 7,4	49,3 \pm 11	51,3 \pm 6,7
% lípidos	38,2 \pm 7,2	38,5 \pm 6,2	36,3 \pm 9,1	28,6 \pm 7,3***
EPA (g)	0,07 \pm 0,1	0,2 \pm 0,3*	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,2

	F0 N=37	F1 N=28	F2 N=5	F3-F4 N=6
DHA (g)	0,2±0,2	0,4±0,5	0,2±0,1	0,2±0,3
TNF (ng/mL)	6,1±3,9	7±3,9	8,5±5,3	5±3,4
Leptina (ng/mL)	18,3±14,6	37,2±26*	36,1±22	74,3±65***
IL-6 (ng/mL)	3,6±7,1	4,5±10	5,3±7,2	1,5±2
Adiponectina (microg/mL)	21,4±19	22,6±30	18,2±25	26,2±14
Resistina (ng/mL)	3,2±1,9	3,7±2,1	2,4±0,3	2,9±0,2
Visfatina (ng/mL)	13,2±7	12,8±4,3	14,3±1,4	17±11,5
NAFLD-FS	-3,20±1,05	-2,47±1,28	-0,79±1,04**	0,09±1,56***
*p<0,05 entre F0-F1				
**p<0,05 entre F0-F2				
***p<0,05 entre F0-F3/4				

Tabla 132. Resultados del ANOVA (análisis de la varianza). Características clínicas, bioquímicas, antropométricas y de ingesta dietética de nuestros pacientes en ausencia y presencia de fibrosis hepática en sus cuatro grados, agrupando F3 y F4 como grados severos.

A) Diferencias entre ausencia de fibrosis (F0) y presencia de fibrosis leve (F1):

Se observa que el consumo de **EPA** es significativamente mayor en los pacientes con fibrosis hepática leve, que en los que no presentan fibrosis en la biopsia hepática ($p=0,043$). Por otra parte, los niveles de **leptina** son mayores en los pacientes con fibrosis leve que en los que no tienen fibrosis hepática ($p=0,037$).

B) Diferencias entre ausencia de fibrosis (F0) y presencia de fibrosis moderada (F2):

El recuento de **plaquetas** es significativamente menor en los pacientes con fibrosis hepática moderada que en los que no tienen fibrosis ($p = 0,019$); los niveles de **ferritina** en suero están significativamente más elevados en los pacientes con fibrosis moderada que en los que no tienen fibrosis ($p = 0,041$); el **índice de masa corporal** es mayor en los pacientes con fibrosis moderada en la biopsia que en los que no presentan fibrosis ($p = 0,002$); y por

último, el **NAFLD Fibrosis Score** es mayor (es decir, se correlaciona mejor con la presencia de fibrosis) en los pacientes con fibrosis moderada en la biopsia hepática ($p=0,000$) que en los que no tienen fibrosis en la biopsia.

C) Diferencias entre ausencia de fibrosis (F0) y presencia de fibrosis severa (F3-F4):

Se observa que los pacientes con fibrosis severa (F3 y F4) tienen significativamente más **edad** que los que no presentan fibrosis en la biopsia hepática ($p= 0,022$). El recuento de **plaquetas** y la **albúmina** son significativamente menores en los pacientes con fibrosis severa ($p= 0,000$ y $p = 0,001$, respectivamente); el **HOMA-IR** está significativamente más elevado en los pacientes con fibrosis severa $p = 0,032$); el **porcentaje de lípidos** en la ingesta dietética es significativamente menor en los pacientes con fibrosis severa ($p = 0,038$); los niveles de **leptina** en suero son significativamente mayores en los pacientes con fibrosis severa que en los que no presentan fibrosis ($p = 0,000$); y el **NAFLD-FS** es significativamente mayor ($p=0,000$) en los pacientes con fibrosis severa en la biopsia, observándose la buena correlación entre este marcador no invasivo de fibrosis con la fibrosis evaluada por biopsia.

D) Diferencias entre la presencia de fibrosis leve (F1) y la presencia de fibrosis moderada (F2):

El recuento de **plaquetas** es significativamente menor en los pacientes con fibrosis moderada en la biopsia hepática que en los que presentan fibrosis leve ($p=0,030$). El **NAFLD-FS** es significativamente mayor en los pacientes con fibrosis moderada que en los que tienen fibrosis leve en la biopsia hepática ($p=0,029$).

E) Diferencias entre la presencia de fibrosis leve (F1) y la presencia de fibrosis severa (F3-F4):

El recuento de **plaquetas** es menor en los pacientes con fibrosis severa en la biopsia hepática que en los que presentan fibrosis leve ($p = 0,000$);); el **porcentaje de lípidos** en la ingesta dietética es significativamente menor en los pacientes con fibrosis severa ($p=0,035$); el **porcentaje de hidratos de carbono** en la ingesta dietética es significativamente mayor en

los pacientes con fibrosis severa ($p = 0,042$); y los niveles de **leptina** en suero son significativamente mayores en los pacientes con fibrosis severa en la biopsia hepática que en los que tienen fibrosis leve ($p = 0,027$).

No se encuentran diferencias entre la presencia de fibrosis moderada (F2) y la presencia de fibrosis severa (F3-F4)

5.3. Análisis con el Modelo de Regresión Logística: Fibrosis como variable dependiente

Después de realizar el análisis univariado y descartados términos de interacción como edad y sexo, mantenemos la variable dependiente dicotómica FIBROSIS HEPÁTICA valorada por biopsia hepática e introducimos las variables independientes siguientes: edad, sexo, glucosa, índice cintura/cadera, índice de masa corporal, niveles de AST y ALT, HOMA, leptina, TNF alfa y adiponectina.

Tras la introducción en el modelo de regresión logística, obtenemos las **odds ratio** de los factores de riesgo que, finalmente, están asociados al diagnóstico de fibrosis obteniéndose los siguientes resultados:

	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95% para EXP(B)	
							Inferior	Superior
sexo	-2,411	1,072	5,063	1	0,024	0,09	0,011	0,733
HOMA-IR	0,53	0,254	4,346	1	0,037	1,7	1,032	2,799

Tabla 132. Modelo de regresión logística: factores de riesgo asociados a la fibrosis hepática.

El riesgo de fibrosis es 0,09 veces menor en varones que en mujeres (IC 95% 0,01 a 0,7; $p < 0,05$) y es 1,7 veces mayor por cada unidad que se incrementa el HOMA (IC 95% 1,03 a 2,79; $p < 0,05$), es decir, que **el sexo femenino y a Resistencia a la Insulina son los únicos factores independientes en nuestro estudio asociados a la presencia de fibrosis hepática en muestra de biopsia.**

6. DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

6.1. Aspectos generales

La Enfermedad por Hígado Graso no Alcohólica (EHGNA) representa un complejo espectro de enfermedades que, como hemos descrito en la Introducción del presente trabajo, suelen clasificarse en Hígado graso no alcohólico (HGNA) o esteatosis simple, y en la llamada esteatohepatitis no alcohólica (EHNA). La primera se caracteriza por la presencia de esteatosis hepática sin evidencia de inflamación significativa ni de fibrosis, mientras que, en la segunda, la esteatosis se asocia con inflamación y en ocasiones también con fibrosis (72). La EHNA mantenida en el tiempo, puede conducir a cirrosis en aproximadamente un 20% de los casos y, al mismo tiempo, puede conducir a estadios avanzados de enfermedad hepática y al desarrollo de carcinoma hepatocelular con una incidencia en torno a un 2,6% en algunas series recientes (162).

En nuestra serie, 24 pacientes (31,6 %) presentan EHNA (puntuación ≥ 5 según el NAS-score de Kleiner (Kleiner, 2005 #283) en la muestra de biopsia hepática (tabla 22). En cuanto a la presencia de fibrosis, el total de pacientes que la presentan es de 39 (51,3%). Según la graduación: 28 (71,8%) tienen fibrosis leve (F1); 5 pacientes (12,8%), fibrosis moderada (F2) y 6 pacientes (15,4%) fibrosis severa (F3-4).

A continuación desarrollamos la discusión según cada objetivo, comentando nuestros resultados en función de la presencia de EHNA y sobre todo de fibrosis hepática, objetivo principal del presente trabajo.

6.2. Alteraciones analíticas y su relación con la presencia de fibrosis hepática en nuestra muestra de pacientes con EHGNA.

El aumento de la incidencia de EHGNA y su historia natural llevan a investigar marcadores y/o técnicas que tengan validez y gran aplicabilidad para predecir o detectar una peor evolución de la enfermedad.

Los avances recientes han permitido utilizar técnicas no invasivas para diagnosticar el grado de inflamación / fibrosis.

Se han propuesto diferentes índices basados en biomarcadores para el diagnóstico de esteatohepatitis no alcohólica (EHNA). Uno es el NashTest™ (BioPredictive, París, Francia), otra fórmula patentada que incluye 12 variables y tiene un AUROC de 0.79. Por otra parte, los índices descritos por Palekar y Shimada se componen de una combinación de diferentes variables clínicas y de laboratorio y han mostrado ser bastante precisos al comparar personas con EHNA y personas con esteatosis simple; sin embargo, el número de pacientes incluidos en estos estudios era escaso por lo que son necesarios más estudios con mayor número de pacientes para validar estos resultados (163).

En nuestro trabajo, los **parámetros bioquímicos que se asocian significativamente con la presencia de EHNA** en la biopsia hepática son la albúmina, el HOMA-IR y la leptina; los niveles de albúmina son más bajos en los pacientes con EHNA que en los que presentan esteatosis simple. A continuación mostramos una tabla comparativa de nuestros resultados con los de otros grupos (130, 164).

	EHNA (nuestro grupo)		p- valor	EHNA (Younossi y col.)		p- valor	EHNA (Lemoine y col.)		p-valor
	NO (n=52)	SÍ (n=22)		NO (n=40)	SÍ (n=39)		NO (n=17)	SÍ (n=57)	
GOT UI/L	45,94±24,64	49,27±28,69	0,615	21,46	32,55	0,001	-	-	
GPT UI/L	79,23±48,08	91,95±46,13	0,296	29,59	43,11	0,007	53,9±28	83,5±47,7	0,006
HOMA-IR	3,86±2,79	5,52±3,30	0,032	-	-		2,9±2,5	6,1±5,1	<0,0001
Glucosa basal (mg/dl)	107,05±29,65	118,95±40,49	0,161	-	-		5,2±1,03 (mmol/L)	6,6±2,1 (mmol/L)	0,01
Colesterol total (mg/dl)	213,66±53,44	198,63±43,00	0,246	204,41	188,00	0,032	-	-	
Triglicéridos (mg/dl)	141,20±86,00	146,70±81,54	0,811	180,37	174,47	0,607	1,43±0,8 (mmol/L)	1,77±1,3 (mmol/L)	0,03
Albúmina g/dL	4,39±0,47	4,15±0,34	0,035	-	-		-	-	
Leptina (ng/mL)	25,15±21,79	44,91±40,66	0,011	-	-		13,3±11,3	14,3±11,1	0,02

Tabla 133. Comparativa de diferentes marcadores séricos que se relacionan con la presencia de EHNA en la biopsia hepática.

En nuestros pacientes, los parámetros del lipidograma: (colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL y colesterol LDL) no muestran asociación significativa con la presencia de EHNA en la biopsia hepática, probablemente porque estén en tratamiento médico o dietético para este trastorno.

Por otra parte, se observa cómo el HOMA-IR, representativo de la resistencia a la insulina (IR), se relaciona en varios trabajos con la presencia de esteatohepatitis no alcohólica (60, 165, 166). La hiperinsulinemia y la RI son los principales factores patogénicos en la EHNA (167).

En nuestro trabajo hay un pequeño porcentaje (18,4%) de pacientes diabéticos (ver tabla 27). La presencia de **DM-2 no se asocia de forma significativa** con la presencia de EHNA en la biopsia de nuestros pacientes (ver tabla 89).

En relación a la **fibrosis hepática y marcadores séricos**, el NAFLD fibrosis score (NFS) es uno de los marcadores no invasivos más validado, y evalúa seis variables: la edad, la hiperglucemia, el IMC, recuento de plaquetas, albúmina y la relación AST / ALT. Esta ecuación se utiliza para clasificar la probabilidad de fibrosis con los siguientes valores de referencia: menor de - 1,5 de baja probabilidad; de -1,5 a <0,67 para la probabilidad intermedia y mayor de 0,67 para alta probabilidad (52). Desarrollaremos nuestros resultados al respecto en el último apartado de la Discusión.

Recientemente, otros autores proponen también un panel de marcadores bioquímicos séricos para predecir la presencia o ausencia de fibrosis (164, 168). Younossi y col. desarrollaron un nuevo panel con tres modelos para predecir EHNA, fibrosis relacionada con EHNA y fibrosis avanzada relacionada con EHNA. Para ello incluyeron importantes variables clínicas (como la Diabetes Mellitus tipo 2) así como marcadores de apoptosis, necrosis y fibrosis (como el Timp-1, que se relaciona con esta última)(164).

En nuestro trabajo, se observa que la GOT, GPT, GGT y ferritina en sangre no están relacionados de forma significativa con la presencia de fibrosis en la biopsia hepática, en cambio sí muestran relación significativa el recuento de plaquetas y la albúmina, más bajos en los pacientes con fibrosis.

Por otra parte, es importante señalar que pacientes con transaminasas normales y esteatosis hepática en ecografía también pueden tener EHNA y fibrosis hepática (139, 169). Recientes trabajos concluyen que no hay un nivel de ALT óptimo para predecir EHNA y fibrosis avanzada (41, 170).

A continuación mostramos una tabla comparativa de nuestros resultados con los de otros autores (164, 170)

	FIBROSIS (nuestro grupo)		p- valor	FIBROSIS (Younossi y col.)		p- valor	FIBROSIS (McPherson y col.)		p- valor
	NO (n=37)	SÍ (n=38)		NO (n=40)	SÍ (n=39)		Grado 0-2 (n=230)	Grado 3-4 (n=55)	
GOT UI/L	42,33±21,72	51,28±28,67	0,136	21,84	32,46	0,005	84 ± 66	65 ± 43	0,050
GPT UI/L	74,13±34,62	91,42±56,38	0,119	29,39	43,68	0,006	51 ± 38	58 ± 35	0,180
GGT UI/L	99,50±67,28	85,92±74,85	0,415	-	-		103 ± 100	196 ± 306	0,030
Glucosa basal (mg/dl)	103,18±21,56	117,91±40,82	0,059	107,75	119,85	0,748	-	-	
Colesterol total (mg/dl)	218,97±50,31	199,78±50,10	0,102	206,26	185,65	0,006	5,7 ± 1,3 (mmol/L)	5,0 ± 1,3 (mmol/L)	0,001
Triglicéridos (mg/dl)	137,03±71,66	148,11±94,37	0,602	183,44	170,89	0,301	-		
Albúmina g/dL	4,50±0,47	4,14±0,35	0,000	-	-		4,5 ± 0,3	4,3 ± 0,7	0,009
Plaquetas x 10³ / μl	302,70±55,14	270,74±65,05	0,024	-	-		258 ± 67	200 ± 78	<0,001

Tabla 134. Comparativa de diferentes marcadores séricos que se relacionan con la presencia de fibrosis en la biopsia hepática de pacientes con EHNA.

Tampoco se relacionan significativamente con la fibrosis en nuestra muestra los parámetros del lipidograma: colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL y colesterol LDL. Se sabe que el síndrome metabólico es un fuerte predictor de EHNA y fibrosis, pero la dislipemia no es el único factor que define este síndrome, como ya conocemos, lo que en parte puede explicar la falta de asociación, junto con que existan pacientes en la muestra tratados con fármacos hipolipemiantes.

También observamos una asociación significativa entre la presencia de fibrosis en la biopsia hepática y la insulinemia basal y el HOMA-IR. Es conocido y hemos tratado en el presente trabajo el papel de la RI (como uno de los componentes del Síndrome metabólico) en la patogenia de la EHGNA, tanto de la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) como en el posterior desarrollo de fibrosis hepática.

Numerosas series de pacientes muestran la asociación de la RI con la presencia de fibrosis hepática sobre hígado graso no alcohólico (60, 171-173).

A continuación mostramos una tabla comparativa de nuestros resultados con los de otros autores:

	FIBROSIS (nuestro grupo)		p-valor	FIBROSIS (Bazic* y col.) (174)		p-valor	FIBROSIS (Angulo y col.)		p-valor
	NO (n=37)	SÍ (n=38)		Grado 0-2 (n=204)	Grado 3-4 (n=142)		Grado 0-2 (n=69)	Grado 3-4 (n=19)	
Glucosa basal (mg/dl)	103,1892	117,9105	0,059	132,3±48	137,4±49	0,35	102±24	121±38	0,008
Insulina basal (µU/L)	12,5432	18,4595	0,010	25,3±23,1	36,4±37,4	0,002	14,8±15,6	26,2±18,8	0,002
HOMA-IR	3,2168	5,4753	0,000	8,42±9,0	12,6±14,8	0,003	4,218±7,093	8,142±6,382	0,007

*todos son pacientes diabéticos

Tabla 135. Comparativa de los parámetros que hacen referencia al metabolismo de la glucosa y la presencia de fibrosis en la biopsia hepática en pacientes con EHGNA.

La presencia de **DM-II** en nuestros pacientes, se asocia significativamente con la presencia de **fibrosis** en la biopsia hepática (ver tabla 113).

6.3 Papel de las Adipocitokinas

6.3. a. Adipocitokinas y EHNA

El tejido adiposo, como un órgano endocrino, participa en el balance energético. El tejido adiposo, en respuesta al tejido periférico y a las señales centrales del cerebro,

secreta varias quimiokinas. Estas adipokinas se caracterizan por un espectro de efectos locales, periféricos y centrales; éstas activan a los macrófagos, que liberan a su vez citokinas pro y antiinflamatorias. La obesidad, que se asocia a menudo con la RI, conlleva un estado inflamatorio de bajo grado en el que el tejido adiposo y sus hormonas tienen un papel central (72).

Aunque con los datos publicados en la literatura no se pueden obtener conclusiones relevantes, a partir de datos analizados se podría decir que la adiponectina y la ghrelina son adipokinas que atenúan la RI, mientras que el TNF- α , IL-6 y la leptina son citokinas que incrementan la resistencia a la insulina y por tanto el desarrollo de EHNA y EHNA (72).

Se ha planteado la hipótesis de que las adipokinas, incluyendo leptina, pueden tener un papel bidireccional en la RI y NAFLD; la mayoría de las alteraciones de las adipokinas durante la expansión del tejido adiposo son compensadoras y su objetivo es proporcionar efectos beneficiosos, pero pueden provocar al mismo tiempo efectos perjudiciales.

Al respecto, se ha propuesto la elevación de los niveles de leptina conforme aumenta la masa grasa como un mecanismo compensatorio para limitar la expansión de la masa grasa y preservar sensibilidad a la insulina, ejerciendo de este modo un efecto "anti-esteatosis" sobre el hígado. Sin embargo, un fracaso de la leptina para compensar un aumento de la RI y de la esteatosis más allá de cierto límite (es decir, cuando el tejido adiposo sigue creciendo), puede dar lugar en última instancia a efectos nocivos de la leptina, al actuar como proinflamatoria y profibrogénica, así como al desarrollo de resistencia a la leptina (175).

Teniendo presente la controversia existente, exponemos que en nuestro grupo de pacientes los niveles séricos de leptina se encuentran más elevados en aquéllos que presentan EHNA en la muestra de biopsia, que en los que tienen esteatosis simple. Y lo mismo concluyen otros estudios recientes (130, 173, 176).

El grupo de Lemoine y col. comunica en su trabajo una relación positiva entre los niveles de leptina sérica y el HOMA-IR, y la combinación de estos dos marcadores (HOMA-

IR y la ratio adiponectina/leptina) obtiene en sus pacientes un óptimo valor predictivo de EHNA, con un AUROC de 0,82 (130).

Finalmente, en un trabajo publicado por nuestro grupo con 76 pacientes diagnosticados de EHGNA mediante biopsia hepática se analizó la influencia del polimorfismo Lys656Asn del gen delreceptor de la leptina, encontrando una asociación significativa entre éste y el HOMA-IR, los parámetros antropométricos de obesidad, y la glucemia (95).

6. 3. b. Adipocitokinas y fibrosis hepática

En nuestro trabajo, analizamos la relación de los niveles plasmáticos de TNF- α , IL-6, visfatina, adiponectina, resistina y leptina con la presencia de fibrosis en la muestra de biopsia, encontrando sólo una asociación estadísticamente significativa con los niveles séricos de leptina ($p=0,001$).

Polyzos y col. concluyen en una reciente revisión que la leptina parece mostrar una doble acción en la EHGNA en modelos experimentales no sólo ejerciendo un efecto que protege de la esteatosis hepática, sino también una acción proinflamatoria, profibrogénica, y posiblemente oncogénica. Por otra parte, la evidencia relacionada con estos efectos no es tan clara en los estudios en humanos, en parte por ser estudios no controlados y en parte por el desconocimiento de las acciones centrales y periféricas de la leptina (175).

En este sentido, los datos procedentes de los estudios clínicos observacionales son contradictorios (80, 177). Los niveles de leptina han mostrado ser más altos o similares en grupos de pacientes con esteatosis simple/EHNA, comparado con grupos control, mientras que prácticamente en ningún estudio los niveles fueron más altos en los controles (175).

En el presente trabajo encontramos que la leptina se relaciona tanto con la presencia de EHNA como con la de fibrosis, al igual que en otros estudios (80, 178, 179). A continuación mostramos una tabla comparativa.

	FIBROSIS (nuestro grupo)		p- valor	FIBROSIS (Younossi y col.)		p- valor	FIBROSIS (Angulo y col.)		p- valor
	NO (n=33)	SÍ (n=37)		NO (n=40)	SÍ (n=39)		Grado 0-2 (n=69)	Grado 3-4 (n=19)	
Leptina (ng/mL)	18,38±14,61	42,33±35,0 7	0,001				19,3±10,6	32,2±17,2	0,005
Adiponectina (microg/mL)	21,46±19,47	22,63±27,8 9	0,841	6,11	5,98	0,540			

Tabla 136. Niveles séricos de adipocinas en relación con la presencia de fibrosis hepática en biopsia de pacientes con EHGNA.

En cuanto a los niveles de adiponectina sérica, no encontramos asociación significativa con la presencia de fibrosis en la muestra de biopsia en nuestros pacientes.

Numerosos estudios han investigado en humanos, animales y en modelos in vitro los mecanismos patogénicos y moleculares mediante los que la adiponectina influye en la obesidad, RI, hígado graso no alcohólico y otros componentes del síndrome metabólico (SM).

En varios estudios se ha observado que las concentraciones plasmáticas de adiponectina resultaron ser significativamente menores en los sujetos obesos (predominio de grasa visceral), aunque la adiponectina es secretada sólo desde el tejido adiposo. Los niveles séricos de adiponectina estaban disminuidos en DM2 y RI, lo que fue confirmado en estudios en animales, así como a través de diversos mecanismos moleculares. Sin embargo, no todos los estudios mencionados coinciden en cuanto a los niveles del receptor de adiponectina y la adiponectina en sí, un fenómeno que podría explicarse por un estado de resistencia a la adiponectina. Se necesitan más estudios para obtener conclusiones firmes (72).

6.4. Antropometría y su relación con la presencia de fibrosis hepática en nuestra muestra de pacientes con EHGNA.

Índice de Masa Corporal (IMC)

El IMC es uno de los componentes clave del Síndrome metabólico (SM), que juega, como hemos visto anteriormente, un papel muy relevante en la EHGNA.

En nuestro trabajo, observamos que los pacientes que no presentan Síndrome Metabólico (SM) van a mostrar **EHNA** en la biopsia hepática en número significativamente menor que los que cumplen criterios del SM (ver tabla 87).

En nuestra serie de pacientes, encontramos asociación estadísticamente significativa entre **el IMC y la presencia de EHNA y de fibrosis en la biopsia hepática** (ver tablas 92). Además, si comparamos por tramos de IMC (ver tablas 117 y 118), observamos que más de la mitad de los pacientes que presentan un IMC mayor de 30, y todos los que tienen un IMC mayor de 40 (obesidad mórbida, 6 pacientes), tienen fibrosis hepática.

Varios trabajos relacionan el IMC con la presencia y severidad de la fibrosis hepática (80, 172) y, en otros, no se encuentra asociación (164, 171).

	FIBROSIS (nuestro grupo)		p- valor	FIBROSIS (Younossi y col.)		p- valor	FIBROSIS (Angulo y col.)		p- valor
	NO (n=36)	SÍ (n=40)		NO (n=40)	SÍ (n=39)		0-2 (n=69)	3-4 (n=19)	
IMC	28,74±3,31	32,00±5,99	0,000	46,16±6,77	49,03±9,11	0,051	32,2±5,5	36,3±6,9	0,007

Tabla 137. IMC en relación con la presencia de fibrosis en biopsia hepática de pacientes con EHGNA.

En este sentido, creemos importante señalar que en nuestro estudio las **mujeres** presentan de forma más frecuente fibrosis que los hombres ($p=0,000$, tabla 37) probablemente porque son más obesas (ver tablas 59 y 62), tienen mayor porcentaje de

masa grasa que los hombres, (ver tabla 69) y tienen más resistencia a la insulina (ver tabla 48).

La **obesidad mórbida** es el paradigma de la relación incierta entre la obesidad visceral y el daño hepático en pacientes con EHGNA. En un estudio prospectivo reciente, sólo el 15-20% de los pacientes con obesidad grado III tenía EHNA, a pesar de la alta frecuencia de esteatosis (80%) y resistencia a la insulina marcada. Se detectó fibrosis leve en menos del 25% de los casos, y fibrosis ≥ 2 en sólo el 4% de los pacientes, lo que sugiere que factores no relacionados con la RI (citokinas, efecto tóxico de moléculas lipídicas, la microflora intestinal, lipotoxicidad, estrés oxidativo, etc.) son necesarios para promover la progresión de la enfermedad hepática (171).

Medida de la cintura, cadera e Índice cintura/cadera (ICC)

En nuestros pacientes, la **medida de la cadera**, en cm, se relaciona directamente con la presencia de **fibrosis** en la muestra de biopsia (ver tabla 120). En cambio no hay asociación significativa entre la medida de la cintura y la presencia de fibrosis, probablemente porque la mayoría de pacientes de la muestra que presentan fibrosis son mujeres, como hemos comentado anteriormente, y la distribución de la grasa es diferente con un ICC más bajo.

No observamos tampoco en nuestro estudio asociación significativa entre estos tres parámetros y la presencia de EHNA en la biopsia hepática.

En nuestro grupo de estudio, la obesidad central (ICC) influye más en la EHNA que en la fibrosis, lo que deja entrever que otros mecanismos han de intervenir en la progresión a fibrosis, como desarrollamos a continuación:

La **inflamación hepática mantenida en el tiempo** es fundamental en la progresión de la EHGNA. Evidencias consistentes indican que los macrófagos hepáticos, grupo celular que comprende los macrófagos residentes del hígado (células de Kupffer) y los monocitos que se infiltran en el hígado lesionado, así como subconjuntos de linfocitos específicos, desempeñan un papel fundamental en la iniciación y perpetuación de la respuesta inflamatoria, teniendo gran impacto perjudicial sobre la progresión del hígado graso a la

fibrosis. A continuación se explican algunos de los **mecanismos** que pueden influir en esta progresión a la fibrosis.

Al igual que otros macrófagos, las **células de Kupffer** y los macrófagos derivados de los monocitos hepáticos son poblaciones celulares muy heterogéneas y plásticas que pueden adoptar diversos fenotipos, por ejemplo los conocidos como M1 y M2, siendo como dos polos opuestos en cuanto a sus acciones (proinflamatorias y antiinflamatorias). En la EHGNA, las células de Kupffer están expuestas a una variedad de señales exógenas y endógenas que cambian su fenotipo hacia un estado proinflamatorio M1, en particular, las señales liberadas por los hepatocitos esteatóticos y lípidos tóxicos acumulados en las propias células de Kupffer.

Además, los mediadores inflamatorios exógenos procedentes de tejido adiposo y de los productos bacterianos liberados desde el intestino, tales como las **endotoxinas** (lipopolisacáridos, LPS), también activan las células de Kupffer y desencadenan la inflamación hepática. La inflamación impulsada por las células de Kupffer M1 es contrarrestada por los macrófagos M2 alternativamente polarizados, que producen citocinas anti-inflamatorias tales como IL-10, y promueven la resolución de la inflamación. La polarización de los macrófagos en el fenotipo M2 es promovido por citocinas derivadas de Th2 (IL-4, IL-13), que también puede proceder de los hepatocitos.

Además de su papel clave en la iniciación de la reacción inflamatoria asociada con los primeros pasos de la EHGNA, las células de Kupffer y monocitos reclutados contribuyen a la progresión de la fibrosis hepática, tanto por la perpetuación de reclutamiento de células inflamatorias como por la activación de las células estrelladas hepáticas. Evidencias recientes también indican que los macrófagos juegan un papel fundamental en la resolución de la fibrosis hepática..

Otras células que también intervienen en la fibrogénesis hepática, son los linfocitos, y en concreto los **linfocitos T “natural killer” (NKT)**, que en el inicio de la EHGNA (esteatosis) pueden tener efectos beneficiosos pero a la vez promueven la esteatohepatitis y la fibrosis.

Finalmente comentamos el papel de la **apoptosis** de los hepatocitos en la fibrogénesis. Varias vías conducen a la apoptosis lipotóxica, incluyendo la inflamación, el

estrés oxidativo y los ácidos grasos mismos, tales como el ácido palmítico. Después de la aparición de la apoptosis, los cuerpos apoptóticos son engullidos por las células de Kupffer y por las células estrelladas, lo que desencadena la liberación de mediadores proinflamatorios y profibrogénicos (180).

En la literatura, la **circunferencia de la cintura** sigue siendo el marcador indirecto más simple y más ampliamente utilizado de adiposidad visceral. Hay estudios recientes que evalúan el **Índice de adiposidad visceral (VAI)** que está basado en la masa corporal, la trigliceridemia, el colesterol HDL y la circunferencia de la cintura. Este índice está relacionado con la distribución y disfunción de la grasa visceral y se correlaciona con el riesgo cardiovascular. El VAI ha sido asociado con esteatosis y actividad necroinflamatoria hepáticas en la infección por el virus de la hepatitis C genotipo 1 (181).

En un estudio controlado, Vongsuvan y col. muestran que el VAI no se asocia significativamente con esteatosis, inflamación ni fibrosis hepática (182). Por otro lado, Petta y col. comunican en su estudio la relación significativa entre el VAI y la fibrosis hepática (183).

La evidencia científica sobre la compleja relación entre la masa grasa visceral, la RI y la EHGNA es controvertida. La severidad de la RI es un factor determinante de la progresión del daño hepático en la EHGNA, y la propia RI en el tejido adiposo ha sido propuesta como base de la patogénesis del daño hepático. En consecuencia, la obesidad visceral [(medida por el índice de adiposidad visceral (VAI) y la circunferencia de la cintura] podría representar un marcador no invasivo de la gravedad de la enfermedad en la población general. Sin embargo, no hay disponibles estudios controlados y con suficiente número de pacientes que evalúen la asociación entre la circunferencia de cintura y la lesión hepática (171).

En cuanto a los pacientes con obesidad mórbida (como paradigma de la relación incierta entre la obesidad visceral y el daño hepático en pacientes con EHGNA), Diez y col. concluyen en un reciente trabajo que la RI (medida por HOMA-IR), la circunferencia de la cintura y el síndrome metabólico están relacionados con la histología hepática en obesidad mórbida. En el análisis multivariado, el VAI solamente se asoció con HOMA-IR y con síndrome metabólico, pero no con la histología hepática. En este mismo estudio, el

VAI y la circunferencia de la cintura tuvieron valor predictivo similar para el diagnóstico de EHNA (181).

Circunferencia braquial (CB), pliegue tricípital (PT) y circunferencia muscular braquial (CMB)

Los pacientes de nuestra serie con **EHNA y fibrosis hepática** en la muestra de biopsia, presentan un **PT** significativamente mayor que en los que no se observa EHNA ni fibrosis (ver tablas 93 y 119). A su vez, este parámetro es significativamente mayor en las **mujeres** que en los hombres (ver tabla 63). La CB y el CMB no muestran asociación significativa con la presencia de EHNA o fibrosis.

Impedanciometría

En el análisis de la bioimpedancia de nuestro grupo, encontramos que los pacientes que presentan **fibrosis** en la biopsia hepática tienen: un porcentaje menor de agua corporal total, más masa grasa tanto en peso (kg) como en porcentaje, y menor porcentaje de masa magra (ver tabla 121), siendo todas estas diferencias estadísticamente significativas.

Creemos de nuevo importante comentar, que son las **mujeres** de nuestro grupo las que presentan significativamente más masa grasa y menos masa magra en comparación con los hombres (ver tabla 67), lo que podría explicar estas diferencias.

En cambio, en el grupo de pacientes que presenta EHNA sin fibrosis en la biopsia hepática, no encontramos diferencias significativas en el análisis de la bioimpedancia con respecto a los pacientes con esteatosis simple (ver tabla 96). Dasharathy y col. (184), observan cómo la masa grasa y la masa magra son significativamente mayores en los pacientes con NAFLD con respecto a controles sanos, pero no encuentran diferencias entre los pacientes con EHNA y los que tienen esteatosis simple.

No existen hasta la fecha estudios que analicen los datos de la bioimpedanciometría con la EHNA, si bien hay estudios en marcha (aún no publicados)

que obsevan una clara relación entre el ángulo de fase calculado mediante bioimpedanciometría y la EHGNA, siendo menor en fases más avanzadas de la enfermedad.

En nuestro estudio no encontramos asociación significativa entre el **ángulo de fase** y la EHNA, y tampoco con la fibrosis en la biopsia hepática (ver tablas 96 y 121), aunque sí observamos que en las **mujeres** es significativamente **menor** que en los hombres (ver tabla 67), y recordemos que en nuestro trabajo son las mujeres precisamente las que presentan estadios más avanzados de la enfermedad.

Ejercicio físico

Por otro lado, no querríamos dejar de hablar en este apartado la relevancia del ejercicio físico en la EHGNA y los resultados obtenidos en nuestro grupo de pacientes. Comprobamos que la **ausencia de realización de ejercicio físico** (al menos 3 horas de algún ejercicio aeróbico por semana) se relaciona significativamente con la presencia de **fibrosis** hepática en la biopsia de esos pacientes (ver tabla 123).

Los primeros que observaron una posible relación entre el ejercicio físico regular y la EHGNA fueron Palmer y col. (185). En su estudio comprueban que los pacientes con sobrepeso que perdieron al menos el 10% de su peso basal realizando restricción dietética y ejercicio físico regular, normalizaron los niveles de GOT.

Se comprueba que no sólo es la pérdida de peso lo que influye, sino que la realización de ejercicio sin pérdida de peso también ha demostrado mejorar el perfil hepático, en relación con la disminución de la RI (137) (186) debido a la conversión de masa grasa en masa muscular.

Falta por establecer cuál es la modalidad, intensidad, frecuencia y duración del ejercicio físico para obtener un efecto terapéutico en los pacientes con EHGNA (187).

Tensión arterial (TA)

Para terminar este apartado hacemos referencia a la relación de la **TA** con la EHNA y la fibrosis. Esta variable se relaciona en nuestro estudio significativamente tanto con la presencia de **EHNA** en la biopsia hepática, como con la presencia de **fibrosis**, y en concreto la elevada tensión sistólica (ver tablas 88 y 115).

Otro hecho relevante es que las **mujeres** de nuestra muestra presentan una TA sistólica y una TA diastólica significativamente más elevadas que los hombres (ver tabla 55).

Bazick y col. proponen en un reciente estudio con 346 pacientes diabéticos con NAFLD diagnosticados mediante biopsia, un modelo clínico de probabilidad de presentar fibrosis avanzada en el que, entre otras variables, se incluye la hipertensión arterial. El resto de variables son la edad, raza hispana, índice cintura/cadera, índice GOT/GPT, fosfatasa alcalina, fosfatasa alcalina elevada de forma aislada, bilirrubina (total y directa), globulina, albúmina, insulinemia, hematocrito, INR (international normalized ratio), y el recuento de plaquetas. El AUROC fue de 0,80 (95% IC 0,76-0,85, $p < 0,001$). La especificidad, sensibilidad, valor predictivo negativo y valor predictivo positivo fueron respectivamente 90,0%, 57%, 75,1% y 80,2%, y con este modelo lograron clasificar adecuadamente al 77% de los pacientes que presentaban fibrosis avanzada en la biopsia hepática (174).

6.5. Características de la ingesta dietética y su desviación de las recomendaciones internacionales en los pacientes con EHGNA con y sin fibrosis hepática.

En resumen, los pacientes de nuestro estudio con fibrosis en la biopsia hepática ingieren una dieta menos calórica, menor cantidad de lípidos y ácidos grasos saturados, y en cambio, la ingesta de ácido eicosapentaenoico (EPA) es significativamente mayor (ver tabla 126).

De forma general (ver tablas 100-102), también los pacientes de nuestro grupo con EHNA en la biopsia hepática, consumen (en comparación con los pacientes con esteatosis simple) una dieta menos calórica, con menos proteínas, menos minerales y menos vitaminas, entre ellas vitamina A y varias del tipo B.

Es probable que debido a su obesidad y otros factores del síndrome metabólico, y conciencia de enfermedad (influencia del médico), estuvieran haciendo en el momento de la consulta con el dietista que realizó la encuesta nutricional, una una dieta hipocalórica e hipograsa, así como pobre en sal, ya que observamos que los pacientes con fibrosis en la biopsia hepática consumen menor cantidad de sodio de forma significativa (ver tabla 128).

Con respecto al menor consumo de **vitamina A** de forma significativa que observamos en nuestros pacientes con EHNA frente a los que tienen sólo esteatosis, recordemos que el retinol (vitamina A) tiene efectos antioxidantes. En modelos animales se ha observado que el ácido retinoico, metabolito activo de la vitamina A, está implicado en la regulación del metabolismo lipídico y la esteatosis hepática. En un trabajo recientemente publicado, Liu y col. comprobaron que los niveles circulantes del ácido retinoico en los sujetos con EHNA se asoció significativamente con el metabolismo lipídico así como con la resistencia a la insulina. Además, tanto el mRNA y como los niveles de la proteína del receptor X, subunidad α , del ácido retinoico (RXR α), estaban significativamente disminuídos en aquellos pacientes con grados histológicos más severos de EHGNA (188).

En nuestra muestra de pacientes, no hay diferencias significativas en la ingesta de vitaminas y resto de minerales entre los pacientes que presentan fibrosis en la muestra de biopsia hepática y los que no.

Por último, observamos que nuestros pacientes con EHNA en la biopsia hepática consumen significativamente menor cantidad de **fibra** que los que presentan esteatosis simple (ver tabla 98).

En estudios en humanos se ha demostrado que la dieta de los pacientes con esteatosis hepática es rica en grasa y colesterol, así como pobre en ácidos grasos poliinsaturados, fibra, vitamina E y vitamina C (124).

Los ácidos **grasos poliinsaturados (PUFA)**, que comprenden predominantemente el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA), se utilizan ampliamente en la dieta diaria. Varias fuentes de evidencia indican que los PUFA son capaces de mejorar los trastornos de los lípidos, así como de mejorar la inflamación y la oxidación sistémicas. Datos preliminares de un reciente estudio muestran que 6 meses de terapia con PUFA son beneficiosos para la mejora de la EHNA, como se refleja en los exámenes de laboratorio y en la evaluación histológica (189).

Los diferentes tipos de lípidos de la dieta influyen en el desarrollo de lipotoxicidad hepática, a pesar de que las grasas de la dieta constituyen sólo el 10% del total de ácidos grasos libres de origen hepático. En general, los ácidos grasos saturados son más lipotóxicos que los mono- o poliinsaturados, principalmente debido a su menor capacidad para ser incorporados a los triglicéridos y a una mayor inducción de la apoptosis. No es menos importante el papel del colesterol, ya que existen datos que muestran que tras la administración de una dieta rica en colesterol, el colesterol libre se acumula en la mitocondria y sensibiliza a los hepatocitos facilitando su apoptosis y consiguiente lesión hepática (180).

6.6. Relación entre la severidad de la fibrosis hepática y las variables analíticas, antropométricas y de ingesta en nuestra muestra de pacientes con EHGNA.

En nuestro trabajo, recordemos que hemos agrupado los pacientes en cuatro según la severidad de la fibrosis en la biopsia hepática, como se observa en la tabla 132 del análisis de la varianza (F0: ausencia, F1: leve, F2: moderada y F3-4: severa).

La mayoría de los estudios publicados al respecto agrupan los pacientes en ausencia de fibrosis/fibrosis leve (F0-F2) y fibrosis avanzada (F3-F4) (158, 170), y también F0-1 versus F2-4 (167).

A la hora de establecer comparaciones nos centraremos principalmente en aquellos trabajos en los que el diagnóstico, grado y severidad del HGNA se ha obtenido

mediante la realización de biopsia hepática al igual que en nuestro estudio, lo que asegura la precisión diagnóstica y reproductibilidad.

Teniendo todo ello en cuenta, pasamos a discutir la relación entre la severidad de la fibrosis hepática y las diferentes variables analizadas en nuestro estudio.

6.6.1. Variables analíticas y adipocitokinas

En el análisis de nuestra muestra, el único parámetro analítico que se encuentra significativamente elevado en aquellos pacientes que tienen fibrosis leve en comparación con aquéllos que no tienen fibrosis, es la leptina sérica (37,2+26 Vs 18,3+14,6, $p<0,05$). Éste es de los pocos parámetros analíticos que presenta diferencia significativa desde estadios leves de fibrosis hepática (F0 Vs F1).

En el estudio de Hashiba y col., que agrupa los pacientes según la biopsia hepática en F0, F1, F2 y F3 (no hay ningún paciente con F4), la GGT es significativamente menor en los pacientes con fibrosis leve y el dominio 7S del colágeno tipo 4 (marcador sérico de fibrosis del tejido hepático) se encuentra significativamente elevado en los pacientes con fibrosis leve (F1 en este estudio) frente a los que no presentan fibrosis (172). En nuestro trabajo no se han medido biomarcadores de fibrosis.

Los pacientes de nuestro grupo con fibrosis moderada (F2) presentan un recuento de plaquetas significativamente menor, niveles de ferritina más altos y más obesidad (IMC) que aquéllos que no presentan fibrosis en la biopsia hepática (F0 Vs F2; 302+55 Vs 231+27; 188,4+117 Vs 420,6+300; 28,7+3,2 Vs 37,3+3,40; $p<0,05$).

La resistencia a la insulina provoca concentraciones elevadas de ferritina sérica, mayor expresión de los receptores de transferrina y aumento de hierro hepático, lo que contribuye a la generación de radicales hidroxilo y a la acumulación de RLO; sin embargo, su papel en la patogenia de la EHGNA aún no está aclarado (35).

Numerosos estudios han examinado hasta la fecha la frecuencia de hiperferritinemia en pacientes con EHGNA, con o sin aumento en el depósito de hierro intrahepático (112, 171, 190-194). Se ha sugerido que el incremento de los depósitos de

hierro intrahepático en relación con mutaciones del gen HFE (el gen de la hemocromatosis), podría conducir al desarrollo tanto de EHNA como de fibrosis avanzada en los pacientes con EHGNA, mediante un aumento del estrés oxidativo.

El avance en los conocimientos sobre la interacción entre las anomalías en el metabolismo del hierro y la EHGNA ponen de manifiesto la complejidad de esta relación, demostrando por ejemplo que muchos pacientes con EHGNA presentan hiperferritinemia en ausencia de incremento en los depósitos de hierro intrahepático, y en ausencia de mutaciones del gen HFE (112, 114, 192, 195).

Kowdley et al. demuestran en su reciente estudio con 628 pacientes con EHGNA confirmada por biopsia hepática, que niveles de ferritina sérica 1,5 veces por encima de los límites normales se asocian con depósito de hierro intrahepático, con el diagnóstico de EHNA, con una peor actividad histológica y predice como factor independiente la presencia de fibrosis avanzada en pacientes con EHGNA (196).

Los pacientes del grupo de Hashiba y col. con F2 en la biopsia hepática presentan valores del dominio 7S del colágeno tipo 4 significativamente más elevados que los pacientes F0, así como un porcentaje de hemoglobina glicosilada también significativamente mayor. Las plaquetas, al igual que en nuestro trabajo, experimentan una tendencia al descenso en los pacientes F2 y F3 (172), lo cual podría estar relacionado con grados iniciales de hipertensión portal que condicionasen hipersplenismo.

Ahora nos centramos en los parámetros analíticos de nuestro estudio que muestran diferencias significativas entre los pacientes sin fibrosis (F0) y los que tienen fibrosis severa (F3-4).

El recuento de **plaquetas** (302+55 Vs 166+59; p= 0,000) y la **albúmina** (4,5+0,4 Vs 166+59; p = 0,001) son significativamente menores en los pacientes con fibrosis severa (F0 Vs F3-4). Además, las plaquetas también son significativamente más bajas en los pacientes F3-4 frente a los F1 por el motivo previamente comentado.

En otros trabajos como el de Hashiba y col. y Singh y col., estos dos parámetros no se relacionan significativamente con la presencia de fibrosis severa (F3-F4) probablemente porque, dentro del grupo de los pacientes con este grado de fibrosis, los nuestros

presentan en la biopsia hepática una fibrosis más avanzada (en estos dos trabajos no hay pacientes con F4) (167, 172).

El siguiente parámetro nos recuerda de nuevo la trascendencia de la **Resistencia a la Insulina (RI)**, representada por el HOMA-IR:

En nuestros pacientes, el HOMA-IR está significativamente más elevado en aquellos con fibrosis severa frente a los que no tienen fibrosis en la biopsia hepática (6,7+3,8 Vs 3,2+1,5; $p = 0,032$).

En el trabajo de Angulo y col. (80), con 69 pacientes que presentaban fibrosis no avanzada (F1-2) y 19 pacientes con fibrosis avanzada (F3-4), el HOMA-IR se asocia de forma significativa con la presencia de F3-F4 en la biopsia hepática. De igual forma, en el grupo de Hashiba y col., el HOMA-IR se incrementó progresivamente en concordancia con la progresión de la fibrosis en la biopsia hepática, aunque no se encontró asociación significativa con la fibrosis severa probablemente por el elevado porcentaje de pacientes diabéticos, quienes eran los que presentaban mayor grado de fibrosis (y ningún paciente F4) (172).

Lemoine y col., en cambio, no hallan relación entre el HOMA-IR y la fibrosis, y refieren que esa falta de asociación puede ser explicada por el bajo porcentaje de pacientes en su estudio con fibrosis severa (30%) en la biopsia hepática (130). Este hecho que también podría ser aplicable a otro trabajo más reciente, del grupo de Franczani y col., en que tampoco hallan relación significativa entre el HOMA-IR y la fibrosis mayor o igual a F2, aunque sí se muestra una relación significativa entre la intolerancia a la glucosa y la presencia de fibrosis mayor o igual a F2 en la muestra de biopsia hepática (171).

En relación a las adipocitocinas, en nuestro trabajo los niveles de leptina en suero son significativamente mayores en los pacientes con fibrosis severa que en los que no presentan fibrosis (74,3+65 Vs 18,3+14,6; $p = 0,000$) (F3-4 Vs F0), y también significativamente mayores que en los que presentan fibrosis leve (74,3+65 Vs 37,2+26; $p = 0,027$) (F3-4 Vs F1).

En el análisis **univariante**, esta asociación es significativa en el trabajo de Angulo y col. (80), pero no en el **multivariante**, igual que ocurre en nuestro trabajo como explicaremos más abajo.

Lemoine y col. no encuentran relación significativa entre la leptina y la presencia de fibrosis moderada severa (130), sin embargo en un reciente trabajo publicado por nuestro grupo en el que se incluyeron 154 pacientes con EHGNA diagnosticada con biopsia hepática, se observó en el análisis univariante que el HOMA-IR, el IMC, y los niveles de leptina se asocian significativamente con la presencia de fibrosis hepática; y el análisis multivariante, ajustado por sexo y edad, mostró que los niveles séricos de leptina y el IMC son los únicos factores independientes asociados con fibrosis severa (F2-3-4 Vs F0-1) (197).

Como hemos desarrollado en el apartado 6.2, la evidencia relacionada con la acciones de la leptina no es tan clara en los estudios en humanos como en los modelos animales, en parte por ser estudios no controlados y en parte por el desconocimiento de las acciones centrales y periféricas de la leptina (175).

6.6.2. Variables antropométricas

El **índice de masa corporal (IMC)** es mayor en los pacientes con fibrosis moderada en la biopsia hepática que en los que no presentan fibrosis (37,3+3,40 Vs 28,7+3,2; $p = 0,002$).

Previamente varios autores han comunicado la relación significativa entre el IMC, que representa el total de la grasa corporal, y la presencia de fibrosis hepática en biopsia (36, 198).

Otros no sólo encuentran relación con la presencia, sino también con la severidad de la fibrosis hepática como vemos a continuación.

Angulo y col. encuentran esta asociación significativa entre el IMC y la presencia de fibrosis avanzada (F3 en su estudio) (80). Y de igual forma Hashiba y col. , aunque en este caso las diferencias son entre los pacientes con F3 y los F1 (172), así como en el trabajo de Lemoine y col. (130).

Al mismo tiempo nos parece importante volver a mencionar que los pacientes con obesidad mórbida son paradigma de la relación incierta entre la obesidad visceral y el daño hepático en pacientes con EHGNA. Por ejemplo, en el reciente trabajo de Younossi y col. , el IMC se relaciona significativamente con la presencia de fibrosis hepática, pero no con la severidad de la misma en la muestra de biopsia (164).

Finalmente observamos de nuevo la importancia no sólo de la cantidad de grasa corporal sino de su distribución, que es diferente no sólo entre hombres y mujeres, sino también entre personas de otras razas, como se observa en el estudio de Singh y col. En este trabajo el IMC no se asocia significativamente con la presencia de fibrosis hepática en pacientes asiáticos con EHGNA, debido a que la clasificación de la obesidad según el IMC se basa en estudios occidentales con población caucásica y por tanto no es exactamente aplicable a la población asiática en la que, como se muestra en este grupo de pacientes, utilizando esta clasificación hay una infraestimación de la obesidad (167).

6.6.3. Variables de la ingesta dietética

El porcentaje de lípidos en la ingesta dietética según la encuesta nutricional realizada es significativamente menor en los pacientes con fibrosis severa que en los que no presentan fibrosis en la biopsia hepática (28,6+7,3 Vs 38,2+7,2; $p = 0,038$)(F3-4 Vs F0).

Como hemos explicado anteriormente, esta aparente contradicción puede explicarse por la intervención del médico y la conciencia de enfermedad del paciente.

El porcentaje de hidratos de carbono en la ingesta dietética es significativamente mayor en los pacientes con fibrosis severa frente a los pacientes con fibrosis leve en la biopsia hepática (51,3+6,7 Vs 41+7,4; $p = 0,042$) (F3-4 Vs F1).

La ingesta de **carbohidratos** es el principal estímulo para la lipogénesis hepática de novo, y es muy probable que contribuya más directamente al desarrollo de EHGNA que la ingesta de grasas. Los sustratos para la mencionada lipogénesis de novo son principalmente la glucosa, la fructosa y los aminoácidos (199).

Se ha demostrado que una mayor ingesta de carbohidratos se asocia con la severidad histológica de la EHGNA, y en varios trabajos se ha visto que la reducción de carbohidratos de la dieta disminuyó de forma más eficaz la GPT en esos pacientes, incluso con una pérdida de peso similar entre ambos grupos. Estos datos tienen relevancia epidemiológica y práctica, ya que el consumo de hidratos de carbono simples ha aumentado dramáticamente en las últimas décadas. En particular, se ha sugerido que la fructosa y la sacarosa (que contiene 50% de fructosa), desempeñan un importante papel en los trastornos metabólicos. Entre los azúcares, la fructosa tiene muchas particularidades, ya que apenas estimula la secreción de insulina y leptina, y por lo tanto es menos capaz de inducir la saciedad que otros azúcares. A la luz de estudios experimentales parece que la fructosa es directamente proinflamatoria ya que induce estrés oxidativo y regula positivamente la expresión de TNF-alfa (180).

De acuerdo con lo anterior, la fructosa parece relacionarse no sólo con la EHGNA sino también con la severidad de la fibrosis hepática. Algunos estudios epidemiológicos han relacionado el consumo de jarabe de maíz con elevada cantidad de fructosa con la severidad de la fibrosis hepática en pacientes con EHGNA (200). Este jarabe de maíz se encuentra principalmente en bebidas gaseosas y alimentos precocinados, productos que se consumen cada vez con más frecuencia y sobre todo en la población más joven (199), lo que explicaría el alarmante incremento de la incidencia de esta enfermedad y a edades tempranas.

Análisis multivariante

El **sexo femenino y la Resistencia a la Insulina (RI)** son los únicos factores independientes en nuestro estudio (ver tabla 130) asociados a la presencia de fibrosis hepática en la muestra de biopsia [el riesgo de fibrosis es 0,09 veces menor en varones que en mujeres (IC 95% 0,01 a 0,7; $p < 0,05$) y es 1,7 veces mayor por cada unidad que se incrementa el HOMA (IC 95% 1,03 a 2,79; $p < 0,05$)].

Varios estudios apoyan que el sexo femenino es un factor de riesgo de progresión de la EHGNA debido a que la presentación de la enfermedad en éstas tiene lugar en fases más avanzadas de la enfermedad (35, 167, 198, 201, 202). Tal es el caso de nuestro estudio (ver tablas 31 y 36) en el que las mujeres presentan significativamente más EHNA y más fibrosis en la biopsia hepática.

En cuanto al HOMA-IR, también se muestra como variable independiente asociada a la presencia de fibrosis hepática en pacientes con EHGNA en estudios previos (169, 203) y más recientes, como el de Ercin y col., en el que el HOMA-IR es la única variable independiente que se asocia con la presencia de fibrosis hepática en biopsia en un grupo de 215 pacientes con EHGNA (204).

Todo lo anterior pone de manifiesto que la RI es el factor patogénico fundamental de la EHGNA y que la mayoría de las variables que se asocian en el análisis univariado son variables subrogadas a la RI (por ejemplo la leptina, como vemos a continuación).

Las razones de que en nuestro estudio la leptina no se asocie a la fibrosis hepática como variable independiente podemos encontrarlas en el trabajo de Angulo y col. : la correlación de la concentración plasmática de leptina con la gravedad de la fibrosis hepática en pacientes con EHNA es un reflejo de la asociación entre la gravedad de la fibrosis y las variables que determinan la producción de leptina, tales como edad, sexo, índice de masa corporal y la hiperinsulinemia. La asociación significativa de los niveles de leptina y la fibrosis hepática en el análisis univariado, se convierte en no significativa en el multivariado cuando los niveles de leptina son ajustados por los factores de confusión conocidos que influyen en las concentraciones de leptina plasmática. Por ejemplo, las concentraciones de leptina son más altas en los individuos obesos que en los delgados, y en las mujeres en comparación con los hombres, incluso cuando se corrige por el porcentaje de la grasa corporal (80).

6.7. Relación del marcador no invasivo de fibrosis hepática NAFLD Fibrosis Score con la presencia y severidad de la fibrosis obtenida en la biopsia hepática de nuestra muestra de pacientes con EHGNA.

Como hemos expuesto anteriormente, en NAFLD Fibrosis Score es el marcador no invasivo más estudiado de fibrosis hepática en pacientes con EHGNA. El índice recordemos que incluye 6 variables fáciles de obtener (edad, IMC, glucemia, recuento de plaquetas, albúmina y la relación AST/ALT) combinadas en una ecuación.

En nuestros pacientes, hemos estudiado la relación entre este marcador y la presencia/severidad de fibrosis hepática en la biopsia, con objeto de evaluar su utilización como marcador no invasivo de fibrosis hepática.

Por una parte, en la tabla 130 observamos cómo el NALFD-FS se relaciona significativamente con la presencia de fibrosis hepática en la biopsia de nuestros pacientes, siendo su valor más elevado en los que presentan fibrosis que en los que no la presentan.

Y además, se relaciona también con la severidad de la fibrosis (ver tablas 131 y 132):

*el NAFLD-FS es significativamente mayor ($-0,79 \pm 1,04$ Vs $-3,20 \pm 1,05$; $p=0,000$) en los pacientes con **fibrosis moderada** en la biopsia hepática que en los que no tienen fibrosis (F2 Vs F0);

*el NAFLD-FS es significativamente mayor ($0,09 \pm 1,56$ Vs $-3,20 \pm 1,05$; $p=0,000$) en los pacientes **con fibrosis severa** en la biopsia hepática que en los que no tienen fibrosis (F3-4 Vs F0);

*el NAFLD-FS es significativamente mayor ($-0,79 \pm 1,04$ Vs $-2,47 \pm 1,28$; $p=0,030$) en los pacientes **con fibrosis moderada** en la biopsia hepática que en los que tienen fibrosis leve (F2 Vs F1).

Este sistema de puntuación fue construido y validado por Angulo y col. en 2007 con el objetivo de separar los pacientes con NAFLD con y sin fibrosis avanzada.

En su estudio de 733 pacientes con EHGNA confirmada con biopsia hepática divididos en dos grupos, obtienen los siguiente: mediante la aplicación del punto de corte menor (-1.455), la presencia de fibrosis avanzada podría ser excluida con gran precisión (valor predictivo negativo del 93% y 88% en los grupos de estimación y validación, respectivamente). Mediante la aplicación de la punto de corte mayor (0.676), la presencia de fibrosis avanzada podría ser diagnosticada con una alta precisión (valor predictivo positivo del 90% y 82% en los grupos de estimación y validación, respectivamente). Y concluyen que mediante la aplicación de este modelo, se podría haber evitado la biopsia en 549 (75%) de los 733 pacientes, con la predicción correcta de la presencia de fibrosis avanzada (158).

En 2013, otro trabajo del mismo grupo (134) (320 pacientes con EHGNA confirmada con biopsia hepática, realizando un seguimiento de 104,8 meses de media) comunica que el NAFLD-FS aparece en su estudio como el marcador no invasivo más preciso, según el análisis ROC, a la hora de predecir a largo plazo complicaciones relacionadas con la enfermedad hepática así como riesgo de muerte o trasplante hepático.

De acuerdo con estos hallazgos, Mc Pherson y col. en su reciente estudio con 448 pacientes diagnosticados de EHGNA mediante biopsia hepática (y 108 de ellos con al menos dos biopsias seriadas), comunican una relación significativa entre la variación progresiva del NAFLD-FS y los cambios en el grado de fibrosis hepática evaluados mediante biopsia hepática, mostrando el NAFLD-FS una elevada efectividad en la identificación de pacientes con fibrosis avanzada en la biopsia hepática realizada durante su seguimiento (205).

No queremos dejar de mencionar en este apartado **el papel de la ecografía abdominal como método de diagnóstico no invasivo en la EHGNA**. En nuestro estudio, 50 pacientes de los 76 (75,8%) diagnosticados de EHGNA mediante biopsia, presentaron esteatosis en la ecografía abdominal. La presencia de esteatosis en la ecografía, se asoció significativamente con tanto con la presencia de EHNA como con la de fibrosis en la biopsia hepática (ver tablas 85 y 106).

A este respecto se ha publicado recientemente un trabajo en el que se valora la precisión de la ecografía abdominal junto con marcadores serológicos para el diagnóstico no invasivo de la EHGNA. Incluyeron en su estudio 215 pacientes con colestiasis (diagnosticada por ecografía) a los que se les realizó una biopsia hepática durante la colecistectomía, obteniendo: 104 pacientes con hígado normal, 89 pacientes con esteatosis simple y 22 pacientes con EHNA, de los cuales 5 presentaban un grado de fibrosis mayor o igual a 2. Después del análisis observaron que el HOMA-IR y la esteatosis diagnosticada por ecografía fueron los dos únicos factores independientes que se asociaron con la presencia de EHNA en la biopsia hepática, con un área bajo la curva (AUROC) de 0,897, mostrando una elevada precisión para el diagnóstico de EHNA. Además, el NAFLD-FS fue un buen predictor de ausencia de fibrosis avanzada, con un valor predictivo negativo del 95% cuando éste índice es menor de -1,455 (206).

Mostramos, para finalizar, **un algoritmo de diagnóstico no invasivo de EHGNA** propuesto por Castera y col. La elección del NAFLD-FS de entre otros marcadores no invasivos está basada en las recomendaciones tanto de la AASLD (Asociación Americana para el Estudio de las Enfermedades Hepáticas) como de la EASL (Asociación Europea para el Estudio del Hígado) con el objetivo de aplicar el NAFLD-FS en todos aquellos pacientes en los que se sospecha EHGNA para predecir la severidad de la fibrosis y optimizar la decisión de realizar una biopsia hepática. La elastografía de transición ha sido añadida en este algoritmo por la amplia disponibilidad de la técnica a nivel mundial y ha sido aprobada por la FDA, donde observamos el papel relevante que tienen el NAFLD-FS y la biopsia hepática en el diagnóstico y clasificación de estos pacientes como hemos demostrado en este estudio (163).

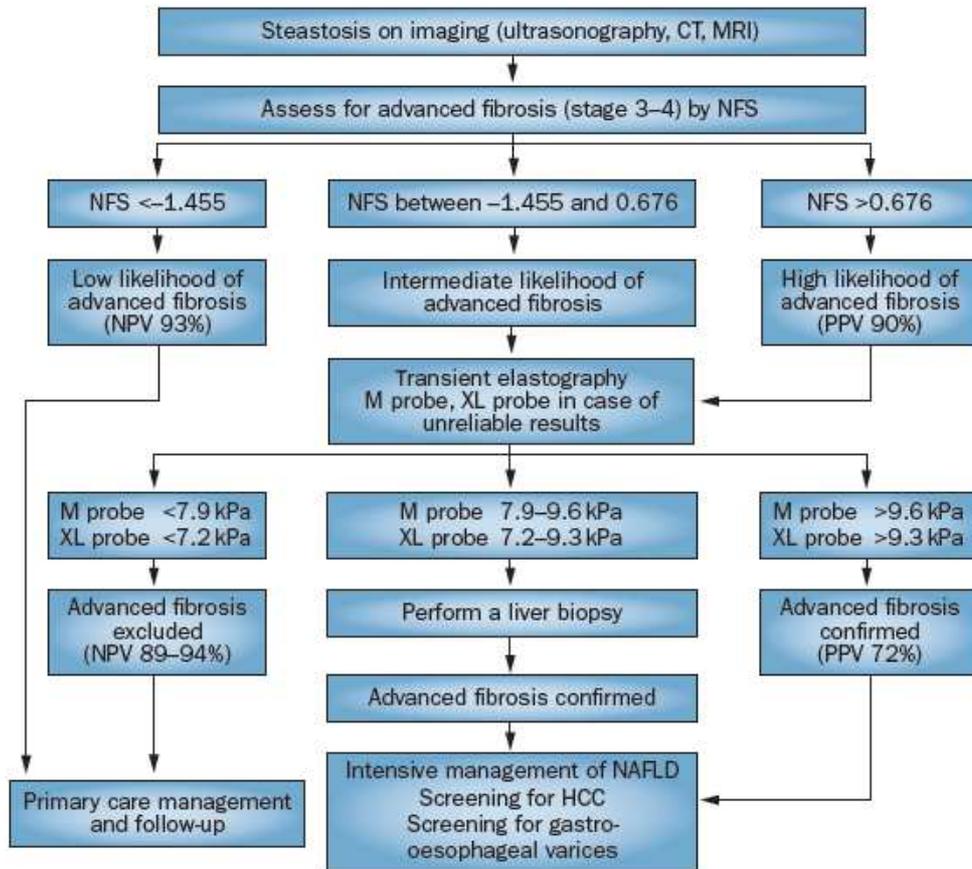


Figura 133. Algoritmo de diagnóstico no invasivo de EHNA. HCC: carcinoma hepatocelular; NFS: NAFLD fibrosis score; NPV: valor predictivo negativo; PPV: valor predictivo positivo (163).

7. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. Los pacientes con Esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) en biopsia hepática presentan significativamente mayor resistencia a la insulina (RI), niveles más bajos de albúmina, y niveles de leptina sérica más elevados que los pacientes con esteatosis simple.

Los niveles de transaminasas no se asocian significativamente con la EHNA en nuestro estudio; unas transaminasas normales no excluyen la presencia de EHNA en la biopsia hepática.

Las mujeres presentan significativamente más inflamación lobulillar-portal que los hombres de nuestro grupo de estudio.

Los pacientes con fibrosis hepática en la biopsia presentan significativamente un recuento de plaquetas menor, una albúmina sérica menor, mayor RI y niveles de leptina sérica más elevados que los pacientes sin fibrosis hepática de nuestro grupo de estudio.

2. Los pacientes que no presentan Síndrome Metabólico van a mostrar EHNA en la biopsia hepática en número significativamente menor que los que cumplen criterios del SM.

El Índice de masa corporal se asocia significativamente con la presencia tanto de EHNA como de fibrosis hepática en la biopsia de nuestro grupo de pacientes.

Los pacientes que presentan fibrosis en la biopsia hepática tienen: un porcentaje menor de agua corporal total, más masa grasa tanto en peso (kg) como en porcentaje, y menor porcentaje de masa magra que los pacientes sin fibrosis, todo ello de forma significativa.

La ausencia de ejercicio físico (al menos 3h/sem de ejercicio aeróbico) en nuestros pacientes se asocia significativamente con la presencia de fibrosis hepática en la biopsia.

La hipertensión arterial en nuestros pacientes se asocia significativamente con la presencia tanto de EHNA como de fibrosis en la biopsia hepática.

3. Los pacientes de nuestro estudio con fibrosis en la biopsia hepática ingieren una dieta menos calórica, menor cantidad de lípidos y ácidos grasos saturados, y en cambio, la ingesta de ácido eicosapentaenoico (EPA) es significativamente mayor, probablemente por la influencia del nutricionista y del médico, y por tratarse de datos recogidos mediante encuesta.

Los pacientes de nuestro estudio con EHNA en la biopsia hepática consumen significativamente menos fibra y menos vitamina A.

4. La leptina sérica es la única adipocitokina que se encuentra significativamente elevada en aquellos pacientes que tienen fibrosis leve en comparación con aquéllos que no tienen fibrosis en la biopsia hepática. Éste es de los pocos parámetros analíticos que presenta diferencia significativa desde estadios leves de fibrosis hepática (F0 Vs F1).

El recuento de plaquetas y la albúmina son significativamente menores en los pacientes con fibrosis severa en la biopsia hepática.

En nuestros pacientes, el HOMA-IR está significativamente más elevado en aquéllos con fibrosis severa frente a los que no tienen fibrosis en la biopsia hepática.

En nuestros pacientes, el IMC está significativamente más elevado en aquéllos con fibrosis moderada frente a los que no tienen fibrosis en la biopsia hepática.

El porcentaje de hidratos de carbono en la ingesta dietética es significativamente mayor en los pacientes con fibrosis severa frente a los pacientes con fibrosis leve.

El sexo femenino y la RI son los únicos factores independientes en nuestro estudio asociados a la presencia de fibrosis hepática en la muestra de biopsia.

5. El NAFLD-FS se relaciona significativamente con la presencia de fibrosis hepática en la biopsia de nuestros pacientes, siendo su valor más elevado en los que presentan fibrosis que en los que no la presentan, y se relaciona también con la severidad de la fibrosis, por lo que se puede considerar una buena opción para clasificar pacientes con EHNA de forma no invasiva.

8. LIMITACIONES

LIMITACIONES

La principal limitación del presente trabajo es que se trata de un estudio de corte o transversal por lo que no es posible establecer relaciones de causalidad entre las diferentes variables analizadas con la presencia y severidad de la fibrosis.

Al tratarse de un estudio transversal sólo nos permite establecer asociación de dichos parámetros con la presencia de EHNA y sobre todo de fibrosis que es nuestro objetivo principal ya que su presencia puede condicionar una peor evolución de estos pacientes.

Otra limitación es que los pacientes cuando acuden al Centro de investigación de Endocrinología y Nutrición para ser valorados por un dietista y realizar una encuesta nutricional ya han sufrido una primera intervención del médico (el especialista de Aparato Digestivo que le ha atendido en la consulta) por lo que de alguna manera las características de la dieta de dichos pacientes pueden estar sesgadas por la intervención activa o pasiva del médico , lo que puede artefactar los resultados.

Son necesarios por tanto estudios prospectivos que permitan establecer causalidad en el desarrollo y progresión de la fibrosis para poder confirmar nuestros resultados.

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1.** Comparación de los criterios diagnósticos de síndrome metabólico propuestos por las distintas organizaciones.
- Tabla 2.** IMC y riesgo de comorbilidad según la OMS.
- Tabla 3.** Prevalencia de obesidad en la población de 18-24 años por sexo (estudio enKid) según los criterios de Cole y col., y según los percentiles 85 y 97 de Orbeago, 2004.
- Tabla 4.** Evolución al alza del IMC de los niños españoles en un intervalo de 16 años (48)
- Tabla 5.** Tendencia en el percentil (p) 95 del índice de masa corporal en España, entre los años 1992 y 2000.
- Tabla 6.** Factores de riesgo socio-demográficos y relacionados con el estilo de vida asociados a la obesidad.
- Tabla 7.** NAS-score
- Tabla 8.** Resumen de variables analizadas en este estudio.
- Tabla 9.** Resumen de las variables antropométricas analizadas.
- Tabla 10:** ángulo de fase según grupos de edad y sexo
- Tabla 11.** Resumen de las variables analizadas por AIB.
- Tabla 12.** Resumen de los valores de referencia de las diferentes variables analizadas en laboratorio. PCR: proteína C reactiva; g: gramos; mg: miligramos; µg: microgramos; UI: unidades internacionales.
- Tabla 13.** Fórmula de Harris-Benedict: para el cálculo de los requerimientos energéticos estimados (REE) en función del IMC, el sexo, la edad, el peso y la talla. CA: coeficiente de ajuste.
- Tabla 14.** Resumen de los macro y micronutrientes analizados por medio de la encuesta nutricional. EPA: ácido eicosapentaenoico; DHA: ácido docosahexaenoico; kcal: kilocalorías; g: gramos; mg: miligramos; µg: microgramos.
- Tabla 15.** NAS-score de Kleiner.
- Tabla 16.** Estadía de fibrosis
- Tabla 17.** Criterios de factores de riesgo cardiovascular propuestos por la IDF, con sus respectivos límites.
- Tabla 18.** Criterios de factores de riesgo cardiovascular propuestos por la NCEP- ATP III, con sus respectivos límites.
- Tabla 19.** Variables epidemiológicas generales de la muestra.
- Tabla 20.** Variables bioquímicas.
- Tabla 21.** Clasificación NAS. Si es ≥ 5 se establece que tienen EHNA.
- Tabla 22.** Clasificación de la fibrosis hepática.
- Tabla 23.** Medidas de las variables antropométricas fundamentales para nuestro estudio. IMC: índice de masa corporal.
- Tabla 24.** Composición corporal y otros parámetros calculados mediante impedanciometría.
- Tabla 25.** Puntuación para valorar la presencia de S. Metabólico.
- Tabla 26.** Medidas de TA sistólica y diastólica.
- Tabla 27.** Pacientes con DM-2.
- Tabla 28.** Resultados de la composición de la dieta derivados de la encuesta dietética llevada a cabo por los pacientes.
- Tabla 29.** Valores en plasma de las diferentes citocinas relacionadas con el tejido adiposo.
- Tabla 30.** Diferencias de edad en función del sexo de los pacientes.
- Tabla 31.** Puntuación NAS-score según el sexo.
- Tabla 32.** Puntuación NAS-score según la mediana de edad.
- Tabla 33.** Inflamación lobulillar y portal según el sexo.
- Tabla 34.** Inflamación lobulillar y portal según la mediana de edad.

- Tabla 35.** Presencia de esteatosis simple según el sexo.
- Tabla 36.** Presencia de esteatosis simple según la mediana de edad.
- Tabla 37.** Presencia de fibrosis según el sexo.
- Tabla 38.** Presencia de esteatosis en la ecografía según la mediana de edad.
- Tabla 39.** Presencia de esteatosis en la ecografía según el sexo.
- Tabla 40.** Niveles de GOT según la mediana de edad.
- Tabla 41.** Niveles de GOT según el sexo.
- Tabla 42.** Niveles de GPT según la mediana de edad.
- Tabla 43.** Niveles de GPT según el sexo.
- Tabla 44.** Niveles de GGT según la mediana de edad.
- Tabla 45.** Niveles de GGT según el sexo.
- Tabla 46.** Niveles de albúmina, plaquetas y ferritina en sangre según la edad.
- Tabla 47.** Niveles de albúmina, plaquetas y ferritina en sangre según el sexo.
- Tabla 48.** Metabolismo de la glucosa: diferencias por sexo.
- Tabla 49.** Presencia de DM-2: diferencias por sexo.
- Tabla 50.** Presencia de DM-2: diferencias por edad.
- Tabla 51.** Percentiles Resistencia a Insulina por insulinemia y HOMA.
- Tabla 52.** Metabolismo de la glucosa: diferencias por edad.
- Tabla 53.** Lipidograma: diferencias entre sexos.
- Tabla 54.** Lipidograma: diferencias por edad.
- Tabla 55.** Tensión arterial: diferencias entre sexos.
- Tabla 56.** Tensión arterial: diferencias por edad.
- Tabla 57.** IMC según la mediana de edad.
- Tabla 58.** IMC según el sexo.
- Tabla 59.** IMC según la mediana de edad.
- Tabla 60.** IMC según el sexo.
- Tabla 61.** IMC según la mediana de edad.
- Tabla 62.** IMC según el sexo.
- Tabla 63.** Peso y talla: diferencias por sexo.
- Tabla 64.** Peso y talla: diferencias por edad.
- Tabla 65.** Cintura, cadera, e ICC: diferencias por sexo. ICC: Índice Cintura /Cadera
- Tabla 66.** Cintura, cadera, e ICC: diferencias por edad. ICC: Índice Cintura /Cadera.
- Tabla 67.** Pliegue tricípital, circunferencia braquial y CMB: diferencias por sexo.
- Tabla 68.** Pliegue tricípital, circunferencia braquial y CMB: diferencias por edad.
- Tabla 69.** Impedanciometría: diferencias por edad.
- Tabla 70.** Hábito del ejercicio físico según la mediana de edad.
- Tabla 71.** Hábito del ejercicio físico según el sexo.
- Tabla 72.** Hábito tabáquico según la mediana de edad.
- Tabla 73.** Hábito tabáquico según el sexo.
- Tabla 74.** Hábito alcohólico según la mediana de edad.
- Tabla 75.** Hábito alcohólico según el sexo.
- Tabla 76.** Ingesta de macronutrientes: diferencias por sexo. EPA: ácido eicosapentaenoico. DHA: ácido docosahexaenoico.
- Tabla 77.** Ingesta de macronutrientes: diferencias por edad. EPA: ácido eicosapentaenoico. DHA: ácido docosahexaenoico.
- Tabla 78.** Ingesta de minerales: diferencias por sexo.
- Tabla 79.** Ingesta de minerales: diferencias por edad
- Tabla 80.** Ingesta de vitaminas: diferencias por sexo.
- Tabla 81.** Ingesta de vitaminas: diferencias por edad.
- Tabla 82.** Adipocitoquinas: diferencias entre sexos.
- Tabla 83.** Adipocitocinas: diferencias por edad
- Tabla 84.** Comparación del NAS-score según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia.

- Tabla 85.** Comparación del NAS según la presencia o ausencia de esteatosis en ecografía.
- Tabla 86.** Comparación del NAS según las diferentes variables bioquímicas.
- Tabla 87.** Comparación del NAS según la presencia o ausencia de S. Metabólico
- Tabla 88.** Metabolismo de la glucosa: diferencias según la presencia de EHNA.
- Tabla 89.** DM-2: diferencias según la presencia de EHNA.
- Tabla 90.** Lipidograma: diferencias según la presencia de EHNA.
- Tabla 91.** IMC: diferencias según la presencia de EHNA.
- Tabla 92.** IMC: diferencias según la presencia de EHNA.
- Tabla 93.** IMC: diferencias según la presencia de EHNA.
- Tabla 94.** Cintura, cadera, e ICC: diferencias según la presencia de fibrosis. ICC: Índice Cintura /Cadera.
- Tabla 95.** Pliegue tricipital, circunferencia braquial y circunferencia muscular del brazo (CMB): diferencias según la presencia de EHNA.
- Tabla 96.** Impedanciometría: diferencias según la presencia de EHNA.
- Tabla 97.** Comparación de la realización de ejercicio físico según la presencia o ausencia de EHNA.
- Tabla 98.** Comparación del hábito tabáquico según la presencia o ausencia de EHNA.
- Tabla 99.** Comparación del hábito alcohólico según la presencia o ausencia de EHNA.
- Tabla 100.** Ingesta de macronutrientes: diferencias según la presencia de EHNA. EPA: ácido eicosapentaenoico. DHA: ácido docosahexaenoico.
- Tabla 101.** Ingesta de minerales: diferencias según la presencia de EHNA.
- Tabla 102.** Ingesta de vitaminas: diferencias según la presencia de EHNA.
- Tabla 103.** Adipocitocinas: diferencias según la presencia de EHNA.
- Tabla 104.** Comparación del sexo según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.
- Tabla 105.** Comparación de la edad según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática
- Tabla 106.** Comparación de la esteatosis en ecografía según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.
- Tabla 107.** Comparación de la GOT en sangre según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.
- Tabla 108.** Comparación de la GPT en sangre según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.
- Tabla 109.** Comparación de la GPT en sangre según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.
- Tabla 110.** Comparación de la determinación de albúmina y plaquetas en sangre según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.
- Tabla 111.** Comparación de la presencia de SM según la presencia o ausencia de fibrosis
- Tabla 112.** Metabolismo de la glucosa: diferencias según la presencia de fibrosis
- Tabla 113.** DM-2: diferencias según la presencia de fibrosis
- Tabla 114.** Lipidograma: diferencias según la presencia de fibrosis.
- Tabla 115.** Tensión arterial: diferencias según la presencia de fibrosis.
- Tabla 116.** Comparación del IMC (Índice de masa corporal) según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.
- Tabla 117.** Comparación del IMC (Índice de masa corporal) según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.
- Tabla 118.** Comparación del IMC (Índice de masa corporal) según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.
- Tabla 119.** Índice de masa corporal (IMC): diferencias según la presencia de fibrosis.
- Tabla 120.** Cintura, cadera, e ICC: diferencias según la presencia de fibrosis. ICC: Índice Cintura /Cadera

Tabla 121. Pliegue tricipital, circunferencia braquial y circunferencia muscular del brazo (CMB): diferencias según la presencia de fibrosis.

Tabla 122. Impedanciometría: diferencias según la presencia de fibrosis.

Tabla 123. Comparación de la realización de ejercicio físico según la presencia o ausencia de fibrosis.

Tabla 124. Comparación del tabaquismo según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia.

Tabla 125. Comparación de la ingesta de alcohol según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia.

Tabla 126. Ingesta de macronutrientes: diferencias según la presencia de fibrosis. EPA: ácido eicosapentaenoico. DHA: ácido docosahexaenoico.

Tabla 127. Ingesta de minerales: diferencias según la presencia de fibrosis.

Tabla 128. Ingesta de minerales: diferencias según la presencia de fibrosis.

Tabla 129. Adipocitocinas: diferencias según la presencia de fibrosis.

Tabla 130. NAFLD-FS: relación con la presencia de fibrosis en biopsia hepática.

Tabla 131. NAFLD-FS: relación con la fibrosis hepática según el grado.

Tabla 132. Resultados del ANOVA (análisis de la varianza). Características clínicas, bioquímicas, antropométricas y de ingesta dietética de nuestros pacientes en ausencia y presencia de fibrosis hepática en sus cuatro grados, agrupando F3 y F4 como grados severos.

Tabla 132. Modelo de regresión logística: factores de riesgo asociados a la fibrosis hepática.

Tabla 133. Comparativa de diferentes marcadores séricos que se relacionan con la presencia de EHNA en la biopsia hepática.

Tabla 134. Comparativa de diferentes marcadores séricos que se relacionan con la presencia de fibrosis en la biopsia hepática de pacientes con EHGNA.

Tabla 135. Comparativa de los parámetros que hacen referencia al metabolismo de la glucosa y la presencia de fibrosis en la biopsia hepática en pacientes con EHGNA.

Tabla 136. Niveles séricos de adipocinas en relación con la presencia de fibrosis hepática en biopsia de pacientes con EHGNA.

Tabla 137. IMC en relación con la presencia de fibrosis en biopsia hepática de pacientes con EHGNA.

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Hígado graso. Distribución y clasificación según hallazgos histológicos.
- Figura 2.** Nº de individuos mayores de 15 años con sobrepeso y obesidad según las regiones.
- Figura 3.** Sobrepeso y obesidad en varones adultos europeos según la World Obesity Federation –IOTF (<http://www.worldobesity.org/aboutobesity/world-map-obesity/>)
- Figura 4.** Sobrepeso y obesidad en mujeres adultas europeas según la World Obesity Federation –IOTF (<http://www.worldobesity.org/aboutobesity/world-map-obesity/>)
- Figura 5.** Encuesta Nacional de Salud Española 2011-2012.
- Figura 6.** IMC en personas mayores de 18 años según la ENSE 2011-2012
- Figura 7.** Porcentaje de niños con sobrepeso a lo largo del mundo según la World Obesity Federation–IOTF (<http://www.worldobesity.org/aboutobesity/world-map-obesity/>)
- Figura 8.** Evolución de la obesidad y sobrepeso infantil según la ENSE 2011-2012
- Figura 9.** Prevalencia de obesidad y sobrepeso.
- Figura 10.** Prevalencia de obesidad y sobrepeso.
- Figura 11.** Evolución de la prevalencia a lo largo de los años.
- Figura 12.** Evolución de la prevalencia.
- Figura 13.** Esquema de la frecuencia de factores de riesgo cardiovascular asociados a obesidad, según los datos hallados en el estudio DORICA (49).
- Figura 14.** Principales factores de riesgo para una mala salud en Europa (OMS, 2002).
- Figura 15.** Las múltiples caras de la esteatohepatitis no alcohólica. (53)
- Figura 16.** Diferencias entre el tejido adiposo blanco (WAT) visceral (vWAT) y subcutáneo (sWAT).
- Figura 17.** Contribución de los distintos tipos celulares a la inflamación local del tejido adiposo. La obesidad es un estado crónico inflamatorio de bajo grado en el que tanto los adipocitos como los macrófagos y linfocitos infiltrados, así como las células endoteliales de los capilares próximos a los adipocitos, están contribuyendo a esa inflamación local (54).
- Figura 18.** Contribución del tejido adiposo blanco (WAT) a la obesidad y las complicaciones metabólicas y vasculares asociadas. En una situación de obesidad se produce una acumulación de lípidos en los adipocitos, iniciándose un estrés en la célula y la activación de la vía de las JNK y del NF- κ B, generándose una inflamación local en el adipocito blanco. Ésta, puede exportarse a través de la vía portal al hígado y, finalmente, a otros tejidos periféricos, como el territorio vascular, donde podría producir aterosclerosis, hipertensión y resistencia vascular a la insulina (54).
- Figura 19.** Etiopatogenia de la Esteatohepatitis no alcohólica. Modificado de Martín Domínguez (9).
- Figura 20.** La translocación bacteriana se asocia con el desarrollo de EHNA (126).
- Figura 21.** Diagnóstico de la EHGNA. AINE: antiinflamatorios no esteroideos; ALT: alaninoaminotransferasa; ANA: anticuerpos antinucleares; AST, aspartato aminotransferasa; GGT: gamma glutamiltransferasa; HBsAg; antígeno de superficie de la hepatitis B; EHGNA: enfermedad por hígado graso no alcohólico; IST: índice de saturación de la transferrina; VHC virus hepatitis C.
- Figura 22.** Diagrama de Detection of Metabolic Induced Liver Injury (DEMILI®) (127)
- Figura 23.** Hallazgos histopatológicos: acumulación de esteatosis en el hepatocito, inflamación lobulillar y degeneración balonzante (127).
- Figura 24.** Mecanismos de acción del tratamiento farmacológico de la EHNA (9).
- Figuras 25 y 26.** Aguja de biopsia precargada.
- Figura 27.** Instrumental
- Figura 28.** Anestésico local
- Figura 29.** Realización de la biopsia.

- Figura 30.** NAFLD Fibrosis Score
- Figura 31.** Esquema de los criterios diagnósticos de síndrome metabólico según la IDF.
- Figura 32.** Inflamación lobulillar y portal según el sexo.
- Figura 33.** Presencia de esteatosis simple según el sexo.
- Figura 34.** Presencia de fibrosis según el sexo.
- Figura 35.** Presencia de esteatosis en la ecografía según la mediana de edad.
- Figura 36.** Presencia de esteatosis en la ecografía según el sexo.
- Figura 37.** Niveles de ferritina en sangre según el sexo.
- Figuras 38 y 39** Glucosa basal y HOMA-IR: diferencias por sexo.
- Figuras 40 y 41.** DM-2: diferencias por edad y sexo.
- Figuras 42 y 43.** Glucosa basal y HOMA-IR: diferencias por edad.
- Figuras 44 y 45.** Tensión arterial sistólica y diastólica (mmHg): diferencias por sexo.
- Figura 46.** Tensión arterial sistólica (mmHg): diferencias por edad.
- Figura 47.** IMC según la mediana de edad.
- Figura 48.** IMC según el sexo.
- Figuras 49 y 50.** Peso y talla.
- Figura 51.** Talla: diferencia por grupos de edad.
- Figura 52.** ICC: diferencia por sexo. ICC: Índice Cintura /Cadera.
- Figuras 53 y 54.** Pliegue tricípital y CMB: diferencias por sexo..
- Figura 55.** Circunferencia muscular del brazo (CMB): diferencia por edad.
- Figuras 56 y 57.** Agua corporal total: diferencias por sexo.
- Figuras 58 y 59.** Agua extracelular en kg: diferencias por sexo. Masa grasa en porcentaje: diferencias por sexo.
- Figuras 60 y 61.** Masa magra en kg y porcentaje: diferencias por sexo.
- Figuras 62 y 63.** Gasto metabólico basal: diferencias por sexo. Ángulo de fase: diferencias por sexo
- Figura 64.** Calorías de la dieta: diferencias por sexo
- Figuras 65 y 66.** Proteínas y lípidos de la dieta (g): diferencias por sexo.
- Figuras 67 y 68.** Ácidos grasos saturados (g) y colesterol (mg): diferencias por sexo.
- Figuras 69 y 70.** Ácidos grasos mono y poliinsaturados (g): diferencias por sexo.
- Figuras 71 y 72.** Lípidos y ácidos grasos saturados (g) en la dieta: diferencias por edad.
- Figuras 73 y 74.** Ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados (g) en la dieta: diferencias por edad.
- Figura 75.** Fibra en la dieta (g): diferencias por edad.
- Figura 76.** Ingesta de Sodio en la dieta (mg) por día: diferencias por sexo.
- Figura 77.** Flúor en la dieta (5): diferencias por edad.
- Figuras 78 y 79.** Vitaminas B1 y D (5) en la dieta: Diferencias por sexo.
- Figuras 80 y 81.** Vitaminas B1 y D (5) en la dieta: Diferencias por edad.
- Figura 82.** Leptina: diferencias por sexo.
- Figura 83.** Leptina: diferencias por edad.
- Figura 84.** Comparación del NAS-score según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia.
- Figura 85.** Comparación del NAS según presencia o ausencia de esteatosis en ecografía.
- Figura 86.** Comparación del NAS según los valores de albúmina en sangre.
- Figura 87.** Comparación del NAS según la presencia o ausencia de S. Metabólico.
- Figura 88.** Metabolismo de la glucosa: diferencias según la presencia de EHNA.
- Figura 89.** Tensión arterial sistólica: diferencias según la presencia o ausencia de EHNA en la muestra de biopsia hepática.
- Figura 90.** IMC: diferencias según la presencia o ausencia de EHNA en la muestra de biopsia hepática.
- Figura 91.** Pliegue tricípital (161): diferencias según la presencia de EHNA
- Figuras 92 y 93.** Ingesta de macronutrientes: diferencias según la presencia de EHNA.

- Figura 94.** Ingesta de fibra: diferencias según la presencia de EHNA.
- Figuras 95 y 96.** Ingesta de magnesio y hierro: diferencias según la presencia de EHNA.
- Figuras 97 y 98.** Ingesta de zinc y sodio: diferencias según la presencia de EHNA.
- Figuras 99 y 100.** Ingesta de potasio y flúor: diferencias según la presencia de EHNA.
- Figuras 101 y 102.** Ingesta de vitaminas A y B1: diferencias según la presencia de EHNA.
- Figuras 103 y 104.** Ingesta de vitaminas B6 y niacina: diferencias según la presencia de EHNA.
- Figura 105.** Leptina: diferencias según la presencia de EHNA.
- Figura 106.** Comparación del sexo según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.
- Figura 107.** Comparación de la esteatosis en ecografía según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.
- Figuras 108 y 109.** Albúmina y plaquetas: diferencias según la presencia de fibrosis
- Figuras 110 y 111.** Insulina basal y HOMA-IR: diferencias según la presencia de fibrosis.
- Figura 112.** DM-2: diferencias según la presencia de fibrosis
- Figura 113.** Tensión arterial sistólica (mmHg): diferencias según la presencia de fibrosis.
- Figura 114.** Comparación del IMC (Índice de masa corporal) según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia hepática.
- Figura 115.** Comparación del IMC (Índice de masa corporal) según la presencia o ausencia de fibrosis en biopsia.
- Figuras 116 y 117.** Índice de masa corporal (IMC) y talla: diferencias según la presencia de fibrosis.
- Figura 118.** Medida cadera (161): diferencias según la presencia de fibrosis
- Figura 119.** Pliegue tricúspital: diferencias según la presencia de fibrosis
- Figuras 120 y 121.** Agua corporal total (%) y masa grasa (kg): diferencias según la presencia de fibrosis.
- Figuras 122 y 123.** Masa grasa (%) y masa magra (%): diferencias según la presencia de fibrosis.
- Figura 124.** Comparación de la realización de ejercicio físico según la presencia o ausencia de fibrosis.
- Figuras 125 y 126.** Calorías y lípidos de la dieta: diferencias según la presencia de fibrosis
- Figuras 127 y 128.** Ácidos grasos saturados y ácido eicosapentaenoico (EPA): diferencias según la presencia de fibrosis.
- Figura 129.** Cantidad de sodio en la dieta: diferencias según la presencia de fibrosis.
- Figura 130.** Leptina en suero (ng/mL): diferencias según la presencia de fibrosis.
- Figura 131.** NAFLD-FS: relación con la presencia de fibrosis en biopsia hepática.
- Figura 132.** NAFLD-FS: relación con la fibrosis hepática según el grado.
- Figura 133.** Algoritmo de diagnóstico no invasivo de EHNA. HCC: carcinoma hepatocelular; NFS: NAFLD fibrosis score; NPV: valor predictivo negativo; PPV: valor predictivo positivo (163).

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Caldwell SH, Oelsner DH, Iezzoni JC, Hespenheide EE, Battle EH, Driscoll CJ. Cryptogenic cirrhosis: clinical characterization and risk factors for underlying disease. *Hepatology*. 1999 Mar;29(3):664-9.
2. Caldwell SH, Crespo DM. The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2004 Apr;40(4):578-84.
3. Browning JD, Kumar KS, Saboorian MH, Thiele DL. Ethnic differences in the prevalence of cryptogenic cirrhosis. *Am J Gastroenterol*. 2004 Feb;99(2):292-8.
4. Poonawala A, Nair SP, Thuluvath PJ. Prevalence of obesity and diabetes in patients with cryptogenic cirrhosis: a case-control study. *Hepatology*. 2000 Oct;32(4 Pt 1):689-92.
5. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc*. 1980 Jul;55(7):434-8.
6. Sheth SG, Gordon FD, Chopra S. Nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Intern Med*. 1997 Jan 15;126(2):137-45.
7. Hashimoto E, Taniai M, Tokushige K. Characteristics and diagnosis of NAFLD/NASH. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013 Dec;28 Suppl 4:64-70.
8. 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 Jun;55(6):2005-23.
9. Martín Domínguez V GCR, Mendoza Jiménez-, Ridruejo J GBL, Moreno-Otero R. .: Etiopatogenia, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad del hígado graso no alcohólica. *Rev Esp Enferm Dig*. 2013;105:409-20.
10. Williams CD, Stengel J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology*. 2011 Jan;140(1):124-31.
11. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*. Aug;34(3):274-85.
12. Lazo M, Hernaez R, Eberhardt MS, Bonekamp S, Kamel I, Guallar E, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in the United States: the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Epidemiol*. 2013 Jul 1;178(1):38-45.
13. Younossi ZM, Stepanova M, Afendy M, Fang Y, Younossi Y, Mir H, et al. Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver diseases in the United States from 1988 to 2008. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2011 Jun;9(6):524-30 e1; quiz e60.
14. Falck-Ytter Y, Younossi ZM, Marchesini G, McCullough AJ. Clinical features and natural history of nonalcoholic steatosis syndromes. *Semin Liver Dis*. 2001;21(1):17-26.
15. Weston SR, Leyden W, Murphy R, Bass NM, Bell BP, Manos MM, et al. Racial and ethnic distribution of nonalcoholic fatty liver in persons with newly diagnosed chronic liver disease. *Hepatology*. 2005 Feb;41(2):372-9.
16. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*. 2003 Apr;37(4):917-23.
17. De Luis DA, Lopez Mongil R, Gonzalez Sagrado M, Lopez Trigo JA, Mora PF, Castrodeza Sanz J. Prevalence of metabolic syndrome with International Diabetes Federation Criteria and ATP III Program in patients 65 years of age or older. *J Nutr Health Aging*. 2010 May;14(5):400-4.

18. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988 Dec;37(12):1595-607.
19. Grundy SM, Brewer HB, Jr., Cleeman JI, Smith SC, Jr., Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation*. 2004 Jan 27;109(3):433-8.
20. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985 Jul;28(7):412-9.
21. Guías Clínicas 2008 [database on the Internet]. Fisterra. 2008 [cited 2009]. Available from: <http://www.fisterra.com/guias2/Smetabolico.asp#que>
22. Chandola T, Brunner E, Marmot M. Chronic stress at work and the metabolic syndrome: prospective study. *BMJ*. 2006 Mar 4;332(7540):521-5.
23. Rosengren A, Hawken S, Ounpuu S, Sliwa K, Zubaid M, Almahmeed WA, et al. Association of psychosocial risk factors with risk of acute myocardial infarction in 11119 cases and 13648 controls from 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004 Sep 11-17;364(9438):953-62.
24. Newcomer JW. Metabolic syndrome and mental illness. *Am J Manag Care*. 2007 Nov;13(7 Suppl):S170-7.
25. Aschner P. Diabetes trends in Latin America. *Diabetes Metab Res Rev*. 2002 Sep-Oct;18 Suppl 3:S27-31.
26. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*. 2002 Jan 16;287(3):356-9.
27. Schumacher C, Ferucci ED, Lanier AP, Slattery ML, Schraer CD, Raymer TW, et al. Metabolic syndrome: prevalence among American Indian and Alaska native people living in the southwestern United States and in Alaska. *Metab Syndr Relat Disord*. 2008 Dec;6(4):267-73.
28. Kalk WJ, Joffe BI. The metabolic syndrome, insulin resistance, and its surrogates in African and white subjects with type 2 diabetes in South Africa. *Metab Syndr Relat Disord*. 2008 Dec;6(4):247-55.
29. Velasco JA CJ, Maroto JM, Muñiz J, Casasnovas JA, Plaza I, Abadal LT. Guías de práctica clínica de la Sociedad Española de Cardiología en prevención cardiovascular y rehabilitación cardíaca. *Rev Esp Cardiol* 2000;53:1095-120.
30. Tsigos C, Hainer V, Basdevant A, Finer N, Fried M, Mathus-Vliegen E, et al. Management of obesity in adults: European clinical practice guidelines. *Obes Facts*. 2008;1(2):106-16.
31. Banegas JR, Lopez-García E, Gutierrez-Fisac JL, Guallar-Castillon P, Rodriguez-Artalejo F. A simple estimate of mortality attributable to excess weight in the European Union. *Eur J Clin Nutr*. 2003 Feb;57(2):201-8.
32. Lavie CJ, Milani RV, Ventura HO. Obesity and cardiovascular disease: risk factor, paradox, and impact of weight loss. *J Am Coll Cardiol*. 2009 May 26;53(21):1925-32.
33. Marchesini G, Moscatiello S, Di Domizio S, Forlani G. Obesity-associated liver disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Nov;93(11 Suppl 1):S74-80.
34. Marceau P, Biron S, Hould FS, Marceau S, Simard S, Thung SN, et al. Liver pathology and the metabolic syndrome X in severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 May;84(5):1513-7.
35. Garcia-Monzon C, Martin-Perez E, Iacono OL, Fernandez-Bermejo M, Majano PL, Apolinario A, et al. Characterization of pathogenic and prognostic factors of nonalcoholic steatohepatitis associated with obesity. *J Hepatol*. 2000 Nov;33(5):716-24.

36. Dixon JB, Bhathal PS, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology*. 2001 Jul;121(1):91-100.
37. Machado M, Marques-Vidal P, Cortez-Pinto H. Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery. *J Hepatol*. 2006 Oct;45(4):600-6.
38. Gardeta P. [Diet in the Modern World: their relevance as a health conservation element]. *Rev Med Chil*. 1998 Jul;126(7):866-73.
39. Bayona-Marzo I, Navas-Camara FJ, Fernandez de Santiago FJ, Mingo-Gomez T, de la Fuente-Sanz MA, Cacho del Amo A. [Eating habits in physical therapy students]. *Nutr Hosp*. 2007 Sep-Oct;22(5):573-7.
40. Aranceta-Bartrina J, Serra-Majem L, Foz-Sala M, Moreno-Esteban B. [Prevalence of obesity in Spain]. *Med Clin (Barc)*. 2005 Oct 8;125(12):460-6.
41. Verma S, Jensen D, Hart J, Mohanty SR. Predictive value of ALT levels for non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and advanced fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Liver Int*. 2013 Oct;33(9):1398-405.
42. Aranceta J, Perez Rodrigo C, Serra Majem L, Ribas Barba L, Quiles Izquierdo J, Vioque J, et al. [Prevalence of obesity in Spain: results of the SEEDO 2000 study]. *Med Clin (Barc)*. 2003 May 3;120(16):608-12.
43. Perez-Rodrigo C, Aranceta Bartrina J, Serra Majem L, Moreno B, Delgado Rubio A. Epidemiology of obesity in Spain. Dietary guidelines and strategies for prevention. *Int J Vitam Nutr Res*. 2006 Jul;76(4):163-71.
44. Serra-Majem L, Aranceta Bartrina J, Perez-Rodrigo C, Ribas-Barba L, Delgado-Rubio A. Prevalence and determinants of obesity in Spanish children and young people. *Br J Nutr*. 2006 Aug;96 Suppl 1:S67-72.
45. Sobradillo B AA, Aresti U, Bilbao A, Fernández-Ramos C, Lizárraga A. . *Curvas y tablas de crecimiento (estudios longitudinal y transversal)*. Bilbao: Fundación Orbegozo; 2004.
46. Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ*. 2000 May 6;320(7244):1240-3.
47. Perez-Farinos N, Lopez-Sobaler AM, Dal Re MA, Villar C, Labrado E, Robledo T, et al. The ALADINO study: a national study of prevalence of overweight and obesity in Spanish children in 2011. *Biomed Res Int*. 2013:163687.
48. Serra Majem L, Ribas Barba L, Aranceta Bartrina J, Perez Rodrigo C, Saavedra Santana P, Pena Quintana L. [Childhood and adolescent obesity in Spain. Results of the enKid study (1998-2000)]. *Med Clin (Barc)*. 2003 Nov 29;121(19):725-32.
49. Aranceta J, Perez Rodrigo C, Foz Sala M, Mantilla T, Serra Majem L, Moreno B, et al. [Tables of coronary risk evaluation adapted to the Spanish population: the DORICA study]. *Med Clin (Barc)*. 2004 Nov 20;123(18):686-91.
50. Lopez-Sobaler AM, Ortega RM, Quintas ME, Navia B, Requejo AM. Relationship between habitual breakfast and intellectual performance (logical reasoning) in well-nourished schoolchildren of Madrid (Spain). *Eur J Clin Nutr*. 2003 Sep;57 Suppl 1:S49-53.
51. Ruhl CE, Everhart JE. Relationship of non-alcoholic fatty liver disease with cholecystectomy in the US population. *Am J Gastroenterol*. 2013 Jun;108(6):952-8.
52. 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 Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology*. 2013 Jun;142(7):1592-609.
53. Sanal MG. The blind men 'see' the elephant-the many faces of fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2008 Feb 14;14(6):831-44.

54. Gomez-Hernandez A, Perdomo L, Escribano O, Benito M. [Role of white adipose tissue in vascular complications due to obesity]. *Clin Investig Arterioscler.* Jan-Mar;25(1):27-35.
55. Gastaldelli A, Cusi K, Pettiti M, Hardies J, Miyazaki Y, Berria R, et al. Relationship between hepatic/visceral fat and hepatic insulin resistance in nondiabetic and type 2 diabetic subjects. *Gastroenterology.* 2007 Aug;133(2):496-506.
56. van der Poorten D, Milner KL, Hui J, Hodge A, Trenell MI, Kench JG, et al. Visceral fat: a key mediator of steatohepatitis in metabolic liver disease. *Hepatology.* 2008 Aug;48(2):449-57.
57. Wieckowska A, Papouchado BG, Li Z, Lopez R, Zein NN, Feldstein AE. Increased hepatic and circulating interleukin-6 levels in human nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol.* 2008 Jun;103(6):1372-9.
58. Calvert VS, Collantes R, Elariny H, Afendy A, Baranova A, Mendoza M, et al. A systems biology approach to the pathogenesis of obesity-related nonalcoholic fatty liver disease using reverse phase protein microarrays for multiplexed cell signaling analysis. *Hepatology.* 2007 Jul;46(1):166-72.
59. Fiorentino L, Vivanti A, Cavalera M, Marzano V, Ronci M, Fabrizi M, et al. Increased tumor necrosis factor alpha-converting enzyme activity induces insulin resistance and hepatosteatosis in mice. *Hepatology.* 2010 Jan;51(1):103-10.
60. Bhat G, Baba CS, Pandey A, Kumari N, Choudhuri G. Life style modification improves insulin resistance and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol.* 2012 Jul 27;4(7):209-17.
61. Kaplan LM. Leptin, obesity, and liver disease. *Gastroenterology.* 1998 Oct;115(4):997-1001.
62. Cummings MH, Watts GF, Umpleby AM, Hennessy TR, Kelly JM, Jackson NC, et al. Acute hyperinsulinemia decreases the hepatic secretion of very-low-density lipoprotein apolipoprotein B-100 in NIDDM. *Diabetes.* 1995 Sep;44(9):1059-65.
63. Charlton M, Sreekumar R, Rasmussen D, Lindor K, Nair KS. Apolipoprotein synthesis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2002 Apr;35(4):898-904.
64. 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 Jun 19;98(13):7522-7.
65. Buckingham RE. Thiazolidinediones: Pleiotropic drugs with potent anti-inflammatory properties for tissue protection. *Hepatol Res.* 2005 Oct;33(2):167-70.
66. Gastaldelli A, Harrison SA, Belfort-Aguilar R, Hardies LJ, Balas B, Schenker S, et al. Importance of changes in adipose tissue insulin resistance to histological response during thiazolidinedione treatment of patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2009 Oct;50(4):1087-93.
67. Facchini FS, Hua NW, Stoohs RA. Effect of iron depletion in carbohydrate-intolerant patients with clinical evidence of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2002 Apr;122(4):931-9.
68. Kelley DE, McKolanis TM, Hegazi RA, Kuller LH, Kalhan SC. Fatty liver in type 2 diabetes mellitus: relation to regional adiposity, fatty acids, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003 Oct;285(4):E906-16.
69. Kral JG, Lundholm K, Bjorntorp P, Sjostrom L, Schersten T. Hepatic lipid metabolism in severe human obesity. *Metabolism.* 1977 Sep;26(9):1025-31.
70. 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 Apr;120(5):1183-92.
71. Ferrannini E, Barrett EJ, Bevilacqua S, DeFronzo RA. Effect of fatty acids on glucose production and utilization in man. *J Clin Invest.* 1983 Nov;72(5):1737-47.

72. Stojavljevic S, Gomercic Palcic M, Virovic Jukic L, Smircic Duvnjak L, Duvnjak M. Adipokines and proinflammatory cytokines, the key mediators in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014 Dec 28;20(48):18070-91.
73. Crespo J, Cayon A, Fernandez-Gil P, Hernandez-Guerra M, Mayorga M, Dominguez-Diez A, et al. Gene expression of tumor necrosis factor alpha and TNF-receptors, p55 and p75, in nonalcoholic steatohepatitis patients. *Hepatology*. 2001 Dec;34(6):1158-63.
74. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. *Science*. 1996 Feb 2;271(5249):665-8.
75. Hug C, Lodish HF. Diabetes, obesity, and Acrp30/adiponectin. *Biotechniques*. 2002 Sep;33(3):654, 6, 8 passim.
76. Cohen B, Novick D, Rubinstein M. Modulation of insulin activities by leptin. *Science*. 1996 Nov 15;274(5290):1185-8.
77. Asilmaz E, Cohen P, Miyazaki M, Dobrzyn P, Ueki K, Fayzikhodjaeva G, et al. Site and mechanism of leptin action in a rodent form of congenital lipodystrophy. *J Clin Invest*. 2004 Feb;113(3):414-24.
78. Uygun A, Kadayifci A, Yesilova Z, Erdil A, Yaman H, Saka M, et al. Serum leptin levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*. 2000 Dec;95(12):3584-9.
79. Crespo J, Rivero M, Fabrega E, Cayon A, Amado JA, Garcia-Unzeta MT, et al. Plasma leptin and TNF-alpha levels in chronic hepatitis C patients and their relationship to hepatic fibrosis. *Dig Dis Sci*. 2002 Jul;47(7):1604-10.
80. Angulo P, Alba LM, Petrovic LM, Adams LA, Lindor KD, Jensen MD. Leptin, insulin resistance, and liver fibrosis in human nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2004 Dec;41(6):943-9.
81. Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KS, Cooper GJ. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest*. 2003 Jul;112(1):91-100.
82. Savvidou S, Hytiroglou P, Orfanou-Koumerkeridou H, Panderis A, Frantzoulis P, Goulis J. Low serum adiponectin levels are predictive of advanced hepatic fibrosis in patients with NAFLD. *J Clin Gastroenterol*. 2009 Sep;43(8):765-72.
83. Musso G, Gambino R, Durazzo M, Biroli G, Carello M, Faga E, et al. Adipokines in NASH: postprandial lipid metabolism as a link between adiponectin and liver disease. *Hepatology*. 2005 Nov;42(5):1175-83.
84. Gastaldelli A, Harrison S, Belfort-Aguiar R, Hardies J, Balas B, Schenker S, et al. Pioglitazone in the treatment of NASH: the role of adiponectin. *Aliment Pharmacol Ther*. Sep;32(6):769-75.
85. Leclercq IA, Lebrun VA, Starkel P, Horsmans YJ. Intrahepatic insulin resistance in a murine model of steatohepatitis: effect of PPARgamma agonist pioglitazone. *Lab Invest*. 2007 Jan;87(1):56-65.
86. Satoh H, Nguyen MT, Miles PD, Imamura T, Usui I, Olefsky JM. Adenovirus-mediated chronic "hyper-resistinemia" leads to in vivo insulin resistance in normal rats. *J Clin Invest*. 2004 Jul;114(2):224-31.
87. Muse ED, Obici S, Bhanot S, Monia BP, McKay RA, Rajala MW, et al. Role of resistin in diet-induced hepatic insulin resistance. *J Clin Invest*. 2004 Jul;114(2):232-9.
88. Hernaez R. Genetic factors associated with the presence and progression of nonalcoholic fatty liver disease: a narrative review. *Gastroenterol Hepatol*. 2012 Jan;35(1):32-41.
89. de Luis DA, Aller R, Izaola O, Bachiller R, Pacheco D. Cardiovascular risk factors and adipocytokines levels after two hypocaloric diets with different fat distribution in obese subjects and rs6923761 gene variant of glucagon-like peptide 1 receptor. *J Endocrinol Invest*. 2014 Sep;37(9):853-9.

90. de Luis DA, Pacheco D, Aller R, Izaola O, Bachiller R. [Roles of rs 6923761 gene variant in glucagon-like Peptide 1 receptor on weight, cardiovascular risk factor and serum adipokine levels in morbid obese patients]. *Nutr Hosp.* 2014;29(4):889-93.
91. de Luis DA, Aller R, de la Fuente B, Primo D, Conde R, Izaola O, et al. Relation of the rs6923761 Gene Variant in Glucagon-Like Peptide 1 Receptor with Weight, Cardiovascular Risk Factor, and Serum Adipokine Levels in Obese Female Subjects. *J Clin Lab Anal.* 2014 Mar 28.
92. de Luis DA, Aller R, Izaola O, Gonzalez Sagrado M, Conde R. Fatty acid-binding protein 2 Ala54Thr genotype is associated with insulin resistance and leptin levels changes after a high monounsaturated fat diet in obese non-diabetic patients. *J Endocrinol Invest.* 2013 Jun;36(6):402-6.
93. de Luis DA, Aller R, Izaola O, Conde R, Eiros Bouza JM. Genetic variation in the beta 3-adrenoreceptor gene (Trp64Arg polymorphism) and its influence on anthropometric parameters and insulin resistance under a high monounsaturated versus a high polyunsaturated fat hypocaloric diet. *Ann Nutr Metab.* 2013;62(4):303-9.
94. de Luis DA, Aller R, Izaola O, Gonzalez Sagrado M, Conde R. Role of G308 promoter variant of tumor necrosis factor alpha gene on weight loss and metabolic parameters after a high monounsaturated versus a high polyunsaturated fat hypocaloric diets. *Med Clin (Barc).* 2013 Sep 7;141(5):189-93.
95. Aller R, De Luis DA, Izaola O, Gonzalez Sagrado M, Conde R, Pacheco D, et al. Lys656Asn polymorphism of leptin receptor, leptin levels and insulin resistance in patients with non alcoholic fatty liver disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2012 Mar;16(3):335-41.
96. Aller R, de Luis DA, Pacheco D, Velasco MC, Conde R, Izaola O, et al. Influence of G1359A polymorphism of the cannabinoid receptor gene (CNR1) on insulin resistance and adipokines in patients with non alcoholic fatty liver disease. *Nutr Hosp.* 2013 Sep-Oct;27(5):1637-42.
97. de Luis DA, Aller R, Izaola O, Gonzalez Sagrado M, Conde R, Castro MJ. Interaction of -55CT polymorphism of UCP3 gene with Trp64Arg polymorphism of beta3adrenoreceptor gene on insulin resistance in obese patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2012 May;16(5):610-6.
98. Romeo S, Huang-Doran I, Baroni MG, Kotronen A. Unravelling the pathogenesis of fatty liver disease: patatin-like phospholipase domain-containing 3 protein. *Curr Opin Lipidol.* 2010 Jun;21(3):247-52.
99. Speliotes EK, Yerges-Armstrong LM, Wu J, Hernaez R, Kim LJ, Palmer CD, et al. Genome-wide association analysis identifies variants associated with nonalcoholic fatty liver disease that have distinct effects on metabolic traits. *PLoS Genet.* 2011 Mar;7(3):e1001324.
100. Duvnjak M, Lerotic I, Barsic N, Tomasic V, Virovic Jukic L, Velagic V. Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2007 Sep 14;13(34):4539-50.
101. Jou J, Choi SS, Diehl AM. Mechanisms of disease progression in nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis.* 2008 Nov;28(4):370-9.
102. Unger RH, Orci L. Lipoapoptosis: its mechanism and its diseases. *Biochim Biophys Acta.* 2002 Dec 30;1585(2-3):202-12.
103. Kugelmas M, Hill DB, Vivian B, Marsano L, McClain CJ. Cytokines and NASH: a pilot study of the effects of lifestyle modification and vitamin E. *Hepatology.* 2003 Aug;38(2):413-9.
104. Kamada Y, Matsumoto H, Tamura S, Fukushima J, Kiso S, Fukui K, et al. Hypoadiponectinemia accelerates hepatic tumor formation in a nonalcoholic steatohepatitis mouse model. *J Hepatol.* 2007 Oct;47(4):556-64.
105. Diehl AM. Lessons from animal models of NASH. *Hepatol Res.* 2005 Oct;33(2):138-44.

106. Ramalho RM, Cortez-Pinto H, Castro RE, Sola S, Costa A, Moura MC, et al. Apoptosis and Bcl-2 expression in the livers of patients with steatohepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2006 Jan;18(1):21-9.
107. Solis Herruzo JA, Garcia Ruiz I, Perez Carreras M, Munoz Yague MT. Non-alcoholic fatty liver disease. From insulin resistance to mitochondrial dysfunction. *Rev Esp Enferm Dig.* 2006 Nov;98(11):844-74.
108. Mendler MH, Turlin B, Moirand R, Jouanolle AM, Sapey T, Guyader D, et al. Insulin resistance-associated hepatic iron overload. *Gastroenterology.* 1999 Nov;117(5):1155-63.
109. Viganò M, Vergani A, Trombini P, Paleari F, Piperno A. Insulin resistance influence iron metabolism and hepatic steatosis in type II diabetes. *Gastroenterology.* 2000 May;118(5):986-7.
110. Bonkovsky HL, Jawaid Q, Tortorelli K, LeClair P, Cobb J, Lambrecht RW, et al. Non-alcoholic steatohepatitis and iron: increased prevalence of mutations of the HFE gene in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* 1999 Sep;31(3):421-9.
111. Solanas-Barca M, Mateo-Gallego R, Calmarza P, Jarauta E, Bea AM, Cenarro A, et al. Mutations in HFE causing hemochromatosis are associated with primary hypertriglyceridemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Nov;94(11):4391-7.
112. Valenti L, Fracanzani AL, Bugianesi E, Dongiovanni P, Galmozzi E, Vanni E, et al. HFE genotype, parenchymal iron accumulation, and liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2010 Mar;138(3):905-12.
113. George DK, Goldwurm S, MacDonald GA, Cowley LL, Walker NI, Ward PJ, et al. Increased hepatic iron concentration in nonalcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis. *Gastroenterology.* 1998 Feb;114(2):311-8.
114. Nelson JE, Wilson L, Brunt EM, Yeh MM, Kleiner DE, Unalp-Arida A, et al. Relationship between the pattern of hepatic iron deposition and histological severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2011 Feb;53(2):448-57.
115. Woods JR, Jr., Plessinger MA, Fantel A. An introduction to reactive oxygen species and their possible roles in substance abuse. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1998 Mar;25(1):219-36.
116. Sastre J, Pallardo FV, Llopis J, Furukawa T, Vina JR, Vina J. Glutathione depletion by hyperphagia-induced obesity. *Life Sci.* 1989;45(2):183-7.
117. Strauss RS, Barlow SE, Dietz WH. Prevalence of abnormal serum aminotransferase values in overweight and obese adolescents. *J Pediatr.* 2000 Jun;136(6):727-33.
118. Baskol G, Baskol M, Kocer D. Oxidative stress and antioxidant defenses in serum of patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Biochem.* 2007 Jul;40(11):776-80.
119. Yu J, Chu ES, Wang R, Wang S, Wu CW, Wong VW, et al. Heme oxygenase-1 protects against steatohepatitis in both cultured hepatocytes and mice. *Gastroenterology.* 2010 Feb;138(2):694-704, e1.
120. Ikura Y, Ohsawa M, Suekane T, Fukushima H, Itabe H, Jomura H, et al. Localization of oxidized phosphatidylcholine in nonalcoholic fatty liver disease: impact on disease progression. *Hepatology.* 2006 Mar;43(3):506-14.
121. Nocito A, Dahm F, Jochum W, Jang JH, Georgiev P, Bader M, et al. Serotonin mediates oxidative stress and mitochondrial toxicity in a murine model of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology.* 2007 Aug;133(2):608-18.
122. Lavine JE. Vitamin E treatment of nonalcoholic steatohepatitis in children: a pilot study. *J Pediatr.* 2000 Jun;136(6):734-8.
123. Harrison SA, Torgerson S, Hayashi P, Ward J, Schenker S. Vitamin E and vitamin C treatment improves fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol.* 2003 Nov;98(11):2485-90.
124. Musso G, Gambino R, De Michieli F, Cassader M, Rizzetto M, Durazzo M, et al. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2003 Apr;37(4):909-16.

125. Ma X, Hua J, Mohamood AR, Hamad AR, Ravi R, Li Z. A high-fat diet and regulatory T cells influence susceptibility to endotoxin-induced liver injury. *Hepatology*. 2007 Nov;46(5):1519-29.
126. Ilan Y. Leaky gut and the liver: a role for bacterial translocation in nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol*. 2012 Jun 7;18(21):2609-18.
127. Gallego-Duran R, Ampuero J, Funuyet J, Romero-Gomez M. [Alcoholic and non-alcoholic steatohepatitis: who is affected and what can we do for them?]. *Gastroenterol Hepatol*. 2013 Nov;36(9):587-96.
128. Caballeria L, Salo J, Berzigotti A, Planas R, Vila C, Huertas C, et al. [Non-alcoholic fatty liver: position document of the Catalan Society of Gastroenterology]. *Gastroenterol Hepatol*. 2014 Jun-Jul;37(6):372-83.
129. de Luis DA, A S, R AdLF. Esteatohepatitis no alcohólica y obesidad. In: (SEEDO) SEpeEdIO, editor. *Sobrepeso y obesidad*. Madrid; 2012. p. 4.
130. Lemoine M, Ratziu V, Kim M, Maachi M, Wendum D, Paye F, et al. Serum adipokine levels predictive of liver injury in non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*. 2009 Oct;29(9):1431-8.
131. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med*. 2011 Dec;43(8):617-49.
132. Barr J, Caballeria J, Martinez-Arranz I, Dominguez-Diez A, Alonso C, Muntane J, et al. Obesity-dependent metabolic signatures associated with nonalcoholic fatty liver disease progression. *J Proteome Res*. 2012 Apr 6;11(4):2521-32.
133. Guha IN, Parkes J, Roderick P, Chattopadhyay D, Cross R, Harris S, et al. Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: Validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. *Hepatology*. 2008 Feb;47(2):455-60.
134. Angulo P, Bugianesi E, Bjornsson ES, Charatcharoenwitthaya P, Mills PR, Barrera F, et al. Simple noninvasive systems predict long-term outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2013 Oct;145(4):782-9 e4.
135. Westerbacka J, Lammi K, Hakkinen AM, Rissanen A, Salminen I, Aro A, et al. Dietary fat content modifies liver fat in overweight nondiabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 May;90(5):2804-9.
136. Huang MA, Greenson JK, Chao C, Anderson L, Peterman D, Jacobson J, et al. One-year intense nutritional counseling results in histological improvement in patients with non-alcoholic steatohepatitis: a pilot study. *Am J Gastroenterol*. 2005 May;100(5):1072-81.
137. Kraus WE, Houmard JA, Duscha BD, Knetzger KJ, Wharton MB, McCartney JS, et al. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N Engl J Med*. 2002 Nov 7;347(19):1483-92.
138. Aller R, De Luis DA, Izaola O, Conde R, Gonzalez Sagrado M, Primo D, et al. Effect of a probiotic on liver aminotransferases in nonalcoholic fatty liver disease patients: a double blind randomized clinical trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2011 Sep;15(9):1090-5.
139. Schwenger KJ, Allard JP. Clinical approaches to non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014 Feb 21;20(7):1712-23.
140. Lomonaco R, Sunny NE, Bril F, Cusi K. Nonalcoholic fatty liver disease: current issues and novel treatment approaches. *Drugs*. 2013 Jan;73(1):1-14.
141. Alastrue Vidal A, Rull Lluçh M, Camps Ausas I, Ginesta Nus C, Melus Moreno MR, Salva Lacombe JA. [New norms and advices in the evaluation of anthropometric parameters in our population: adipose tissue-muscle index, weight indices and percentile tables of anthropometric data useful in nutritional assessment]. *Med Clin (Barc)*. 1988 Jul 2;91(6):223-36.
142. Alastrue Vidal A, Sitges Serra A, Jaurrieta Mas E, Sitges Creus A. [Anthropometric parameters for a Spanish population (author's transl)]. *Med Clin (Barc)*. 1982 May 16;78(10):407-15.

143. Frisancho AR. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. *Am J Clin Nutr.* 1981 Nov;34(11):2540-5.
144. Mataix Verdú J. *Nutrición y alimentación humana: Nutrientes y alimentos.* Vol. 1. Ergon; 2002.
145. Cigarran S, Barril G, Cirugeda A, Bernis C, Aguilera A, Sanz P, et al. Hypoalbuminemia is also a marker of fluid excess determined by bioelectrical impedance parameters in dialysis patients. *Ther Apher Dial.* 2007 Apr;11(2):114-20.
146. Forrester JE, Spiegelman D, Tchetgen E, Knox TA, Gorbach SL. Weight loss and body-composition changes in men and women infected with HIV. *Am J Clin Nutr.* 2002 Dec;76(6):1428-34.
147. Batterham MJ, Garsia R, Greenop P. Measurement of body composition in people with HIV/AIDS: a comparison of bioelectrical impedance and skinfold anthropometry with dual-energy x-ray absorptiometry. *J Am Diet Assoc.* 1999 Sep;99(9):1109-11.
148. Schwenk A, Beisenherz A, Kremer G, Diehl V, Salzberger B, Fatkenheuer G. Bioelectrical impedance analysis in HIV-infected patients treated with triple antiretroviral treatment. *Am J Clin Nutr.* 1999 Nov;70(5):867-73.
149. Ott M, Fischer H, Polat H, Helm EB, Frenz M, Caspary WF, et al. Bioelectrical impedance analysis as a predictor of survival in patients with human immunodeficiency virus infection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1995 May 1;9(1):20-5.
150. Schwenk A, Beisenherz A, Romer K, Kremer G, Salzberger B, Elia M. Phase angle from bioelectrical impedance analysis remains an independent predictive marker in HIV-infected patients in the era of highly active antiretroviral treatment. *Am J Clin Nutr.* 2000 Aug;72(2):496-501.
151. Ellis KJ. Human body composition: in vivo methods. *Physiol Rev.* 2000 Apr;80(2):649-80.
152. Barbosa-Silva MC, Barros AJ, Wang J, Heymsfield SB, Pierson RN, Jr. Bioelectrical impedance analysis: population reference values for phase angle by age and sex. *Am J Clin Nutr.* 2005 Jul;82(1):49-52.
153. RDAs NRCUSotTEot, (US) NloH, National Research Council (US) Committee on Dietary Allowances Rda. Recommended dietary allowances / Subcommittee on the Tenth Edition of the RDAs, Food and Nutrition Board, Commission on Life Sciences, National Research Council. 10th ed. ed.: Washington, D.C. : National Academy Press; 1989.
154. Nutrition CfR. Washington DC.; 2001 [updated 2001; cited]; Available from: <http://www.crnusa.org/>.
155. Triana MH. Recomendaciones nutricionales para el ser humano: actualización. *Invest Biomed* 2004;23(4):266-92.
156. Cuervo M, Corbalan M, Baladia E, Cabrerizo L, Formiguera X, Iglesias C, et al. Comparison of dietary reference intakes (DRI) between different countries of the European Union, The United States and the World Health Organization. *Nutr Hosp.* 2009 Jul-Aug;24(4):384-414.
157. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. Liver biopsy. *Hepatology.* 2009 Mar;49(3):1017-44.
158. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology.* 2007 Apr;45(4):846-54.
159. Federation ID. Worldwide definition of the metabolic syndrome. [cited 2009]; Available from: http://www.idf.org/webdata/docs/MetSyndrome_FINAL.pdf
160. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001 May 16;285(19):2486-97.

161. Heymsfield SB, McManus C, Smith J, Stevens V, Nixon DW. Anthropometric measurement of muscle mass: revised equations for calculating bone-free arm muscle area. *Am J Clin Nutr.* 1982 Oct;36(4):680-90.
162. Khan FZ, Perumpail RB, Wong RJ, Ahmed A. Advances in hepatocellular carcinoma: Nonalcoholic steatohepatitis-related hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol.* 2015 Aug 28;7(18):2155-61.
163. Castera L, Vilgrain V, Angulo P. Noninvasive evaluation of NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013 Nov;10(11):666-75.
164. Younossi ZM, Page S, Rafiq N, Bireddinc A, Stepanova M, Hossain N, et al. A biomarker panel for non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and NASH-related fibrosis. *Obes Surg.* 2011 Apr;21(4):431-9.
165. Pais R, Charlotte F, Fedchuk L, Bedossa P, Lebray P, Poynard T, et al. A systematic review of follow-up biopsies reveals disease progression in patients with non-alcoholic fatty liver. *J Hepatol.* 2013 Sep;59(3):550-6.
166. Polyzos SA, Kountouras J, Papatheodorou A, Katsiki E, Patsiaoura K, Zafeiriadou E, et al. Adipocytokines and cytokeratin-18 in patients with nonalcoholic fatty liver disease: Introduction of CHA index. *Ann Hepatol.* 2013 Sep-Oct;12(5):749-57.
167. Singh DK, Sakhuja P, Malhotra V, Gondal R, Sarin SK. Independent predictors of steatohepatitis and fibrosis in Asian Indian patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Dig Dis Sci.* 2008 Jul;53(7):1967-76.
168. Shukla A, Kapileswar S, Gogtay N, Joshi A, Dhore P, Shah C, et al. Simple biochemical parameters and a novel score correlate with absence of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Indian J Gastroenterol.* 2015 Sep 4.
169. Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, Andreoletti M, Colli A, Vanni E, et al. Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: a role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology.* 2008 Sep;48(3):792-8.
170. McPherson S, Henderson E, Burt AD, Day CP, Anstee QM. Serum immunoglobulin levels predict fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2014 May;60(5):1055-62.
171. Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, Vanni E, Grieco A, Miele L, et al. Risk of nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease and low visceral adiposity. *J Hepatol.* 2011 Jun;54(6):1244-9.
172. Hashiba M, Ono M, Hyogo H, Ikeda Y, Masuda K, Yoshioka R, et al. Glycemic variability is an independent predictive factor for development of hepatic fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *PLoS One.* 2013;8(11):e76161.
173. Zelber-Sagi S, Ratziu V, Zvibel I, Goldiner I, Blendis L, Morali G, et al. The association between adipocytokines and biomarkers for nonalcoholic fatty liver disease-induced liver injury: a study in the general population. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2012 Mar;24(3):262-9.
174. Bazick J, Donithan M, Neuschwander-Tetri BA, Kleiner D, Brunt EM, Wilson L, et al. Clinical Model for NASH and Advanced Fibrosis in Adult Patients With Diabetes and NAFLD: Guidelines for Referral in NAFLD. *Diabetes Care.* 2015 Jul;38(7):1347-55.
175. Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Leptin in nonalcoholic fatty liver disease: a narrative review. *Metabolism.* 2015 Jan;64(1):60-78.
176. Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C, Stergiopoulos C. Adipocytokines in insulin resistance and non-alcoholic fatty liver disease: the two sides of the same coin. *Med Hypotheses.* 2010 Jun;74(6):1089-90.
177. Argentou M, Tiniakos DG, Karanikolas M, Melachrinou M, Makri MG, Kittas C, et al. Adipokine serum levels are related to liver histology in severely obese patients undergoing bariatric surgery. *Obes Surg.* 2009 Sep;19(9):1313-23.

178. Machado MV, Coutinho J, Carepa F, Costa A, Proenca H, Cortez-Pinto H. How adiponectin, leptin, and ghrelin orchestrate together and correlate with the severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2012 Oct;24(10):1166-72.
179. Angulo P, Machado MV, Diehl AM. Fibrosis in nonalcoholic Fatty liver disease: mechanisms and clinical implications. *Semin Liver Dis*. 2015 May;35(2):132-45.
180. Marra F, Lotersztajn S. Pathophysiology of NASH: perspectives for a targeted treatment. *Curr Pharm Des*. 2013;19(29):5250-69.
181. Diez-Rodriguez R, Ballesteros-Pomar MD, Calleja-Fernandez A, Gonzalez-De-Francisco T, Gonzalez-Herraez L, Calleja-Antolin S, et al. Insulin resistance and metabolic syndrome are related to non-alcoholic fatty liver disease, but not visceral adiposity index, in severely obese patients. *Rev Esp Enferm Dig*. 2014 Dec;106(8):522-8.
182. Vongsuvan R, George J, McLeod D, van der Poorten D. Visceral adiposity index is not a predictor of liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2012 Aug;57(2):392-8.
183. Petta S, Amato MC, Di Marco V, Camma C, Pizzolanti G, Barcellona MR, et al. Visceral adiposity index is associated with significant fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012 Jan;35(2):238-47.
184. Dasarathy J, Periyalwar P, Allampati S, Bhinder V, Hawkins C, Brandt P, et al. Hypovitaminosis D is associated with increased whole body fat mass and greater severity of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*. 2014 Jul;34(6):e118-27.
185. Palmer M, Schaffner F. Effect of weight reduction on hepatic abnormalities in overweight patients. *Gastroenterology*. 1990 Nov;99(5):1408-13.
186. Suzuki A, Lindor K, St Saver J, Lymp J, Mendes F, Muto A, et al. Effect of changes on body weight and lifestyle in nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2005 Dec;43(6):1060-6.
187. Johnson NA, Keating SE, George J. Exercise and the liver: implications for therapy in fatty liver disorders. *Semin Liver Dis*. 2012 Feb;32(1):65-79.
188. Liu Y, Chen H, Wang J, Zhou W, Sun R, Xia M. Association of serum retinoic acid with hepatic steatosis and liver injury in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Clin Nutr*. 2015 Jul;102(1):130-7.
189. Li YH, Yang LH, Sha KH, Liu TG, Zhang LG, Liu XX. Efficacy of poly-unsaturated fatty acid therapy on patients with nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol*. 2015 Jun 14;21(22):7008-13.
190. Cales P, Boursier J, Chaigneau J, Laine F, Sandrini J, Michalak S, et al. Diagnosis of different liver fibrosis characteristics by blood tests in non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*. 2010 Oct;30(9):1346-54.
191. Manousou P, Kalambokis G, Grillo F, Watkins J, Xirouchakis E, Pleguezuelo M, et al. Serum ferritin is a discriminant marker for both fibrosis and inflammation in histologically proven non-alcoholic fatty liver disease patients. *Liver Int*. 2011 May;31(5):730-9.
192. Bugianesi E, Manzini P, D'Antico S, Vanni E, Longo F, Leone N, et al. Relative contribution of iron burden, HFE mutations, and insulin resistance to fibrosis in nonalcoholic fatty liver. *Hepatology*. 2004 Jan;39(1):179-87.
193. Sumida Y, Yoneda M, Hyogo H, Yamaguchi K, Ono M, Fujii H, et al. A simple clinical scoring system using ferritin, fasting insulin, and type IV collagen 7S for predicting steatohepatitis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol*. 2011 Feb;46(2):257-68.
194. Zelber-Sagi S, Nitzan-Kaluski D, Halpern Z, Oren R. NAFLD and hyperinsulinemia are major determinants of serum ferritin levels. *J Hepatol*. 2007 Apr;46(4):700-7.
195. Yoneda M, Nozaki Y, Endo H, Mawatari H, Iida H, Fujita K, et al. Serum ferritin is a clinical biomarker in Japanese patients with nonalcoholic steatohepatitis (NASH) independent of HFE gene mutation. *Dig Dis Sci*. 2010 Mar;55(3):808-14.

196. Kowdley KV, Belt P, Wilson LA, Yeh MM, Neuschwander-Tetri BA, Chalasani N, et al. Serum ferritin is an independent predictor of histologic severity and advanced fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2012 Jan;55(1):77-85.
197. Aller R, Izaola O, Ruiz-Rebollo L, Pacheco D, de Luis DA. Predictive factors of non-alcoholic steatohepatitis: relationship with metabolic syndrome. *Nutr Hosp*. 2015;31(6):2496-502.
198. Ratziu V, Giral P, Charlotte F, Bruckert E, Thibault V, Theodorou I, et al. Liver fibrosis in overweight patients. *Gastroenterology*. 2000 Jun;118(6):1117-23.
199. Basaranoglu M, Basaranoglu G, Bugianesi E. Carbohydrate intake and nonalcoholic fatty liver disease: fructose as a weapon of mass destruction. *Hepatobiliary Surg Nutr*. 2015 Apr;4(2):109-16.
200. Abdelmalek MF, Suzuki A, Guy C, Unalp-Arida A, Colvin R, Johnson RJ, et al. Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2010 Jun;51(6):1961-71.
201. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology*. 1999 Jun;116(6):1413-9.
202. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 1999 Dec;30(6):1356-62.
203. Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J. Beyond insulin resistance in NASH: TNF-alpha or adiponectin? *Hepatology*. 2004 Jul;40(1):46-54.
204. Ercin CN, Dogru T, Genc H, Celebi G, Aslan F, Gurel H, et al. Insulin Resistance but Not Visceral Adiposity Index Is Associated with Liver Fibrosis in Nondiabetic Subjects with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Metab Syndr Relat Disord*. 2015 Sep;13(7):319-25.
205. McPherson S, Hardy T, Henderson E, Burt AD, Day CP, Anstee QM. Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: implications for prognosis and clinical management. *J Hepatol*. 2015 May;62(5):1148-55.
206. Garcia-Monzon C, Vargas-Castrillon J, Porrero JL, Alonso MT, Bonachia O, Castillo MJ, et al. Prevalence and risk factors for biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in a prospective cohort of adult patients with gallstones. *Liver Int*. 2015 Aug;35(8):1983-91.

