



---

**Universidad de Valladolid**

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA, TOXICOLOGÍA Y DERMATOLOGÍA

**TESIS DOCTORAL:**

**“Estudio de la prevalencia  
del hígado graso no alcohólico  
en Valladolid”**

Presentada por **Iván Cusácovich Torres** para  
optar al grado de  
doctor por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:

**ALBERTO PÉREZ RUBIO**

**DAVID ANDALUZ OJEDA**





UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

FACULTAD DE MEDICINA  
Ayda. Ramón y Cajal nº 5, 47005-VALLADOLID  
TF: 983 42 31 86 Fax: 983 18 38 12  
e-mail

**Don ALBERTO PÉREZ RUBIO**, Doctor en Medicina y Cirugía,  
Licenciado especialista en Medicina Preventiva en el Hospital  
Clínico de Valladolid y **D. DAVID ANDALUZ OJEDA**, Doctor en  
Medicina y Cirugía y Licenciado Especialista en Medicina Intensiva  
en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid

**CERTIFICAN:** que **D. IVÁN CUSÁCOVICH TORRES** ha realizado  
bajo su dirección el trabajo de investigación de Tesis Doctoral sobre  
el tema "**ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DEL HÍGADO GRASO  
NO ALCOHÓLICO EN VALLADOLID**" para optar al grado de  
Doctor.

El trabajo reúne a nuestro juicio las condiciones de rigor y  
originalidad metodológica necesarios para que pueda ser leído y  
defendido públicamente ante el tribunal correspondiente

Y para que conste a los efectos oportunos, firmamos el  
presente certificado en Valladolid, a 28 de Octubre de 2015

**Dr. Alberto Pérez Rubio**

**Dr. David Andaluz Ojeda**

## **Agradecimientos:**

Quiero agradecer en primer lugar a mis directores de tesis Dr. Pérez Rubio y Andaluz Ojeda por guiarme y aconsejarme en el proceso de este trabajo. Igualmente debo agradecer al Dr. José Manuel González su ayuda en el planteamiento y desarrollo inicial del proyecto, y sin el que tampoco habría sido posible.

También quiero agradecer a los radiólogos Israel Sánchez Lite y Borja Toribio su trabajo altruista para realizar más de 400 ecografías en su tiempo libre y sin los que este trabajo no habría sido posible.

Igualmente debo agradecer por su ayuda a M<sup>a</sup> Fe Muñoz en la revisión de la parte estadística y sus valiosos consejos.

Agradezco el esfuerzo del Servicio de Análisis Clínicos por la sobrecarga que les ha supuesto en su trabajo habitual sin poner ninguna traba.

Agradezco al Dr. Pérez Castrillón sus consejos para elaborar las cartas informativas a los pacientes y al Dr. Castrodeza por su ayuda al diseño inicial del estudio desde el punto de vista epidemiológico.

Por último quiero agradecer al Dr. Jimeno Carruez, al Dr. López de Juan y a mi maestro el Dr. Moreno por animarme continuamente a realizar esta tesis.

Dedico esta tesis a mi mujer, a mis padres y a mis hijos por su motivación y por el tiempo que les he robado durante su realización.



# Índice:

1.	Introducción y conceptos sobre la enfermedad grasa no alcohólica del hígado (EGHNA)	
1.1	Introducción.....	13
1.2.	Concepto general.....	13
1.3	Etiopatogenia.....	14
1.3.1.	Fisiología.....	15
1.3.2.	Teoría del doble impacto.....	17
1.3.3.	Primer impacto: Acumulación de triglicéridos.....	18
1.3.4.	Segundo impacto: Mecanismos de inflamación y necrosis.....	22
1.3.5.	Patogenia de las formas secundarias.....	32
1.4	Histopatología.....	35
1.4.1.	Escalas del clasificación histológica.....	38
1.4.2.	Histología en situaciones especiales.....	43
1.5.	Epidemiología.....	44
1.6.	Manifestaciones clínicas.....	47
1.7.	Diagnóstico.....	47
1.8.	Evolución y pronóstico.....	58
1.9.	Tratamiento.....	61
1.9.1.	Pérdida de peso.....	61
1.9.2.	Ejercicio.....	62
1.9.3.	Tratamiento farmacológico y quirúrgico de los factores asociados a la enfermedad.....	63
	Tratamiento farmacológico del EGHNA.....	66
2.	Justificación del estudio y definición de los objetivos.....	71
3.	Material y métodos.....	75
3.1.	Tamaño muestral.....	77
3.2.	Definición de la población diana.....	79
3.3.	Selección de la población diana mediante muestreo aleatorio.....	79
3.4	Definición de la base de datos.....	81

3.5.	Reclutamiento de la población diana.....	81
3.6.	Primer screening.....	84
3.7.	Estudio de la enfermedad hepática.....	86
3.8.	Análisis estadístico.....	89
4.	Resultados.....	91
4.1.	Población estudiada.....	93
4.1.1.	Representatividad de la muestra.....	93
4.1.2.	Características epidemiológicas.....	94
4.1.2.1.	Edad, sexo, distribución rural urbana.....	94
4.1.2.2.	Antecedentes médicos y hábitos de conducta.....	96
4.1.2.3.	Resultados analíticos.....	99
4.1.2.4.	Resultados ecográficos.....	100
4.2.	Población con enfermedad hepática .....	102
4.2.1.	Causas de enfermedad hepática.....	102
4.2.2.	Edad, sexo, distribución rural urbana.....	103
4.2.3.	Enfermedades anteriores, hábitos y medicación.....	105
4.2.4.	Resultados analíticos: Prevalencia y etiología de la hipertransaminasemia... ..	106
4.2.5.	Resultados ecográficos: Prevalencia y etiología de la esteatosis hepática.....	109
4.3.	Enfermedades hepáticas diferentes al EGHNA.....	111
4.3.1.	Hepatopatía alcohólica.....	111
4.3.2.	Hepatopatía por fármacos.....	112
4.3.3.	Otras causas de hepatopatía.....	114
4.4.	Hígado graso no alcohólico (EGHNA).....	114
4.4.1.	Prevalencia. Edad, sexo, distribución rural urbana.....	114
4.4.2.	Antecedentes personales y hábitos de vida.....	117
4.4.3.	Exploración y parámetros antropométricos.....	118
4.4.4.	Resultados analíticos.....	121

4.4.4.1 Metabolismo glucídico y resistencia a la insulina. Relación con el Síndrome metabólico.....	121
4.4.4.2. Metabolismo lipídico.....	129
4.4.4.3. Metabolismo férrico.....	130
4.4.4.4. Enzimas hepáticos.....	132
4.4.4.5. Otros parámetros bioquímicos. ....	135
4.4.5. Resultados ecográficos .....	137
4.4.5.1. Grado de esteatosis.....	137
4.4.5.2. LOE hepáticas.....	142
4.5. Propuesta de un modelo clínico de predicción del EGHNA a partir del análisis multivariante: NAFLD Score.....	143
4.5.1. Variables potenciales del modelo.....	144
4.5.2. Selección de puntos de corte.....	145
4.5.3.Regresión logística de variables incluidas en el modelo.....	153
4.5.4. Determinación de factores de confusión y factores modificadores del efecto.....	156.
4.5.5. Elección del modelo multivariante definitivo y del NAFLD score..	160
5. Discusión.....	171
6. Conclusiones.....	205
7. Anexos.....	210
8. Bibliografía.....	222



# **1.INTRODUCCIÓN Y CONCEPTOS SOBRE LA ENFERMEDAD GRASA NO ALCOHÓLICA EN EL HÍGADO (EGHNA)**



# **1. Hígado graso no alcohólico: Introducción y conceptos sobre la enfermedad:**

## **1.1. Introducción**

El presente estudio pretende conocer cuál es la prevalencia real en España de una enfermedad cada vez más común en nuestro medio como es hígado graso no alcohólico (enfermedad grasa del hígado no alcohólica, EGHNA). Distintas fuentes están demostrando que esta enfermedad, como ocurre en los países más desarrollados, supone una verdadera epidemia. Hoy se sabe que su pronóstico, que durante muchos años se consideró benigno, no lo es tanto en algunos casos. Se estima que en ciertos subgrupos puede producir una progresión de la inflamación y fibrosis hepática similar a la que produce la infección crónica por el virus de la hepatitis C. Es la primera causa de cirrosis criptogenética y en países del primer mundo la principal causa de elevación de las transaminasas en la población general.

Todo este trabajo corresponde a mi tesis doctoral, dirigida por los doctores Alberto Pérez Rubio, especialista en Medicina Preventiva y Salud Pública y subdirector Médico del Hospital Clínico Universitario de Valladolid y David Andaluz Ojeda, especialista en Medicina Intensiva del Hospital Clínico de Valladolid).

## **1.2 Concepto general de la enfermedad**

El hígado graso no alcohólico es una entidad clínica caracterizada por la aparición de una serie de cambios anatomopatológicos a nivel del hígado, indistinguibles de los producidos por el alcohol, pero en pacientes que no lo consumen en cantidades que se consideren

tóxicas. La EGHNA se conoce también con otros nombres como hepatitis grasa (*Fettleberhepatitis*), esteatonecrosis no alcohólica o hepatitis grasa no alcohólica.

Aunque la cantidad de alcohol ingerida que se considera lesiva para el hígado es muy variable dependiendo de la fuente bibliográfica que se consulte, se asume como hepatotóxico el consumo de más de 20-30 gramos diarios de etanol puro <sup>1,2</sup>.

En la EGHNA se producen dos hechos fundamentales. Por una parte se observa una acumulación de grasa en el hígado como consecuencia directa de una exagerada resistencia periférica a la insulina y por otra parte, se manifiestan fenómenos inflamatorios (verdadera hepatitis) en relación con mecanismos de stress oxidativo. La acumulación de grasa se conoce como esteatosis hepática y cuando a ello se suman los procesos inflamatorios es cuando se habla de esteatohepatitis no alcohólica (EHNA, EHNA en su terminología anglosajona). Finalmente la EHNA puede evolucionar a cirrosis hepática.

A todo este espectro de enfermedades que va desde la forma más leve con esteatosis simple, pasando por EHNA y hasta llegar a la cirrosis hepática se le conoce como **EGHNA**.

Esta entidad ha comenzado a estudiarse hace relativamente poco tiempo y por primera vez en 1980 Ludwing y colaboradores acuñaron estos términos en un artículo publicado en *Mayo Clinic Procedures*<sup>3</sup>.

### **1.3. ETIOPATOGENIA DE LA EHNA:**

No se conoce completamente la etiología del hígado graso no alcohólico y tampoco se sabe con exactitud por qué algunos pacientes con hígado graso no alcohólico presentan una

esteatosis simple que nunca progresa y en cambio otros pacientes desarrollan EHNA o cirrosis hepática.

### **1.3.1 Fisiología:**

#### **Mecanismos de regulación de la glucosa y los ácidos grasos:**

La glucosa en situación de ayuno se puede obtener por varios mecanismos: O bien se sintetiza por gluconeogénesis hepática o se obtiene por degradación del glucógeno (glucogenolisis). Los dos procesos se producen en situación de ayuno ante el estímulo hormonal del glucagón, y se inhiben en situación de abundancia de sustratos por la insulina. La glucosa también se puede obtener por aporte exógeno con la dieta.

La glucosa en situaciones de abundancia se utiliza de maneras diferentes en distintos tejidos. En los eritrocitos y el SNC, al carecer de los enzimas para sintetizar glucógeno se oxida a lactato por la LDH de forma casi inmediata. En el músculo estriado la glucosa se almacena en forma de glucógeno por la glucosa 6 fosfatasa, que queda acumulado en el músculo para su utilización, no pasando en ningún caso a la circulación general. En los hepatocitos también se acumula el glucógeno, pero a diferencia de lo que ocurre en el músculo estriado puede transformarse en glucosa en caso de necesidad. La cantidad de máxima de glucógeno que puede acumularse en los hepatocitos es de 65 g/ Kg de peso, lo que supone unos 2100 kJ en un adulto de 70 Kg. Una vez alcanzados estos valores se inhiben los mecanismos de glucogenogénesis. En situaciones en las que existe una alteración del metabolismo del glucógeno (glucogenosis), este se acumula en el hígado y en otros tejidos, produciendo lesión hepática, cerebral o muscular. Otra vía del

metabolismo de la glucosa en situación de abundancia de sustratos es la síntesis de ácidos grasos. En este caso la glucosa se metaboliza en Acetyl Co A por el ciclo de Krebs, y posteriormente por la Acetyl Co A carboxilasa (enzima limitante) se sintetizan ácidos grasos. Estos ácidos grasos se metabolizan en el hígado a triglicéridos (TAG) mediante su unión a glicerol por la glicerol 3 fosfato aciltransferasa. Los TAG pasan a la circulación sistémica en forma de lipoproteínas, en concreto las de muy baja densidad (very low density lipoproteins VLDL). Las VLDL en su recorrido por el torrente circulatorio van perdiendo TAG que son captados por las células, sobre todo por los adipocitos a través de la enzima lipoproteinlipasa. De este modo las VLDL pierden TAG y aumentan de forma relativa su contenido en colesterol pasando a LDL (low density lipoprotein) y por último HDL.

Una vez en los hepatocitos los TAG pasan nuevamente a ácidos grasos y glicerol para metabolizarse por la lipasa sensible a hormonas, que se activa por glucagon y se inhibe por la insulina. En fases de ayuno los ácidos grasos obtenidos se metabolizan en la mitocondria por beta oxidación, en los peroxisomas por beta u omega oxidación y en el sistema microsomal por omega oxidación.

El principal sistema de regulación de entrada de los ácidos grasos a la mitocondria es el de los receptores PPAR (Peroxisome Proliferators Activated Receptor). Los receptores PPAR son de 3 tipos: PPAR- $\alpha$  que predominan en el hígado y menos en el músculo, PPAR- $\beta/\delta$  y PPAR- $\gamma$  que predominan en el tejido adiposo e intestino. Los PPAR- $\alpha$  actúan fundamentalmente favoreciendo la entrada de los ácidos grasos en la mitocondria y los peroxisomas para su beta oxidación al aumentar la actividad lipoprotein lipasa. Los ácidos grasos no entran en la mitocondria como ácidos grasos libres, sino que previamente tienen

que transformarse de acil CoA por la enzima Acil CoA sintetasa. Esta enzima está regulada por los receptores PPAR. El Acil CoA entra en la mitocondria unido a la carnitina y gracias al transportador de acil carnitina. Esta es la etapa limitante en la beta oxidación, y está activada por el glucagon durante el ayuno y el ejercicio.

Una vez dentro de la mitocondria, los ácidos grasos se metabolizan por beta oxidación. La primera enzima de la reacción es la Acil CoA deshidrogenasa. Otro mecanismo de regulación de la beta oxidación de ácidos grasos es por producción de hormonas del tejido adiposo. Entre ellas destaca la **Adiponectina**, y los **receptores de cannabinoides 1 (CB1)**.

En los pacientes con esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) a activación de los receptores PPAR alfa está alterada, lo que disminuye su capacidad de beta oxidación <sup>4</sup>.

### **1.3.2. Patogenia del EGHNA: Teoría del doble impacto**

Una de las teorías en la patogenia del EHNA es la **teoría del “doble impacto” (Two Hits)** propuesta en 1998 por Day y James <sup>5</sup>. El primer impacto “first hit” lo produciría la resistencia a la insulina que genera una sobrecarga de ácidos grasos en el hígado, la cual supera la capacidad de aclaramiento de TAG por las VLDL y por tanto su acumulación y la aparición de esteatosis. El “second hit” consiste en una situación en la que se producen radicales libres de oxígeno que inducen inflamación celular. La liberación de radicales libres se produce sobre todo a nivel mitocondrial (por beta oxidación) y microsomal (por omega oxidación de ácidos grasos que no aparece en todos los sujetos). Este segundo impacto se activa directamente por los ácidos grasos libres que son capaces de estimular el

factor nuclear KB a través del enzima IKKB produciéndose insulínresistencia y liberación de interleukinas que activan las cascadas de inflamación con liberación de citoquinas y migración de células inflamatorias.

Posteriormente se ha publicado **la teoría del “third hit”**<sup>6</sup>. Junto a la esteatosis y los fenómenos inflamatorios por el stress oxidativo aparece un tercer elemento. Este “third hit” consiste en un defecto en la proliferación celular de los hepatocitos inmaduros. Los mecanismos de inflamación son capaces de producir tanto necrosis celular como de inducir apoptosis. En cualquiera de los casos se produce una pérdida del número de hepatocitos funcionantes. En condiciones normales estos hepatocitos deberían ser sustituidos por otros a partir de progenitores que se diferencian a hepatocitos maduros sustituyendo así el tejido lesionado. Sin embargo el stress oxidativo que aparece en el EHNA además de producir daño celular es capaz de disminuir la capacidad de los progenitores de células hepáticas (células ovals) de diferenciarse a hepatocitos maduros. De esta forma aumenta el número de células ovals y disminuye el de hepatocitos maduros, que son los que realmente tienen capacidad metabólica <sup>7</sup>. Esto hace que se sobrecarguen estos hepatocitos maduros amplificando los efectos de los radicales libres. Además los hepatocitos que quedan están sobrecargados, lo que aumenta la producción de radicales libres por aumento de los procesos oxidativos.

### **1.3.3. Primer impacto: Acumulación de TAG hepáticos**

La resistencia periférica a la insulina es sin duda el elemento fundamental en la génesis de todo el espectro de hígado graso no alcohólico. Se define como una alteración de la



respuesta tisular a la acción de la insulina que se caracteriza sobre todo por una menor captación de la glucosa por las células mediada por la insulina. La resistencia a la insulina a nivel de los hepatocitos hace que la insulina no sea capaz de suprimir la gluconeogénesis aumentando de este modo la síntesis hepática de glucosa que se libera a la sangre. El páncreas responde aumentando la secreción de insulina para mantener la glucemia produciendo de forma secundaria **hiperinsulinemia**. Está demostrado que la hiperinsulinemia por su parte induce per se resistencia a la insulina<sup>8</sup>. A nivel del músculo la resistencia a la insulina disminuye la recaptación muscular de glucosa, lo que induce indirectamente hiperglucemia.

Aunque por mecanismos no perfectamente definidos la hiperinsulinemia induce un aumento de la **síntesis hepática de ácidos grasos (síntesis de novo)**. Los mecanismos presumiblemente implicados son la activación del enzima ácido graso sintetasa y la inducción de SREBP (sterol regulatory element binding protein). El SREBP estimula indirectamente la vía de la biosíntesis de ácidos grasos a través de la activación de genes que codifican para enzimas lipolíticos entre los que destacan la Acil CoA carboxilasa, la ácido graso sintetasa, la Acil Co A sintetasa y citrato liasa<sup>9</sup>. Se ha demostrado que esta biosíntesis hepática de ácidos grasos está aumentada en el EGHNA<sup>9</sup>. El SREBP se relaciona con la resistencia a la insulina a través del PI3K. El PI3K forma parte de la cascada de señalización de la insulina y activa el SREBP<sup>10</sup>.

La síntesis de ácidos grasos en un contexto en el que ya hay sobrecarga de ellos como ocurre en el EGHNA es una situación paradójica. Aunque no se conocen bien los mecanismos íntimos, se postula que podría deberse a que **la sensibilidad a la insulina no está igual de afectada para todos los procesos metabólicos**. De este modo la sensibilidad a la insulina para la síntesis de ácidos grasos estaría más preservada que para

el resto de procesos metabólicos que aumentan los niveles de ácidos grasos (la lipólisis a nivel de los adipocitos y la inhibición de la beta oxidación). En situación de abundancia de sustratos, la insulina debería inhibir la lipólisis y estimular la síntesis de ácidos grasos a partir de acetil CoA para de esta forma almacenar energía en forma de grasa. Cuando aparece resistencia a la insulina la lipólisis no se inhibe como cabría esperar (por tanto está activa) y sin embargo la síntesis de ácidos grasos, que es un proceso cuya sensibilidad a la insulina está más preservada, sí que está activa. La suma de estos dos fenómenos produce una acumulación hepática de ácidos grasos libres. Otros mecanismos que también influyen son el aumento de la recaptación hepática de ácidos grasos y la inhibición de la beta oxidación.

La actividad lipasa en la superficie de los adipocitos depende de su diámetro. A mayor diámetro mayor superficie de contacto y mayor lipólisis<sup>11</sup>. Los adipocitos de la grasa visceral son de mayor tamaño, por lo que desde esta grasa se libera una cantidad mayor de ácidos grasos libres hacia la circulación portal. Los pacientes obesos o los que tienen un exceso de grasa visceral sin llegar a ser obesos tiene por tanto mayor tamaño en sus adipocitos y liberan más ácidos grasos hacia el hígado, facilitando la sobrecarga hepática de ácidos grasos.

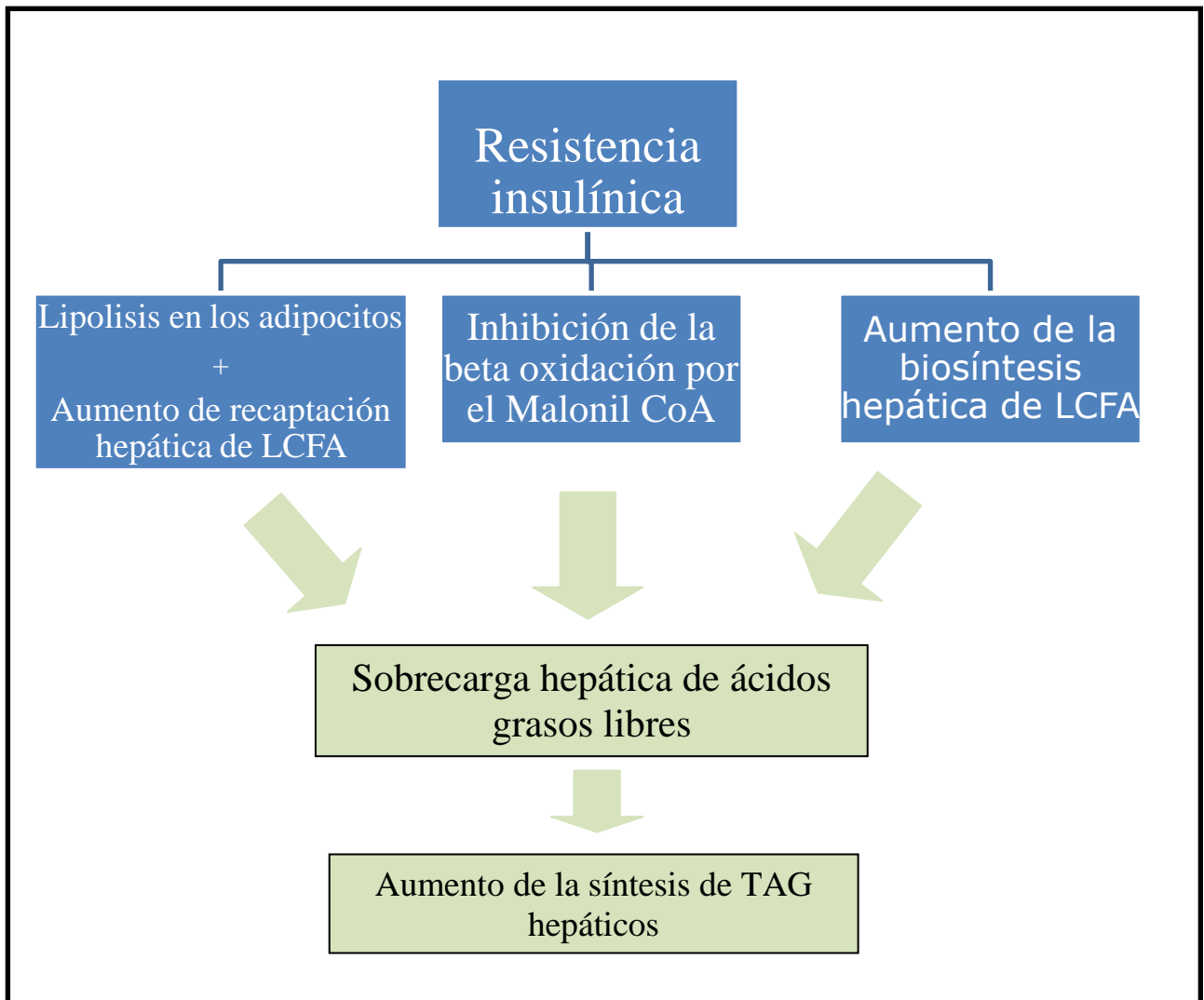


Figura 1.1. Factores patogénicos que explican la sobrecarga hepática de ácidos grasos libres. LCFA = Long Chain Fatty Acids o ácidos grasos de cadena larga.

El aumento de ácidos grasos libres produce un aumento de la síntesis de TAG por fenómenos de esterificación. Este proceso de biosíntesis de TAG no tiene prácticamente límites por lo que a mayor cantidad de ácidos grasos, mayor síntesis de TAG<sup>12</sup>.

Los TAG hepáticos se pueden incorporar a las lipoproteínas VLDL y de aquí salir hacia los tejidos periféricos (la mayoría) o bien utilizarse para la beta oxidación (una cantidad menor). Sin embargo, existen límites tanto para la síntesis de VLDL como para la beta oxidación de ácidos grasos (no así para la síntesis de TAG). La hiperinsulinemia que

aparece en el EGHNA interfiere en el metabolismo de lipoproteínas y produce una disminución de la ApoB100, lo que disminuye la síntesis de VLDL <sup>13</sup>

En situaciones de sobrecarga de ácidos grasos libres se forman más TAG de los que se pueden enviar a los tejidos periféricos en forma de VLDL u oxidar en la beta oxidación, de modo que se acumulan en el hígado formando vacuolas y producen esteatosis hepática.

Podría pensarse que al aumentar los TAG hepáticos se activan los mecanismos de stress oxidativo y sin embargo esta síntesis de TAG tiene un efecto protector sobre el stress oxidativo: Al aumentar la síntesis de TAG disminuye la disponibilidad de ácidos grasos libres para su oxidación, que son los que pueden activar directamente la formación de radicales libres. Al disminuir los ácidos grasos libres disminuye la formación de radicales libres y por tanto el daño celular.

#### **1.3.4. Segundo impacto: Mecanismos patogénicos de inflamación y necrosis en el EGHNA**

##### **FORMACIÓN DE RADICALES LIBRES DE OXÍGENO:**

Los radicales libre proceden fundamentalmente de la oxidación de los ácidos grasos a nivel de las mitocondrias y peroxisomas por mecanismos de beta y omega oxidación. La más común y fisiológica es la beta oxidación, que se produce fundamentalmente en las mitocondrias. Cuando se satura la beta oxidación en la mitocondria por sobrecarga hepática de ácidos grasos, se puede producir la beta oxidación en los peroxisomas. La beta oxidación en los peroxisomas es similar a la de las mitocondrias, pero con dos diferencias:

Por un lado, carece de cadena de transporte de electrones, de modo que los electrones pasan del FADH<sub>2</sub> y el NADH al oxígeno, formando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (que es un radical libre de oxígeno). Por otro lado la beta oxidación en los peroxisomas no produce ATP sino que la energía liberada durante la reacción se disipa en forma de calor.

Si a pesar de todo este mecanismo también se satura (se supera la capacidad de beta oxidación mitocondrial), se produce la omega oxidación de los ácidos grasos en el sistema microsomal (del citocromo P-450) ya sea en los propios peroxisomas o en el retículo endoplásmico rugoso. La beta oxidación se asocia a una menor liberación de radicales libres, mucho menor que la que ocurre en la omega oxidación. Aunque la beta oxidación genera menos radicales libres que la omega oxidación, debido a que la magnitud de la beta oxidación es mucho mayor, se convierte en el principal mecanismo de producción de radicales libres a nivel de las mitocondrias.

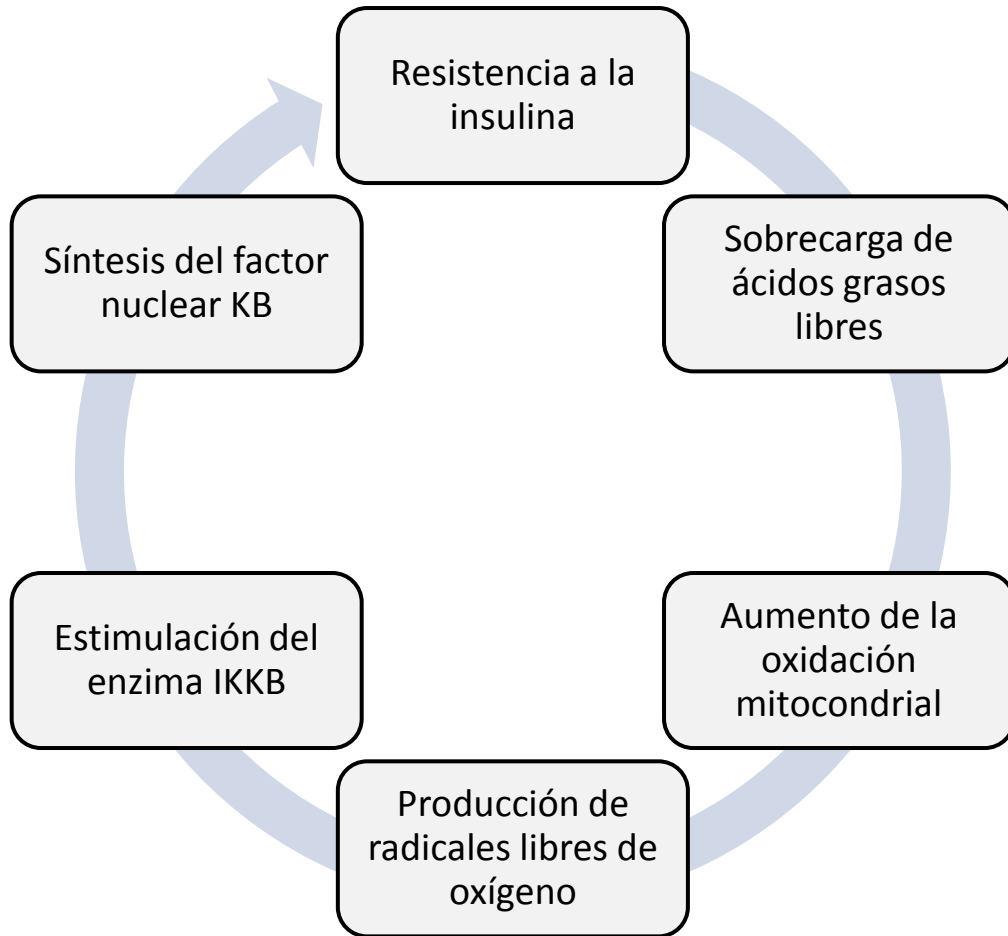
Otro hecho importante en la génesis de radicales libres es que el aumento de ácidos grasos libres estimula a los receptores PPAR alfa. Estos receptores favorecen la entrada de los ácidos grasos a la mitocondria para su oxidación. De este modo, la activación de PPAR alfa produce indirectamente una sobrecarga mitocondrial de ácidos grasos que al oxidarse van a producir un aumento de radicales libres.

A nivel de las mitocondrias la resistencia a la insulina se asocia con una pérdida de eficacia de la cadena respiratoria final durante la oxidación de los ácidos grasos (**desacoplamiento de la fosforilación oxidativa**). Este desacoplamiento favorece la formación de radicales libres de oxígeno y dentro de la mitocondria pueden dañar el DNA mitocondrial de forma directa. Este DNA mitocondrial a su vez regula elementos de la cadena respiratoria final de electrones. Por otro lado estos radicales libres producen la **peroxidación de lípidos de membrana de la mitocondria**. Esto produce una pérdida de citocromo C que tiene efecto

antioxidante. La pérdida de citocromo C inicia los mecanismos de apoptosis y muerte celular programada en el hepatocito. En la EHNA se pueden ver al microscopio cuerpos apoptóticos que confirman que estos mecanismos realmente se dan en esta enfermedad.

En la EHNA se produce un desacoplamiento de la fosforilación oxidativa que produce una disminución de la síntesis de ATP. Caídas bruscas en la síntesis de ATP pueden desencadenar necrosis celular ya que el ATP es necesario para la mayor parte de las reacciones enzimáticas de las células. Tanto si la muerte celular es por apoptosis como si es por necrosis induce la liberación de citoquinas como la IL-8, que son factores quimiotácticos de neutrófilos. Estos factores atraen células inflamatorias al foco de necrosis, que van a ser las responsables de los cambios histológicos que apreciamos en la EHNA y a su vez van a amplificar el daño celular.

Los radicales libres son capaces de inducir resistencia insulínica, creando un lazo de feedback positivo que perpetúa el daño celular:



**. 1.2. Relación entre la resistencia a la insulina y la producción de radicales libres de oxígeno**

El factor nuclear  $\kappa\beta$  (NF $\kappa\beta$ ) por un lado induce la síntesis de TNF alfa, y por otro lado produce la fosforilación del IRS-1 que induce resistencia a la insulina.

El aumento de radicales libres puede favorecer la depleción de enzimas antioxidantes como el glutatión, los beta carotenos o la vitamina C. De hecho los niveles de Xantina oxidasa están aumentados en la EHNA comparado con controles sanos. La xantina oxidasa favorece la síntesis de radicales libres y se activa al disminuir los niveles de las enzimas antioxidantes <sup>14</sup>.

### **LIPOTOXICIDAD:**

Otro hecho que ayuda a explicar los fenómenos de necrosis, inflamación y apoptosis mediados por una disfunción mitocondrial es la llamada **hipótesis de lipotoxicidad**. Según esta, productos intermedios del metabolismo lipídico, y en particular la ceramida (que es un producto intermedio en la síntesis de esfingomielina), pueden activar la apoptosis mediada por mitocondrias, sobre todo en situaciones de mayores requerimientos metabólicos como ocurre cuando hay sobrecarga metabólica en los hepatocitos.

### **INFLUENCIA DE LAS ADIPOCITOQUINAS EN LA PATOGENIA DE LA EHNA:**

Las adipocitoquinas influyen en la patogenia del EGHNA modulando los mecanismos de resistencia insulínica y modificando la síntesis de radicales libres. Aunque hay varias hormonas, destacan 3 que son el TNF alfa, la leptina y la adiponectina. Otras que también contribuyen son la resistina y la visfatina.

#### **TNF- $\alpha$ :**

El TNF alfa es un factor proinflamatorio que participa en muchos de los mecanismos de la inflamación en distintas enfermedades. Entre ellas se conoce la importancia patogénica del TNF alfa en el hígado graso alcohólico. El TNF alfa regula vías de inflamación, de viabilidad celular, metabolismo y de expresión de otras citoquinas. Puede actuar sobre receptores tipo 1 o 2. Estos receptores al activarse forman complejos con proteínas citoplasmáticas de modo que activan a varios tipos de kinasas, que son las JNK, IKKB, MAPK y la proteína kinasa B/AKT. Estas kinasas van a activar al factor nuclear Kappa beta (NF-kB). A su vez este factor nuclear va a estimular la transcripción de ciertos genes



efectores y entre otros va a estimular a la propia síntesis de TNF (feedback positivo). El factor nuclear KB mediante algunas de sus subunidades también es capaz de inhibir los receptores PPAR- $\gamma$ . Estos receptores están encargados de la diferenciación de los adipocitos. Por otro lado la activación de estas kinasas va a fosforilar a las proteínas ISR-1 y las ISR-2, que forman parte de la cascada de señalización de la insulina, inactivándolas. De este modo se produce resistencia insulínica.

El TNF alfa de forma directa es capaz de producir un **desacoplamiento de la cadena respiratoria mitocondrial**, que induce la formación de radicales libres. Este mismo mecanismo se produce en la esteatosis hepática mediada por amiodarona.

El TNF se describió primeramente en macrófagos pero posteriormente se ha descubierto en otras células inflamatorias y también en adipocitos. Cuanto mayor es la cantidad de grasa visceral, mayor es la cantidad de TNF circulante. El mecanismo fundamental por el que el TNF influye en la génesis del hígado graso no alcohólico es que favorece per se la resistencia a la insulina<sup>10</sup>

### **Leptina:**

La leptina es una hormona que se secreta en el tejido adiposo en respuesta a un exceso de calorías (respecto a las necesidades). Su efecto por un lado es disminuir la lipólisis y por otra parte disminuir el apetito, lo que restringe la entrada de calorías. La restricción del apetito se hace a través de su acción en el hipotálamo. A este nivel inhibe la secreción de neuropéptido Y que es una sustancia orexígena.

La leptina fuera del sistema nervioso central actúa sobre la sensibilidad a la insulina ya que induce la defosforilación de la proteína IRS (insulin receptor substrate) lo que indirectamente induce una mayor sensibilidad a la insulina. Además actúa sobre el

SREBP-1 hepático de modo que inhibe la síntesis de ácidos grasos. La leptina estimula los receptores PPAR-gamma lo que favorece la diferenciación de adipocitos. Los adipocitos maduros pueden sintetizar adiponectina y estimular la entrada de ácidos grasos a la mitocondria (por la CPT). Esto indirectamente pone en marcha la beta oxidación mitocondrial de ácidos grasos.

La obesidad se asocia con un aumento de la leptina al tener mayor masa de tejido adiposo<sup>15,16,17</sup>. Sin embargo, y de forma aparentemente contradictoria, la leptina es un importante factor fibrogénico. La leptina induce en las células estrelladas del hígado la expresión de colágeno lo que induce fibrosis.

Los pacientes con obesidad presentan una resistencia a la acción de la leptina que por un lado impide que pierdan peso pero por otro lado evita la aparición de fibrosis por estimulación de las células estrelladas. Uno de los principales estudios en humanos sobre leptina demuestra que los pacientes con EHNA presentan niveles de leptina más elevados que la población general y además que esta leptina es un factor independiente predictor de EHNA<sup>18</sup>. Sin embargo, un análisis posterior de los resultados demuestra que estos podían estar influidos por el hecho de que en el grupo control el peso era menor que en los pacientes con EHNA y que las diferencias en la leptina se deben a eso. Lo mismo ocurre en el estudio de Xiao-Dong Huang<sup>16</sup>. En este sentido, hay otro trabajo importante de Chalasani et al.<sup>19</sup>, en el que se demuestra que no hay relación clínica entre niveles de leptina y desarrollo de EHNA.

Aunque se necesitan más estudios, en principio no hay datos suficientes para afirmar que la leptina juegue un papel fundamental en la patogenia de la EHNA.

## **Adiponectina:**

Es una hormona que se produce exclusivamente en el tejido adiposo y que produce acciones a distintos niveles. Actúa sobre receptores que se han identificado en los adipocitos, en las células musculares y en los hepatocitos. Además aumenta la recaptación de glucosa y la oxidación de las grasas en el músculo.

A nivel del metabolismo lipídico va a aumentar el aclaramiento de lípidos del plasma mediado por la lipoproteína lipasa y estimula la beta oxidación de los ácidos grasos. Por lo tanto tiene efectos antilipogénicos. Además tiene efectos antiinflamatorios directos al inhibir la síntesis de TNF-alfa a nivel hepático. A nivel experimental en ratones (ratones OB/OB, con deficiencia en leptina) la administración de adiponectina mejora la hepatomegalia, la esteatosis y los niveles de transaminasas<sup>20</sup>

La adiponectina tiene un efecto protector sobre la EHNA como demuestra el hecho de que los pacientes con EHNA tienen una adiponectinemia menor. Además hay modelos animales que lo corroboran<sup>21</sup>. La adiponectina sólo se sintetiza en los adipocitos maduros. Este proceso de maduración está mediado por receptores PPAR gamma.

En los pacientes con EHNA sin embargo, la sobrecarga de lípidos no sólo no aumenta sino que puede disminuir los niveles de adiponectina<sup>16</sup>. Esta disminución de adiponectina puede estar mediada por el TNF alfa.

Distintos artículos entre los que destaca el de Hui et al en Hepatology<sup>22</sup> afirman que los pacientes con EHNA tienen niveles de adiponectina inferiores que los pacientes con hígado graso no alcohólico pero sin inflamación.

## **SOBRECARGA DE HIERRO:**

También puede jugar un papel en el desarrollo de la EHNA. Como evidencias podemos decir que en los pacientes con resistencia a la insulina están aumentados los niveles de hierro hepático y que al mejorar el perfil glucémico disminuye la ferritina y el hierro hepático. Se ha visto que la cantidad de hierro hepático se correlaciona con la gravedad de la fibrosis en la biopsia hepática. Estos datos microscópicos y analíticos no se han corroborado a nivel clínico, pues en un estudio<sup>23</sup> los niveles de hierro no se relacionaron con la mortalidad por todas las causas, ni con la mortalidad hepática ni con el desarrollo de cirrosis. Los datos referentes a la sobrecarga del hierro en la patogenia de la EHNA son controvertidos y no todos los estudios tienen el mismo resultado. Un estudio reciente de 2014 sin embargo demuestra correlación entre los niveles de ferritina séricos y el diagnóstico de EGHNA, si bien en este estudio no se evalúa ni la fibrosis ni el grado de inflamación hepática<sup>24</sup>.

Algunos autores afirman que existe relación entre la histología de la EHNA y el grado de sobrecarga férrica, como los de George et al<sup>25</sup>. Por otra parte, otros documentan afirman que no existe relación significativa entre la sobrecarga de hierro y la EHNA y que tampoco existe relación entre este grado de sobrecarga y la histología, como los trabajos de Angulo et al<sup>26</sup>.

Los pacientes con EHNA con aumento del hierro hepático y aumento de transaminasas presentan con una frecuencia mayor que la población general la presencia del gen de la hemocromatosis heterocigoto<sup>27</sup>. Sin embargo por el contrario, los pacientes con hemocromatosis homocigota no presentan un riesgo más elevado de padecer EHNA.

La sobrecarga de hierro actuaría en estos pacientes como un **factor sensibilizador al daño inducido por los radicales libres** en la EHNA.

Otro indicio de que la sobrecarga de hierro induce daño en los pacientes con EHNA es que los pacientes con hígado graso no alcohólico a los que se depletaba de hierro mediante flebotomías presentaban mejoría tanto de las transaminasas como de la sensibilidad a la insulina<sup>28,29</sup>.

### **ACTIVACIÓN DE LAS CÉLULAS DE KUPFFER<sup>30</sup>**:

Las células de Kupffer son la parte más importante del sistema reticuloendotelial a nivel del hígado, donde suponen un 10% de la celularidad total. Una vez activadas las células de Kupffer pueden producir varias acciones biológicas. Entre ellas destaca la liberación de sustancias biológicamente activas y efectos quimiotácticos sobre células inflamatorias como polimorfonucleares, macrófagos derivados de monocitos o natural killer. Además pueden fagocitar múltiples sustancias como microorganismos, células fragmentadas y cuerpos apoptóticos. Pueden actuar como células presentadoras de antígenos para las células T poniendo así en marcha la inmunidad adaptativa. Por último también pueden liberar sustancias fibrogénicas favoreciendo la fibrosis hepática mediada por la leptina.

Cuando las bacterias intestinales se translocan y pasan a la circulación portal se une su LPS (lipopolisacárido) a los TLR4 (Toll like receptors) de las células de Kupffer que producen daños por mecanismos de inflamación tisular. En situaciones en las que hay un sobrecrecimiento bacteriano es más probable el desarrollo de hígado graso no alcohólico y

esteatohepatitis porque aumenta la translocación bacteriana hacia la circulación portal. Esto ocurre fundamentalmente cuando tras una cirugía gástrica queda un asa ciega que favorece este crecimiento (Ej. Billroth II).

Otro modo de activación de las células de Kupffer es por alteración del metabolismo lipídico. De este modo los hepatocitos que contienen gotas de grasa pueden reconocerse erróneamente como sustancias extrañas y activar a las células de kupffer. Otras citoquinas que pueden actuar directamente sobre las células de Kupffer son la IL-6 y el TNF alfa con efecto proinflamatorio (como ocurre en los hepatocitos), y la adiponectina con papel antioxidante protector.

### **1.3.5. Patogenia de las formas secundarias de EGHNA**

- La esteatohepatitis no alcohólica debida a **cirugía bariátrica** se debe a múltiples causas. Fundamentalmente en todas ellas se produce una pérdida de peso excesivamente rápida que induce una sobrecarga hepática de ácidos grasos libres procedentes del tejido adiposo. Entre los años 50 y 70 predominaba la realización de **by-pass yeyunoileal**. Posteriormente se ha visto que esta cirugía se asocia a múltiples complicaciones que son previsibles en todos los pacientes por lo que ya no se practica. Entre estas complicaciones están la malnutrición, alteraciones hidroelectrolíticas, fallo renal, la malabsorción de ciertos nutrientes, colelitiasis y afectación hepática. Como ejemplo del daño hepático un estudio de 453 pacientes con esta intervención <sup>31</sup>demuestra que el 7% de los pacientes desarrollan fallo hepático agudo, y que la probabilidad de desarrollar cirrosis a 15 años era del 8.1%.

En la actualidad a estos pacientes se les debe revertir el bypass quirúrgicamente en cuanto sea posible.

Las cirugías de reducción de estómago mediante banding gástrico o by-pass gástrico son menos agresivas para el hígado, y normalmente se asocian a mejoría histológica en biopsias repetidas en estos pacientes <sup>32</sup>.

- La **pérdida de peso rápida** se puede asociar también a lesión hepática en forma de esteatosis o esteatohepatitis no alcohólica. El mecanismo patogénico fundamental, de forma análoga a lo que ocurre durante la **alimentación parenteral**, es la sobrecarga hepática de ácidos grasos libres. Esto induce esteatosis y formación de radicales libres, lo que induce inflamación. En el primer caso los ácidos grasos proceden del tejido adiposo por lipólisis y en la alimentación parenteral es la propia nutrición la que contiene estos ácidos grasos.

- **La exposición a tóxicos** también se puede relacionar con aparición de EGHNA (sobre todo a disolventes orgánicos).

- **Enfermedades metabólicas congénitas:** Entre ellas destaca la lipodistrofia, enfermedad de Wilson, las enfermedades de peroxisomas, enfermedades mitocondriales, la enfermedad de Weber-Christian, galactosemia y tirosinemia. Se deben sospechar estas enfermedades genéticas asociadas al hígado graso si el paciente presenta alguno de los siguientes síntomas y sobre todo si el debut aparece en la edad pediátrica: Sordera neurosensorial, Lipomatosis, lipodistrofia, paniculitis (Weber-Christian), polineuropatía o acantosis nigricans en niños (la acantosis nigricans también puede aparecer en adultos como dato de resistencia insulínica).

- Muchas de las **lipodistrofias** se deben a una alteración de los genes relacionados con la leptina. En estos pacientes hay una falta o ausencia de sensibilidad a la leptina. Esto

hace que el tejido adiposo no se desarrolle y la grasa se acumule en otras zonas del cuerpo como puede ser el hígado y secundariamente produce esteatosis y resistencia a la insulina. Es más, se ha demostrado que la administración de leptina recombinante a pacientes con lipodistrofias severas se asocia con una mejoría significativa de todos los parámetros histológicos (salvo la fibrosis) y del NAS en un 60%<sup>33</sup>.

- **Defectos en la síntesis de lipoproteínas:**

Puede darse en enfermedades hereditarias como la **abetalipoproteinemia** en la que no se sintetizan lipoproteínas VLDL debido a una mutación del gen que codifica para el enzima MTP, necesario para la incorporación de los TAG a las VLDL. También hay trastorno de la síntesis de lipoproteínas en trastornos de la síntesis proteica por **malnutrición proteica grave** o **déficit selectivo de colina** (en dietas con carencias de esta sustancia).

Otro mecanismo es la disminución de la secreción postprandial de Apo B 100, necesaria para la síntesis de lipoproteínas<sup>14</sup>. Esto ocurre en el EHNA aunque no se conoce el mecanismo íntimo del proceso<sup>5,16,34,35,36,37</sup>.

- **Hígado graso inducido por fármacos:**

El hígado graso no alcohólico inducido por algunos fármacos como son la Amiodarona, doxiciclina, tianeptina, pirprofeno se produce por alteraciones en la síntesis de lipoproteínas. En este caso se debe a la inhibición de la proteína MTP (proteína de transferencia de triglicéridos microsomales). Esta proteína favorece la incorporación de los TAG a las VLDL y al estar inhibida, favorece la acumulación de TAG en el hígado. Además estos fármacos inducen esteatosis por un segundo mecanismo que es la inhibición de la beta oxidación de los ácidos grasos. La acción por esta doble vía hace que estos fármacos tengan una gran tendencia a producir esteatosis.



Otros fármacos como los **corticoides**, pueden producir esteatosis por un doble mecanismo: Por un lado inhibición de la beta oxidación y en segundo lugar estimulación de la síntesis de novo de ácidos grasos.

**Tabla 1.1. Causas farmacológicas de esteatohepatitis no alcohólica**

<b>Fármacos que favorecen la aparición de EHNA<sup>38,39(58,97)</sup></b>
Amiodarona
Metotrexato
Maleato de perhexelina
Corticoides
Anticonceptivos orales (estrógenos)
Tamoxifeno
Nifedipino
Doxiciclina

- **Defectos en la beta oxidación de los ácidos grasos:** Se ve en varias situaciones específicas y entre ellas destaca: Déficit de Vitamina B5, Déficit de coenzima A (valproico y la aspirina) y por inhibición farmacológica de la beta oxidación (Amiodarona y doxiciclina y también los corticoides).

#### **1.4. HISTOPATOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD:**

La histología de la EHNA es por definición indistinguible de la que aparece en la hepatitis alcohólica. Por ello es necesaria una minuciosa historia clínica tanto al paciente como a sus

familiares para descartar el consumo tóxico de alcohol. Los hallazgos histológicos varían en función del grado evolutivo de la enfermedad, pudiendo encontrarse:

**Esteatosis:** Es el hallazgo más frecuente y se encuentra en el 100% de las biopsias de los pacientes no evolucionados hasta cirrosis hepática. Puede ser macro o microvesicular, pero la forma típica de la EGHNA es la macrovesicular. Al microscopio se observan gotas de lípidos que producen un desplazamiento del núcleo del hepatocito hacia la periferia. Esta forma de esteatosis es también típica de la hepatitis alcohólica.

La intensidad de la esteatosis está en función de la fase de la EGHNA. Así, mientras que en las fases iniciales es casi constante y suele ser intensa, cuando aparecen puentes de fibrosis o cirrosis hepática, disminuye, y puede incluso llegar a desaparecer. En general, cuanto más avanzada esté la enfermedad, menor será el grado de esteatosis. La intensidad se mide por el porcentaje de hepatocitos afectados. En general se asume que una afectación menor del 5% no se considera esteatosis, pues esta mínima infiltración grasa no tiene significado clínico<sup>40</sup>. En estadios iniciales la esteatosis es de localización centrolobulillar, para posteriormente pasar a ser panacinar.

**Infiltrados inflamatorios:** Ausentes en los enfermos con esteatosis simple están presentes en los enfermos con procesos más evolucionados. Su localización típica es en los lobulillos, pero si la inflamación es intensa, pueden aparecer también a los espacios porta. Se trata de un infiltrado compuesto por un predominio de polimorfonucleares que rodean a los hepatocitos con signos de lesión celular como son la balonización y la hialina de Mallory. Otras veces se trata de infiltrados mixtos inespecíficos compuestos por linfocitos, macrófagos y neutrófilos.

**Hialina de Mallory:** La hialina de Mallory consiste en la aparición de depósitos eosinofílicos en posición perinuclear de los hepatocitos. Suele ser pericentral como la

balonización. En ocasiones, los hepatocitos con hialina de Mallory están rodeados de un infiltrado de polimorfonucleares que recibe el nombre de satelitosis <sup>2</sup>.

La hialina de Mallory aparece como consecuencia de un deterioro en el metabolismo proteosómico de algunas proteínas citoplasmáticas, fundamentalmente filamentos intermedios ligados a ubiquitina. Se puede detectar observándola al microscopio óptico con hematoxilina eosina, o bien de forma más específica utilizando anticuerpos monoclonales antiubiquitina. <sup>1,38</sup>

**Balonización:** Consiste en una dilatación de los hepatocitos, que se acompaña de un citoplasma hinchado, tumefacto y finamente granular. A diferencia de otros datos histológicos, la balonización se relaciona con la intensidad y pronóstico de la EHNA<sup>41</sup>. Frecuentemente se acompaña de hialina de Mallory. La balonización puede aparecer en cualquier zona, pero es más frecuente en la zona pericentral.

**Alteraciones mitocondriales:** Son muy frecuentes en la esteatohepatitis no alcohólica y sin embargo relativamente raras en otras hepatopatías. Son un signo de lesión celular a nivel de los hepatocitos. Las lesiones más frecuentes son la pérdida de crestas, las mitocondrias lamelares, las megamitocondrias y la presencia de cuerpos de inclusión paracristalinos intramitocondriales.

**Fibrosis:** La fibrosis que aparece en la EHNA tiene una distribución típica perisinusoidal o pericelular de modo que las redes de fibrina y colágeno se disponen en el espacio de Disse entre el sinusoides hepático y los cordones de hepatocitos. En ocasiones las fibras de colágeno pueden llegar a rodear los hepatocitos que forman un borde colágeno a su alrededor. Esta lesión se denomina “chicken wire”. Desde el espacio perisinusoidal la fibrosis progresa hacia la zona centrolobulillar. En estadios más evolucionados la fibrosis avanza hacia el espacio portal, llegando a formar puentes de fibrosis y finalmente cirrosis.

En estas últimas fases no se puede distinguir la fibrosis perisinusoidal característica de la EHNA lo que dificulta el diagnóstico etiológico.

### 1.4.1. Escalas para la clasificación histológica de la EHNA:

En la actualidad se utilizan varias escalas para valorar la gravedad del espectro del hígado graso no alcohólico. Valoran graduación y estadiaje. La graduación (el grado) se utiliza para valorar la actividad necrótica e inflamatoria hepática. El estadio hace referencia al grado de fibrosis hepática. Entre las escalas destacan las siguientes:

**Escala de Ishak<sup>42</sup>:** Esta escala publicada en 1995 fue una de las primeras en establecer un sistema semicuantitativo de puntuación histológica. Es una escala diseñada para las hepatitis crónicas en general y por tanto no es específica para la EGHNA. Se ha utilizado muy frecuentemente para la valoración de las hepatitis virales por virus C. Utiliza una puntuación para la graduación y otra para el estadiaje. La graduación y el estadiaje se realiza según esta tabla:

Tabla 1.2. Graduación según la clasificación de Ishak\*

Necrosis portal	Necrosis confluyente	Lesión lobulillar	Inflamación portal
Ninguna (0)	Ninguna (0)	Ninguna (0)	Ninguna (0)
Leve (1)	Necrosis confluyente focal (1)	1 foco (1)	Leve (1)
Leve-Moderada (2)	Necrosis en algunas áreas en zona 3 (2)	2-4 focos (2)	Leve/Moderada (2)
Moderada que afecta a menos del 50% de espacios porta (3)	Necrosis en muchas áreas de zona 3 (3)	5 a 10 focos (3)	Moderada (3)
Severa que afecta a más del 50% de espacios porta (4)	Necrosis en zona 3 y ocasional necrosis en puentes (4)	Más de 10 focos (4)	Marcada (4)
	Necrosis en zona 3 y múltiples necrosis en puentes (5)		
	Necrosis multiacinar (6)		

\*Se suman las puntuaciones de los 4 parámetros, y según la suma se clasifica en: Hepatitis crónica con actividad mínima (1-3 puntos); Hepatitis crónica con actividad leve (4-8 puntos); Hepatitis crónica con actividad moderada (9-12 puntos); Hepatitis crónica con actividad intensa (13-18 puntos)

Tabla 1.3. Estadiaje según la clasificación de Ishak

Fibrosis	Puntuación
Ausente	0
Expansión fibrosa en algunos espacios porta	1
Expansión fibrosa en numerosos espacios porta	2
Numerosos septos sin cirrosis y escasa fibrosis en puentes	3
Expansión fibrosa en muchos espacios porta y marcada fibrosis en puentes	4
Marcada fibrosis en puentes con escasos nódulos	5
Cirrosis hepática	6

**Escala de Matteoni**<sup>41</sup>: (1999). Clasifica de acuerdo con sus características histológicas 4 grupos dentro de la EGHNA. Al contrario que en las otras escalas, no utiliza un sistema semicuantitativo de puntuación. La escala es la siguiente:

Tipo 1: Esteatosis simple: Esteatosis macrovesicular sin otros hallazgos.

Tipo 2: Esteatohepatitis: A la esteatosis se suma la inflamación lobulillar

Tipo 3: Esteatonecrosis: Además de la esteatosis y los infiltrados, hay signos de lesión celular en forma de la balonización.

Tipo 4: Esteatonecrosis con cuerpos de Mallory o fibrosis: Como el estadio anterior pero con cuerpos de Mallory o con cualquier grado de fibrosis.

**Escala de Brunt**<sup>2</sup>: Esta escala se diseñó específicamente para la EHNA. Brunt partió de 52 biopsias de pacientes previamente diagnosticados por histología de EHNA y a partir de ellas definió un sistema de graduación y estadiaje de la enfermedad.

La graduación se obtiene de 4 parámetros que son la esteatosis, la balonización, el grado de inflamación lobulillar y el grado de inflamación portal. Según la intensidad de estos

parámetros, se clasifica en leve, moderada o severa según una escala semicuantitativa (grados 1,2 o 3).

El estadiaje se hace a partir del grado de fibrosis, partiendo de la afectación perisinusoidal (más típica de la EHNA) hasta la cirrosis.

La graduación y el estadiaje de la clasificación de Brunt se resumen en la siguiente tabla:

**Tabla 1.4. Graduación de la EHNA según la clasificación de Brunt**

Grado	Esteatosis	Balonización	Infiltrados inflamatorios
grado 1 (leve)	grado 1-2	Mínima	lobulillares grado 1-2 o portales leves o ausentes
grado 2 (moderada)	grado 2-3	Presente	lobulillares grado 2 o portales leves a moderados
grado 3 (severa)	grado 3	Marcada	lobulillares grado 3 o portales leves a moderados

Esteatosis grado 1: 5-33% de hepatocitos; Grado 2: 33-66%; Grado 3: >66%. La balonización está presente cuando aparece de forma focal en algunos lobulillos y marcada si aparece en la mayoría. Infiltrados grado 1: de 1 a 2 células por campo x20; Grado 2: de 3 a 4 por campo x20, Grado 3: Más de 4 por campo de x20. El infiltrado portal se clasifica en leve, moderado y severo

**Tabla 1.5 Estadiaje de la EHNA según la clasificación de Brunt**

Estadiaje	Grado
Estadio 1	Fibrosis pericelular o perisinusoidal en zona 3. Puede ser focal en algunos lóbulos o difusa.
Estadio 2	Fibrosis pericelular o perisinusoidal en zona 3 con y fibrosis periportal focal o difusa.
Estadio 3	Fibrosis pericelular o perisinusoidal en zona 3, fibrosis periportal y puentes de fibrosis
Estadio 4	Cirrosis.

**Escala NAS (NAFLD activity score)**<sup>43</sup>: En 2002 se crea en USA la red de investigación clínica de la EHNA (clinical research network for NASH). Realizó una nueva escala que mejora la de Brunt al poder ser aplicada a todo el espectro del EGHNA y se diseña para valorar cambios histológicos en ensayos clínicos sobre tratamiento de la enfermedad. Valora 3 parámetros: Esteatosis, inflamación lobulillar y balonización. En la siguiente tabla se puede ver el sistema semicuantitativo de graduación:

Tabla 1.6. Graduación según el NAFDL activity score

Puntuación total NAS	Esteatosis	Balonización	Infiltrados inflamatorios
0	Menor 5% (0)	No (0)	Ningún foco inflamatorio (0)
3	5-33% (1)	Rara o escasa (1)	1-2 focos inflamatorios en campo x20 (1)
6	34-66% (2)	Abundante (2)	2-4 focos inflamatorios en campo x20 (2)
8	>66% (3)	Abundante (2)	>4 focos inflamatorios en campo x20 (3)

Para obtener la puntuación total se suman los números entre paréntesis de cada uno de los 3 parámetros. Un resultado de 0 a 2 puntos supone no diagnóstico de EHNA (por tanto esteatosis simple). Mayor de 5 puntos es diagnóstico de EHNA, y entre esos dos valores se da como EHNA posible.

Tabla 1.7. Estadiaje según el NAFLD activity score

Estadiaje	Grado
Estadio 1 <sup>a</sup>	Fibrosis perisinusoidal en zona 3. Sólo se ve con la tinción tricrómico de Mason
Estadio 1b	Fibrosis perisinusoidal en zona 3 visible con la tinción Hematoxilina eosina
Estadio 1c	Fibrosis exclusiva portal o periportal
Estadio 2	Fibrosis en zona 3 junto con fibrosis portal.
Estadio 3	Fibrosis en zona 3 junto con fibrosis portal más puentes de fibrosis
Estadio 4	Cirrosis

Es muy útil para valorar la progresión de la actividad inflamatoria de la enfermedad y permite valorar respuesta terapéutica en ensayos clínicos.

**Escala de Mendler et al. sobre graduación y estadiaje del EGHNA<sup>44</sup>:**

Utiliza un sistema semicuantitativo de puntuación similar al de la NAS que hemos mencionado previamente. Esta escala parte de otra realizada previamente en 2002 por estos mismos autores pero eliminando algunas de las características histológicas. De este modo la escala de puntuación es más fácil de utilizar y tiene una mayor reproducibilidad. Las características que se eliminaron discriminaban poco entre las biopsias. Utiliza tres apartados que se puntúan por separado. Estos 3 apartados son la fibrosis portal, la puntuación de la actividad (AS o activity score), y los cambios grasos.

La puntuación de actividad se obtiene de sumar las subpuntuaciones de 4 parámetros: Necrosis e inflamación lobulillar, fibrosis perisinusoidal, balonización y cuerpos de Mallory. El máximo son 12 puntos. El grado de esteatosis se mide en una escala del 1 al 4, y no se incluye dentro de la puntuación de actividad.

**Tabla 1.8 Escala histológica de Mendler, activity score**

	Cuerpos de Mallory	Balonización	Inflamación lobulillar y necrosis	Fibrosis perisinusoidal
0	Ausentes			Ausente
1	Afectación focal de algunos lobulillos			Afectación perivenular o periportal de algunos lobulillos
2	Afectación focal de la mayoría de los lobulillos			Afectación perivenular o periportal de la mayoría de lobulillos sin colágeno intersticial difuso
3	Afectación focal de la mayoría de los lobulillos, con afectación difusa de todos o algunos de ellos			Afectación perivenular o periportal de la mayoría de lobulillos con fibrosis intersticial difuso

El índice de actividad se calcula sumando los puntos de los 4 parámetros, puntuación que va del 0 al 12

**Tabla 1.9 Escala histológica de Mendler, fibrosis portal**

Fibrosis portal	
Puntuación	Definición
0	No fibrosis
1	Fibrosis en algunos espacios porta con o sin septos fibrosos
2	Fibrosis de la mayoría de espacios porta con o sin septos fibrosos
3	Fibrosis de la mayoría de espacios porta con puentes fibrosos ocasionales
4	Fibrosis de la mayoría de espacios porta con puentes fibrosos marcados
5	Puentes fibrosos marcados con nódulos ocasionales de regeneración
6	Cirrosis probable o definitiva

A partir del grado de fibrosis portal y de la puntuación de actividad, estos autores definen 3 grados, que son: Grado 1: Fibrosis portal 0-2 y AS de 0-4. Grado 2: Fibrosis portal de 3 o AS 5-7. Grado 3: Fibrosis portal 4-6 o AS 8-12.



### **1.4.2 Histología en situaciones especiales:**

#### **“Distinción” entre esteatohepatitis alcohólica de la no alcohólica:**

Es preciso el entrecomillado en este caso, ya que por definición las lesiones histológicas de la esteatohepatitis alcohólica y la no alcohólica son indistinguibles. La distinción entre una y otra se hacen por el cuadro clínico compatible.

Hay dos características que son indicativas aunque no diagnósticas: En la EHNA los cuerpos de Mallory son menos frecuentes que en la forma alcohólica y la degeneración glucogénica de los núcleos por depleción de glucógeno es más frecuente en la EHNA. Otro dato histológico indicativo es la colestasis, que es más intensa en la forma alcohólica que en la EHNA.

#### **EHNA en la edad pediátrica:**

La esteatohepatitis existe en la etapa adolescente y también en la edad infantil a partir de los 7 a 8 años. En este grupo de edad la progresión de las lesiones histológicas es mucho más lenta que en la edad adulta. Ocasionalmente se han descrito casos de pacientes en edad pediátrica que en plazo de 2 años progresan a cirrosis <sup>45</sup>.

Desde el punto de vista histológico la EHNA en la etapa infantil presenta unas características especiales: Son menos frecuentes los infiltrados inflamatorios y la fibrosis perisinusoidal, y en cambio son más frecuentes los infiltrados periportales y la fibrosis periportal.

## **1.5. EPIDEMIOLOGÍA**

La **prevalencia** del EGHNA y de la EHNA oscila entre un 10 y un 30%. Dicha variación puede estar muy influida por los métodos diagnósticos utilizados y por la población sobre la que se realiza el estudio. Un ejemplo es el estudio de prevalencia en obesos, con una proporción del 65-96% según series <sup>46</sup>. En pacientes diabéticos la prevalencia también es muy alta de hasta el 75% <sup>47</sup>.

Puede apreciarse una tendencia al alza de la prevalencia de modo que en los estudios más recientes la prevalencia es superior a la encontrada en estudios realizados en los 10 años anteriores.

Los resultados de prevalencia varían de unas zonas a otras aunque es difícil comparar resultados dado que se han utilizado métodos diagnósticos diferentes. En la tabla 1.10 se resumen los métodos utilizados por distintos estudios, así como los resultados de prevalencia obtenidos tanto para hígado graso no alcohólico como para la EHNA. La mayoría de los estudios no tienen datos histológicos disponibles.

<b>Estudio</b>	<b>Año</b>	<b>N</b>	<b>Población de procedencia</b>	<b>Ecografía</b>	<b>GOT, GPT y GGT (excluidos virus y alcohol)</b>	<b>Biopsia</b>	<b>Prevalencia estimada</b>
<b>Papathodoritis</b> <sup>48</sup>	2007	3063	Donantes de sangre (3 meses)	No	Sí	No	15% (EHNA)
<b>Wanless y Lentz</b> <sup>49</sup>	1990	351	Autopsias hospitalarias	No	No	Sí	18.5% (EHNA obesos) 2.8% (EHNA delgados)
<b>Dyonisos Study</b> <sup>50</sup>	1993 Publ. 2001	6917	Población general	Sí (pacientes enfermos)	Sí	No	Esteatosis 58% de ptes con transaminasas GOT o GPT 13.1%
<b>NHANES III</b> <sup>51</sup>		15676	Población general	No	Sí	No	Transaminasas 7.9%
<b>Browning</b> <sup>52</sup>		2287	Población general	RMN	Sí (no descartados virus, sí alcohol)	No	Esteatosis 37%
<b>Parés</b> <sup>53</sup>	2000	1801	Trabajadores fábrica (varones)	Sí	Sí (no descartado alcohol)	No	Esteatosis 13.8%
<b>Nomura</b> <sup>54</sup>	1986	4613	Trabajadores fábrica (varones)	Sí (TAC obesos)	Sí (no descartados virus, sí alcohol)	No	Transaminasas no obesos-no bebedores 24% Esteatosis obesos no bebedores 47%
<b>Hilden</b> <sup>55</sup>	1977	503	Víctimas mortales accid.tráfico	No	No	Sí	Esteatosis 24% (no se valora alcohol ni virus)
<b>Ground</b> <sup>56</sup>	2005	423	Víctimas mortales accid. Aéreos	No	No	Sí	EGHNA 15.6% EHNA 2.5%
<b>Szczepaniak</b> <sup>57</sup>		2349	Pob. Dallas Heart Study (18-65a)	Sí (RMN con espectroscopia)	No (valora alcohol)	No	Esteatosis 33.4% (no bebedores)
<b>Pendino GM</b> <sup>58</sup>	2005	1605	Población general	Sí (pacientes enfermos)	Sí	No	EGHNA 24% de los pacientes con aumento de LT. 3% de la población general
<b>Beymer</b> <sup>59</sup>	2003	48	Cx de by pass gástrico (obesidad mórbida)	No	No	Sí	EGHNA 85% EHNA 33%
<b>Del Gaudio</b> <sup>60</sup>	2002	216	Cx gastroplastia vertical	No	Sí (no alcohol ni virus)	Sí	EGHNA 77.8% EHNA 6%
<b>Dixon</b> <sup>61</sup>	2001	105	Cx banding gástrico	No	Sí	Sí	EGHNA 71% EHNA 25%
<b>El-Hassan</b> <sup>62</sup>	1992	1243	Pacientes clínica	Sí (TAC)	No	No	EGHNA 9.7%
<b>Hultcrantz</b> <sup>63</sup>	1986	149	Pacientes hipertransaminasemia	Sí	Sí	No	EGHNA 36.7%
<b>Lonardo</b> <sup>64</sup>	1997	363	Población general	Sí	No	No	EGHNA 19.8%
<b>Nomura</b> <sup>65</sup>	1992	561	Pacientes de hospital biopsia	No	Sí	Sí	EHNA 1%
<b>Bernal-Reyes</b> <sup>66</sup>	2000	92	Voluntarios sanos	No	No	Sí	EHNA 10.3% DM (18.5%) No DM (7.1%)
<b>Omagari</b> <sup>67</sup>	2002	3432	Ptes hospital (retrospectivo)	Sí	Sí (no virus)	No	EGHNA 9.3%
<b>Shalhub</b> <sup>68</sup>	2004	154	Cx bariátrica (bypass)	No	Sí (no virus)	Sí	EGHNA 79% EHNA 35%
<b>García Monzón</b> <sup>69</sup>	2000	46	Cx bariátrica (gastroplastia)	No	Sí	Sí	EHNA 69.5%
<b>Nomura</b> <sup>70</sup>	1988	2574	Población general	Sí	No	No	EGHNA 14%
<b>Daniel S</b> <sup>71</sup>		81	Hipertransaminasemia (consultas)	No	Sí	Sí	EGHNA 48% (no alcohol) EHNA % (no alcohol)
<b>Dai HF</b> <sup>72</sup>	2008	653	Población general	Sí	No	No	Esteatosis por alcohol o no 40%
<b>Jimba S</b> <sup>73</sup>	2005	1955	Exámenes de salud	Sí	Sí (no insulina basal)	No	EGHNA 29%
<b>Park SH</b> <sup>74</sup>	2006	6648	Screening de salud	Sí	No (sí virus, lípidos, HC)	No	EGHNA 18.7%
<b>Zelber-Sagi</b> <sup>75</sup>	2006	352	Población general	Sí	Sí	No	EGHNA 30%
<b>Chen CH</b> <sup>76</sup>	2007	3260	Población general	Sí	Sí (no insulina basal, sólo GPT)	No	EGHNA 21.2%
<b>Caballería L</b> <sup>77</sup>	2010	766	Población general (no bebedores)	Sí	Sí	No	EGHNA 25.8% (crit. ecográfico)
<b>Williams CD</b> <sup>78</sup>	2011	400	Militares en activo y retirados	Sí	No	Sí	EGHNA 46%

Tabla 1.10. Estudios de prevalencia en EGHNA atendiendo a los medios diagnósticos utilizados y población diana selección

La frecuencia de la enfermedad es alta, siendo la primera causa de consulta por hipertransaminasemia <sup>79</sup>, la primera causa de hipertransaminasemia en países desarrollados y la primera causa de cirrosis criptogenética <sup>46</sup>.

Aunque puede aparecer a cualquier edad, la edad típica de presentación o al menos de diagnóstico está entre 40 y 60 años<sup>80</sup>. Como ya se ha indicado puede aparecer en niños a partir de 10 años, principalmente en los obesos.

Tras los primeros estudios se publicó que la enfermedad era más frecuente en mujeres, apuntando que la mayor prevalencia estaría relacionada con mayor frecuencia de obesidad o por factores hormonales <sup>42</sup>. Sin embargo, estudios posteriores no demuestran aumento de EGHNA en mujeres e incluso parece indicar que afecta por igual a ambos sexos o que existiría un discreto predominio de varones.<sup>81</sup>. Por tanto no se puede decir que haya un predominio de un sexo sobre otro.

La prevalencia del hígado graso no alcohólico varía en las distintas **etnias**. Es más prevalente en los hispánicos americanos que en la raza caucásica y que en los afroamericanos <sup>47,51,52,82</sup>. Estas diferencias podrían deberse a factores genéticos que determinan cambios en la termorregulación (cantidad de grasa parda) o bien en la distribución de la grasa corporal. Aunque no se ha estudiado en profundidad la diferente prevalencia podría deberse a los patrones de conducta alimentaria en cada etnia.

No está claro si la prevalencia es mayor en caucásicos que en afroamericanos y hay datos contradictorios. En unos estudios <sup>83</sup> se afirma que la prevalencia es menor en afroamericanos, y en otros que es mayor en afroamericanos que en caucásicos, como en el NHANES III <sup>51</sup>. En un estudio realizado con RMN<sup>52</sup>, la prevalencia de esteatosis fue del 37% en población general pero difiere en las distintas etnias. Fue del 45% en hispánicos, 33% en caucásicos y 24% en afroamericanos.

## **1.6. MANIFESTACIONES CLÍNICAS**

La mayoría de los pacientes con hígado graso no alcohólico no presentan ningún síntoma en el momento del diagnóstico y la enfermedad habitualmente se reconoce por detectarse aumento de las transaminasas en estudios analíticos de rutina.

Aquellos pacientes que presentan síntomas son los que han desarrollado una enfermedad avanzada y dichos síntomas son los clásicos de los pacientes en cirrosis hepática. Es decir, no hay ningún síntoma específico de esta entidad.

Al igual que en la sintomatología los hallazgos en la exploración física son indistinguibles de los que presentan los pacientes cirróticos de otra etiología. Únicamente y en una minoría de pacientes con enfermedad no avanzada puede detectarse hepatomegalia

## **1.7. DIAGNÓSTICO**

El diagnóstico definitivo del hígado graso no alcohólico sigue siendo histológico a través de biopsia hepática. Se define como la presencia de una acumulación de grasa de un 5-10% del peso del hígado. A efectos prácticos esto se estima a través del porcentaje de hepatocitos con vacuolas grasas que se aprecian en la microscopía óptica.

### **ENTREVISTA CLÍNICA:**

La entrevista clínica debe excluir el consumo de alcohol en cantidades tóxicas para el hígado. Lo ideal es hacer una entrevista al paciente y a otro conviviente para poder contrastar los datos por separado. También resulta útil reinterrogar al paciente.

El **umbral de alcohol que se considera tóxico** varía de unos estudios a otros y hay varias cifras que se barajan. El estudio Dionysos<sup>50</sup> demuestra que los pacientes que beben menos de 30 gramos de alcohol diarios (sin diferenciar entre sexos), no desarrollan enfermedad hepática. Debido a la

importancia de este estudio, el tamaño muestral tan importante y al hecho de que pequeñas cantidades de alcohol se han demostrado hepatoprotectoras, probablemente este límite sea el más adecuado. Varios centros aceptan como límite de 20 a 40 gramos diarios en hombres y 20 gramos diarios en mujeres. Otros investigadores son más estrictos, y aceptan como no alcohólico únicamente cifras por debajo de los 10 gramos diarios. Estas últimas cifras son discutibles, ya que hay estudios que demuestran que la toma de pequeñas cantidades de alcohol diarias es un factor protector del hígado graso no alcohólico, y también de la diabetes <sup>61</sup>. Otras revisiones <sup>79</sup> aceptan como patología no alcohólica cuando el consumo es menor de 15 gramos diarios de media, y por sexos de 10 gramos diarios en la mujer y 20 gramos en hombres.

En cualquier caso las recomendaciones actuales son que los pacientes con EGHNA no consuman nada de alcohol<sup>84</sup>. Los datos que demuestran beneficios de consumir pequeñas cantidades de alcohol son estudios transversales y además no se sabe si sus resultados se pueden extrapolar al grupo de pacientes con EGHNA. Hasta que no se hagan estudios prospectivos no se puede hacer una recomendación formal al respecto.

### **ANALÍTICA:**

**Transaminasas:** La hipertransaminasemia es el hallazgo analítico más frecuente y puede elevarse tanto la GOT como la GPT. También puede elevarse la GGT. Habitualmente la GPT es superior a la GOT de modo que la **relación GOT/GPT** suele ser menor de 1 en pacientes con EGHNA. La inversión de esta proporción en un paciente diagnosticado previamente de EGHNA es sugerente de que el paciente puede haber progresado hacia cirrosis.

Las transaminasas no son ni específicas ni sensibles en el diagnóstico de la EGHNA ni tampoco definen el pronóstico. En población general no se conocen los datos exactos de sensibilidad y especificidad porque para ello se necesitaría tener biopsias de gente sana en la población general.

En un estudio en trabajadores de un banco japonés <sup>85</sup> se demuestra que la sensibilidad de la GOT, GPT y GGT para detectar cualquier hepatopatía es muy baja. La sensibilidad de las transaminasas varía entre el 15 y el 45% para detectar distintas patologías.

La determinación de transaminasas para diferenciar entre esteatosis simple y EHNA tampoco es adecuada, pues la concordancia con la biopsia es baja. Así, a modo de ejemplo, en un estudio con biopsias de 46 pacientes con obesidad mórbida, el 54% tenían las transaminasas normales a pesar de tener en la biopsia esteatohepatitis <sup>69</sup>.

Los niveles de corte para determinar patología hepática en pacientes con EGHNA son variables. Algunos autores consideran los valores estándar de 43 U/l de GOT y GPT. Otros sin embargo utilizan como valores patológicos aquellos mayores de 30 UI/l en hombres y mayores de 19 UI/l en mujeres.

**Otras alteraciones analíticas** que también pueden verse en pacientes con EGHNA son la presencia de títulos bajos de anticuerpos antinucleares (ANA) o anticuerpos antimúsculo liso, que aparecen de forma frecuente en ausencia de datos histológicos de hepatitis autoinmune (hasta el 21% según el estudio de Vuppalanchi et al<sup>86</sup>)

La elevación de la Ig A puede aparecer hasta el 25% en algunas series. Al respecto de los niveles de inmunoglobulinas, un estudio reciente demuestra relación entre dichos niveles y el grado de fibrosis<sup>87</sup>.

La alteración del metabolismo férrico también es frecuente. La elevación de la ferritina y del índice de saturación de transferrina no alcanzan nunca los valores de las enfermedades hepáticas por depósito de hierro. También es relativamente frecuente la presencia de la mutación C282T del gen de la hemocromatosis, aunque no llegan a desarrollar hemocromatosis clínica.

**Hormonas del tejido adiposo**, fundamentalmente la leptina y la adiponectina. La primera suele estar aumentada en el EGHNA, mientras que la adiponectina está más baja que en el grupo control<sup>15</sup>. La determinación de estas hormonas no se suele realizar en la práctica clínica y hoy en día está restringido a estudios clínicos.

La determinación de **citoquinas**, y en concreto la interleukina 6 y el TNF alfa también aporta información adicional sobre el grado de inflamación hepática, pero igual que la leptina y la adiponectina -no están disponibles en la práctica clínica habitual. La citoqueratina-18 es un marcador de apoptosis celular que se relaciona con la presencia de EHNA.

### **ECOGRAFÍA, TAC Y RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR:**

Aunque se han utilizado todas las técnicas radiológicas como TAC y RMN, la más utilizada por su disponibilidad, bajo coste y experiencia ha sido la ecografía. Todas estas técnicas tienen una menor sensibilidad en la determinación de esteatosis cuando la acumulación de grasa es menor del 25-30% en la histología. Igualmente, tampoco sirven para detectar el grado de fibrosis por lo que no sirven para determinar la gravedad de la enfermedad y no sustituyen a la biopsia hepática. La ecografía es discretamente más sensible que el TAC para valorar esteatosis, y el TAC es algo más específico<sup>43</sup>.

Sin embargo, a efectos prácticos no hay grandes diferencias entre estas 3 técnicas, y por precio, experiencia y disponibilidad se prefiere la ecografía. Todavía están vigentes los **criterios ecográficos de esteatosis hepática** que publica **Saverymuttu** en British Medical Journal en 1986<sup>88</sup>. Son los 3 siguientes:

- Contraste de ecogenicidad entre el hígado y el riñón: En condiciones normales el hígado y el riñón tienen una ecogenicidad semejante. En esteatosis la ecogenicidad del parénquima hepático aumenta y se hace hiperecogénico respecto al riñón.



- Borrosidad vascular: Disminución de la visualización de las ramas de la porta y de las venas hepáticas. Esta borrosidad es mayor cuanto mayor es el grado de esteatosis.
- Atenuación posterior del haz de ultrasonidos: La penetración del haz de ultrasonidos es menor cuanto más intensa sea la esteatosis. En grados leves no hay atenuación, y en grados mayores comienza a aparecer.

En función de estas 3 características, se puede clasificar la esteatosis desde el punto de vista ecográfico en **tres grados**, leve, moderado y severo.

La esteatosis es leve cuando hay un aumento de la ecogenicidad del parénquima hepático respecto al riñón, sin borrosidad vascular. Moderada cuando hay hiperecogenicidad con borrosidad de ramas periféricas de la porta, y se comienza a ver atenuación posterior del haz. Es severa cuando además hay atenuación posterior más importante que en las formas moderadas y la borrosidad de los vasos es más llamativa que afecta incluso a las ramas principales de la porta.

Utilizando estos criterios, la ecografía tiene una sensibilidad del 94% para detectar esteatosis, y una especificidad del 84%, con tasas bajas de falsos positivos, menor del 1%. El grado de esteatosis influye en la sensibilidad de la ecografía. Así la sensibilidad se acerca al 100% para detectar las formas moderadas y severas, y en cambio es menor (86%) para las formas leves.

Al contrario, el grado de obesidad del paciente puede disminuir la sensibilidad de la prueba para detectar esteatosis. Así, la sensibilidad puede disminuir al 50% para detectar esteatosis en pacientes con obesidad mórbida <sup>79</sup>si queremos detectar un porcentaje de grasa en el hígado inferior al 20%.

La **detección del grado de fibrosis por eco** es menos precisa que mediante el TAC. La ecografía no tiene una sensibilidad suficiente para detectar fibrosis (sólo del 57% en el estudio de Saverymuttu) y por tanto no es la prueba adecuada para valorar este parámetro. Sin embargo, sí

hay ciertos datos ecográficos que pueden orientar hacia fibrosis: Ausencia de atenuación posterior del haz de ecografía, aumento de la ecogenicidad de las paredes vasculares respecto al parénquima, que hace que resalte más sobre este. La cirrosis como último grado de fibrosis se detecta con facilidad en la ecografía.

### **MRS: RESONANCIA MAGNÉTICA CON ESPECTROSCOPIA:**

Combina las imágenes de la resonancia con el análisis de espectros sobre una porción de hígado de 3 x 3 cm. Va un paso más allá de la RMN convencional, y permite medir la grasa hepática por el análisis de espectros que miden la proporción de agua y grasa del hígado. Es una técnica muy reproducible, con una alta sensibilidad para detectar esteatosis, y se correlaciona bien con el grado de esteatosis en la biopsia<sup>79</sup>. Su uso se ha validado en un estudio (Dallas Heart Study) en 2200 pacientes, y demuestra una correlación muy alta con la biopsia hepática ( $r > 0.8$ ), con la ventaja sobre esta que se analiza una parte del hígado mayor a la que analiza la biopsia. Esto da una ventaja teórica sobre la biopsia para la detección de esteatosis. El problema es que es un método caro y que precisa de un software específico, que no está disponible en todos los centros.

### **ELASTOGRAFÍAHEPÁTICA (FIBROSCAN):**

Es la única técnica de imagen que permite estimar el grado de fibrosis. Se prevén resultados prometedores debido a que es una técnica sencilla y relativamente barata. La fibrosis se estima a partir de la penetración del haz de ultrasonidos en varios puntos del hígado. Esto mide la rigidez del hígado, lo que permite indirectamente medir la fibrosis. Luego se hace una media, y de esta media se establece un score que estima el grado de fibrosis.

El uso del fibroscan está validado para el hígado graso no alcohólico<sup>89</sup>. Se pueden evaluar dos parámetros en el Fibroscan: La rigidez, que estima el grado de fibrosis, y el CAP (Controlled Attenuation Parameter) que estima el grado de esteatosis<sup>90</sup>.

## **BIOPSIA HEPÁTICA:**

Continúa siendo el Gold Standard para el diagnóstico del hígado graso no alcohólico, pero no deja de tener varios inconvenientes ya que es una prueba invasiva, dolorosa, cara y además depende de donde se tome la muestra para que sea diagnóstica o no. Además su interpretación es dependiente del observador, en este caso del patólogo.

Debido a esto, y a que la prevalencia del hígado graso no alcohólico alcanza proporciones epidémicas, no se puede ni se debe realizar en todos los pacientes. Por otra parte las formas más leves (esteatosis simple) tienen un buen pronóstico a largo plazo y las biopsias se deben limitar a los pacientes con sospecha de EHNA, en los que la progresión de la fibrosis es más probable.

Los criterios elegidos para la realización de la biopsia no son universales, pero se pueden establecer algunas pautas generales:

Presencia de obesidad o Diabetes, elevación de la GPT al doble de lo normal, hipertrigliceridemia, hipertensión y un ratio GOT/GPT mayor de 1<sup>35</sup>. Está justificada su realización en estos pacientes por la información pronóstica que nos aporta.

También se debe hacer biopsia en un paciente con sospecha de EHNA, cuando el diagnóstico diferencial con otras causas de hipertransaminasemia no queda claro (ej. presencia de autoanticuerpos a títulos bajos).

## **OTRAS PRUEBAS COMPLEMENTARIAS:**

**Grosor íntima media:** Se ha demostrado<sup>91,92</sup> que el grosor de la íntima media de la carótida es mayor en los pacientes con hígado graso no alcohólico que en los que no lo tienen, ajustando los datos por edad y sexo.

**Marcadores analíticos de apoptosis:** La apoptosis es un fenómeno importante en el EHNA. Los fragmentos de la citoqueratina-18 generados por la caspasa 3 (CK-18) se liberan al

plasma cuando se produce la apoptosis. Es un factor predictor de EHNA y se correlaciona con la severidad de la enfermedad <sup>93</sup>. Los niveles de Citokeratina-18 (CK-18) se han estudiado a gran escala en pacientes con EGHNA confirmando su asociación con la gravedad de la enfermedad <sup>94</sup>. Sus niveles son superiores en pacientes con EGHNA que en pacientes sanos<sup>95</sup>. Un estudio en pacientes con cirugía bariátrica <sup>96</sup> demuestra que los niveles del fragmento de citokeratina-18 disminuyen tras 6 meses de realizada la cirugía bariátrica, y esto ocurre en relación con la mejoría del EHNA tras la cirugía.

A pesar de estos datos positivos, estudios recientes demuestran que a la hora de utilizarlos como herramienta diagnóstica la especificidad es alta para el diagnóstico de EGHNA y de fibrosis pero su sensibilidad es baja, por lo que no es adecuado su uso como técnica de screening<sup>97</sup>. Podría formar parte de paneles diagnósticos más completos que afinen más en el diagnóstico.

**Marcadores analíticos de fibrosis:** El más importante de ellos es el ácido hialurónico y también la disminución del recuento de plaquetas. Las plaquetas disminuyen en etapas de cirrosis por hiperesplenismo, y por tanto son un marcador muy tardío, ya en fase IV. El ácido hialurónico es un componente de la matriz extracelular, y aparece de forma algo más precoz, en estadios III y IV.

#### **DIAGNÓSTICO DEFINITIVO Y DE EXCLUSIÓN:**

**El diagnóstico definitivo** de EGHNA sólo puede hacerse por biopsia hepática. Se considera el diagnóstico de EGHNA como un **diagnóstico de exclusión** en los casos en los que no esté indicada la biopsia en un paciente que tiene esteatosis hepática en ecografía o bien elevación de transaminasas, descartadas las causas principales de hipertransaminasemia y esteatosis.

Antes de decir que un paciente tiene hígado graso no alcohólico por exclusión se debe hacer un estudio que incluya: Anamnesis detallada si es posible al paciente y a otro conviviente por separado para descartar consumo de alcohol y fármacos. Determinación de virus de hepatitis

viral A, B y C. Serología VIH. Ceruloplasmina y cobre en sangre y orina para descartar enfermedad de Wilson. Determinación de alfa 1 antitripsina para descartar su déficit. Transferrina, ferritina e índice de saturación de transferrina para descartar hemocromatosis, y si se sospecha, estudio genético. Hormonas tiroideas. Autoanticuerpos hepáticos que incluyan ANA, anti músculo liso, LKM, LC-1, SLA, SLP y AMA.

### **MODELOS CLÍNICOS DE PREDICCIÓN:**

Consisten en un conjunto de variables clínicas que valoradas de forma conjunta finalmente se traducen en una puntuación o score. Esta puntuación a su vez predice la probabilidad de que un paciente concreto presente EGHNA o la probabilidad de que en la biopsia hepática haya fibrosis y en qué grado. Son una herramienta que puede ser útil en determinados paciente, pero no sustituye a las técnicas diagnósticas habituales. Los más utilizados son:

**Campos y colaboradores**<sup>98(7)</sup>: Es un score basado en los siguientes parámetros: HTA, DM tipo 2, Apnea del sueño, aumento de transaminasas y la raza distinta a la negra. Todos estos factores son predictores de EHNA en la biopsia. Se aplica para calcular el riesgo de EHNA en pacientes con obesidad mórbida.

**Younossi**<sup>99</sup>: Diseñado para pacientes con obesidad mórbida, predice EHNA en la biopsia a partir de datos clínicos. Los parámetros que se valoran los la citokeratina-18, la adiponectina y la resistina.

**HAIR score (Dixon)**<sup>61</sup>: Es un acrónimo que tiene tres parámetros que sirven para pronosticar fibrosis. Los tres parámetros son **H**ipertensión, **A**lt elevadas (GPT) e **I**nsulin **R**esistance (resistencia a la insulina) medida en forma de HOMA-IR mayor de 5. Realizado en pacientes con obesidad grave, predice en el hígado graso la progresión a EHNA.

**NAFLD fibrosis score**<sup>100</sup>: Mide la probabilidad de tener fibrosis en la biopsia en los pacientes con EGHNA. Como parámetros incluye edad, hipertrigliceridemia, IMC, recuento de plaquetas, albúmina, relación GOT/GPT.

**BARD score**<sup>101</sup>: El acrónimo de **B**MI (IMC), **A**ST/**A**LT **R**atio (relación GOT/GPT) y de **D**iabetes. Los tres parámetros juntos ayudan a predecir el grado de fibrosis en la biopsia en el EHNA. Aporta sencillez en su realización sobre el NAFLD fibrosis score.

**Fibro Meter NAFLD**<sup>102</sup>: Utilizada para estimar en grado de fibrosis en la biopsia de los pacientes con EGHNA. Incluye los siguientes parámetros: Glucosa, AST, Ferritina, recuento plaquetario, ALT, peso y edad.

**BAAT score**<sup>103</sup>: Incluye cuatro ítems que son IMC mayor de 28, edad mayor de 50, triglicéridos mayor de 150 mg/dl, y GPT mayor del doble de lo normal. Sirve para aplicarlo a pacientes con EGHNA diagnosticado para ver la probabilidad de desarrollar EHNA. Se considera predictor de EHNA si tiene 2 o más de los estos ítems.

## **1.8. EVOLUCIÓN Y PRONÓSTICO:**

Al hígado graso no alcohólico inicialmente se le atribuyó un pronóstico muy bueno. Actualmente se sabe que en algunos casos la evolución puede ser desfavorable con evolución a cirrosis. El hígado graso no alcohólico es la principal causa de cirrosis criptogenética.

### **FACTORES PREDICTORES DE FIBROSIS Y CIRROSIS**

Hay pocos estudios observacionales prospectivos que estudien la evolución natural de la enfermedad <sup>103</sup>. Los **factores predictores de fibrosis y cirrosis** más importantes son: Diabetes Mellitus<sup>104</sup>, Edad, Estadio inicial de fibrosis bajo (I o II), Esteatosis importante en ecografía, Grado de inflamación en la histología, Hierro, Mayor índice de masa corporal, HTA, TAG, cociente

GOT/GPT menor de 0.8 y la elevación de GPT. El mayor predictor de cirrosis es la edad superior a 45 o 50 años, probablemente en relación con un mayor tiempo de exposición al stress oxidativo que aparece en la enfermedad<sup>105</sup>.

Los **factores predictores de histología avanzada en el momento del diagnóstico** son: Edad superior a 50 años, diabetes, dislipemia (especialmente hipertrigliceridemia) y obesidad grave.

Comparado con la cirrosis asociada a infección por hepatitis C, los pacientes con EGHNA que desarrollan cirrosis tienen una menor tasa de complicaciones hepáticas y menor progresión a hepatocarcinoma, aunque la mortalidad es similar en los dos grupos<sup>106</sup>.

### **FACTORES QUE DETERMINAN PROGRESIÓN A CIRROSIS**

**La progresión a cirrosis** de la enfermedad depende del estudio que evaluemos. Si tomamos de referencia el estudio de Matteoni<sup>41</sup>, la progresión es del 20%. Si vemos en cambio el de Adams<sup>122</sup> tan sólo es del 5%. Las diferencias encontradas se deben a que el primero se hace a partir de pacientes supuestamente enfermos en los que se decide hacer biopsia hepática (pacientes más graves), y el segundo es un estudio retrospectivo en población general. Todos los estudios coinciden en que la progresión a cirrosis es mayor en el grupo de mujeres diabéticas.

El pronóstico de los pacientes con cirrosis por EGHNA se ha evaluado en estudios y es superponible a la cirrosis asociada a virus de la hepatitis C<sup>107</sup>. La cirrosis grasa supone en Estados Unidos la segunda causa de trasplante hepático.

Al realizar una comparación de biopsias repetidas en pacientes con EHNA (Fassio et al.<sup>108</sup>), se aprecia una **progresión en el grado de fibrosis** en el 31% de los pacientes. Los factores que más se asociaron a la progresión fueron el peso y el IMC en el momento de la primera biopsia. Un estudio muy similar de Harrison et al.<sup>109</sup> dio resultados prácticamente superponibles al repetir las biopsias en otros 22 pacientes. En general, a partir de los datos de estos dos estudios, la progresión

de la fibrosis en la esteatohepatitis no alcohólica es similar a la de la hepatitis C (0.12 unidades/año).

El estudio de Hui et al <sup>110</sup> también demuestra progresión de la fibrosis en el único estudio de biopsias repetidas realizadas en un periodo medio de 6 años. El 53% de los pacientes (9 de 17) presentan aumento de la fibrosis aun cuando se producía una disminución media de la esteatosis y la inflamación.

Finalmente, el estudio que mejor demuestra la progresión de la fibrosis en los pacientes con EHNA así como sus implicaciones pronósticas, es el de Rafiq et al. <sup>111</sup>. Compara la mortalidad de los pacientes con esteatosis simple frente a los pacientes con EHNA y aprecia una tendencia a un aumento de mortalidad en el grupo de EHNA, pero sin que llegue a haber diferencias significativas entre ambos grupos <sup>112,113</sup>.

Hay varios estudios con evidencias epidemiológicas firmes de que hasta el 80% de los casos de cirrosis criptogénica se deben a hígado graso no alcohólico <sup>114,115,116,117</sup>.

### 1.8 EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD

**La progresión de unas formas a otras** dentro del hígado graso no alcohólico también varía según el estudio en el que nos fijemos. Las cifras exactas de progresión, según estudios <sup>46</sup> es la que refleja este gráfico:



Otros estudios afirman que la progresión de esteatosis simple a EHNA o fibrosis no es tan frecuente <sup>118,119,120,121</sup>. Todos ellos sin embargo son retrospectivos con escaso número de pacientes,



por lo que la fiabilidad de los datos no es muy alta. La prevalencia de cirrosis fue del 1% (estudio Dionysos)<sup>50</sup>.

### **MORTALIDAD Y PRONÓSTICO:**

La mortalidad asociada al hígado graso no alcohólico también se evaluó en varios estudios. En el estudio de Adams et al.<sup>122</sup> comparando la mortalidad de estos pacientes con la de un grupo equiparable en cuanto a sus características basales, se llega a la conclusión de que la tasa de mortalidad estandarizada es del 1.34 (IC 1.003-1.76) y que el exceso de mortalidad es por enfermedad hepática como factor fundamental y en menor medida por diabetes y obesidad. A los 10 años de seguimiento la supervivencia disminuyó en el grupo de EGHNA del 87 al 77%.

En la misma línea del estudio de Adams, el estudio de Ekstedt<sup>113</sup> demuestra aumento de la mortalidad respecto a controles de la misma edad y sexo en pacientes con EGHNA. En este grupo hay aumento de la mortalidad cardiovascular, pero también de la mortalidad hepática.

Estudios realizados a partir de la cohorte de NHANES III demuestran que los distintos componentes del síndrome metabólico (concretamente DM tipo 2, resistencia insulínica y obesidad) se asocian a un aumento de mortalidad en pacientes con enfermedad hepática crónica en general, y con EGHNA en particular<sup>123</sup>.

Dentro del espectro de la enfermedad, la **esteatosis simple** tiene un pronóstico mucho mejor y varios estudios<sup>112,113,118,124</sup> afirman que los pacientes con esteatosis simple dentro del hígado graso no alcohólico no tienen una disminución en su expectativa de vida respecto al grupo control de características similares. Otros apuntan a que la mortalidad es algo superior que en la población general<sup>46</sup>, pero que ronda el 2% a los 10 años (pronóstico relativamente benigno).

La aparición de EGHNA **en la edad pediátrica** se asocia a un peor pronóstico. En una serie de 66 pacientes con hígado graso no alcohólico de la clínica Mayo (Feldstein et al<sup>125</sup>) la mortalidad comparada con la de la población general de sus mismas características fue 13 veces superior.

Tabla 1.11. Historia natural del EGHNA. Progresión a cirrosis y mortalidad

Estudio / Serie de casos (años de seguimiento)	% que desarrolla cirrosis	Mortalidad hepática /por todas las causas.	N
Matteoni C. et al <sup>41</sup>	20% EHNA biopsia	9% / 30%	132
Adams et al. <sup>122</sup> (7.6)	5% (EHNA)	1.7% / --	420
Dam Larsen et al. <sup>124</sup> (20.7)	1 % (Esteatosis simple)	-- / --	109
Ekstedt et al <sup>113</sup> (13.7)	5.4% (EGHNA)	2.8% / 30%	129
Soderberg <sup>126</sup> (21)	9.8% (EHNA)	5.9% / 47.1%	51

El pronóstico es mejor que el de la hepatitis alcohólica. Mientras que en la hepatitis alcohólica la progresión a cirrosis es del 38-50% a los 7 años <sup>80</sup>, en la esteatohepatitis no alcohólica, la progresión a cirrosis varía del 8 al 26% dependiendo de las series consultadas.

La progresión de la fibrosis es el factor más importante que determina la mortalidad en los pacientes con EGHNA <sup>127, 128</sup>.

Dentro del EGHNA, la progresión a cirrosis es menor en los pacientes con esteatosis simple <sup>112,129</sup> (de un 0.7% a los 15 años) que en los pacientes con EHNA (10.8% a los 15 años). En esta misma línea una reciente revisión sistemática demuestra mayor progresión de la fibrosis en pacientes con EHNA que en los pacientes con esteatosis simple <sup>130</sup> (0.07 estadios anuales frente a 0.14 en el grupo de EHNA).

La supervivencia a los 5 y 10 años también es superior para el EHNA que para la hepatitis alcohólica (67% vs 38% a los 5 años, y 59% vs 15% a los 10 años). La muerte en los pacientes con EHNA se produce con mayor frecuencia por comorbilidades asociadas que por la propia

hepatopatía. Hay un estudio realizado en Japón que por el contrario demuestra que los pacientes con DM tipo 2 tienen una mortalidad secundaria a cirrosis superior a la de enfermedad cardiaca, lo que apoya que la EHNA puede jugar un papel importante en la comorbilidades y mortalidad en los pacientes diabéticos.

## **1.9. TRATAMIENTO**

Para el tratamiento del hígado graso no alcohólico se han propuesto distintas medidas. La mayor parte de los tratamientos se basan en el tratamiento de la obesidad y en intentar disminuir la resistencia insulínica que es el principal factor patogénico.

### **1.9.1. PÉRDIDA DE PESO:**

La pérdida de peso gradual es el pilar fundamental del tratamiento del hígado graso no alcohólico. Además la mayor parte de autores afirman que esta pérdida de peso debe ser paulatina ya que la pérdida de peso brusca se asocia a una sobrecarga hepática de ácidos grasos libres procedentes del tejido adiposo con la consiguiente liberación de radicales libres y aparición de fenómenos de inflamación y fibrosis.

El límite de peso que se recomienda perder por unidad de tiempo es de 1.6 Kg semanales. Esto se basa en los resultados del estudio de Andersen et al.<sup>131</sup> en pacientes con obesidad mórbida.

El objetivo de peso que hay que conseguir en la mayor parte de los pacientes con obesidad importante es imposible de alcanzar según su peso ideal obtenido a partir del índice de masa corporal. En estos casos se debe optar por intentar que el paciente pierda el 20% del exceso de peso sobre el ideal si el paciente se encuentra entre el 30 y el 95% de exceso de peso sobre su peso ideal<sup>132</sup>. Si el paciente está más del 100% por encima de su peso ideal, la recomendación es que pierda el 50% de su exceso de peso (respecto al peso ideal).

Un estudio de 2009 demuestra que los pacientes obesos con EGHNA que consiguen una pérdida de peso del 5% presentan una mejoría de varios parámetros del hígado graso<sup>133</sup>.

La dieta debe ser restrictiva, baja en grasas. El éxito de una dieta bien programada radica en convencer al paciente de que se trata de una forma de vida, y no es una dieta para un momento puntual de la vida.

Hay varios estudios que demuestran que la pérdida de peso se asocia a disminución de las transaminasas en el EHNA, así como mejoría en las lesiones histológicas<sup>134,135,136,137</sup>. Una reducción moderada del peso también disminuye el grado de esteatosis<sup>138</sup>. Esto se ha confirmado en estudios posteriores al medir la esteatosis mediante TAC<sup>133</sup>.

En cuanto a la **composición de la dieta**, hay estudios que afirman que las dietas bajas en hidratos de carbono disminuyen las transaminasas y el grado de esteatosis en pacientes con EGHNA<sup>139,140,141</sup>. Estos resultados contrastan con el estudio publicado en *New England Journal of Medicine* en que se determina que distintas dietas con diferentes proporciones de carbohidratos, grasas y proteínas no modifican el peso de forma diferente siempre que se consuman el mismo número de calorías<sup>142</sup>.

Las **modificaciones de los hábitos de alimentación** tienen como objetivo principal identificar los factores desencadenantes de los hábitos de comida compulsiva, así como identificar los momentos de mayor riesgo de que se produzcan estos hábitos compulsivos (craving)<sup>132</sup>. De forma aislada son poco eficaces.

### **1.9.2. EJERCICIO:**

**El ejercicio** se asocia con una reducción modesta del peso, que de media puede ser de 1 a 2 Kg. A pesar de estos resultados modestos, el ejercicio sigue siendo un factor clave que se asocia con una disminución del riesgo cardiovascular, disminución de la resistencia a la insulina y

aumento de la recaptación de glucosa. Otro aspecto fundamental del ejercicio es que es el mayor predictor del mantenimiento de la pérdida de peso a largo plazo, y de ahí su importancia. Sólo hay un estudio de biopsias seriadas en pacientes con EHNA antes y después de un programa de ejercicio y dieta baja en calorías de 3 meses de duración<sup>134</sup>. En este estudio se aprecia una mejoría de la esteatosis, pero no de la inflamación ni la fibrosis.

Otro factor que se debe tener en cuenta a la hora de realizar intervenciones en el estilo de vida es el **número de visitas al médico** con este objetivo. Está demostrado que el número de visitas médicas se relaciona con la intensidad de la pérdida de peso<sup>142,143</sup>. Esta pérdida de peso produce una disminución de las transaminasas proporcional a esta bajada de peso<sup>133,143</sup>.

Un estudio reciente de intervención sobre estilo de vida que incluía ejercicio y dieta adecuada, consiguen la regresión completa de la esteatosis en el 97% de participantes que habían conseguido perder el 10% de su peso corporal en un año<sup>144</sup>, lo que demuestra la eficacia de estas medidas combinadas como pilar del tratamiento del EGHNA.

También desde el punto de vista histológico un segundo estudio<sup>145</sup> demuestra que el tratamiento dietético junto con un programa de ejercicios es capaz de disminuir datos histológicos de inflamación y fibrosis en pacientes con EHNA medidos a través del NAS score.

### **1.9.3 TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO Y QUIRÚRGICO DE LOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS:**

El principal factor de riesgo asociado al EGHNA es la obesidad, y la mayor parte de las medidas van dirigidas al control de la obesidad. Antes se ha definido el tratamiento higiénico dietético y ahora se define el farmacológico y quirúrgico.

En los últimos años aparecieron varios fármacos que se utilizaban para perder peso, aunque la mayoría de ellos se han rechazado por un mal perfil de efectos adversos. En la actualidad sólo queda el orlistat, cuya acción es inhibir la absorción intestinal de grasas por inhibición de la lipasa pancreática. Se utiliza a dosis de 120 mg, 3 veces diarias una hora antes de las comidas. Con él se consigue una pérdida de peso de unos 3-4 Kg más que el placebo <sup>146</sup>.

En un estudio de Harrison y colaboradores <sup>146</sup> se demuestra que el tratamiento con Orlistat producía pérdida de peso unido además a una disminución de las transaminasas. Otro estudio piloto en 10 pacientes con orlistat demuestra que los pacientes que pierden un 10% de su peso mejoran el grado de fibrosis en la biopsia <sup>147</sup>. En un estudio más amplio (un ensayo clínico randomizado y controlado a doble ciego) se observó que la eficacia de añadir orlistat a una dieta hipocalórica era mínima <sup>148</sup>. Tampoco se puede por tanto recomendar sistemáticamente.

Entre los fármacos que se han utilizado están la sibutramina que se retiró por inducir depresión con algunos casos de suicidio o los fármacos anorexígenos como derivados de anfetamina o la efedrina (aumento del riesgo de infarto y angina). Otros fármacos utilizados de interés más bien histórico fueron la fentermina, los ISRS, fenfluramina, dexfenfluramina o los IMAO.

El tratamiento farmacológico se debe mantener durante periodos prolongados y probablemente de por vida. Las pérdidas de peso son modestas del 3-8% y se alcanza el plateau a los 6 meses aproximadamente. Tras el primer año, muchos pacientes pueden ganar parte del peso que perdieron inicialmente.

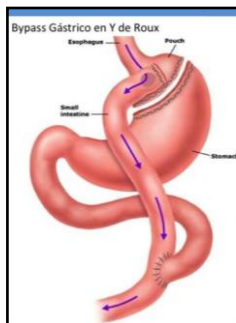
#### **TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DE LA OBESIDAD:**

Indicado en pacientes con IMC superior a 40 o mayor de 35 si se asocian enfermedades cardiovasculares asociadas a la obesidad. Los dos tipos de técnicas utilizadas han sido el by pass

intestinal las de restricción gástrica. El by-pass intestinal se ha desechado por ser muy agresivo y producir efectos secundarios graves (en ocasiones mortales).

El by pass yeyunoileal hoy en día está contraindicado por graves efectos de malabsorción, fallo hepático, enteritis del by pass, hipocalcemia, pérdida excesiva de peso, colelitiasis o cirrosis, entre otras. Aunque hay otras técnicas de by pass intestinal, como la de Scopinaro en 1979, apenas se utilizan en la actualidad.

La mayoría de las cirugías que se realizan son las restrictivas que limitan el llenado gástrico. Estas son fundamentalmente tres: Gastroplastia (horizontal o vertical), el banding gástrico y el by pass gástrico. La mayoría de ellas utilizan esta última técnica que en la actualidad se hace por vía laparoscópica cuando es posible. Consiste en realizar una gastroyeyunostomía en Y de Roux dejando un asa bastante larga. En lugar de hacer una gastrectomía se divide el estómago en una parte grande que incluye fundus y antro, que se continúa con el duodeno, y otro pequeño reservorio que por un lado se conecta al esófago y por el otro al asa de la Y de Roux. De este modo el pequeño reservorio actúa como estómago, produciendo saciedad precoz.



(Imagen obtenida de [www.clinicasobesitas.com](http://www.clinicasobesitas.com))

Los resultados a largo plazo son buenos, y las complicaciones bastante aceptables. Una de las complicaciones relativamente frecuentes es la colelitiasis, que en el 10% requiere colecistectomía. El tratamiento profiláctico con ácido ursodesoxicólico disminuye la incidencia de colelitiasis a un 2% en estos pacientes.

#### **1.9.4. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DEL EGHNA:**

Aparte de los fármacos utilizados para perder peso se han realizado varios estudios que ensayan distintos fármacos para los pacientes con EGHNA con éxito generalmente escaso. Entre ellos destacan:

##### **Tiazolidindionas:**

Su uso se basa en su mecanismo de acción. Las tiazolidindionas actúan como ligandos de los receptores PPAR-gamma. Esto a nivel del tejido adiposo produce una disminución de la síntesis de ácidos grasos.

La pioglitazona se ha estudiado en pacientes con EGHNA. Primeramente se realizaron dos estudios piloto en 18 y 20 pacientes<sup>149,150</sup>. En ambos mejoraba la esteatosis y la inflamación pero no la fibrosis. Un estudio más grande realizado con pioglitazona es el de Belfort y colaboradores<sup>151</sup>. Es un ensayo randomizado y controlado a doble ciego que demuestra disminución de las transaminasas frente a placebo, disminución de la esteatosis medida por RMN y disminución de la necroinflamación en biopsias en un 85% en el grupo de pioglitazona comparado con placebo. En cuanto a la fibrosis hubo una disminución significativa respecto a antes del tratamiento y una mejoría aunque no significativa respecto al grupo placebo.

El estudio PIVENS es un ensayo clínico aleatorizado, controlado con placebo y a doble ciego en 247 pacientes. En él se establecen tres grupos, uno con placebo y otros dos con vitamina E y otro con pioglitazona. Se hace sólo en pacientes con EGHNA pero sin diabetes. Como resultado, la vitamina E producía una mejoría significativa respecto a placebo de la histología, mientras que la pioglitazona no alcanzaba resultados significativos. La fibrosis no mejoró en ninguno de los grupos de tratamiento. Sin embargo histológicamente el NAFLD activity score y el porcentaje de



resolución del EGHNA sí que mejoraban de forma significativa más en el grupo de vitamina E y de pioglitazona respecto a placebo. Como conclusión el estudio, la vitamina E mejoraba la mayor parte de los parámetros histológicos de la EHNA frente a placebo en pacientes con EHNA no diabéticos. La pioglitazona se debe recomendar de forma individualizada y los resultados de este estudio sólo se pueden aplicar a pacientes no diabéticos.

Un estudio realizado con rosiglitazona (FLIRT), con una posterior extensión de dos años (FLIRT 2)<sup>152</sup>, demuestra con biopsias hepáticas que el tratamiento con rosiglitazona disminuye el grado de esteatosis, de resistencia insulínica medida por el HOMA, pero que sin embargo no disminuye la actividad de la enfermedad desde el punto de vista histológico por la escala NAS, lo que da a entender que existen otros factores diferentes a la esteatosis que influyen en el grado de inflamación hepático.

A partir de estos estudios el tratamiento con glitazonas no está recomendado de forma específica en pacientes con EGHNA.

#### **Metformina:**

Hay al menos dos pequeños estudios en los que se demuestra que la metformina disminuye las transaminasas<sup>153,154</sup>. Sin embargo, las modificaciones en la histología de la enfermedad son pequeñas como se demuestran otros dos estudios<sup>155,156</sup>.

Hay un único ensayo clínico<sup>157</sup> que compara dieta y el ejercicio frente a dieta, ejercicio y un agente sensibilizador a la insulina (metformina o pioglitazona) en pacientes con EGHNA. Como resultado había disminución no significativa de las transaminasas, mejoría significativa en la esteatosis y de la balonización. La fibrosis mejoró respecto al inicio del estudio pero no de forma significativa. En el grupo de dieta y ejercicio no hubo mejoría de los parámetros histológicos. Tampoco se pueda recomendar su uso de forma sistemática en todos los pacientes con EGHNA.

#### **Antibióticos y probióticos:**

El sobrecrecimiento bacteriano se asocia con producción de sustancias tóxicas y entre ellas lipoproteínas que favorecen el EGHNA. El uso de metronidazol en estos pacientes puede mejorar la esteatosis, y en algunos casos la inflamación y la fibrosis. Se han realizado estudios similares con polimixina B. El uso de probióticos se ha probado en un único estudio no controlado con buenos resultados <sup>158</sup>

**Ácido ursodesoxicólico:** Se han hecho varios estudios con ácido ursodesoxicólico. En dos pequeños estudios piloto <sup>159,160</sup> se apreciaba disminución de las transaminasas pero sin posterior confirmación histológica. Posteriormente otros dos estudios piloto de pequeño demostraron en la histología del seguimiento una mejora exclusivamente de la esteatosis, sin cambios en la inflamación ni en la fibrosis <sup>161,162</sup>.

Por último se realizó un ensayo clínico randomizado y controlado a doble ciego en 168 pacientes a 2 años <sup>163</sup>. Además se obtuvo histología de control en 95 pacientes. En este estudio a mayor escala, se observó que el ácido ursodesoxicólico no mejoraba ni las transaminasas ni tampoco los parámetros histológicos medidos con la escalas de Brunt ni el NAS. A partir de este estudio se puede decir que este fármaco no es útil para el tratamiento de la EHNA.

#### **Estatinas:**

El uso de estatinas para los pacientes con EGHNA no se basa en la reducción del colesterol por la inhibición de la HMG-CoA reductasa sino en los efectos pleiotrópicos de las estatinas. Existen varios estudios con estatinas en pacientes con EGHNA <sup>164,165</sup>. Hay tres estudios piloto que han demostrado mejoría bioquímica e histológica en pequeños grupo de pacientes con EGHNA <sup>145,166,167</sup>, aunque los resultados no se han confirmado posteriormente en ensayos clínicos.

Hay otros estudios que demuestran que hay disminución de las transaminasas al utilizar estatinas en el EGHNA. Los estudios se han hecho con Atorvastatina, Pravastatina y Rosuvastatina, con resultados similares para todos ellos <sup>164,168,169,170,171</sup>.

También se ha probado la combinación de estatina más ezetimiba para el tratamiento de pacientes con EGHNA<sup>172</sup> pero sin obtener beneficio adicional. En resumen, lo que sí está demostrado es que el uso de estatinas es seguro en pacientes con EGHNA<sup>164</sup> y que probablemente produce mejoría en las transaminasas o incluso en la histología de la enfermedad. No se pueden recomendar sistemáticamente.

#### **ARA-II:**

Un estudio realizado en Japón demuestra en una pequeña muestra de 7 pacientes los beneficios del tratamiento con losartan<sup>173</sup>. Se disminuye los niveles de necroinflamación en 5 pacientes y de la fibrosis en 4 de los 7 pacientes. También producía una disminución de las transaminasas de forma significativa.

#### **Vitaminas C y E:**

El uso de vitamina C y E en la esteatohepatitis no alcohólica se basa en intentar disminuir con estas sustancias antioxidantes el stress oxidativo. Algunos artículos inicialmente demostraron mejoría, pero un estudio posterior bien diseñado demostró que el uso de estos antioxidantes no produce cambios en la necroinflamación ni tampoco en la fibrosis comparado con placebo<sup>174</sup>.

A partir de los resultados del estudio PIVENS se demuestra que la vitamina D es superior a placebo para mejorar las lesiones histológicas (un objetivo combinado de fibrosis, mejoría de la balonización y mejoría del NAFLD activity score). Se recomienda de forma individualizada el uso de vitamina D para pacientes con EHNA<sup>175</sup>.

#### **Pentoxifilina:**

La pentoxifilina se ha utilizado en pequeños estudios para el tratamiento de la EHNA<sup>79</sup>. Esto se basa en su efecto inhibitor de la inflamación a través de la reducción de los niveles de TNF alfa. Un estudio de 2007 que demuestra que la pentoxifilina produce mejoría de parámetros

histológicos. El estudio se realiza en un pequeño grupo de pacientes y hay mejoría tanto de la esteatosis, la necroinflamación y la fibrosis <sup>176</sup>.

### **Flebotomía:**

La sobrecarga de hierro puede ser un factor patogénico en pacientes con EHNA pues induce un aumento del stress oxidativo. Basado en este hecho, varios estudios han intentado demostrar que las flebotomías son útiles en pacientes con EHNA <sup>177,178,179</sup>. En estos estudios se hacen flebotomías a pacientes con EHNA que tenían una sobrecarga de hierro en la analítica. Aunque en los estudios no se hizo biopsia hepática, sí se apreciaba una disminución de las transaminasas.

### **Trasplante hepático:**

Es la última alternativa en pacientes con EHNA que desarrollan cirrosis. Finalmente se puede aplicar a un número limitado de pacientes por motivos de edad y de comorbilidad. Así en estos pacientes es casi constante la obesidad y muy frecuente la diabetes.

La enfermedad puede recidivar en el trasplante <sup>180,181,182,183,184</sup> y posteriormente puede progresar nuevamente a cirrosis. La recurrencia es mucho más alta que la que ocurre en otras causas de enfermedad <sup>102(2)</sup>. En la recidiva influye primeramente que no han desaparecido los factores patogénicos que produjeron la forma grave de EHNA y en segundo término también contribuyen los efectos secundarios de los inmunosupresores <sup>39</sup>. La aparición de la esteatosis se relaciona con la dosis de corticoides que tomó el paciente como parte de su tratamiento inmunosupresor. En conjunto la supervivencia de los trasplantados por EHNA es similar a la debida a otras causas de enfermedad hepática <sup>102</sup>

## **2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO Y DEFINICIÓN DE LOS OBJETIVOS**

## 2.1 Justificación del estudio:

El hígado graso no alcohólico es una entidad cuya importancia para la salud de la población ha ido desvelándose en los últimos años al ser reconocida como la primera causa de elevación de las transaminasas en la población adulta de EEUU y de otros países desarrollados y al confirmarse que es la principal etiología de las cirrosis consideradas hasta ahora como cirrosis criptogénica<sup>185,186,187,188</sup>. Por otro lado, todos los estudios apuntan a que su prevalencia ha aumentado en las últimas décadas y que su evolución no es tan benigna como se pensó en un principio dado que podría evolucionar hacia fases avanzadas (cirrosis hepática) y complicarse con hepatocarcinoma<sup>189,190</sup>, en proporciones equiparables a las producidas por otras enfermedades hepáticas como es la enfermedad hepática crónica por virus de la hepatitis C.

Por otro lado, hay muy pocos trabajos que hayan determinado la prevalencia real de la enfermedad en la población general dado que la mayoría son retrospectivos a partir de series de casos clínicos o bien se han hecho en poblaciones muy seleccionadas (ej. pacientes hospitalizados, obesos, diabéticos, etc.) o el número de enfermos analizados ha sido muy pequeño y sus resultados no pueden extrapolarse a la población general. Por lo tanto, parece absolutamente necesario el realizar estudios que nos muestren el alcance real de esta patología en la población general. Por ello se ha realizado un estudio poblacional prospectivo a partir de una muestra aleatoria obtenida de la población del área de salud Este de la provincia de Valladolid.

El trabajo está diseñado para valorar la prevalencia de la EGHNA entre dicha población, pero además posibilita el conocimiento de la prevalencia de la hipertransaminasemia y de las diferentes etiologías de las enfermedades hepáticas en la población general. Este estudio posibilita el diagnóstico precoz de enfermedades hepáticas en sujetos considerados sanos y por tanto el inicio, en aquellos casos susceptibles de ello, de tratamientos específicos frente a la enfermedad.

## 2.2 Definición de los objetivos del estudio:

Antes de comenzar con el trabajo de campo se definen los objetivos que se pretenden alcanzar con este trabajo:

1. Establecer **la prevalencia del hígado graso no alcohólico** en la población del área Este de Valladolid, descartando de forma razonable otras causas de elevación de las transaminasas mediante anamnesis, analítica de sangre y ecografía abdominal.
2. Conocer la **distribución del hígado graso no alcohólico** en la población en cuanto parámetros demográficos (como sexo o edad) y antropométricos (peso o talla).
3. Establecer **factores predictores de aparición de la enfermedad**: Qué factores hacen más probable que un determinado sujeto presente EGHNA mediante análisis estadístico uni y multivariante.
4. **Construir un score clínico** que permita establecer con facilidad si un paciente tiene alta probabilidad de EGHNA a partir de datos obtenidos en la anamnesis, analítica y ecografía.
5. Determinar en este medio la frecuencia de las distintas **causas de elevación de las transaminasas** en la población general.
6. Estudiar la **prevalencia** de las **enfermedades hepáticas más comunes** en la población estudiada.
7. Servir de base para realizar **otros estudios prospectivos** sobre EGHNA, principalmente en lo relacionado con la evolución y valoración de la progresión de la fibrosis en estos pacientes.





### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**



### **3. Materiales y Métodos:**

El presente trabajo se ha realizado entre una muestra aleatoria de la población mayor de 18 años del Área de salud Este de Valladolid. No hubo ningún criterio de exclusión salvo el de ser menores de 18 años.

#### **a. Materiales empleados:**

Para las ecografías se utilizó un ecógrafo Toshiba Aplio XG con una sonda convex de 3.5MHz. Las ecografías se realizaron por los radiólogos Dr. Sánchez Lite y Dr. Toribio. Los valores analíticos de referencia para separar sanos de enfermos fueron los del Laboratorio Central del Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Las analíticas se realizaron en el Laboratorio Central del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, tanto las de screening como las de estudio de la enfermedad hepática. Las entrevistas clínicas se realizaron en las consultas de Medicina Interna por el Dr. Cusáovich y el Dr. González. Se utiliza un peso electrónico, el mismo para todos los pacientes y el perímetro abdominal se mide con una cinta métrica diseñada específicamente para ese efecto a nivel del ombligo y de espinas ilíacas anterosuperiores.

La base de datos aportada por la Gerencia de Atención Primaria se entrega en formato Microsoft Access. El análisis estadístico se realizó con el software SPSS versión 18.0. Los datos se recogen en formato Microsoft Excel y posteriormente se exportan a SPSS para su análisis.

#### **b. Métodos del estudio:**

##### **3.1. Cálculo del tamaño muestral:**

Para el cálculo del tamaño muestras se ha utilizado la siguiente fórmula:

$$N = \frac{Z^2 \cdot p \cdot q}{i^2}$$

75

La cantidad de grasa en el hígado es en una variable que sigue una distribución normal, por lo que se utiliza la Z de las tablas de distribución normal. Z para un grado de confianza del 95% es de 1.96, y para un 99% de 2.6. La variable p es la probabilidad de padecer EGHNA en la población de Valladolid, y q es la probabilidad de no padecerla ( $q = (1-p)$ ). La prevalencia no se conoce pero se estima a partir de otros estudios de prevalencia realizados con otros métodos y se asume de un 20% (Ver apartado de prevalencia en la introducción).

El error que estamos dispuestos a asumir es la variable i en la fórmula. Como la EGHNA no se asocia con una alta mortalidad, se puede asumir un error del 4% ( $i = 0.04$ ), que es inferior al valor estándar del 5% usado para la mayor parte de estudios.

En este caso concreto, con una confianza del 95%, asumiendo un error del 4%, y suponiendo la prevalencia de EGHNA del 20%, **el tamaño muestral necesario sería:**

$$N = \frac{1.96^2 \times (0.2 \times 0.8)}{0.04^2} = \frac{3.8416 \times 0.16}{0.0016} = 384.16 \approx \mathbf{384 \text{ pacientes}}$$

Este sería el tamaño muestral si se asume que todos los pacientes a los que se les propone participar en el estudio aceptan. Sin embargo, dadas las características del estudio cabe esperar una cierta **tasa de no respuesta**.

El reclutamiento se realiza mayoritariamente mediante aviso por correo. A partir de datos de otros estudios con sistemas de reclutamiento semejantes la participación podría oscilar entre el 20 y el 25%. En función esta tasa de respuesta, el número de sujetos a incluir puede ser variable:

Si la tasa de respuesta es del 20% \_\_\_\_ Se necesitan 1920 pacientes

Si la tasa de respuesta es del 25% \_\_\_\_ Se necesitan 1536 pacientes

Si la tasa de respuesta es del 30% \_\_\_\_ Se necesitan 1280 pacientes

Finalmente el tamaño muestral elegido es de **1800 personas**. Se selecciona este tamaño muestral porque es el que se puede manejar desde el punto de vista logístico para hacer el trabajo de campo y corresponde a participación mínima de pacientes del 21.3% que es aceptable desde el punto de vista metodológico.

En caso de que la tasa de no respuesta fuera mayor del 80% se modificarían los métodos de captación de pacientes para poder mantener el error estándar propuesto del 4%.

### **3.2. Definición de la población diana:**

Se considera **población diana** para el estudio a toda persona de Valladolid Este mayor de 18 años sin límite superior de edad y sin otras limitaciones.

No hay por tanto criterios de exclusión como podría ser el consumo de alcohol o la presencia de virus de hepatitis, pues esta exclusión podría suponer un sesgo de selección. De este modo por ejemplo al excluir a pacientes bebedores se excluye del análisis a más hombres que mujeres.

### **3.3. Selección de la población diana mediante muestreo aleatorio:**

Se tomaron un total de 1800 pacientes procedentes de los distintos centros de salud del área de salud de Valladolid Este. La aleatorización se realizó con el programa informático MS Access por parte del Servicio de Informática de la Gerencia de Atención Primaria del Área Este de Valladolid.

El muestreo se hizo a partir de las bases de datos de pacientes de la Gerencia de Atención Primaria del Área Este de Valladolid, previo permiso del Gerente de dicha Área de Salud. Estos

listados a su vez proceden de las bases de datos de las tarjetas sanitarias de los usuarios del Área Este.

Ahora se dividen los 1800 pacientes entre el número total de centros de salud del Área Este de Valladolid ( $n_1, n_2, n_3, \dots, n_i$ ) **de forma proporcional** a la población que abarca ese centro de salud en concreto (Ej. Si el Centro de Salud supone un 30% de la población total del Área de salud Este, ese Centro de Salud supondrá el 30% de la muestra, es decir 540 pacientes). Cada centro de salud tiene una población concreta con unas características sociodemográficas diferentes, y por ello es importante que todos los centros estén correctamente representados. De esta forma la muestra obtenida será representativa del conjunto de la población de Valladolid.

No se estratifica por grupos de edad dentro de cada centro de salud porque la población real tiene una alta proporción de personas de edad avanzada y si separamos grupos homogéneos de edad se disminuiría la representación de las personas de edad avanzada. Por otra parte es previsible que la prevalencia del EGHNA aumente con la edad y de este modo se subestimaría la prevalencia de EGHNA (sesgo de selección).

La selección no se hace teniendo en cuenta el sexo. Al tratarse de una muestra muy amplia el número de hombres y de mujeres en el estudio sería estadísticamente representativo de la población.

**Permisos y compromiso de confidencialidad:** La Gerencia del Área de salud de Valladolid Este proporcionó los datos de forma aleatoria así como el permiso específico para manejar estos datos exclusivamente para el proyecto. Además se obtuvo el permiso de la comisión de investigación del Hospital Clínico Universitario de Valladolid (Anexo 8). Los datos se manejan con la máxima confidencialidad con el fin de cumplir lo dispuesto en la Ley Orgánica de Protección de Datos.

### **3.4. Definición de la base de datos:**

La muestra se obtiene de una población total de 261.025 personas, de las cuales 226.354 tienen 18 años o más. El muestreo se obtuvo de un total de 22 centros de salud, siendo el de mayor población de 20687 personas (al que corresponden en nuestra muestra 137), y el menor de 5439 personas (de las cuales corresponden a nuestra muestra 37 personas).

Las variables seleccionadas para incluir en la base de datos y a partir de cuales se obtienen los resultados y las conclusiones son en total 121 y se recogen en el Anexo 7.

Posteriormente se construyen a partir de estas variables principales otra serie de variables intermedias que no se enumeran y que se utilizan para el cálculo de prevalencias y el análisis estadístico. (Ej. La variable Steatrans define la presencia de pacientes con esteatosis que además tienen elevadas las transaminasas).

### **3.5. Reclutamiento de la población diana:**

Los pacientes se reclutaron de forma secuencial en bloques por Centros de Salud de uno en uno de modo que el trabajo de campo fuera más manejable y se pudiera hacer de forma más eficaz. Cuando se finalizó con un grupo se continuó con el siguiente. El trabajo de campo comenzó en Octubre de 2008 y finalizó en Noviembre de 2010.

Se contactó con los pacientes y se les informó sobre el estudio y las ventajas de participar(diagnóstico precoz y tratamiento si precisaban). Se les invitó a realizar una analítica, una ecografía y una pequeña entrevista clínica dirigida fundamentalmente a detectar un consumo elevado de alcohol y medir parámetros antropométricos.

## **MÉTODOS DE RECLUTAMIENTO:**

Para reclutar a los pacientes se utilizó **dos métodos:**

El método mayoritario, realizado con la mayoría de pacientes consiste en el envío **de una carta al domicilio del paciente:**

Se envía a cada paciente una carta en la que se le invita a participar en el estudio. Las cartas se envían por correo ordinario desde el Hospital y contienen en su interior una hoja informativa de una página con el logotipo del hospital (Ver Anexo 1), un sobre de franqueo en destino de pequeño tamaño y una hoja de aceptación, de menor tamaño y que cabe en el sobre de franqueo en destino. Esta hoja de aceptación (Ver anexo 2) tiene un código que identifica al paciente manteniendo su confidencialidad. El código consta de 3 partes: primero 3 letras que corresponden al centro de Salud del paciente (Ej.: Pilarica PIL); Luego las iniciales del nombre y dos apellidos del paciente (Ej. Ficticio: Ramón Rodríguez Ramirez RRR). Por último un número de 3 dígitos con el número asignado al paciente en ese Centro de Salud dentro de la base de datos (Ej. PIL-RRR-01).

Las hojas de aceptación codificadas se introducen en el sobre que se adjunta y se envían a un Apartado de franqueo en destino específicamente habilitado para este estudio. Dado que se dirige a un Apartado con Franqueo en Destino el paciente no paga los sellos y de este modo no se reduce la participación por motivos económicos. Posteriormente las cartas se recogen en la Oficina Central de Correos de Valladolid de forma periódica por parte del personal investigador del estudio.

Por último se llama por teléfono a los pacientes que han contestado (con la hoja de aceptación dentro del sobre de franqueo en destino) y se les cita para la ecografía, visita médica y analítica.



La participación al utilizar este método de reclutamiento por correo, aunque es variable en distintos estudios sociológicos, oscila en torno al 20-25% de los pacientes encuestados (Ver discusión).

El segundo método de reclutamiento consiste en **contacto telefónico**. Es un método más lento, dificultoso y caro, pero por otra parte más efectivo (en torno al 50% de participación). Se aplicó a una minoría de pacientes cuando el número de pacientes que participan al ser reclutados por correo es demasiado bajo en un Centro de Salud y hay riesgo de que disminuya la representatividad de la muestra en esa zona. Todas las llamadas se realizaron por el doctorando siguiendo estricto orden numérico en la base de datos para evitar sesgos de selección.

Los números de teléfono se obtienen junto con el resto de datos personales del paciente de las bases de datos proporcionadas por la Gerencia de Atención Primaria. En otras ocasiones el teléfono se obtiene de las bases de datos del Hospital. Si el paciente acepta participar en el contacto telefónico se le cita en la misma llamada.

#### **CITACIONES DE LOS PACIENTES:**

Los pacientes se citan para una consulta médica, una analítica de sangre y una ecografía independientemente del método de reclutamiento empleado.

Las ecografías se citan de acuerdo a espacios de tiempo previamente acordados con los radiólogos en horario de mañana o la tarde. Todas las ecografías se realizaron por parte de los dos radiólogos que han participado en el proyecto (el **Dr. I. Sánchez Lite** y el **Dr. B. Toribio**). Las visitas médicas se hacen el mismo día de la ecografía para limitar al máximo el número de desplazamientos que tienen que hacer los pacientes.

Las visitas médicas se realizan mayoritariamente por el doctorando y tras terminar la entrevista se entrega el volante de analítica correspondiente para realizar la extracción en el siguiente día laborable. Se procura no citar más de 3 pacientes cada día para no sobrecargar al personal del Laboratorio Central.

### **3.6. Primer screening:**

Consiste en una visita médica, una analítica de sangre y una ecografía abdominal encaminadas a descartar enfermedad hepática.

Antes de comenzar la visita médica se informa al paciente sobre el estudio y se le ofrece un **consentimiento informado (CI)** que debía firmar antes de comenzar con las anamnesis (Ver Anexo 3). La no lectura y/o firma del CI por parte del paciente se consideró motivo de exclusión del estudio.

#### **VISITA MÉDICA**

La **visita médica** sirve para valorar varios apartados: Antecedentes familiares de enfermedad hepática; Antecedentes personales de DM, HTA, cirugía bariátrica o nutrición parenteral reciente; Hábitos de consumo de tabaco y de alcohol; Actividad física; Toma de medicamentos hepatotóxicos; Parámetros antropométricos en la exploración física como son la presión arterial, el perímetro abdominal, la altura y el peso. (Ver Anexo 4).

#### **ANALÍTICA**

En cuanto a **la analítica**, en el primer screening se miden los siguientes parámetros: GOT, GPT, GGT, fosfatasa alcalina, bilirrubina total, directa e indirecta, glucosa basal, insulina basal, hemoglobina glicosidada, colesterol total, triglicéridos, hemoglobina, volumen corpuscular medio, creatinina, homocisteína y proteínas totales. Se considera enfermedad hepática desde el punto de

vista de la analítica cuando las pruebas hepáticas estén alteradas según los límites establecidos por el Laboratorio Central del Hospital Clínico Universitario de Valladolid: GOT mayor de 38 U/L, GPT mayor de 41 U/l, GGT mayor de 50 U/l, Fosfatasa alcalina mayor de 129 U/l.

## ECOGRAFÍA

En la ecografía se valoran una serie de parámetros ecográficos que se recogen en un cuestionario de respuestas múltiples (Ver Anexo 5) para posteriormente introducirlos en bases de datos. En el cuestionario hay un espacio libre para que el radiólogo añada a estas preguntas objetivas los comentarios que considere oportunos.

A efectos del estudio **se considera enfermo desde el punto de vista de la ecografía** a todo paciente con esteatosis de cualquier grado, o con alteraciones de la ecogenicidad sugerentes de hepatopatía crónica o bien datos de cirrosis. La presencia de LOE hepáticas también se considera enfermedad si la lesión no es benigna. No se considera enfermos a los pacientes con colelitiasis, angiomas de pequeño tamaño ni quistes simples si bien estos datos se recogen en la base de datos para su análisis estadístico.

## DEFINICIÓN DE PACIENTE ENFERMO EN EL PRIMER SCREENING

Se define como enfermedad hepática la presencia de una o más alteraciones ecográficas y/o analíticas de acuerdo con la siguiente tabla:

Tabla 3.1. Definición de enfermedad en la primera fase de screening del estudio

Definición de enfermedad	
Criterios ecográficos	Criterios analíticos
Esteatosis de cualquier grado	GOT > 38 UI/ml
Alteraciones de la ecogenicidad sugerentes de hepatopatía crónica	GPT > 41 UI/ml
Cirrosis	GGT > 50 UI/ml
LOE hepática de aspecto maligno	Fosfatasa alcalina >129 UI/l <sup>†</sup>

<sup>†</sup> Previamente se descarta que la elevación de la fosfatasa alcalina no se deba a trastornos del metabolismo óseo u otras causas extrahepáticas.

En caso de encontrar una enfermedad hepática según estos criterios el paciente pasa a la segunda fase del estudio que consiste en filiar dicha enfermedad hepática.

En caso de que no encontrar alteraciones en este primer screening informa por escrito al paciente de los resultados tanto de la entrevista clínica como analítica y ecografía y se da por finalizado el estudio. Los datos obtenidos se incluyen en la base de datos.

Siempre que encontremos cualquier alteración en la entrevista clínica, la analítica o en la ecografía que no estén relacionados estrictamente con la enfermedad hepática se informa al paciente de dicha patología y se le remite al especialista correspondiente.

### **3.7. Estudio de la enfermedad hepática**

Consiste en realizar una segunda entrevista clínica y realizar una analítica más específica para diagnosticar otras causas de enfermedad hepática.

#### **VISITA MÉDICA:**

La **segunda entrevista** sirve para reevaluar nuevamente el consumo de alcohol y fármacos. Se consideró importante reinterrogar al paciente ya que es más fácil llegar a conocer el consumo real si se pregunta en más de una ocasión o si se pregunta a algún familiar. También se intentaron descartar enfermedades genéticas que afecten al hígado produciendo esteatosis tales como por la tirosinemia, galactosemia, abetalipoproteinemia y Síndrome de Weber-Christian. No se realiza estudio genético sino que sólo se preguntaba por la presencia o ausencia del antecedente en su historia clínica.

Además se evalúan factores específicos que se asocian con la aparición de esteatosis como son la pérdida rápida de peso, alimentación parenteral en los últimos 6 meses, el consumo de

drogas por vía parenteral (fuente de transmisión de virus hepatotropos), las cirugías o situaciones que favorecen el sobrecrecimiento bacteriano o la existencia de infección VIH ya conocida. En la exploración física se incluye una exploración abdominal(**Ver Anexo 6**).

## **ANALÍTICA:**

La analítica de la segunda visita es mucho más completa. Se evalúan parámetros bioquímicos, inmunológicos y otros serológicos-microbiológicos.

### **Datos bioquímicos:**

-Primeramente datos relacionados con el metabolismo de la glucosa y la resistencia periférica a la insulina: Glucemia basal (mg/dl), Hemoglobina glicosilada (HbA1C), Insulina basal, Péptido C, índice HOMA.

- Perfil lipídico: Ampliando el estudio del síndrome metabólico. Se incluye: Colesterol total (mg/dl), Colesterol LDL, Colesterol HDL, TAG (mg/dl)

- Perfil hepático: Varios incluidos en la primera visita. Incluimos: GOT, GPT, GGT, Fosfatasa alcalina, Bilirrubina total, Bilirrubina directa, Bilirrubina indirecta, Relación GOT/GPT, Amilasa, albúmina, proteínas totales.

- Hemograma: Debe obtenerse la Hb en g/dl, el VCM en fl, las plaquetas/ mm<sup>3</sup>

- Función renal: Con Urea y Creatinina

- Metabolismo del Hierro: Sideremia, Ferritina, Transferrina, índice de saturación de transferrina

- Proteinograma: Para valorar la fracción gamma (para ver signos de cirrosis o gammapatía monoclonal, etc.).

- Despistaje de enfermedad de Wilson y déficit de Alfa 1 antitripsina: Determinación de Alfa 1 antitripsina, ceruloplasmina, Cobre en sangre

- Hormonas tiroideas: TSH, T4L
- Otros: Vitamina B12, Ácido Fólico, PCR
- Coagulación: Incluyendo Índice de Protrombina, INR, TTPA y Fibrinógeno

**Analítica de Orina:**

- Microalbuminuria
- Etanol en orina

**Pruebas serológicas:**

Descartar los principales virus hepatotropos: Serología VIH, VHA, VHB, VHC

**Pruebas inmunológicas:**

Para descartar origen autoinmune de la alteración de las pruebas hepáticas. Se pide ANA, Anti DNA, Anti LKM, Anti músculo liso, Ac antimitocondriales, LC-1, SLA y SLP.

Los datos que se repiten en la primera analítica y segunda de estudio de enfermedad hepática sólo se introducen en la base de datos una vez teniendo en cuenta los datos de la primera analítica (ej. La GOT se solicita en las dos analíticas y a efectos de la base de datos se introduce en valor de la primera analítica).

**DIAGNÓSTICO DE HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO:**

A partir de todos estos datos tanto clínicos como analíticos se descartan las causas más frecuentes de enfermedad hepática.

Si bien el diagnóstico del EGHNA es histológico, no es posible la realización de biopsias a nivel poblacional debido por una parte a que en muchos casos se trata de pacientes con buen pronóstico en los que la relación beneficio riesgo de realizar o no biopsia se decanta más a favor de esta última. Además los costes económicos asociados la hacen inviable en tantos pacientes. Por

ello en nuestro estudio se consideró que los pacientes con **hígado graso no alcohólico eran aquellos que cumplían** las siguientes condiciones:

1.- Alteración analítica de las pruebas de función hepática o bien esteatosis en la ecografía: o bien GOT > 38, GPT > 41 o GGT > 50

2. - Con un consumo de alcohol menor de 30 g/día según el paciente y al menos un familiar o conocido directo. Además el alcohol en orina debe ser negativo.

3. - En los que se descartan causas secundarias de elevación de las transaminasas mediante todas las pruebas que hemos definido anteriormente: Virus de hepatitis negativos, autoanticuerpos hepáticos negativos, alfa 1 antitripsina normal, ausencia de hemocromatosis, ceruloplasmina normal y hormonas tiroideas normales.

Los pacientes que cumplían estas 3 premisas se consideró que tenían hígado graso no alcohólico.

Se consideró también como parte del espectro del hígado graso no alcohólico a aquellos que tras todo el estudio tenían el diagnóstico de cirrosis criptogénica y características fenotípicas de síndrome metabólico como se ha definido con anterioridad.

### **3.8. Análisis estadístico:**

Las variables se expresan en forma de media e intervalo de confianza al 95%. Para el contraste de hipótesis primero se comprueba la normalidad de las variables utilizando el test de Kolmogorov Smirnov para una muestra. Para comparar variables cuantitativas continuas con dicotómicas (comparación de medias), se utilizó la t de Student en caso de variables con distribución normal y la U de Mann Withney en caso de que no siguieran una distribución normal. Para comparar medias en más de dos categorías (comparación entre una variable cuantitativa con

una cualitativa de más de dos categorías), se utilizó el ANOVA si las variables siguen distribución normal, o Kruskal-Wallis si no sigue distribución normal. Para comparar variables dicotómicas entre sí se utiliza el test de  $\chi^2$  de Pearson igual que para comparar variables cualitativas de más de dos categorías entre sí. Si el número de celdas con frecuencias esperadas inferior a 5 es mayor de un 20% se utiliza el test exacto de Fisher o la razón de verosimilitud dependiendo del caso.

El análisis multivariante se hizo utilizando un test de regresión logística ya que la variable dependiente es dicotómica (presencia o ausencia de enfermedad). Respecto a esta variable se establecen otras variables asociadas a ellas que se denominan variables independientes. Inicialmente se valora qué variables son candidatas a introducirse en el análisis multivariante. Se estudian sólo las variables que tuvieron significación estadística en el contraste de hipótesis inicial. En estas variables se realiza regresión logística simple. Las variables que alcanzan la significación son candidatas a formar parte del modelo multivariante. De ellas, debido a su importancia clínica y a que tiene la OR más elevada, se usa el HOMA-IR como primera variable del modelo multivariante. Posteriormente se construye el modelo multivariante probando distintas combinaciones de variables posibles utilizando la inclusión de variables con el método introducir. .

El objetivo es predecir la probabilidad de tener hígado graso no alcohólico en función de las variables independientes. A partir de esta probabilidad se puede construir un score clínico que ayude a predecir si un determinado paciente está en riesgo o no de padecer la enfermedad. El análisis estadístico se realiza con el software SPSS 18.0.



## **4. RESULTADOS**



## 4. Resultados:

### 4.1. Población estudiada:

#### 4.1.1. Representatividad de la muestra:

De los 261025 registros de las bases de datos de las tarjetas sanitarias de la población del Área Este de Valladolid se seleccionaron aleatoriamente 1800 pacientes por muestreo aleatorio simple.

De estos aceptaron participar en el estudio un total de 448 pacientes que respondieron a las cartas, se les explicó el funcionamiento del estudio y firmaron el consentimiento informado. La mayoría de estos pacientes fueron reclutados por correo y un pequeño porcentaje por vía telefónica. Estos pacientes constituyeron la muestra del trabajo.

En primer lugar se valoró si la muestra seleccionada era representativa de la población de la que se extrajo (las tarjetas sanitarias del Área de Salud Este de Valladolid). Como se disponía de los datos poblacionales reales publicados por Sacyl para distintas variables, se construyeron intervalos de confianza de los datos muestrales, para ver si este intervalo contenía el dato poblacional. En este caso se consideró que la muestra era representativa de la población para esa variable.

Estos datos de la muestra así como sus intervalos de confianza se resumen en la siguiente tabla:

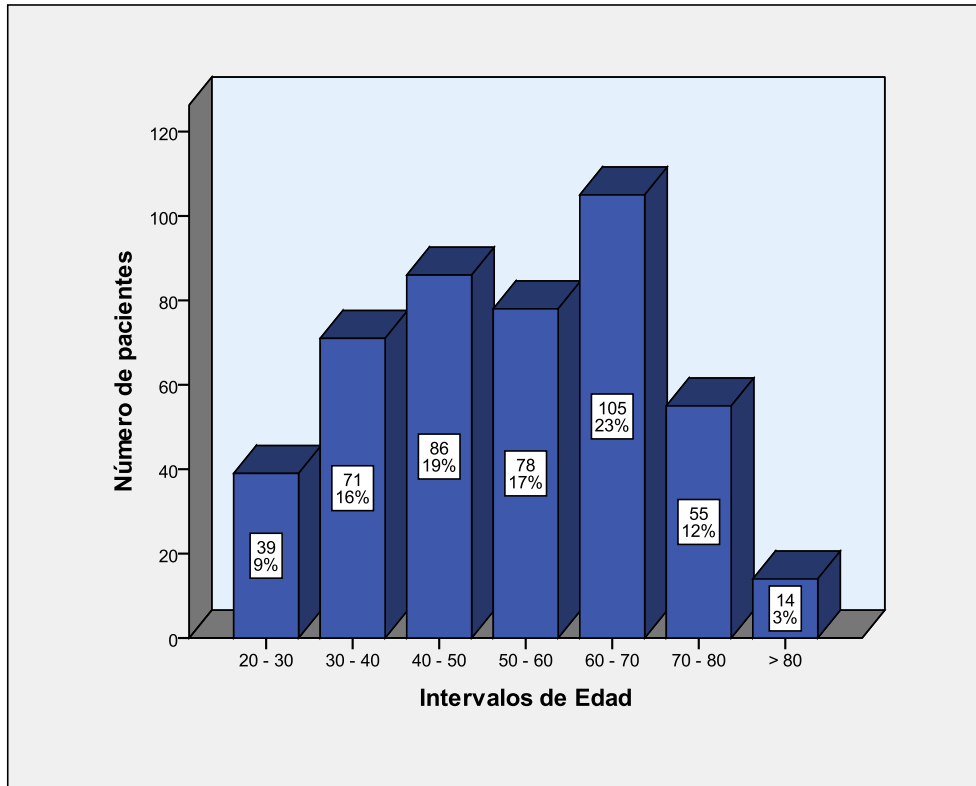
Tabla 4.1. Distribución de sexo, edad y distribución rural/ urbana en la población de Valladolid según datos de la Junta de Castilla y León

Variable		Media muestral	IC al 95%	Media poblacional
Distribución por sexos	Hombres	49,70%	[47,3% - 52,08%]	48,74%
	Mujeres	51,30%	[48,9%-56,3%]	51,26%
Población rural y urbana	Rural	27,50%	[25,4%-29,5%]	31,11%
	Urbano	72,50%	[68.3%-76.6%]	68,88%
Grupos de edad	20-24	2%	[0,7%-3,2%]	4,86%
	25-29	5,13%	[3,08-7,17%]	6,25%
	30-34	7,59%	[5,13%-10,04%]	8,07%
	35-39	8%	[5,48%-10,51%]	8,31%
	40-44	9,59%	[6,86%-12,31%]	8,00%
	45-49	10,49%	[7,65%-13,2%]	7,46%
	50-54	8,48%	[5,9%-11,05%]	7,06%
	55-59	7,81%	[5,32%-10,29%]	6,32%
	60-64	10,71%	[7,84%-13,57%]	6,40%
	65-69	12,94%	[9,83%-16,04%]	5,75%
	70-75	8,48%	[5,9%-11,05%]	4,42%
	75-80	4,91%	[2,9%-6,91%]	4,59%
	81-85	2,90%	[1,34%-4,45%]	3,65%
	86-90	0,66%	[-0,38%-1,4%]	2,23%
>90	0,22%	[-0,2%-0,65%]	1,09%	

## 4.1.2. Características epidemiológicas:

### 4.1.2.1. Edad, sexo, distribución rural urbana:

La edad media de los 448 participantes fue de 53,44 [51,9-54,9] años. La distribución por edades fue relativamente homogénea, aunque el hecho de que todos los pacientes fueran mayores de 18 años y que hubiera una disminución relativa de la población de 50-60 años hizo que no siguiera una distribución normal (Ver figura 4.1)



**Figura 4.1. Distribución de la edad en la muestra en grupos de 10 en 10 años**

El rango de edad de los participantes fue de 23 a 90 años. El 49,7% [47,3% - 52,08%] fueron varones y el 51,3% mujeres. Se establecieron grupos de edad (menores de 20 años y luego de 10 en 10 años hasta los 100 años) y la proporción de hombres y mujeres en cada grupo fue también homogénea, salvo en el grupo de mayores de 70 años, en los que la proporción de de hombres fue superior a la esperada.

En cuanto a la distribución por áreas rural y urbana, el 72,5% [68.3%-76.6%] era de zona urbana y el 27,5% [23,3%-31,6%] restante de zona rural. La participación urbana y rural fue homogénea entre grupos salvo en menores de 30 años, en los que se encontró una menor proporción de participantes de zonas rurales (94,8% [87,9%-101,7%] de pacientes de procedencia urbana)

#### **4.1.2.2. Parámetros antropométricos, antecedentes**

##### **médicos y hábitos de conducta:**

##### **PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS Y DATOS DE LA EXPLORACIÓN FÍSICA:**

El peso medio de los participantes fue de 73,16 Kg [71,91-74,41] con IMC medio de 27,22 [26,83-27,61], por lo que la media de la población se encontraba en sobrepeso. En este sentido, el 67,41% [63,06%-71,75%] de la población tienen un IMC mayor o igual a 25.

En cuanto a la distribución por sexos, el peso fue mayor en hombres ( $p < 0,0001$ ) con una diferencia de medias de 13,8 [11,7-16] Kg entre hombres y mujeres. Por el contrario, teniendo en cuenta la altura (midiendo el IMC), no hubo diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres ( $p = 0,205$ ). El peso no se correlacionó con la edad ( $\rho = -0,066$ ,  $p = 0,164$ ).

Según las cifras de presión arterial sistólica, el 22% [20,8%-23,3%] llega al rango de presión arterial sistólica de 140 mm de Hg. Las cifras medias de presión arterial sistólica fueron de 130,44 mm Hg [128,77-132,12]. La presión arterial media aumentó al aumentar la edad de forma clara, tomando como referencia la PAM ( $\rho = 0,35$ ,  $p < 0,001$ ). No hubo diferencias significativas en la PAM entre hombres y mujeres ( $p < 0,140$ ).

El perímetro abdominal medio en el ombligo fue de 93,4 cm [92,4-94,5], y en las caderas de 95,9 cm [95-96,79]. En los hombres fueron mayores ambos perímetros que en mujeres de forma significativa ( $p < 0,001$ ). El índice cintura-cadera fue mayor de 1 en el 65% (145) de los hombres, y en mujeres el índice cintura-cadera fue menor de 1 en el 94,2% (211) de los casos. Estas diferencias fueron muy significativas ( $p < 0,001$ ). Además el perímetro abdominal se correlacionó con la edad ( $\rho = 0,32$ ,  $p < 0,001$ ), de modo que al aumentar la edad también aumentó el perímetro abdominal.

### **ANTECEDENTES MÉDICOS:**

Como patologías previas el 8,4% [5,83%-10,96%] de los pacientes eran diabéticos conocidos previamente al estudio. Además el 24,3% [20,33%-28,2%] estaban diagnosticados de HTA.

### **HÁBITOS DE CONDUCTA:**

La media de consumo de alcohol fue de 10,14 [8,27-12,01] gramos diarios de media, siendo superior en varones (17,8 [14,47-21,16] gramos diarios) que en mujeres (2,5 [1,57-3,5] gramos diarios). El 77,78% (175) de las mujeres no consumían nada de alcohol, frente a sólo un 36,3% (50) de varones. Consumían alcohol en cantidades hepatotóxicas en este estudio (> 30 gramos diarios) en 0,9% (2 casos) de las mujeres estudiadas y el 19,97% (44 casos) de los varones. Además las diferencias de consumo de alcohol entre sexos fue estadísticamente significativa ( $p < 0,0001$ ), mayor en los varones. No se encontró relación entre el consumo de alcohol excesivo (mayor de 30 gramos) y la edad del paciente ( $p = 0,114$ )

El 29,2% [24,9%-33,4%] de la población era fumadora. Dentro de los fumadores el consumo medio fue de 12,41 [10,8-13,9] cigarrillos por persona y día. En cuanto a la distribución por sexos, los hombres fumaban con mayor frecuencia que las mujeres, 30,5%(68) frente al 28%(63), pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $p = 0,562$ ). El consumo de tabaco en número de cigarrillos fue menor cuanto mayor era la edad ( $\rho = -0,333$ ,  $p < 0,0001$ ).

Tabla 4.2. Características basales de la población y comparación por sexos de las variables.

		Media Proporción	/ Intervalo confianza	de p valor
<b>Edad</b> (Media en años)	<i>Global</i>	53,44	[51,9 - 54,9]	
	<i>Hombres</i>	52,58	[50,53-54,64]	
	<i>Mujeres</i>	54,28	[52,17-56,39]	
<b>Peso</b> (Media en Kg)	<i>Global</i>	73.16	[71,91-74,41]	p<0.001
	<i>Hombres</i>	80,12	[78,58-81,65]	
	<i>Mujeres</i>	66,24	[64,74-67,74]	
IMC	<i>Global</i>	27,2	[26,8-27,6]	0,205
	<i>Hombres</i>	27,4	[26,9-27,9]	
	<i>Mujeres</i>	26,9	[26,3-27,5]	
<b>Urbano/ Rural</b>		72,50%	[68.3%-76.6%]	
<b>PAS</b>		130.44	[128,77-132,12]	
<b>PAM</b>	<i>Global</i>	95,52	[94,5-96,54]	p<0.140
	<i>Hombres</i>	96,29	[94,87-97,72]	
	<i>Mujeres</i>	94,76	[93,29-96,23]	
Perímetro ombligo		93,4	[92,4-94,5]	
Perímetro cadera		95,9	[95-96,79]	
<b>Índice c-c</b>	<i>Hombres</i>	65% >1	[58,7-71,2%]	p<0.001
	<i>Mujeres</i>	94,2% <1	[91,15%-97,25%]	
<b>Patologías previas</b>				
<b>HTA</b>		24.3%	[20,33% - 28,2%]	
<b>DM tipo 2</b>		8,40%	[5,83% - 10,96%]	
<b>Hábitos de consumo</b>				
<b>Alcohol</b>	<i>Global</i>	10,14	[8,27-12,01]	p<0.001
	<i>Hombres</i>	17,8	[14,47-21,16]	
	<i>Mujeres</i>	2.5	[1,57-3.5]	
<b>Tabaco</b>	<i>Nº Cig.</i>			0.562
	<i>Fumadores</i>	12,41	[10,8-13,9]	
	<i>Hombres</i>	30.5%(68)	[24,43%-36,57%]	
	<i>Mujeres</i>	28%(63)	[22,13%- 33,86%]	
	<i>% Fumadores</i>	29,20%	[24.9%-33.4%]	



### 4.1.2.3. Resultados analíticos:

Tabla 4.3. Valores medios y medidas de dispersión de los datos bioquímicos en la muestra

Variable	Media	Desviación estándar	IC95%
Urea (mg/dl)	36,91	10,32	[35,94-37,88]
Glucosa (mg/dl)	104,08	21,51	[102,06-106,10]
Creatinina (mg/dl)	0,84	0,036	[0,82-0,86]
Ácido úrico (mg/dl)	4,9	1,33	[4,78-5,03]
TAG (mg/dl)	115,39	73,71	[108,46-122,32]
Colesterol total (mg/dl)	205,51	36,93	[202,04-208,98]
Proteínas totales (mg/dl)	7,18	0,43	[7,14-7,22]
GOT (UI/l)	23,39	15,58	[21,93-24,85]
GPT(UI/l)	25,96	24,25	[23,69-28,24]
GGT(UI/l)	33,69	52	[28,81-38,57]
Fosfatasa alcalina(UI/l)	65	19,64	[63,15-66,84]
Sideremia (mcg/dl)	92,81	32,87	[89,72-95,90]
Ferritina (ng/ml)	124,84	121,49	[113,04-136,63]
Vitamina B12 (pg/ml)	486,54	244,25	[463,12-509,97]
Fólico (ng/ml)	8,62	3,68	[8,26-8,97]
Transferrina (mg/dl)	256,6	47,7	[249,3-263,8]
IST (%)	37,58%	14,31	[30,17%-45,00%]
Alfa 1 antitripsina (mg/dl)	131,67	25,04	[127,84-135,50]
Ceruloplasmina (mg/dl)	28,44	5,28	[27,63-29,24]
T4 Libre ng/dl	12,34	3,35	[11,81-12,86]
TSH (mU/ml)	2,57	1,48	[2,34-2,80]
HbA1C (%)	6,04%	0,84	[5,91-6,17]
Insulina basal (mU/ml)	10,63	5,61	[9,78-11,49]
Péptido C (mg/ml)	2,61	1,28	[2,41-2,81]
HOMA-IR	3,03	2,33	[2,67-3,39]
LDL colesterol (mg/dl)	131,37	12,95	[124,03-138,72]
HDL colesterol (mg/dl)	49,24	12,95	[46,77-51,71]
PCR	4,8	5,81	[3,69-5,91]
Relación GOT/GPT	0,93	0,8	[0,80-1,05]
Amilasa (mg/dl)	72,2	91,8	[58,08-87,32]
Microalbuminuria (mg/l)	7,92	39,4	[1,03-14,82]
<b>Otras variables</b>	<b>N</b>	<b>Prevalencia</b>	<b>IC 95%</b>
Ag HBs	2	1,26%	[-0,40%-2,90%]
Serología VHC +	5	3,14%	[0,40%-5,80%
ANA	13	8,12%	[3,70%-12,20%]
SLA, SLP, LKM, LC-1, Ac AML	29	6,50%	[2,70%-10,29%]

Se realizó analítica en 446 de los 448 pacientes. Se intentó contactar con estos 2 pacientes en varias ocasiones sin respuesta. En la siguiente tabla se resumen los valores de las variables bioquímicas realizadas a los pacientes. Algunas de ellas se realizan a toda la población pero algunos parámetros sólo se realizan a pacientes enfermos (ver material y métodos).

#### 4.1.2.4. Resultados ecográficos:

Se realizó ecografía abdominal en los 448 pacientes que participaron en el estudio. Las alteraciones ecográficas que se valoraron fueron:

Esteatosis hepática, lesiones ocupantes de espacio, presencia de colelitiasis, hepatomegalia, esplenomegalia y dilatación de las venas suprahepáticas.

127 pacientes de los 448 con ecografía realizada presentan **esteatosis hepática**, es decir un 28,3% [24,17%- 32,52%]. Dentro de estos pacientes, la mayoría presentan esteatosis difusa (120 pacientes, 94,5% [92,4%-99,5%] de los casos de esteatosis) y el resto esteatosis focal con áreas de respeto (7 pacientes, un 5,5% [-11,3% - 22,3%] restante).

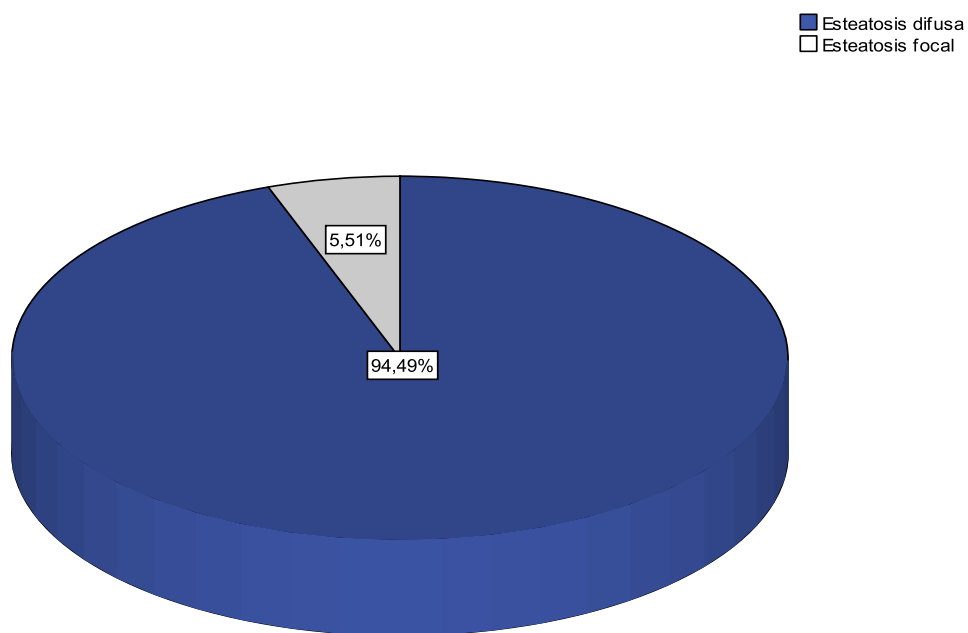
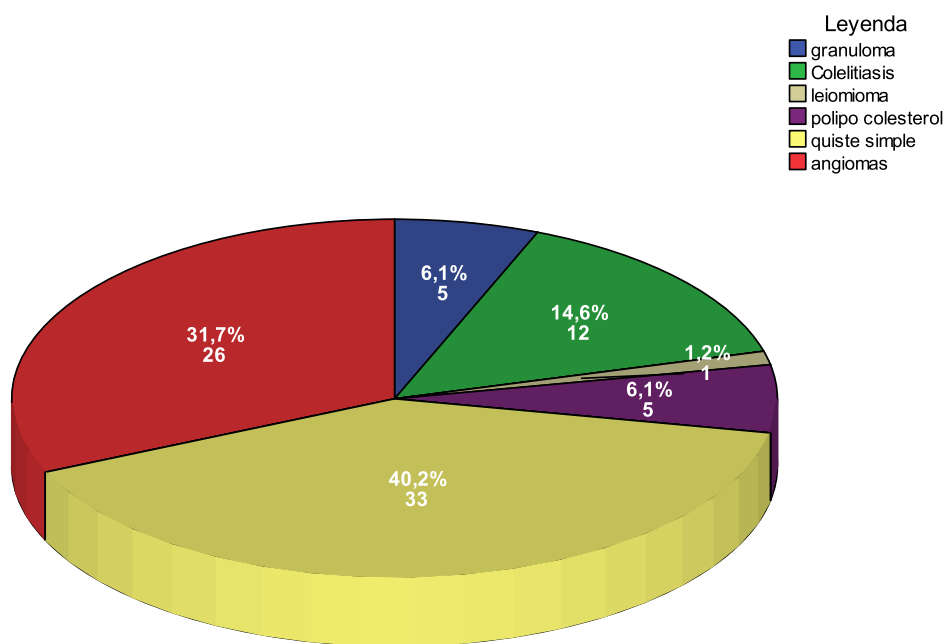


Figura 4.2. Distribución de la esteatosis focal o difusa en la muestra de ecografías

No se encontró ninguna neoplasia en el screening realizado. Se encontraron lesiones ocupantes de espacio (LOE) de aspecto benigno en forma de quiste simple en 33 pacientes. Esto suponía un 40,2% [28,9%-51,4%] de las LOE y 7,4% [4,9%-9,8%] de la población. Tras el quiste simple el más frecuente fue el angioma con 26 pacientes (31,7% [21%-42,3%] de las LOE y un 5,8% [3,6%-7,9%] de la población). Tras estos dos predominantes, las siguientes en frecuencia fueron los granulomas y pólipos de colesterol por igual, y finalmente sólo 1 caso de leiomioma. La colelitiasis se encontró en 12 pacientes, [1,18%-4,18%] de la muestra. En el siguiente gráfico de sectores se describió la frecuencia relativa de cada tipo de LOE y la colelitiasis.



Proporción y Número de casos

Figura 4.3. Distribución de los pacientes con lesiones ocupantes de espacio en hígado y vías biliares y de colelitiasis.

La muestra de ecografías fue suficientemente grande como para poder estimar la media poblacional de cada una de estas LOE (excepto del leiomioma) en forma de intervalos de confianza como vemos en la siguiente tabla:

**Tabla 4.4 Proporción de distintas alteraciones encontradas en la ecografía**

LOE	Global en el estudio	
	n (%)	IC 95%
Quiste simple	33 (7,37%)	[4,94% - 9,79%]
Angioma	26 (5,8%)	[3,3% - 7,9%]
Colelitiasis	12 (2,68%)	[1,18% - 4,18%]
Pólipos colesterol	5 (1,12%)	[0,14% - 2,09%]
Granuloma	5 (1,12%)	[0,14% - 2,09%]

6 pacientes presentaron hepatomegalia y otros 5 tenían esplenomegalia. Además un paciente presentó dilatación de las suprahepáticas.

## **4.2. Población con enfermedad hepática**

### **4.2.1. Causas de enfermedad hepática**

Según lo descrito anteriormente en material y métodos, consideramos enfermos bien a los pacientes que presentan elevación de la GOT, GPT o GGT, o bien a los pacientes con alteraciones ecográficas en forma de esteatosis o datos indirectos de cirrosis.

El número de pacientes con enfermedad hepática fue de 170 (37,94% [33,4%-43,4%]). Dentro de ellos 78 pacientes (45,88% [41,2%-50,4%]) presentaban hipertransaminasemia y 127 alteraciones ecográficas (74,7% [70,6%-78,7%]). 35 pacientes presentaban simultáneamente hipertransaminasemia y esteatosis hepática. Esto supone un 37,95% [33,45%-42,44%] de dicha población.

En cuanto a las causas de esta hepatopatía, son las siguientes:

Tabla 4.5 Causas de enfermedad hepática en la muestra

Causas de Hipertransam.	N	% de la muestra	IC 95%	% dentro de los enfermos
EGHNA	114	25,70%	[17,6%-33,7%]	67,1%
Hepatopatía alcohólica	28	6,30%	[-2,6% - 15,29%]	16,5%
Fármacos	15	3,30%	[-5,6% - 11,6%]	8,8%
VHB	2	0,40%	[-8,3% - 9,1%-]	1,2%
VHC	5	1,10%	[-8% - 10,2%]	2,9%
Sobrecrec. bacteriano	2	0,40%	[-8,3% - 9,1%]	1,2%
Hepatitis autoinmune	2	0,40%	[-8,3% - 9,1%]	1,2%
Hemocromatosis	2	0,40%	[-8,3% - 9,1%]	1,2%

La distribución de las causas podemos verlas en el siguiente gráfico:

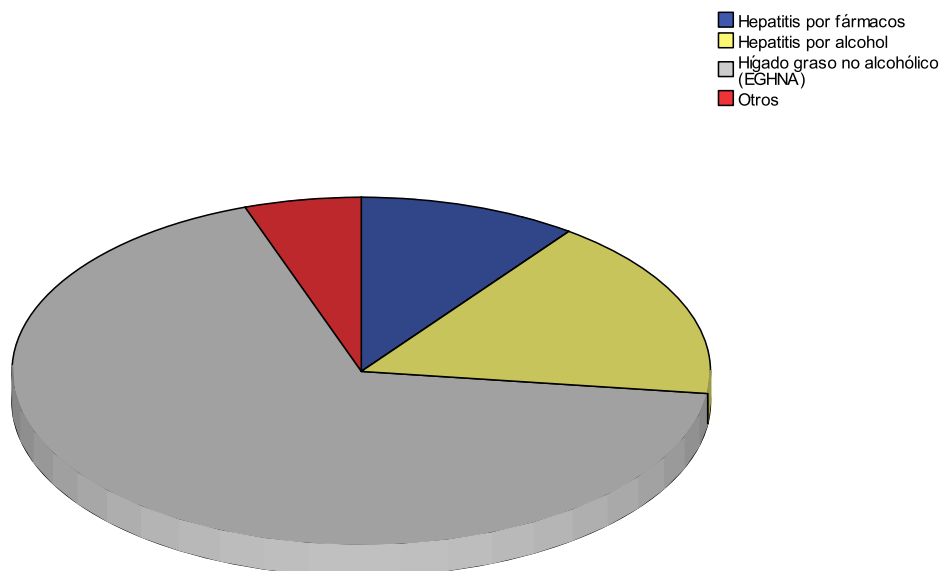


Figura 4.4. Distribución de la enfermedad hepática en la población.

#### 4.2.2. Edad, sexo, distribución rural urbana:

La enfermedad hepática fue más frecuente en nuestro medio en hombres que en mujeres, con 102 casos en hombres (22,7%) frente a 68 en mujeres (15,1%), ( $p=0,001$ ). Las diferencias se debieron fundamentalmente al mayor consumo de alcohol en hombres que en mujeres (23,3 [17,3-

29,4] gramos en los hombres con hepatopatía frente a 2,25 [0,88-3,62] gramos en mujeres con hepatopatía,  $p=0,0001$ ).

La edad es un factor importante en la hepatopatía en general, de modo que la frecuencia de enfermedad hepática aumenta a medida que aumenta la edad ( $p=0,006$ ). La distribución de la enfermedad por edades es la siguiente:

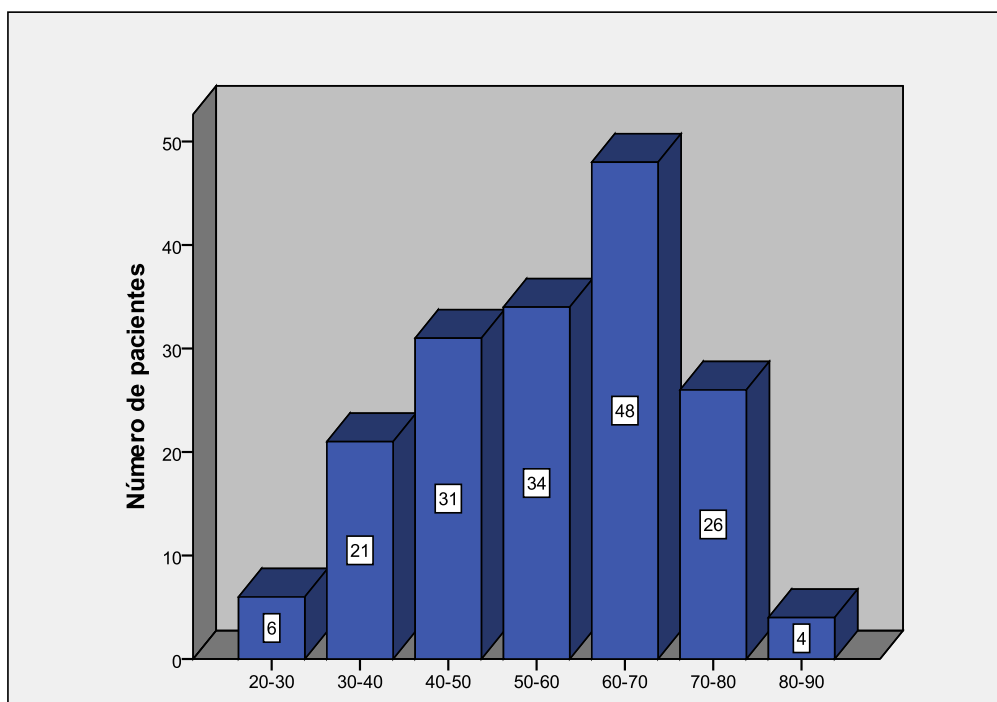


Figura 4.5. Distribución de la enfermedad hepática según segmentos de edad de 10 en 10 años

El pico de prevalencia se dio entre los 60 y 70 años, con notable disminución a partir de ese punto. Probablemente en los grupos de mayor edad pese más el factor fármacos por la polifarmacia a la que muchos se ven sometidos.

La enfermedad hepática se distribuyó de forma homogénea entre zonas rurales y urbanas ( $p=0,612$ ) con 49 enfermos en zona rural y 121 en zona urbana.

### 4.2.3. Enfermedades anteriores, hábitos y parámetros

#### antropométricos (en pacientes con enfermedad hepática):

En la siguiente tabla se encuentra un resumen de las principales características de los pacientes con enfermedad hepática, así como su comparación con la muestra global:

Tabla 4.6. Principales parámetros antropométricos, comorbilidades y hábitos de consumo en pacientes enfermos en comparación con la población general

		Media / Proporción (total de la muestra)	Media / Proporción (enfermedad hepática)	p valor (comparación entre enfermos y población total)
Peso (Media en Kg)	Global	73.16	78 [75,98-80,02]	p=0,0001
	Hombres	80,12	82,5 [80,11-85,05]	
	Mujeres	66,24	71,2 [68,45-74,01]	
IMC	Global	27,2	29 [28,36-29,65]	p=0,0001
	Hombres	27,4	28,56 [27,78-29,33]	
	Mujeres	26,9	29,73 [28,6-30,86]	
PAS		130.44	135,5 [132,94-138,22]	p=0,0001
Perímetro ombligo		93,4	99,14 [97,46-100,81]	p=0,0001
Perímetro cadera		95,9	99,37 [97,93-100,8]	p=0,0001
Índice c-c	Hombres	65% >1	72,55% >1	p=0,0001
	Mujeres	94,2% <1	74,6% <1	
<b>Patologías previas</b>				
HTA		24.3%	35% [27,82-42,17]	p=0,0001
DM tipo 2		8,40%	15% [9,63-20,36]	p=0,0001
<b>Hábitos de consumo</b>				
Alcohol	Global	10,14	14,93 [10,95-18,91]	p=0,011
	Hombres	17,8	23,38 [17,32-29,44]	
	Mujeres	2.5	2,25 [0,88-3,62]	
Tabaco	Nº			p=0,138
	Cigarrillos	12,41	3,24 [2,15-4,32]	
	Hombres	30.5%(68)	2,15 [0,94-3,36]	
	Mujeres	28%(63)	3,98 [2,36-5,60]	
	%			
	Fumadores	29,20%	24,71% [18,22-31,19]]	

Dentro de estos resultados cabe destacar que la mayoría de parámetros relacionados con la resistencia a la insulina, como son el perímetro abdominal, la diabetes y la obesidad se asociaron a enfermedad hepática. Como dato interesante cabe señalar que el nivel de significación entre enfermedad hepática y consumo de alcohol fue menor que el que hay entre enfermedad hepática y los parámetros antropométricos comentados anteriormente.

El consumo de tabaco fue el único parámetro que no se relacionó con la presencia de enfermedad hepática.

#### **4.2.4. Resultados analíticos: Prevalencia y etiología de la hipertransaminasemia**

Para el estudio de la hipertransaminasemia, se asumió como límite superior GOT de 38 UI/l, GPT de 41 UI/l y GGT de 50 UI/l. Estos valores se obtuvieron de los datos utilizados por el laboratorio Central del Hospital Clínico Universitario de Valladolid. No son puntos de corte obtenidos específicamente para el diagnóstico de la EGHNA sino para la enfermedad hepática en general.

23 pacientes tenían la GOT elevada (5,2% [3,12%-7,27]). 46 pacientes presentan elevación de la GPT (10,5% [7,6%-13,3%]), y otros 50 presentaron elevación de la GGT (11,4% [8,4%-14,3%]). Teniendo en cuenta que varios pacientes presentaban elevación de más de una transaminasa, el número de total de pacientes con hipertransaminasemia fue 78. Esto supone una prevalencia de hipertransaminasemia del 17,77% [14,19%-21,34%]. Nueve pacientes que no tenían analítica se consideraron perdidos.

Este porcentaje es elevado, aunque en la mayoría de los casos se trata de hipertransaminasemia leve (GPT media de 25,9 UI/ml [23,6-28,2]).



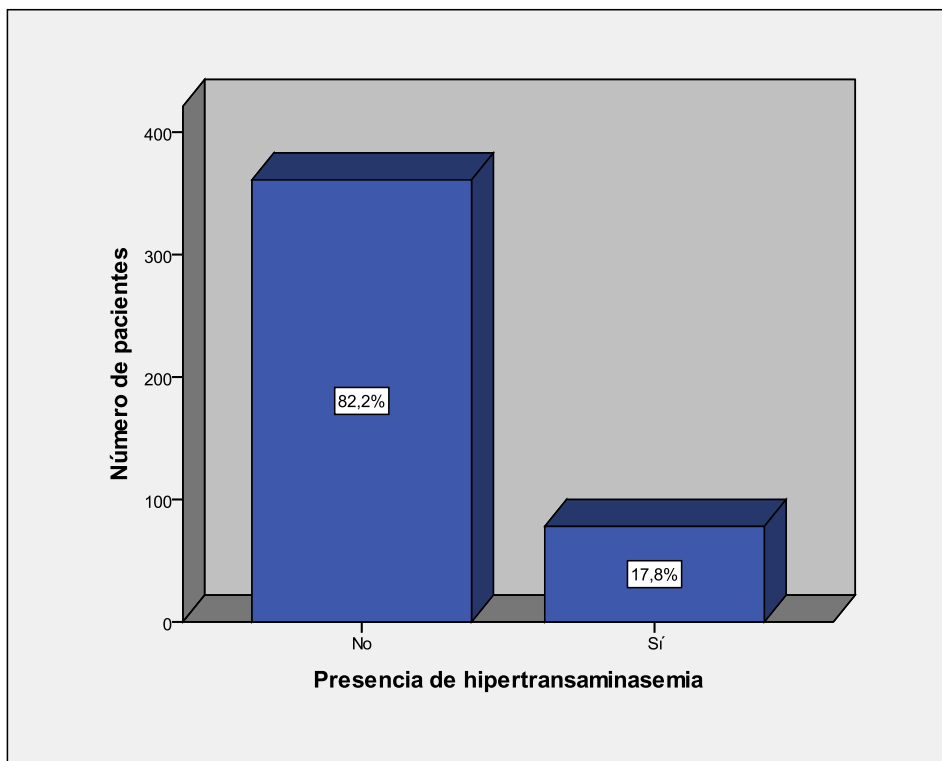


Figura 4.6. Proporción de pacientes con hipertransaminasemia

Las causas de hipertransaminasemia entre estos pacientes se expresan en esta figura:

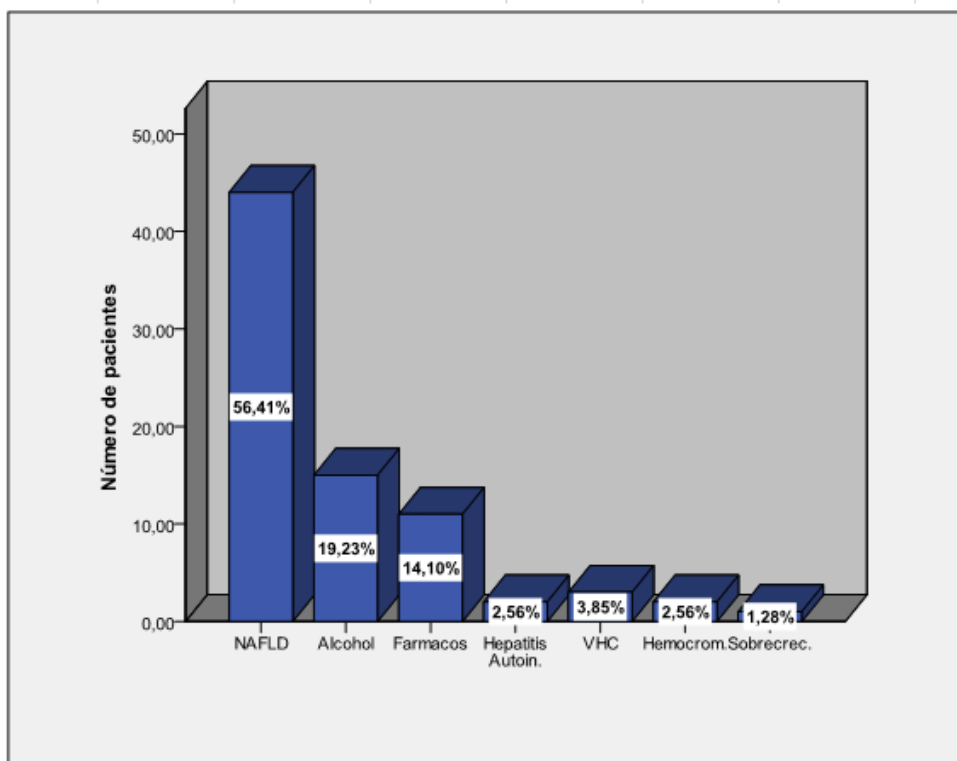


Figura 4.7. Distribución de las causas de hipertransaminasemia

Se encontraron 15 pacientes con elevación de las transaminasas asociado al alcohol. Esto supuso un 3,3% [1,6%-4,9%] de la población, y un 19,2% [10,4%-27,9%] de las causas de hipertransaminasemia.

Otras causas de hipertransaminasemia se resumen en esta tabla:

**Tabla 4.7. Causas de hipertransaminasemia con menor prevalencia**

Causas minoritarias de hipertransaminasemia	Número de pacientes	Porcentaje	IC 95%
Hepatitis B (†)	2	0,6757%	[0,64%-1,9%]
Hepatitis C	5	2,027%	[-0,2%-4,29]
Sobrecrecimiento bacteriano (‡)	2	1,351%	[0,64%-1,9%]
Probable Hemocromatosis (sin estudio genético)*	2	0,6756%	[0,64%-1,9%]

(\*) Entendemos como riesgo de hemocromatosis los pacientes con un IST >45%, con una ferritina > 350, con elevación de transaminasas, y un consumo de alcohol menor de 30 gramos diarios y sin consumo de fármacos.(†) Con antígeno HBs positivo. Ninguno presentó hipertransaminasemia.(‡) En pacientes intervenidos de cirugía tipo Billroth II

En cuanto a la hepatitis medicamentosa, se encontraron en la muestra 11 pacientes, lo que supuso un 2,5% [1,02%-3,88%] de la muestra, y un 14,1% [10,85%-17,35%] de las causas de hipertransaminasemia.

Se consideró hepatitis medicamentosa la presencia de hipertransaminasemia en un paciente en tratamiento con un fármaco hepatotóxico y que no tenía un consumo tóxico de alcohol (menor de 30 gramos diarios).

No se encontró ningún paciente con déficit significativo de alfa 1 antitripsina (<50), ni tampoco de enfermedad de Wilson con disminución de la ceruloplasmina por debajo de 20. Tampoco se encontró ningún caso de hipotiroidismo franco (sí hipotiroidismo subclínico en 6 casos). Ningún paciente fue seropositivo para VIH ni presentaba tampoco Ig M anti VHA.

29 pacientes (el 6,5% [4,12%-8,8%] de la muestra) presentaron autoanticuerpos hepáticos positivos. Estos anticuerpos son ANA, anti LKM, antimúsculo liso, SLA o SLP. Ningún paciente

tenía los AMA o Anti DNA positivos (tampoco LKM). Se consideró sospecha de hepatitis autoinmune cuando los pacientes con autoanticuerpos hepáticos positivos presentan hipertransaminasemia con hipergammaglobulinemia policlonal, y que además presentaban un consumo bajo de alcohol. En nuestra muestra 2 pacientes cumplen estos criterios de hepatitis autoinmune (0,4% [-0,17%-1,063%] de la muestra y el 2,5% [1,1%-4,02%] de las causas de hipertransaminasemia).

Descartando todos los diagnósticos anteriores, se aisló un grupo de 44 pacientes que presentaban hipertransaminasemia “de origen metabólico”, y que se atribuyó a la presencia de hígado graso no alcohólico. Esto supuso un 9,8% [7,06%-12,57%] de la población, y un 56,4% [45,4%-67,4%] de las causas de hipertransaminasemia, lo que demuestra, de acuerdo con otros trabajos previos, que el hígado graso no alcohólico es la causa más frecuente de hipertransaminasemia en los países industrializados.

**Tabla 4.8 Distribución de causas de hipertransaminasemia**

<b>Causas de hipertransaminasemia</b>	<b>N Total</b>	<b>Porcentaje de la muestra</b>	<b>Porcentaje global</b>
<b>EGHNA</b>	44	9,80%	56,40%
<b>Alcohólica</b>	15	3,30%	19,20%
<b>Fármacos</b>	11	2,50%	14,10%
<b>VHB</b>	0	0%	0%
<b>VHC</b>	3	0,70%	3,84%
<b>Sobrecrecimiento bacteriano</b>	1	0,20%	1,28%
<b>Hepatitis autoinmune</b>	2	0,40%	2,56%
<b>Hemocromatosis</b>	2	0,40%	2,56%

#### **4.2.5. Resultados ecográficos: Prevalencia y etiología de la esteatosis hepática**

Del total de pacientes estudiados, 127 presentaban criterios ecográficos de esteatosis hepática. De estos, en cuatro casos la esteatosis se debió a fármacos, lo que supuso un 3,15% [0,11%-6,18%] de

las causas de esteatosis. Se asumió que algunos fármacos (tamoxifeno, estrógenos, amiodarona, DDT y corticoides) eran capaces de producir esteatosis asociada a fármacos.

El 16,54% [10,07% - 22,99%] de los casos de esteatosis (21 pacientes) se asociaba al alcohol. Uno de los pacientes con esteatosis presentaba un perfil compatible con hemocromatosis y otro presentaba un asa ciega con riesgo de sobrecrecimiento bacteriano. Cada uno suponía el 0,787% [-0,74% - 2,32%] de causas totales de esteatosis.

En el resto de casos de esteatosis (100 pacientes), el 78,74% [71,62%-85,86%], fueron secundarios a hígado graso no alcohólico. Esto supuso un 22,32% [18,46%-26,17%] de la población total objeto de estudio presentaba esteatosis teóricamente debida a EGHNA. Este dato es muy importante en la práctica clínica habitual, ya que el hallazgo de esteatosis hepática va a deberse mayoritariamente a la presencia de hígado graso no alcohólico. Si además el paciente no bebe alcohol, sólo queda un pequeño porcentaje residual para pensar en otras etiologías diferentes.

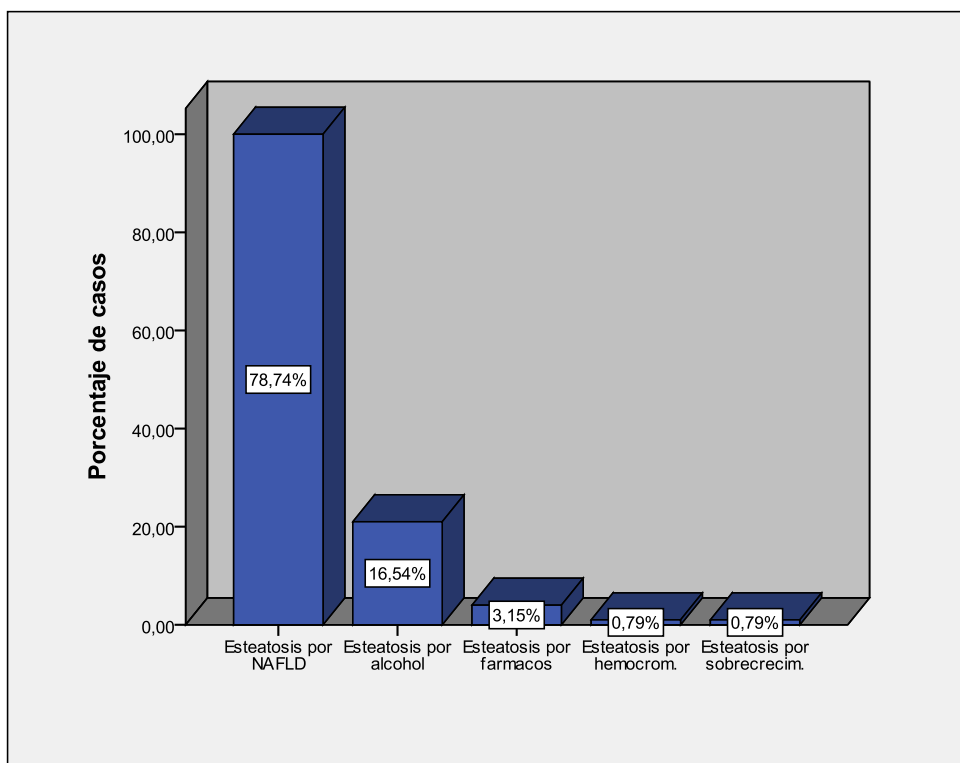


Figura 4.8 Causas de esteatosis en la población

### **4.3. Enfermedades hepáticas diferentes al EGHNA:**

#### **4.3.1 Hepatopatía alcohólica:**

En nuestra muestra existían 28 pacientes con hepatopatía alcohólica, lo que supone un 6,25% [4,01%-8,49%] de la población.

En relación con el consumo de alcohol, no todos los pacientes que presentan consumo de alcohol elevado presentan hepatopatía alcohólica. A pesar de que la asociación estadística entre las variables es muy clara ( $p < 0,001$ ), hay un 4% [2,5%-9,7%] de la población que bebe alcohol en cantidades que consideramos tóxicas, pero no desarrolla hepatopatía.

La hepatopatía alcohólica apareció de forma mucho más frecuente en hombres que en mujeres. Aunque nuestro trabajo sólo tuvo 28 pacientes en este grupo, todos ellos (100%) eran hombres. El predominio en el sexo masculino es indiscutible ( $p < 0,001$ ). Esto se debe a que el consumo de alcohol es mucho mayor en hombres (media de 17,81 [14,4-21,1]) que en mujeres (media de 2,5 [1,5-3,5] gramos diarios), de forma también significativa ( $p < 0,001$ ).

Entre los 60 y los 70 años de edad, se concentró el 53,6% de los casos de hepatopatía alcohólica (recordemos que todos son hombres). En general no hubo más hepatopatía alcohólica según va avanzando la edad ( $p = 0,200$ ). Estos datos sin embargo se deben tomar con cautela, ya que la muestra era pequeña en este subgrupo.

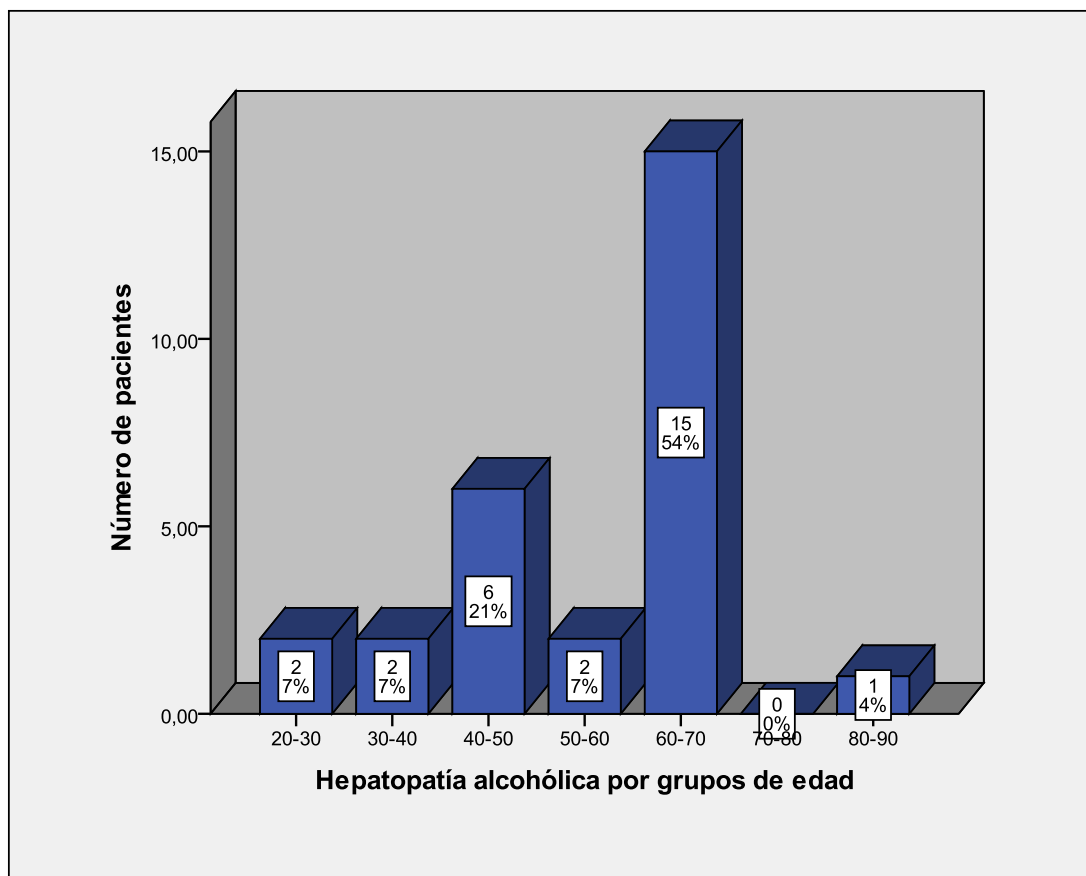


Figura 4.9 .Distribución de la hepatopatía alcohólica por edad

Tampoco hubo diferencias de frecuencia en hepatopatía alcohólica entre el medio rural y urbano ( $p=0,764$ ), y esto se debe a que el consumo de alcohol en gramos es similar en ambas poblaciones ( $p=0,413$ ).

### 4.3.2 Hepatopatía por fármacos

En este grupo se incluyeron pacientes con esteatosis inducida por fármacos y pacientes con elevación de las transaminasas que referían consumo de fármacos, en ausencia de un consumo significativo de alcohol.

Respecto al primer grupo, se encontraron 4 pacientes con esteatosis inducida por fármacos. Uno de ellos por tamoxifeno, otro por corticoides y dos por estrógenos. La presencia de hipertransaminasemia aislada en pacientes que toman fármacos (y no consumen dosis altas de

alcohol) fue bastante más elevada. En total 11 pacientes (el 2,46% [1,02%-3,89%] de la muestra) presentaban elevación de transaminasas de origen farmacológico.

En total 15 pacientes presentaban hepatopatía por fármacos, lo que supone el 3,35% [1,68%-5,01%] de la muestra. Por tanto se trata de una parte significativa de los pacientes con enfermedad hepática. Supone la tercera causa de enfermedad hepática tras el EGHNA y el alcohol, y también la tercera causa de hipertransaminasemia tras EGHNA y alcohol. Suele tratarse de formas leves de enfermedad, con elevación discreta de las transaminasas. En muchos caso no se aprecia en la segunda analítica realizada.

La hepatopatía por fármacos no variaba entre sexos ( $p=0,069$ ), ni tampoco fue mayor al avanzar la edad ( $p=0,097$ ). Este dato en principio podría resultar extraño ya que en principio cabe pensar que el consumo de fármacos hepatotóxicos es mayor al aumentar la edad. Sin embargo hubo un pico de consumo de estos medicamentos hepatotóxicos entre los 50 y los 70 años, para luego disminuir a los 80 y 90 como vemos en el siguiente gráfico:

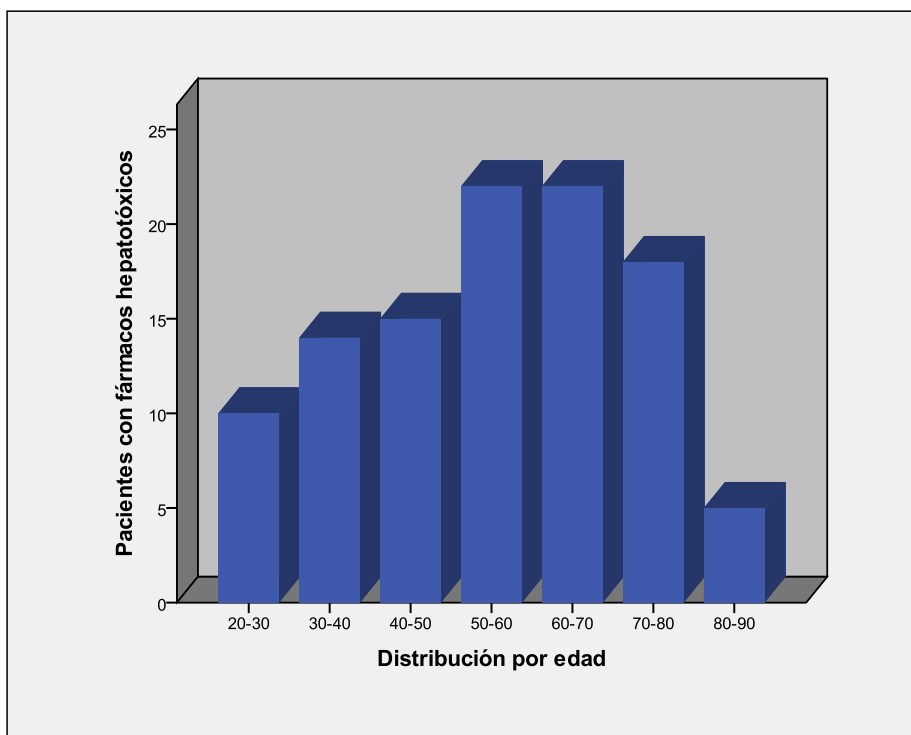


Figura 4.10. Distribución de la hepatopatía medicamentosa por edad.

### **4.3.3. Otras causas de hepatopatía**

Descartadas las tres principales formas de hepatopatía (alcohol, fármacos y EGHNA), que suponen más del 95% de los casos de enfermedad hepática, se encuentran otras formas de enfermedad hepática más raras.

En el estudio se encuentran:

- Dos casos de **hepatitis por VHB**: Prevalencia 0.44% de la muestra
- Cinco caso de **hepatitis por VHC**: Prevalencia 1,12% de la muestra.
- Dos casos **de sobrecrecimiento bacteriano**: Prevalencia 0.44% de la muestra
- Dos casos de **hemocromatosis**: Prevalencia 0.44% de la muestra
- Dos casos **de hepatitis autoinmune**::Prevalencia 0.44% de la muestra

Globalmente estos casos suponen el 2.9% de los casos.

No calculamos el intervalo de confianza porque debido a la N la dispersión habría sido muy grande. Además el diseño del estudio no estaba encaminado a detectar formas raras de hepatopatía, por lo que los datos de prevalencia de estas hepatopatías se deben tomar con cautela.

La prevalencia de hepatitis B estimada ronda el 1-2%, por tanto se encuentra una prevalencia superior a la estimada en esta población. En cuanto a la hepatitis C, su prevalencia en países desarrollados ronda el 1-2%, por lo que la prevalencia encontrada es creíble.

## **4.4. Hígado graso no alcohólico (EGHNA):**

### **4.4.1 Prevalencia. Edad, sexo, distribución rural urbana**

Sumando los pacientes con hipertransaminasemia no explicada por otras causas y los pacientes con esteatosis en la ecografía, una vez descartados fármacos y el alcohol, obtuvimos el total de pacientes con hígado graso no alcohólico.



En nuestro estudio se encontraron 114 pacientes que cumplían estos criterios (de 448 de la muestra), por lo que **la prevalencia del hígado graso no alcohólico es del 25,45%** [21,4%-29,5%].

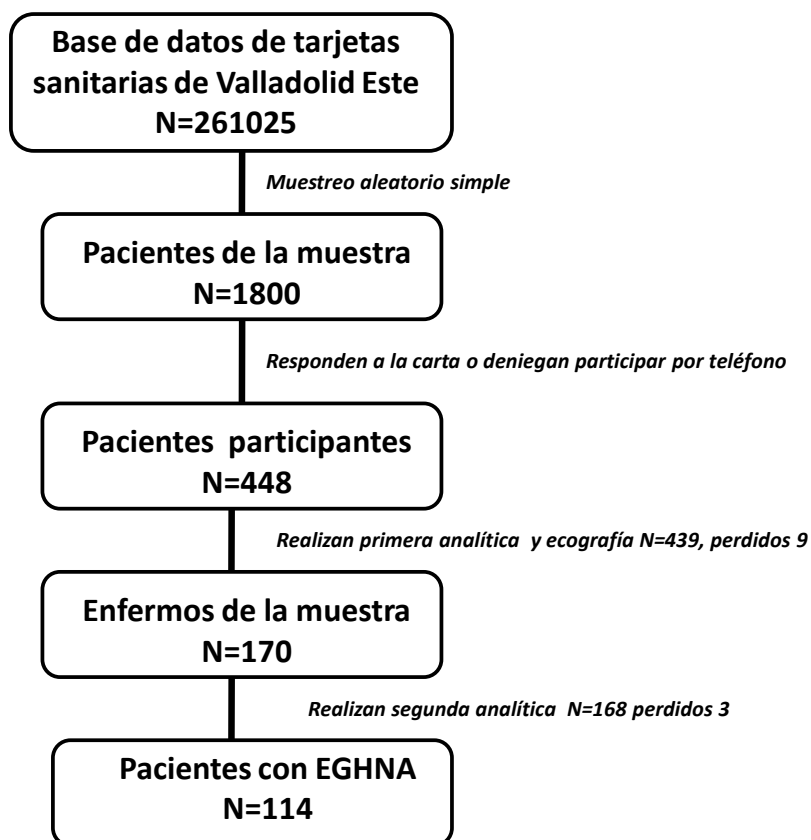


Figura 4.11. Diagrama de flujo de pacientes en el estudio

El hígado graso no alcohólico apareció en todas las edades. El número de pacientes fue menor en edades extremas de la vida, y mayor en las edades medias. La mayoría de los casos se concentraban entre los 50 y los 70 años. En este grupo (52 individuos) se encuentran el 46% [41,4%-50,6%] de los casos. Cuanto mayor es la edad, mayor probabilidad de padecer la enfermedad ( $p=0,006$ ). Esto podría estar en relación, entre otras causas a que la edad modifica el

peso (que es mayor, en edades más avanzadas,  $p < 0,0001$ ), la distribución de la grasa visceral, así como el perímetro abdominal tanto en cadera como en cintura ( $p < 0,0001$ ).

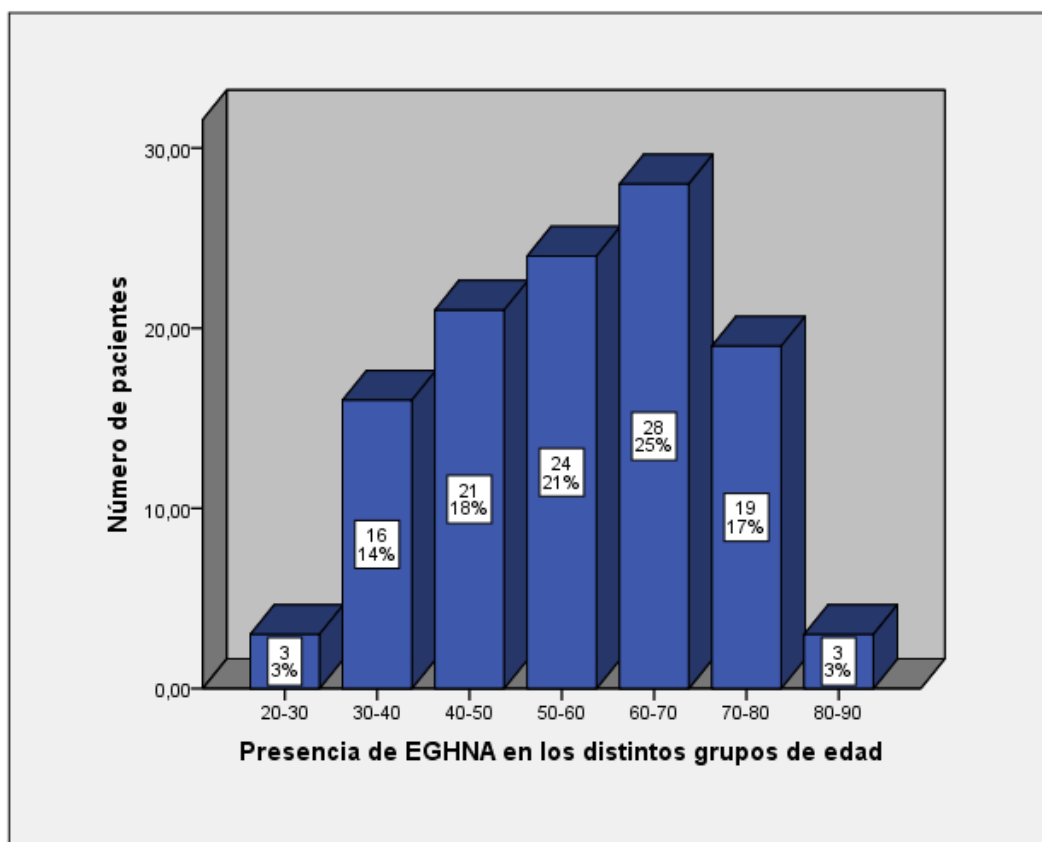


Figura 4.12. Distribución del EGHNA por grupos de edad

La distribución del hígado graso no alcohólico fue similar en hombres y mujeres, sin diferencias importantes entre ellos. Hubo una ligera tendencia hacia un mayor número de hombres (65 hombres frente a 49 mujeres), pero esa diferencia no fue estadísticamente significativa,  $p = 0,073$ . Esto se debe en parte a que no hay diferencia entre el IMC en hombres y mujeres ( $p = 0,205$ ).

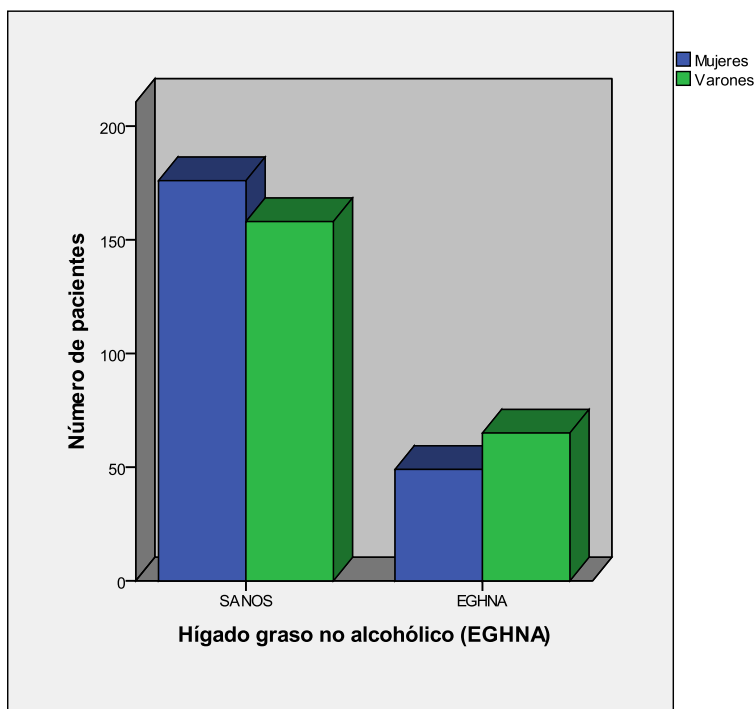


Figura 4.13. Distribución del EGHNA por sexos

No hubo diferencia tampoco en cuanto a la distribución del EGHNA en la ciudad o en zonas rurales ( $p=0,103$ ). Tampoco hubo diferencias de peso entre la población de zona rural y la urbana ( $p=0,289$ ). Esto hace pensar que no hubo grandes diferencias en cuanto a alimentación y hábitos de vida en ambas poblaciones, lo que supone que tampoco hay diferencias en cuanto a sus problemas metabólicos.

#### 4.4.2. Antecedentes personales y hábitos de vida.

Existe asociación entre el EGHNA y la presencia de **DM** ( $p<0,0001$ ), de modo que la frecuencia de EGHNA fue mucho más alta en los pacientes diabéticos que en los que no lo son (52,6% [36,7%-68,5%] frente al 22,9% [18,8%-26,9%] en no diabéticos). Esto demuestra la clara relación entre el EGHNA y la resistencia a la insulina.

También la presencia de EGHNA se asociaba con la presencia de **HTA** ( $p < 0,0001$ ), de modo que el 38,5% [29,3%-47,6%] de los pacientes hipertensos presentan EGHNA, frente al 21,2% [16,8%-25,5%] de EGHNA en los no hipertensos.

Esta asociación apareció tanto para la presión arterial sistólica como la diastólica y la media (ambas de forma significativa,  $p < 0,0001$  para PAS y  $p = 0,001$  para PAD). Así la presión arterial sistólica fue de media 6,9 [3,1-10,7] mm de Hg más alta en los pacientes con EGHNA, la presión arterial media fue de media 4,4 [2,1-6,6] mm de Hg más alta en los pacientes con EGHNA que en los sanos y la PAD fue 3,2 [1,3-5,1] mm de Hg más alta en los que tienen EGHNA.

En los pacientes en los que coincide HTA y DM (26 pacientes) la proporción de EGHNA fue mayor aún, del 57,7% [38,7%-76,6%],  $p < 0001$ .

El **sedentarismo** es un hábito de vida que se relaciona con aumento de peso. Analizando su relación con el EGHNA, se apreció que no hay relación estadística entre ambas variables ( $p = 0,793$ ), de modo que la proporción de EGHNA entre los pacientes sedentarios (26,4% [20,5%-29,7%]) fue muy similar a la encontrada en los no sedentarios (25,1% [18%-34,8%]).

Los **antecedentes familiares de hepatopatía** pueden ser importantes en otros tipos de hepatopatía, pero su importancia no se conoce en el hígado graso no alcohólico. Así en nuestra cohorte la presencia de hígado graso no alcohólico no estaba asociada con tener o no antecedentes familiares de hepatopatía ( $p = 0,065$ ).

#### **4.4.3. Exploración física y parámetros antropométricos**

El peso es uno de los factores más determinantes de la enfermedad, y sobre todo el índice de masa corporal que tiene en cuenta la talla.

Existieron diferencias estadísticamente significativas entre la presencia de EGHNA y el peso ( $p < 0,001$ ). Los pacientes que presentaban EGHNA pesaban una media de 8,2 [5,4-10,9] Kg más que aquellos que no lo tenían.

El porcentaje de obesos en la población global fue del 23,8% [19,8%-27,7%] (total 107 pacientes). Además la media de IMC en la población fue de sobrepeso (27,22[26,83-27,61]).

Respecto a los distintos grados de obesidad, todos los pacientes con obesidad mórbida (con IMC mayor de 40) presentaban EGHNA (100%), los sujetos normales la presentaban en una pequeña proporción (11% [8%-13,9%]), y los pacientes con sobrepeso en un 23,7% [19,6%-27,5%]. Los pacientes con obesidad presentan mayor proporción de EGHNA que los pacientes con sobrepeso 47,1% [42,4%-51,7%].

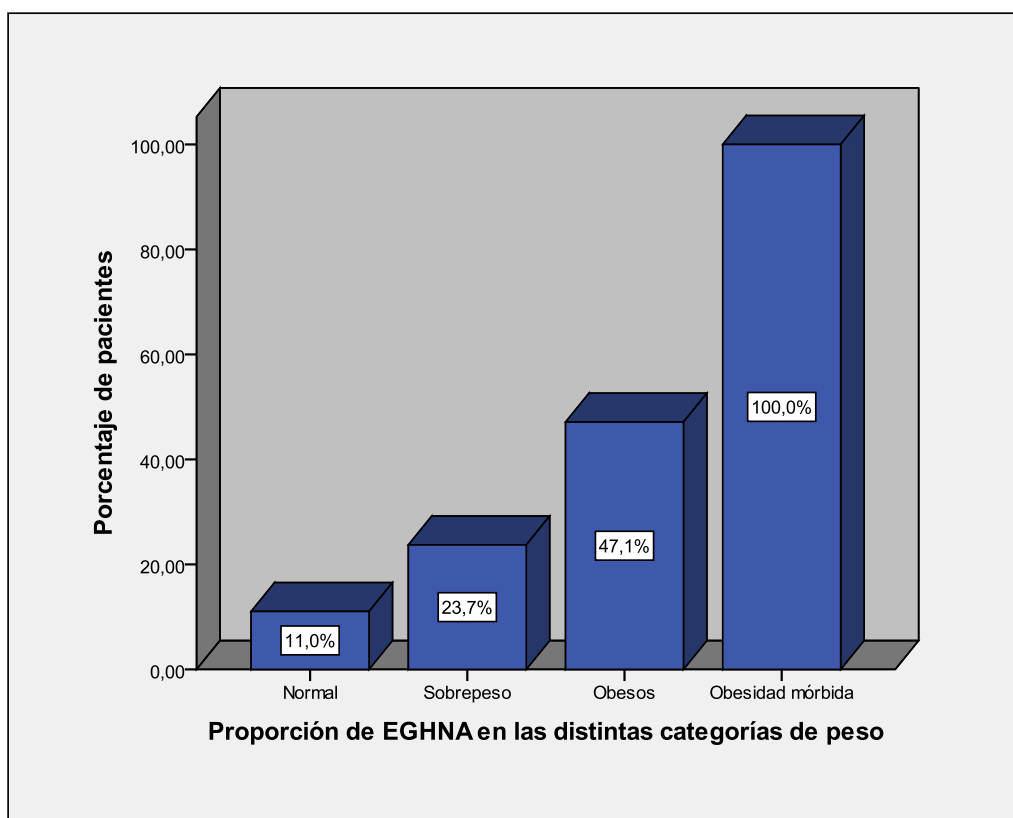


Figura 4.14. Proporción de EGHNA en función de los grupos de peso en la población

No existe en el grupo de pacientes obesos diferencias entre sexos( $p=0,419$ ).La correlación entre el IMC y el índice cintura cadera es solo débilmente positiva en el global de pacientes ( $\rho=0,335$ ,  $p<0,0001$ ).

Según lo esperado, existía asociación estadística entre el **perímetro abdominal en ombligo** y la presencia de EGHNA ( $p<0,001$ ), de modo que de media el perímetro abdominal en el ombligo en los pacientes con EGHNA fue de 9,6 [7,3-11,8] cm más que en los que no padecían la enfermedad.

También hubo asociación estadística entre el **perímetro en las caderas** y la presencia de EGHNA de forma significativa ( $p<0,001$ ).

El **índice cintura-cadera** mayor de 1 se ha relacionado clásicamente con una distribución de la grasa asociado a un mayor riesgo cardiovascular, más frecuente en hombres. En nuestro estudio el índice cintura-cadera fue mayor en los pacientes con EGHNA ( $p<0,0001$ ). La diferencia sin embargo fue pequeña de modo que de media el índice cintura cadera era 0,033 [0,019-0,048] mayor en los pacientes con EGHNA. La media de este índice en los pacientes con EGHNA se acercaba a la unidad (0,99 [0,988-1,011]), aunque no fue superior a uno como cabría esperar en pacientes con síndrome metabólico que presentan un perímetro en ombligo superior al de las caderas. Tampoco en el subgrupo de pacientes obesos ( $IMC>30$ ) se supera de media la unidad (0,991 [0,978-1,001]).

Tabla 4.9. Relación del EGHNA con diferentes parámetros antropométricos.

		Diferencias significativas	Diferencia de medias	p
<b>Peso</b>		Sí	8,2 [5,4-10,9]	p<0,001
<b>Perímetro abdominal en ombligo</b>		Sí	9,6 [7,3-11,8]	p<0,001
<b>Perímetro abdominal en caderas</b>		Sí		p<0,001
<b>Índice cintura cadera</b>		Sí	0,033 [0,019-0,048]	p<0,001
<b>DM tipo 2</b>	No	Sí	22,9% [18,8%-26,9%]	p<0,001
	Sí		52,6% [36,7%-68,5%]	
<b>HTA</b>	No	Sí	21,2% [16,8%-25,5%]	p<0,001
	Sí		38,5% [29,3%-47,6%]	
<b>Sedentarismo</b>	No	No	25,1% [18%-34,8%].	p=0,793
	Sí		26,4% [20,5%-29,7%]	
<b>Antecedentes familiares de hepatopatía</b>		No		

La DM, HTA, sedentarismo y antecedentes familiares se expresan en forma de prevalencia de EGHNA dentro de ese grupo concreto. El peso, perímetro abdominal e índice c-c se expresan en forma de aumento o disminución de la media en pacientes con EGHNA frente a los controles respecto a ese parámetro.

#### 4.4.4. Resultados analíticos

##### 4.4.4.1 Metabolismo glucídico y resistencia a la insulina. Relación con el Síndrome metabólico.

El EGHNA se asociaba a situaciones de resistencia a la insulina, y cabía esperar que la glucemia fuera mayor en este grupo. La media de glucemia en el grupo de EGHNA fue de 114,4 [108,5-120,3] mg/dl, y en los pacientes sin EGHNA fue de 100,5 [98,8-102,2] mg/dl (p<0,0001). Por lo tanto la media de glucemia en los pacientes con EGHNA se encontraba en rango de intolerancia a los hidratos de carbono.

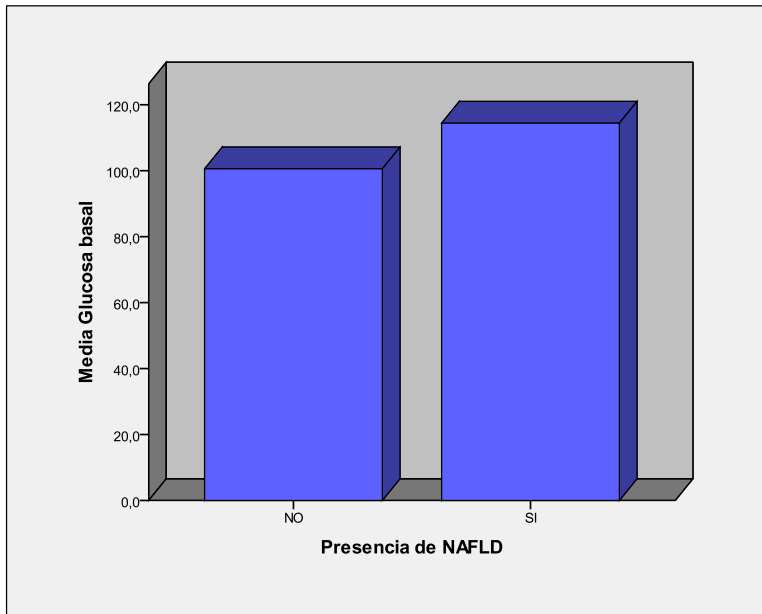


Figura 4.15. Media de glucosa en mg/dl en pacientes con y sin EGHNA

La insulina basal se relaciona con la síntesis de TAG a partir de ácidos grasos libres. Esto favorece la acumulación de grasa en el hígado e induce esteatosis. El análisis confirmó esta teoría obteniéndose una media de insulina en los pacientes con EGHNA superior a la de los pacientes que no lo tenían (diferencia de medias 1,94 mU/ml [0,19-3,70]), ( $p=0,002$ ).

La hemoglobina glicosilada, como expresión de las medidas de glucemia en los últimos 3 meses se debía relacionar también de forma teórica con la presencia de EGHNA. De este modo la media de HbA1C fue un 0,306% [0,038%-0,575%] mayor en el grupo de EGHNA que en el sano ( $p=0,004$ ).

Por último, podemos medir la resistencia a la insulina de forma directa a partir de la glucosa basal y la insulina basal, utilizando el HOMA (Homeostasis Model Assessment).



Se calcula tanto el HOMA a partir de las fórmulas estándar como el HOMA 2 a partir del modelo matemático de la universidad de Oxford disponible en internet (<http://www.dtu.ox.ac.uk/homacalculator/index.php>).

Los pacientes presentaban diferencias estadísticamente significativas entre la presencia de EGHNA y la resistencia a la insulina, medida bien sea por el HOMA-IR (insulin resistance) como por el HOMA S% (porcentaje de sensibilidad a la insulina).

El HOMA2-IR fue de media 0,28 [0,26-0,54] puntos mayor en pacientes con EGHNA que en los que no lo tenían. También el HOMA-IR presentaba asociación con el EGHNA ( $p < 0,001$ ).

El HOMA2-%S mide la sensibilidad a la insulina, y en nuestros pacientes la media de porcentaje de sensibilidad a la insulina fue un 25,9% [10,8%-41%] mayor en pacientes que no padecían EGHNA frente a aquellos enfermos que sí lo padecían.

Los únicos parámetros del HOMA que no se relacionaron con la presencia de EGHNA fueron el HOMA2-B% ( $p = 0,678$ ) y el HOMA %B ( $p = 0,729$ ). Su significado es el funcionamiento en porcentaje de las células beta. Esto se puede atribuir inicialmente a que el porcentaje de pacientes diabéticos era relativamente pequeño y a que el deterioro significativo de las células beta aparece en la diabetes avanzada, pero en mucha menor medida en el EGHNA o el síndrome metabólico, donde en ocasiones existe un aumento de la actividad de las células beta .

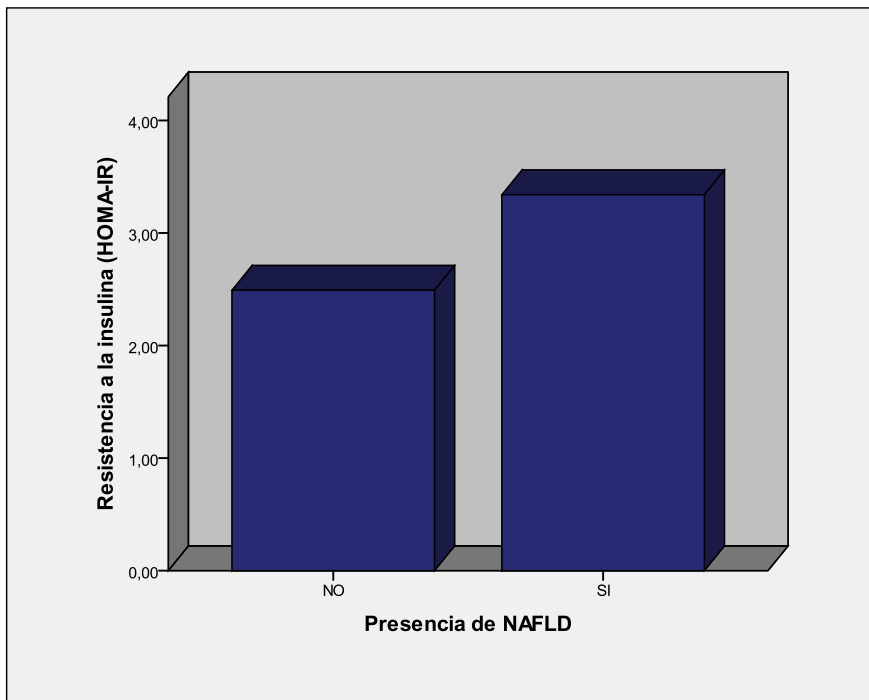
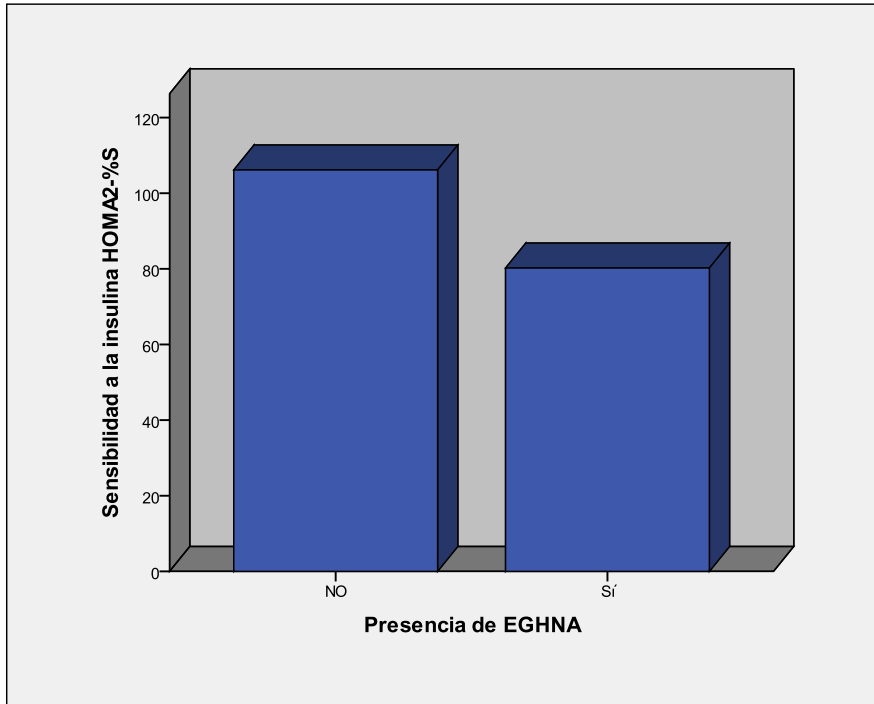


Figura 4.16. Resistencia a la insulina expresada en HOMA-IR y HOMA %S en pacientes con presencia y ausencia de EGHA. El HOMA %S se mide en porcentaje. El HOMA-IR es un número.

El péptido C también está en relación con la reserva funcional de las células beta al igual que el expresado en el HOMA2-B%. De forma análoga, en la muestra, el péptico C fue algo menor

de media en los pacientes con EGHNA que en los que no lo padecían, pero con diferencias que no llegan a ser estadísticamente significativas ( $p=0,096$ ).

### **Relación del hígado graso no alcohólico y el síndrome metabólico:**

El hígado graso no alcohólico se ha considerado como la manifestación hepática del síndrome metabólico. Por ello no es de extrañar que exista entre ambas una íntima relación, o se consideren como una parte del espectro de la misma enfermedad.

Llama la atención que el 73% [68,8%-77,1%] de los participantes presentaba algún criterio diagnóstico de síndrome metabólico. Aún sin llegar a síndrome metabólico, hubo un 24,3% [20,3%-28,2%] de pacientes que presentaban 2 criterios diagnósticos, y un 28,8% [24,6%-32,99%] que presentaba un solo criterio diagnóstico.

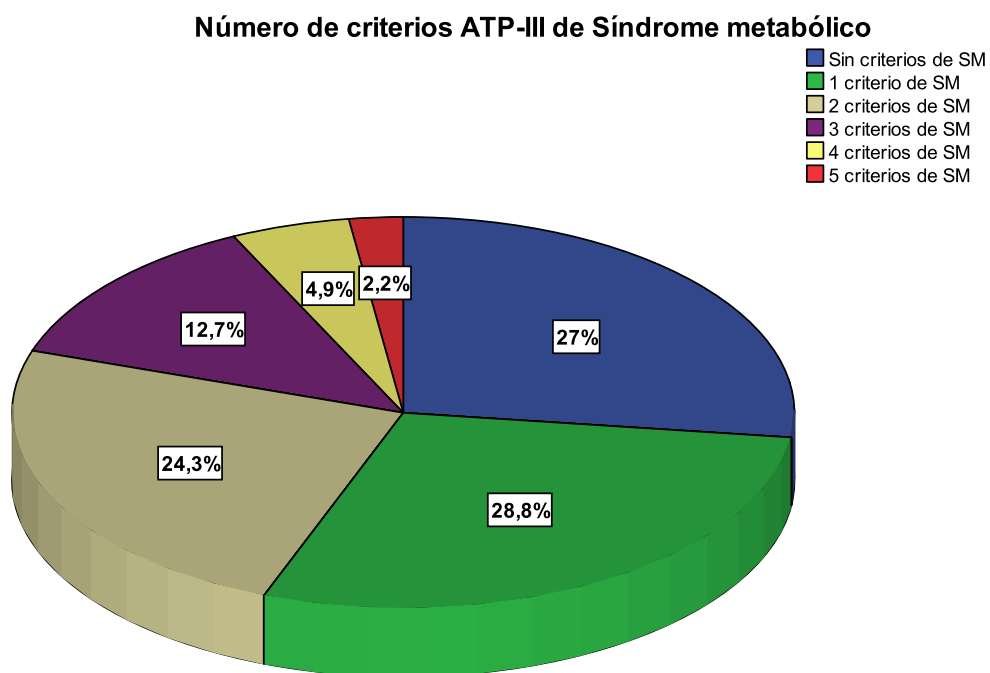


Figura 4.17. Distribución de la población en función del número de criterios de síndrome metabólico.

Dentro de los criterios que conforman el síndrome metabólico, no todos tienen la misma importancia como podemos apreciar en la figura 4,16:

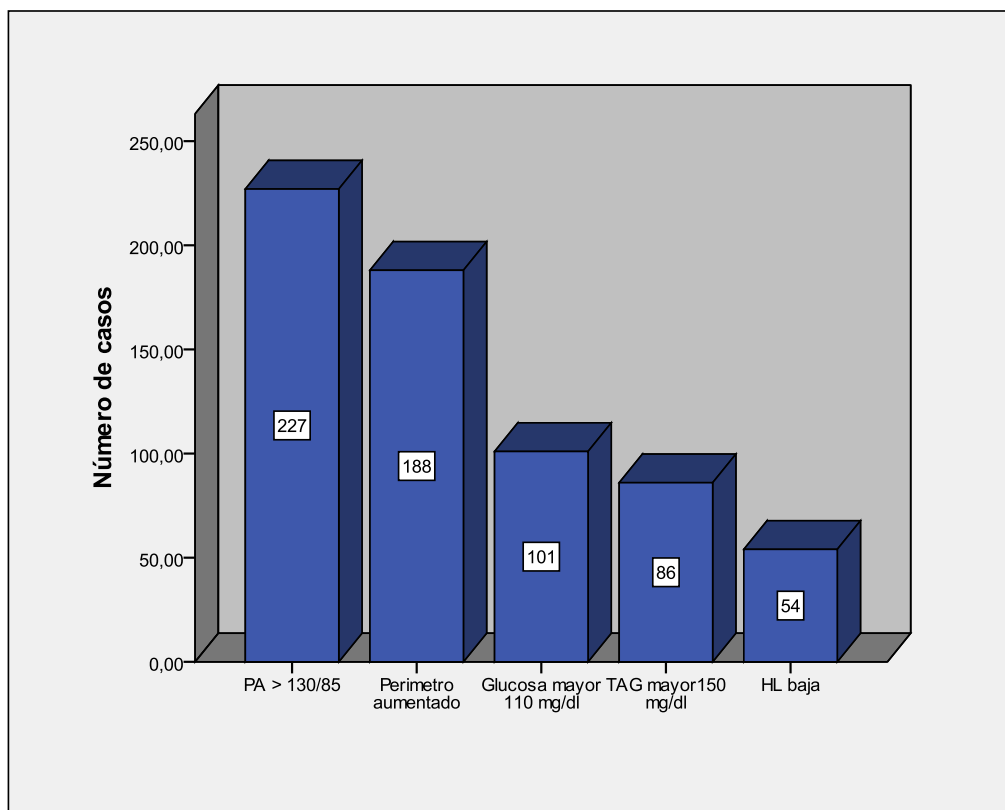


Figura 4.18. Frecuencia de cada uno de los criterios diagnósticos en la población

El análisis de los resultados de los pacientes demostró que el **síndrome metabólico** aparece en el **19,9% [16,6%-23,57%]** de los casos de nuestro estudio.

El siguiente paso es estudiar si existió relación entre el hígado graso no alcohólico y la presencia del síndrome metabólico.

A medida que aumentaba el número de criterios diagnósticos de síndrome metabólico era más probable que un paciente padeciera EGHNA ( $p < 0,0001$ ).

De este modo, un paciente que no tuviera ningún criterio diagnóstico de síndrome metabólico, sólo tenía una probabilidad de tener EGHNA en un 8,3% [3,38%-13,2%]. En el extremo opuesto, un paciente que cumpliera los 5 criterios de síndrome metabólico, tenía EGHNA en un 90% [71,4%-108,5%] de los casos. Entre estos extremos se podía ver en la siguiente figura cómo el aumento del número de criterios diagnósticos aumentaba la probabilidad de hígado graso no alcohólico:

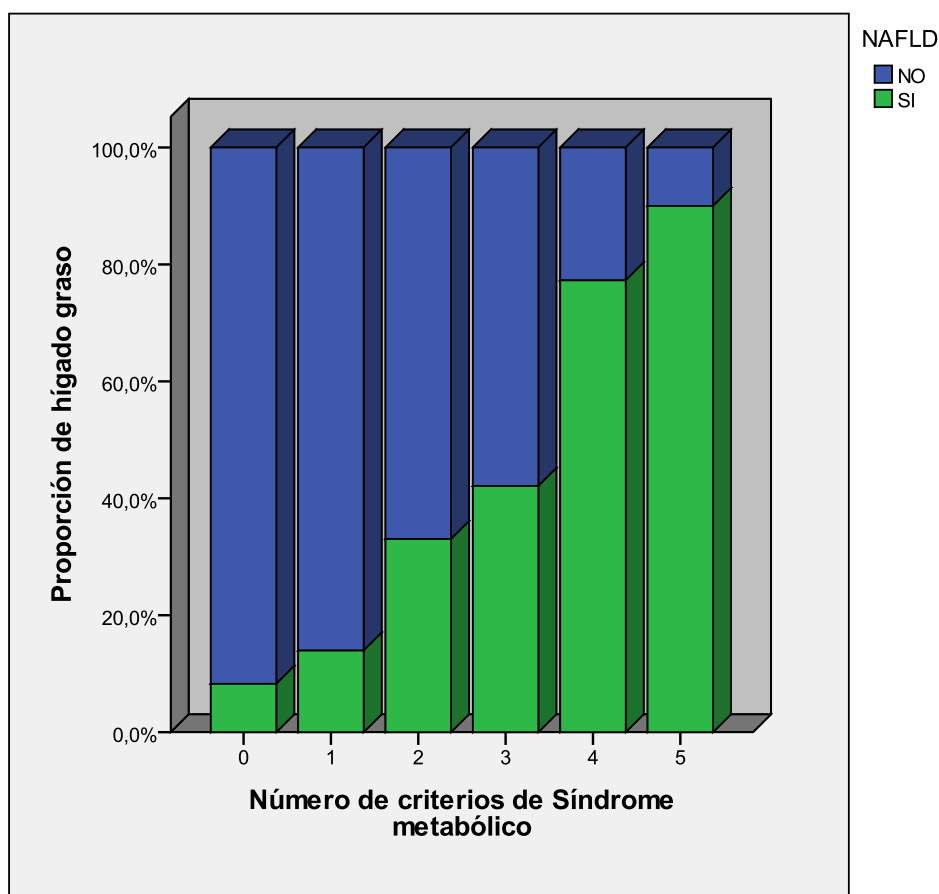


Figura 4.19. Proporción de pacientes con EGHNA en función del número de criterios de síndrome metabólico que cumplen

Valorando si existía o no síndrome metabólico, hubo una relación estadística clara entre presencia de síndrome metabólico y proporción de hígado graso ( $p < 0,0001$ ). Los pacientes sin síndrome metabólico presentaban una proporción de EGHNA del 17,8 % [11,8%-23,7%], mientras

que los pacientes con síndrome metabólico tenían una proporción de EGHNA alta del 56,2 % [45,8%-66,5%].

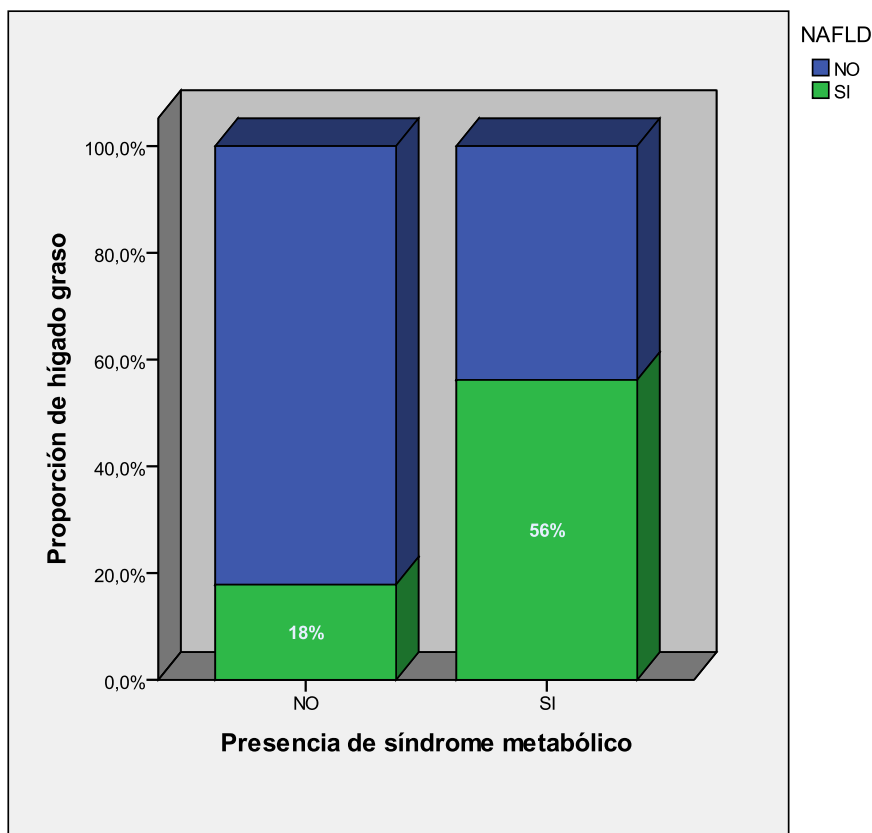


Figura 4.20. Proporción de EGHNA en pacientes con y sin Síndrome metabólico

Aunque la proporción de EGHNA en los pacientes con síndrome metabólico es alta, el número absoluto de pacientes con EGHNA que no tiene síndrome metabólico fue mucho mayor como podemos ver en esta tabla:

Tabla 4.10. Número de pacientes con presencia o ausencia de EGHNA en función de si tienen o no síndrome metabólico.

Síndrome metabólico	EGHNA	Ausencia de EGHNA
SÍ	50 (56,2%)	39 (43,8%)
NO	64 (17,8%)	295 (82,2%)

#### 4.4.4.2. Metabolismo lipídico

Los TAG fueron más altos en los pacientes con EGHNA que en los sanos. De este modo, la media de TAG en la muestra de pacientes con EGHNA fue de 152,1 [132,9-171,3] mg/dl y en los sanos fue de 102,8 [96,7-108,9] mg/dl ( $p < 0,0001$ ).

Además, el análisis estadístico mostraba que las diferencias encontradas se relacionaban con el peso mayor en los pacientes con EGHNA (medido por el IMC). Para este análisis se estudió por separado la relación entre TAG y presencia de EGHNA en el grupo de pacientes con peso elevado ( $p < 0,001$ ), y posteriormente la relación entre TAG y presencia de EGHNA en el grupo de pacientes con peso no elevado ( $p = 0,078$ ).

Los TAG se asociaron a la presencia de EGHNA en el grupo de pacientes con IMC alto, pero no en el grupo de IMC bajo.

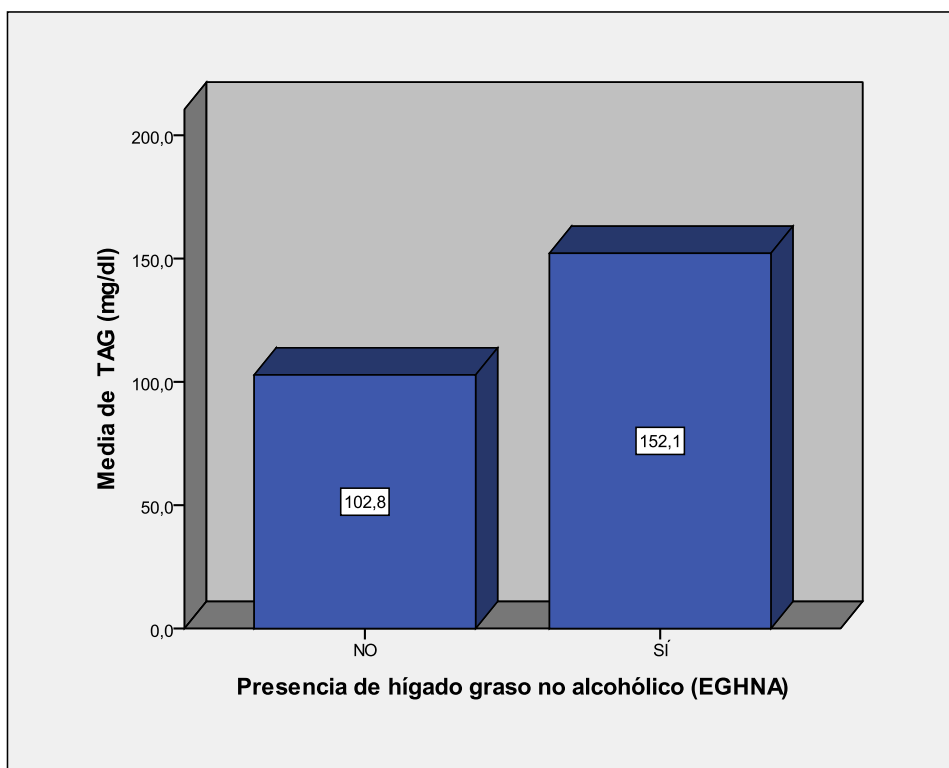


Figura 4.21. TAG medidos en mg/dl en pacientes con y sin EGHNA

La cirugía bariátrica se aplica a pacientes con obesidad mórbida y por tanto en ellos la frecuencia de hígado graso es muy alta. En nuestro estudio no se encontró relación significativa entre la presencia de hígado graso no alcohólico y la cirugía bariátrica porque sólo hubo un paciente con cirugía bariátrica ( $p=0,559$ ).

En cuanto al **colesterol**, la influencia es menor desde el punto de vista teórico, aunque su alteración se puede asociar a otros trastornos de las lipoproteínas en las dislipemias mixtas. No se encontró asociación estadística entre las cifras de colesterol y la presencia o no de hígado graso. La media de colesterol fue similar en ambos grupos (EGHNA=209,5 [202,01-217,09] mg/dl, No EGHNA=203,9 [200,06-207,82] mg/dl  $p=0,167$ ).

Si analizamos las **fracciones del colesterol** LDL y HDL, vemos que las cifras de LDL no tenían asociación con la presencia de hígado graso. Las LDL fueron similares en el grupo del hígado graso y en el control ( $p=0,756$ ).

Las HDL colesterol deberían ser menores en el EGHNA al ser un factor que define el síndrome metabólico según los criterios de la ATP-III. Sin embargo, no se detectó dicha asociación y los niveles de HDL son prácticamente idénticos en los pacientes con EGHNA que en los sanos ( $p=0,107$ ), con diferencia de medias de -3,5 [-7,9 – 0,76] mg/dl.

#### **4.4.4.3. Metabolismo férrico**

La sideremia es una variable que se relacionaba con múltiples factores, por lo que fue difícil relacionarla con un único factor como el EGHNA. No se ha encontrado asociación entre la sideremia y la presencia de EGHNA, de modo que no hubo diferencia estadísticamente significativa en las cifras medias de sideremia entre los pacientes con EGHNA y los sanos ( $p=0,128$ ).



La transferrina es la principal proteína transportadora de hierro, y se relacionó con la ferropenia, pero también disminuía en situaciones de malnutrición. Debido posiblemente a esta dependencia de múltiples factores, no hubo asociación estadística entre los niveles de transferrina y la presencia de EGHNA ( $p=0,257$ ).

Tanto el índice de saturación de transferrina como la ferritina son indicadores del grado de sobrecarga de hierro, y si la sobrecarga de hierro influye en la patogenia del EGHNA, debería existir asociación entre IST y presencia de EGHNA.

En la muestra sin embargo tampoco hubo asociación estadística entre IST y presencia de EGHNA ( $p=0,575$ ), de modo que la media de IST fue superponible en los dos grupos.

Sin embargo la ferritina sí que se asociaba con la presencia de EGHNA, de modo que la media de ferritina en el grupo de EGHNA fue de 160,19 [131,1-189,2] ng/ml y en los sanos de 112,8 [100,6-124,9], ( $p<0,0001$ ).

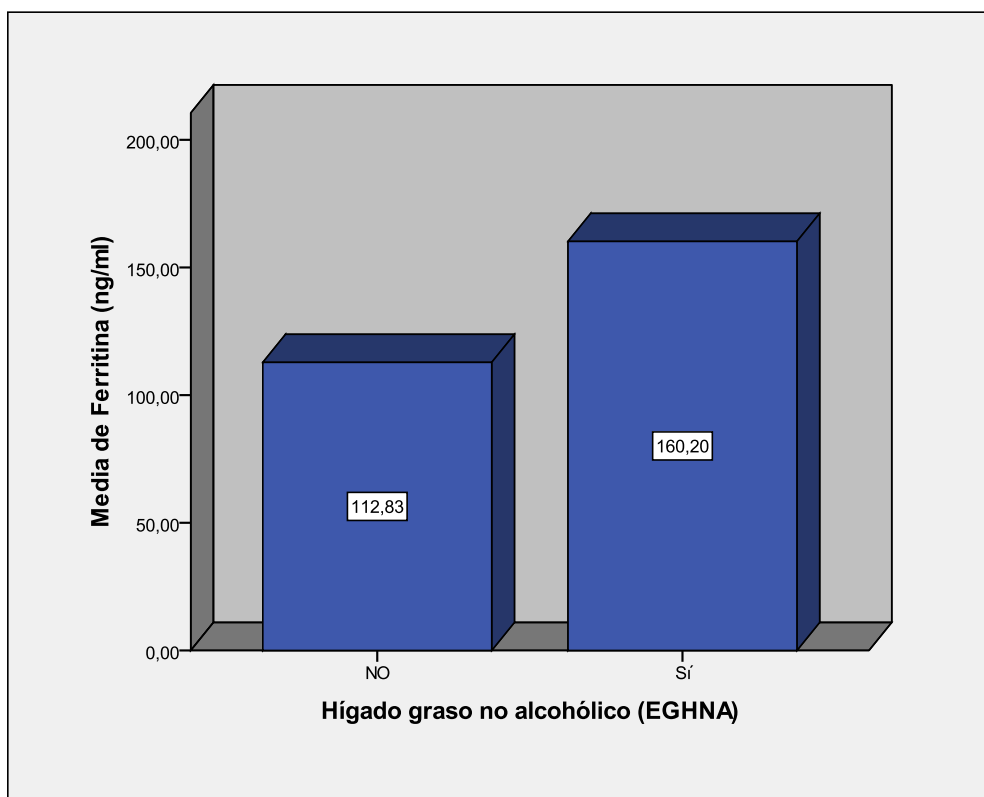


Figura 4.22. Media de ferritina en ng/ml en pacientes con y sin EGHNA

Los valores medios de ferritina fueron mucho más elevados en el grupo de enfermos que en el de sanos ( $p < 0,0001$ ), de modo que es 47,36 [15,9-78,7] ng/ml más alta de media en el grupo de pacientes enfermos frente a los sanos. La ferritina estaba aumentada no sólo en el hígado graso no alcohólico, sino en todas las enfermedades hepáticas de forma general.

#### 4.4.4.4. Enzimas hepáticas

La hipertransaminasemia de origen no aclarado tras descartar otras causas de hipertransaminasemia conocida se asumió que se debía a hígado graso no alcohólico. Por esto es lógico que los niveles de transaminasas fueran mayores en pacientes con EGHNA (forma parte de la definición de la enfermedad).

Por separado, la GOT se relaciona con la presencia de hígado graso ( $p < 0,0001$ ). La media de GOT en la muestra de EGHNA fue de 29,03 [24,3-33,7] mientras que en la de sanos de 21,49 [20,4-22,5] UI/ml.

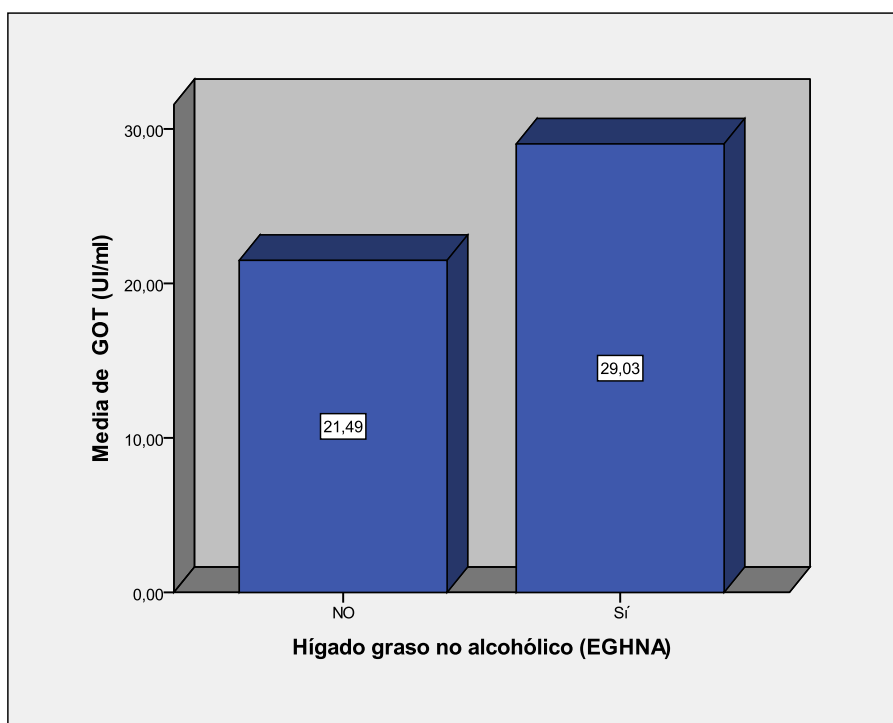


Fig. 4.23. Distribución de GOT en pacientes con y sin EGHNA

La GPT también se asociaba al hígado graso (p<0,0001), de modo que la media de GPT en el grupo de pacientes con EGHNA fue de 38,2 [31,1-45,4] y en sanos de 21,8 [20,1-23,4]

La relación GOT/GPT se asociaba con la presencia de EGHNA de forma estadísticamente significativa (p<0,0001). De forma clásica se dice que la relación GOT/GPT menor de 1 se relaciona con el EGHNA. En el estudio se confirmó que la relación GOT/GPT fue menor en los pacientes con EGHNA que en los demás. En el grupo de EGHNA la media fue 0,93 [0,75 – 1,11]. En el resto de pacientes la media fue de 1,11 [1,07-1,16]. Esta tendencia se expresa en la siguiente figura:

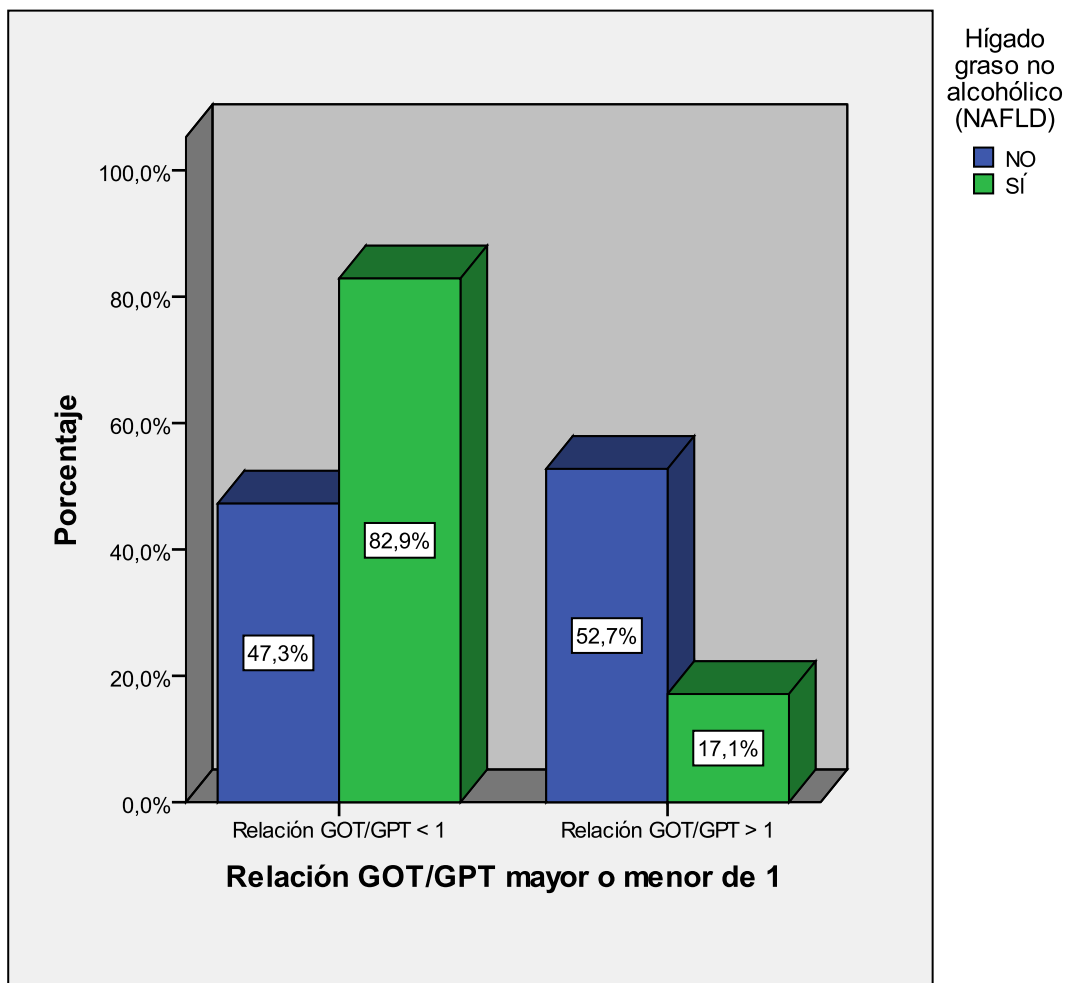


Figura 4.24. Comparación de la relación GOT/GPT en los pacientes con y sin EGHNA.

Si se analiza si la relación GOT/GPT es mayor o menor de 1, se apreciaba que la mayoría de los pacientes con EGHNA tienen una relación GOT/GPT menor de 1 (el 82,9% [75,9%-89,8%]). Dentro de los pacientes sin hígado graso, aproximadamente la mitad tenían este índice mayor de 1 y la mitad menor de 1 (47,3% [41,9%-52,6%] vs 52,7 % [47,3%-58%]). Este claro predominio de GOT/GPT baja en los pacientes con EGHNA es estadísticamente significativo ( $p < 0,0001$ ).

La GGT también se relacionó de forma clara a la presencia de EGHNA, de modo que se apreciaba que ambas variables se correlacionaban ( $p < 0,0001$ ). La media de GGT de la muestra en pacientes con EGHNA fue de 45,85 [31,8-59,8] UI/ml y en pacientes sin EGHNA de 29,5 [25,1-34] UI/ml.

La GGT proporciona resultados diferentes atendiendo al consumo de alcohol. En este caso el consumo de alcohol no fue mayor en los pacientes con EGHNA que en el resto de la población ( $p = 0,08$ ), de modo que las diferencias en la GGT no se pueden atribuir al alcohol.

Sin embargo si comparamos los niveles de GGT en los pacientes con EGHNA con la de los pacientes con hepatopatía alcohólica, vemos que la GGT fue muy superior en los pacientes con hepatopatía por alcohol (de media 84,07 [43,79-124,35]) que en el EGHNA (de media 45,85 [31,83-59,87]). Además estas diferencias fueron estadísticamente significativas ( $p = 0,001$ ).

Los otros parámetros del perfil hepático (bilirrubina total, amilasa y fosfatasa alcalina) no se relacionaron con la presencia de EGHNA de forma estadísticamente significativa si bien en el caso de la fosfatasa alcalina se observó una tendencia a la significación estadística .

Tabla 4.11. Media, desviación típica y correlación del EGHNA con la bilirrubina, amilasa y fosfatasa alcalina.

Media	Desviación típica	P	
Bilirrubina total	0,59	0,5	0,329
Amilasa	73,2	91,8	0,874
Fosfatasa alcalina	64,9	19,6	0,077

#### 4.4.4.5. Otros parámetros bioquímicos.

**La alfa 1 antitripsina** se encontraba disminuida en distintas hepatopatías. En el caso del EGHNA, la media de A1AT fue inferior a la de los pacientes sin EGHNA de forma estadísticamente significativa ( $p=0,038$ ). La A1AT fue 8,36 [4,6-16,2] mg/dl inferior de media en el grupo de EGHNA.

Esta disminución de la A1AT que se encontró en los pacientes con EGHNA no aparecía de forma general en todos los pacientes con hepatopatía ( $p=0,186$ ). De forma teórica se puede interpretar que niveles menores de alfa1 antitripsina se relacionan con una mayor producción de radicales libres y disminución de su capacidad tampón en estos pacientes.

**La ceruloplasmina** también fue significativamente inferior en el grupo de EGHNA que en los participantes sin hígado graso ( $p=0,016$ ). De media la ceruloplasmina fue 2,03 [0,37-3,6] U/l inferior en los pacientes con EGHNA que en los que no lo padecen.

**La homocisteína** fue un marcador de riesgo vascular que se ha relacionado con enfermedades cardiovasculares como puede ser el ictus. Por tanto se podría plantear si existe o no relación con el hígado graso no alcohólico.

No hubo relación estadísticamente significativa entre el hígado graso no alcohólico y la homocisteína ( $p=0,504$ ). Los niveles de homocisteína se correlacionaban de forma importante de los niveles de vitamina B12 ( $p<0,0001$ ) y ácido fólico ( $p<0,0001$ ). Tampoco se ha encontrado relación entre los niveles medios de B12 y ácido fólico en sangre con la presencia de hígado graso no alcohólico. (Para folato,  $p=0,319$ . Para B12,  $p=0,630$ ).

Los niveles de **urato** fueron mayores en los pacientes con EGHNA que en los sanos. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ( $p<0,0001$ ).

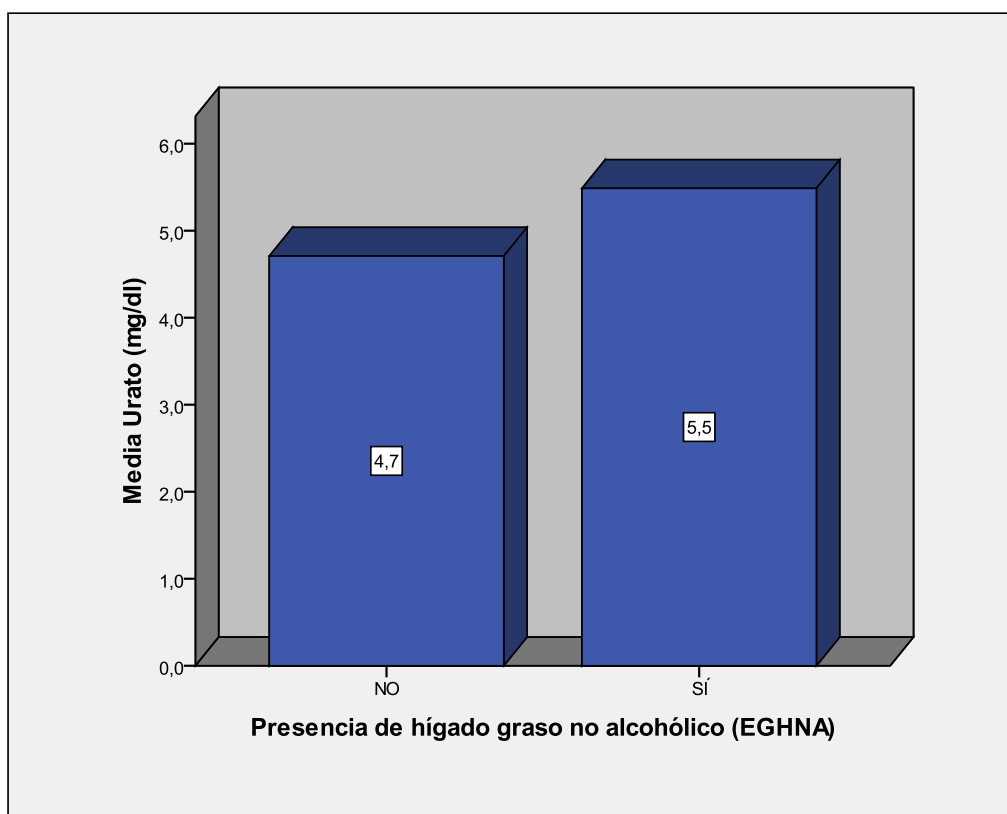


Figura 4.25. Distribución del urato en los pacientes con y sin EGHNA

El urato se considera relacionado con el síndrome metabólico, aunque no forma parte de los criterios diagnósticos de la enfermedad. En la muestra se confirmó esta relación ( $p<0,0001$ ),

de modo que la media de urato en los pacientes con síndrome metabólico de la muestra fue de 5,48 [5,26-5,71] mg/dl, y de 4,68 [4,5-4,8] mg/dl en los que no lo tenían.

Otros parámetros analíticos que no tienen relación con el EGHNA se pueden resumir en esta tabla:

Tabla 4.12. Relación del EGHNA con algunos parámetros bioquímicos habituales.

<b>Variable en relación con el EGHNA</b>	<b>p valor</b>	<b>Diferencia de medias</b>
<b>Hipergammaglobulinemia (%)</b>	<b>0,107</b>	<b>-0,47 [-1,05-0,109]</b>
<b>TSH U/ml</b>	<b>0,745</b>	<b>0,07 [-0,39-0,55]</b>
<b>T4L UI/ml</b>	<b>0,197</b>	<b>-0,72 [-1,82-0,37]</b>
<b>Plaquetas/mm<sup>3</sup></b>	<b>0,591</b>	<b>-998,1 [-13614-11618]</b>
<b>Proteínas totales mg/dl</b>	<b>0,823</b>	<b>0,01 [-0,08-0,103]</b>
<b>PCR UI/l</b>	<b>0,557</b>	<b>0,519 [-1,62-2,66]</b>
<b>Homocisteína mmol/l</b>	<b>0,504</b>	<b>0,14 [-0,5- 0,87]</b>
<b>Alfa 1 antitripsina mg/dl</b>	<b>0,038</b>	<b>-8,36 [-4,6-16,2]</b>
<b>Ceruloplasmina UI/ml</b>	<b>0,016</b>	<b>2,03 [-0,37-3,6]</b>

La diferencia de medias expresa la diferencia de la media en los pacientes con EGHNA frente a los controles

#### 4.4.5. Resultados ecográficos

##### 4.4.5.1. Grado de esteatosis

Se puede analizar si existe asociación entre el grado de esteatosis en la ecografía y distintos parámetros que ya hemos visto que se relacionan con el EGHNA en nuestro estudio. De este modo, al menos de forma teórica, a mayor grado de esteatosis, mayor gravedad de la enfermedad y mayor asociación con parámetros relacionados con el EGHNA.

Se encontró asociación entre el grado de esteatosis en la ecografía y la presencia de Síndrome metabólico, de modo que al aumentar el grado de esteatosis en la ecografía, aumentó la

prevalencia del síndrome metabólico ( $p < 0,0001$ ). Esto es lógico en vista de los resultados que hemos visto previamente que relacionan la presencia de hígado graso con el síndrome metabólico.

Así, el porcentaje de síndrome metabólico es bajo si hay ausencia de esteatosis en eco, y de más del 50% si la esteatosis es moderada o severa. Esto lo podemos ver en la siguiente tabla:

**Tabla 4.13. Relación entre el grado de esteatosis en la ecografía y la presencia de Síndrome metabólico**

		Presencia de Síndrome metabólico	
		NO	SÍ
Grado de esteatosis	Ausente	293 (91,6%)	27 (8,4%)
	Leve	48 (57,1%)	36 (42,9%)
	Moderada	16 (40%)	24 (60%)
	Severa	2 (50%)	2 (50%)

Los pacientes con síndrome metabólico tenían esteatosis en un 69,66% de los casos en la muestra.

Además se analizó cómo aumentaba el grado de esteatosis a medida que aumentaba el número de criterios de síndrome metabólico:



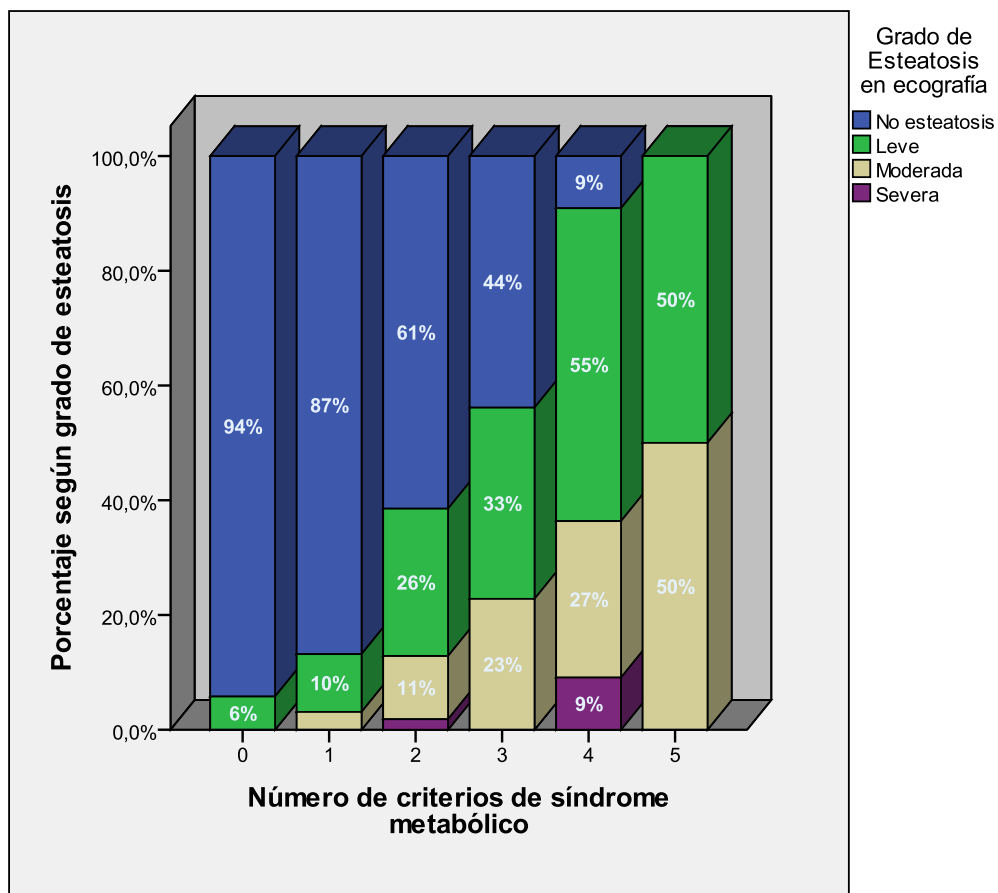


Figura 4.26. Progresión del grado de esteatosis a medida que aumenta el número de criterios de Síndrome metabólico

En general puede observarse que cuando no había ningún criterio de síndrome metabólico la mayoría de pacientes no tenían esteatosis, y que en cambio cuando se cumplían cuatro o cinco criterios, casi todos los pacientes tenían esteatosis. Además el grado de esteatosis fue mayor cuantos más criterios se cumplían, con lo que cuando se cumplían 5 criterios la mitad de los pacientes tenían esteatosis moderada o severa [19%-80,9%], y si se cumplían 4, el 81,8% [65,6%-97,9%] presentaba esteatosis moderada o leve, y sólo un 9% [-2%-21,1%] no tenía esteatosis. Esta asociación entre las dos variables además fue estadísticamente significativa ( $p < 0,0001$ ).

Esto confirma la asociación entre la presencia de hígado graso no alcohólico y el número de criterios de síndrome metabólico por un lado, y nos dice que el grado de esteatosis en la ecografía

es un factor a tener en cuenta a la hora de ver la probabilidad de síndrome metabólico de un paciente (factor predictor).

El grado de esteatosis en la ecografía se relacionó también con la resistencia a la insulina (HOMA-IR, HOMA2-IR y HOMA2-%S).

Así, el HOMA-IR se asoció con el grado de esteatosis de forma estadísticamente significativa ( $p=0,006$ ). Esto significaba que a medida que aumentaba el grado de esteatosis la resistencia a la insulina era mayor. En el análisis Post Hoc se pudo ver si había diferencias entre los distintos grupos, y se apreciaba que el HOMA-IR no era significativamente superior en los pacientes con esteatosis moderada frente a ligera ( $p=0,095$ ). Tampoco en los pacientes con esteatosis severa frente a leve o moderada, seguramente porque el número de pacientes con esteatosis severa era pequeño. La única diferencia que se confirmaba era el mayor HOMA-IR en pacientes con esteatosis moderada frente a pacientes con ausencia de esteatosis ( $p=0,011$ ). De este modo, aunque la media de HOMA-IR era mayor al aumentar el grado de esteatosis, en el análisis post Hoc sólo se confirmaban diferencias entre algunos subgrupos como vemos en esta tabla:

**Tabla 4.14 Análisis Post Hoc de ANOVA utilizando test de Tukey que compara el HOMA-IR entre los distintos grados de esteatosis.**

Comparación del HOMA-IR según el grado de esteatosis del paciente		p valor
Grado de esteatosis	Frente a grado:	
Sin esteatosis	Leve	0,526
	Moderada	0,000
	Severa	0,097
Esteatosis leve	Moderada	0,006
	Severa	0,248
Esteatosis moderada	Leve	0,000
	Severa	0,937
Esteatosis severa	Leve	0,097
	Moderada	0,248

El HOMA2-%S fue diferente en los distintos grados de esteatosis, y estas diferencias entre grados fueron más marcadas que en el caso del HOMA-IR. Al igual que el HOMA-IR proporcionó diferencias estadísticamente significativas con el grado de esteatosis ( $p < 0,0001$ ). El análisis Post Hoc demostró que existe diferencia significativa entre los valores de HOMA2\_%S entre la esteatosis leve y la moderada ( $p = 0,002$ ). También entre la esteatosis leve y la severa ( $p = 0,008$ ). No se confirmó esta diferencia significativa en el caso de la esteatosis moderada frente a severa ( $p = 0,308$ ).

El HOMA2-IR dio una idea similar al HOMA-IR respecto a sus diferencias en distintos grados de esteatosis ( $p < 0,001$ ), y confirmó los resultados obtenidos por el HOMA-IR en este aspecto. Los valores concretos de la  $p$  en el análisis post Hoc lo podemos ver en la siguiente tabla:

**Tabla 4.15. Análisis Post Hoc de ANOVA que compara el HOMA2-IR y el HOMA2-%S en los distintos grados de esteatosis.**

Comparación del HOMA2%S según el grado de esteatosis del paciente		p valor	Comparación del HOMA2-IR según el grado de esteatosis del paciente		p valor
Grado de esteatosis	Frente a grado:		Grado de esteatosis	Frente a grado:	
Sin esteatosis	Leve	0,277	Sin esteatosis	Leve	0,633
	Moderada	0,000		Moderada	0,000
	Severa	0,000		Severa	0,078
Esteatosis leve	Moderada	0,002	Esteatosis leve	Moderada	0,004
	Severa	0,008		Severa	0,184
Esteatosis moderada	Leve	0,002	Esteatosis moderada	Leve	0,004
	Severa	0,308		Severa	0,902
Esteatosis severa	Leve	0,008	Esteatosis severa	Leve	0,184
	Moderada	0,308		Moderada	0,902

El grado de esteatosis también se relacionó con el nivel de TAG, de modo que los niveles de TAG fueron mayores cuanto mayor era el grado de esteatosis ( $p < 0,0001$ ). A modo de ejemplo, la media de TAG fue 72 [42,4-101,6] mg/dl mayor en los pacientes con esteatosis moderada que en

los que no tienen esteatosis ( $p < 0,0001$ ), o de 56,4 [25,1-87,7] mg/dl mayor en la esteatosis leve que en los pacientes sin esteatosis ( $p < 0,0001$ ).

#### 4.4.5.2. LOE hepáticas

##### Colelitiasis:

La colelitiasis fue más frecuente en pacientes con EGHNA que en los que no tenían la enfermedad ( $p = 0,048$ ). Así dentro de los pacientes con colelitiasis, la mitad 6 (50%) [21,7%-78,2%] tenían EGHNA, mientras que los que no presentaban colelitiasis sólo lo tenían el 25% [20,9%-29%].

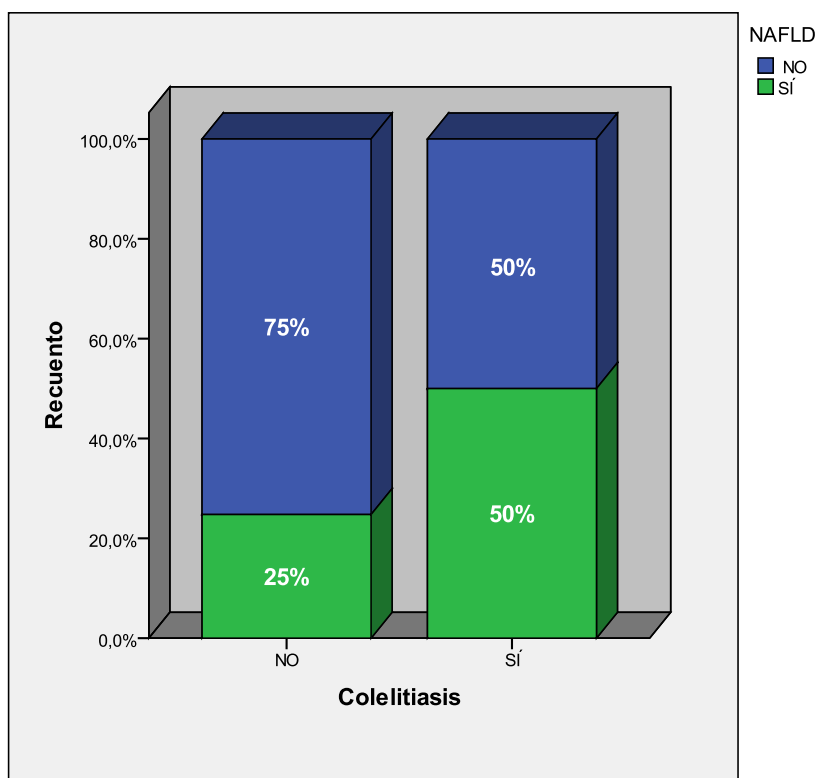


Figura 4.27. Proporción de EGHNA en pacientes con colelitiasis

Al analizar la presencia de colelitiasis en relación con parámetros del metabolismo lipídico y la resistencia a la insulina se apreciaba que no hay diferencia entre la media de triglicéridos en los

pacientes con colelitiasis con respecto a los que no lo tenían ( $p=0,693$ ). Tampoco hubo diferencia de la media de HOMA 2-IR entre pacientes con colelitiasis respecto a los que no la presentaban ( $p=0,6$ )

**Tabla 4.16. Relación entre la colelitiasis y los TAG y HOMA-IR**

	TAG	HOMA-IR	p-valor
Colelitiasis	102	2,42	0,693
Ausencia de colelitiasis	115,6	3,05	0,687

### Otras alteraciones ecográficas en forma de LOE hepáticas:

**Tabla 4.17. Proporción de distintas alteraciones encontradas en la ecografía y su relación estadística con el EGHNA**

LOE	Global en el estudio		Dentro de los pacientes con EGHNA		p- valor
	n (%)	IC 95%	n (%)	IC 95%	
Quiste simple	33 (7,37%)	[4,94% - 9,79%]	8 (7,0%)	[2,31%-11,6%]	0,869
Angioma	26 (5,8%)	[3,3% - 7,9%]	6 (5,3%)	[1,18%-9,41%]	0,775
Colelitiasis	12 (2,68%)	[1,18% - 4,18%]	6 (5,3%)	[1,18%-9,41%]	0,048
Pólipos colesterol	5 (1,12%)	[0,14% - 2,09%]	2 (1,8%)	[-0,64%-4,2%]	0,452
Granuloma	5 (1,12%)	[0,14% - 2,09%]	1 (0,9%)	[-0,83%-2,60%]	0,779

Ninguna de estas LOE se relacionó con la presencia de hígado graso no alcohólico de forma significativa salvo en el caso de la colelitiasis.

## **4.5. Propuesta de un modelo clínico de predicción del EGHNA a partir del análisis multivariante: NAFLD Score.**

Consiste en la creación de un modelo que se utiliza para identificar factores que influyen en la aparición de nuestra variable de estudio.

A partir de la variable dependiente presencia o ausencia de hígado graso no alcohólico se establecen variables independientes para predecir la probabilidad de tener hígado graso no alcohólico por regresión logística. Según el peso de estas variables independientes se construye un score clínico que predice presencia o ausencia de enfermedad.

#### 4.5.1. Variables potenciales para incluir en el modelo:

Lo primero que se debe hacer es establecer qué variables influyen en el modelo (variables independientes). Para ello se parte de las variables que tienen relación estadísticamente significativa con la variable de estudio en el análisis bivariante. Las variables que presentan asociación estadística con la presencia de hígado graso no alcohólico en nuestro estudio son las siguientes:

Tabla 4.18. Variables candidatas a formar parte del modelo multivariante a partir del análisis bivariante.

Variables que presentan relación estadísticamente significativa con EGHNA en el análisis bivariante			
Edad	(p=0,006)	HOMA2 %S	(p<0,0001)
Perímetro abdominal en cadera y cintura	(p<0,0001)	TAG	(p<0,0001)
Índice cintura-cadera	(p<0,0001)	Ferritina	(p<0,0001)
Peso	(p<0,0001)	GOT	(p<0,0001)
Presencia de DM	(p<0,0001)	GPT	(p<0,0001)
Presencia de HTA	(p<0,0001)	Relación GOT/GPT menor de 1	(p<0,0001)
Presión arterial sistólica	(p<0,0001)	GGT	(p<0,0001)
Presión arterial diastólica	(p<0,0001)	Alfa 1 antitripsina	(p=0,038)
Glucemia	(p<0,0001)	Ceruloplasmina	(p=0,016)
Insulina basal	(p=0,002)	Urato	(p<0,0001)
Hemoglobina glicosidada	(p=0,004)	Nº de criterios de S. metabólico	(p<0,0001)
HOMA-IR	(p<0,0001)	Grado de esteatosis en la ecografía	(p<0,0001)
HOMA2-IR	(p<0,0001)	Presencia de colestiasis	(p=0,048)

En total se trata de 26 variables que se relacionaron con el EGHNA. Introducir todas las variables juntas en un análisis multivariante hace que se tengan en cuenta las interacciones de

efecto de las distintas variables entre sí, así como su relación con la variable dependiente. Se debe construir con el número mínimo de variables que son capaces de explicar la presencia de EGHNA.

El siguiente paso consiste en realizar una regresión logística simple con cada una de las 26 variables significativas.

#### **4.5.2. Selección de puntos de corte para la regresión logística:**

Todas las variables se transforman en dicotómicas a partir de variables numéricas para que su interpretación sea más clara e informativa a través de la Odds ratio. Si la variable es numérica la Odds ratio obtenida se interpreta como cuantas veces más probable es tener EGHNA si se tiene un determinado número  $n$  en esa variable frente a si se tiene  $n-1$  de esa variable (ej. Cuantas veces más probable es tener EGHNA si se tiene una glucemia de 121mg/dl sobre si se tiene una glucemia de 120 mg/dl).

Para transformar las variables numéricas en dicotómicas se selecciona un punto de corte que separa dos categorías, una mayor y otra menor que dicho punto de corte. El criterio utilizado para cada variable es diferente. Aunque existen múltiples criterios clínicos para utilizar puntos de corte en enfermedades relacionadas con el EGHNA como el síndrome metabólico y la diabetes, no hay ningún criterio específico para el hígado graso no alcohólico. Por tanto el punto de corte o bien se extrapola de enfermedades parecidas (ej. Síndrome metabólico), o bien se extrae de las curvas ROC. No se puede establecer un criterio prefijado porque como los puntos de corte obtenidos por la clínica son por extrapolación de otras enfermedades, y en ocasiones no son significativos para el EGHNA.

Las variables transformadas a dicotómicas (y los puntos de corte elegidos) fueron:

### **Perímetro de la cintura:**

El perímetro de la cintura es una variable poco útil teniendo en cuenta que hay importantes diferencias entre hombres y mujeres. A este efecto es más adecuado definir una nueva variable que es el perímetro de la cintura en riesgo de padecer EGHNA.

Esta nueva variable se obtiene de determinar qué pacientes tienen una cintura suficientemente elevada como para suponer riesgo de EGHNA. Este riesgo es distinto en hombres y en mujeres. A partir de las curvas COR con sus correspondientes coordenadas se selecciona el punto de corte óptimo para separar EGHNA de sanos en función del perímetro de la cintura.

El corte óptimo está en 95,5 cm en hombres (sensibilidad 72,3% y especificidad 56,3%) y 92,5 cm en mujeres (sensibilidad 73,5% y especificidad 69,1%). A partir de estos puntos de corte se construye la variable perímetro en riesgo de la cintura de padecer EGHNA. Esta nueva variable ya es dicotómica y se utiliza directamente en la regresión logística simple. El 45,98% [41,3%-50,5%] de la población tiene un perímetro abdominal en cintura en riesgo de padecer EGHNA.

### **Perímetro de la cadera:**

Al igual que ocurre con el perímetro de la cintura, en la cadera las diferencias también son importantes entre hombres y mujeres, y el riesgo de padecer EGHNA en función de este perímetro es también distinto en hombres y mujeres, por lo que se calcula la nueva variable “pacientes con perímetro de la cadera en riesgo de EGHNA”. Para ello se realiza un procedimiento análogo al anterior en la cintura.

De este modo el perímetro de cadera en riesgo para EGHNA es aquel mayor de 92,5 cm (sensibilidad 73,8% y especificidad 44,9%) en hombres y 98,5 cm (sensibilidad 69,4% y



especificidad 65.7%) en mujeres. Esta nueva variable supone un perímetro de cadera en riesgo de EGHNA en un 51,1% [46,4%-55,7%] de la población.

**Índice cintura cadera:** Aunque una posibilidad es utilizar como punto de corte el 1, ya que el índice cintura cadera mayor de uno se asocia con la presencia de síndrome metabólico por extrapolación, se opta por valorar el punto de corte óptimo en hombres y mujeres para EGHNA según las curvas COR y luego definir una nueva variable: Índice cintura cadera en riesgo de padecer EGHNA. Los puntos de corte seleccionados son 1,035 en mujeres (sensibilidad 52,3% y especificidad 68,4%) y 0,9357 en hombres (sensibilidad 69,4% y especificidad 60%). Esto supone que la nueva variable índice cintura cadera con riesgo de EGHNA afecta al 49,3% [44,7%-53,9%] de la población.

**Peso:** Se aplica la curva COR correspondiente para EGHNA, y se obtiene como punto de corte los 74,2 Kg, con una sensibilidad del 60,5% y especificidad del 61,6%

**Presión arterial sistólica:** No se ha definido ningún valor de referencia de la presión arterial sistólica para el hígado graso no alcohólica. Por extrapolación se puede utilizar el punto de corte de 130 mm de Hg por ser el utilizado como criterio en el síndrome metabólico o bien el de 140 mm de Hg por ser el utilizado en la HTA.

Las cifras de 130 se superponen con el punto de corte óptimo obtenido en la curva COR de 129.5 mm Hg. Para este punto se obtiene una sensibilidad del 65,8% y especificidad del 57,8%. Sin embargo los valores obtenidos en la regresión logística simple usando este punto de corte de 130 mm de Hg no fueron significativos, por lo que se decide usar como punto de corte el límite para hipertensión arterial de 140 mm de Hg (según la curva COR este punto de corte tiene una sensibilidad del 29,8% y especificidad del 82%).

**Presión arterial diastólica:** Se selecciona como punto de corte 85 mm de Hg por ser el utilizado en los criterios diagnósticos del síndrome metabólico. Este punto tiene una sensibilidad del 32,3% y especificidad del 76,9%.

**Glucosa:** El punto de corte de acuerdo con la curva COR es de 103,5 mg/dl, siendo la otra alternativa 110 mg/dl (criterio de síndrome metabólico). El punto que mejor explica el modelo (coeficiente de determinación mayor y devianza menor) es el de 103 mg/dl, aunque la OR es ligeramente superior (3,4 vs 3,3) si se usa el punto de corte 110 mg/dl. Se opta por el punto de corte que mejor explica el modelo (por tanto 103 mg/dl). A este punto corresponde una sensibilidad del 61,3% y una especificidad del 48,1%

**Insulina basal:** Como no hay datos de referencia clínica para establecer un punto de corte únicamente el corte se basa en la curva COR. El punto de corte seleccionado es de 9,5 mU/ml. A este punto corresponde una sensibilidad del 60,2% y una especificidad del 65,4%.

**Hemoglobina glicosilada:** No se puede utilizar el punto de corte de 6,5% diagnóstico de diabetes, porque el hígado graso, que se relaciona con la diabetes, aparece en estadios previos a su desarrollo. Según la curva COR, el punto de corte con mayor sensibilidad y especificidad es de 5,75%. Comparando este valor con el de 6% y 6,5%, el punto de corte 5,75% explica mejor el modelo y tiene una Odds ratio mayor, por lo que se utiliza este último. El punto de corte 5,75% tiene una sensibilidad del 66,7% y una especificidad del 53,8%.

**HOMA-IR:** Tampoco hay referencias sobre qué valores inicialmente se deben utilizar, por lo que directamente acudimos a la curva COR. Su morfología es bastante irregular, y se prueban 3 puntos de corte (2,1 , 2,31 y 2,54). De ellos con diferencia el que mejor ajuste del modelo consigue

y mayor OR tiene es el de 2,54, y es el que se selecciona. A este punto corresponde una sensibilidad del 58,1% y una especificidad del 71,2%

**HOMA2 %S:** La distribución de la curva COR está invertida, y no hay datos en la literatura de referencia para utilizar un punto de corte, por lo que se utiliza la mediana. No se usa la media porque la dispersión es muy amplia y hay muchos valores extremos que modifican la media a valores más altos. La mediana en este caso es del 76,35% y presenta una sensibilidad asociada del 40,9% con una especificidad del 34,6%.

**HOMA2-IR:** Ocurre algo similar a lo que pasa con el HOMA2%S y no hay valores de referencia. En este caso la curva COR es más fácil de interpretar y se selecciona el punto de corte a partir de ella. Se prueba a realizar regresión logística simple utilizando 3 puntos de corte distintos: 1,11 , 1,21 y 1,31. El punto de corte que mejor explica el modelo es 1,31 y es el seleccionado. A este punto corresponde una sensibilidad del 59,1% y una especificidad del 65,4%.

**TAG:** Hay discrepancia entre el punto de corte obtenido por la curva COR, que está en los 104 mg/dl, y los 150 mg/dl que se establece como criterio diagnóstico de síndrome metabólico. Al igual que en el resto de parámetros, no hay una referencia clínica de TAG para definir el EGHNA. Teniendo en cuenta que la media de TAG en nuestra muestra fue 114 mg/dl [108,2-122,1], parece más correcto el punto de corte propuesto por la curva COR. En la regresión logística simple el ajuste del modelo y el OR obtenido son similares, pero el corte en 104 mg/dl define mejor a la población de estudio (la sensibilidad para el corte 150 es del 39% con especificidad 87%, y para 104 la sensibilidad es del 63% con especificidad del 64%).

**Ferritina:** No es lo mismo definir los valores patológicos de ferritina que aquellos niveles que ayuden a discriminar a pacientes con EGHNA de los que no lo padecen. Por tanto tampoco tenemos valores de referencia de ferritina respecto al diagnóstico de EGHNA. La curva COR para ferritina es bastante asimétrica, por lo que es difícil determinar un punto de corte adecuado. Otra opción es utilizar la mediana (no la media porque la dispersión es importante).

Se hace regresión logística simple para ferritina utilizando 4 puntos de corte distintos (50, 88, 125 y 195) que corresponden a la media, mediana, y dos puntos de corte seleccionados en la curva COR, uno con sensibilidad más alta y otro con especificidad más alta (el de 195). Con diferencia el punto que mejor explica el modelo y a la vez tiene una OR mayor es el de 51 y este es el punto que se selecciona. A este punto de corte le corresponde una sensibilidad del 84,9% con una especificidad del 21,2%.

**GOT:** Se utiliza la curva COR que es más clara en el caso de la GOT. No se pueden utilizar valores de corte en torno a 40 UI/ml porque en esos rangos la sensibilidad es de un 8%, aunque con una especificidad muy alta del 96%. Se utiliza como punto de corte 21 UI/ml según la curva COR. A este punto le corresponde una sensibilidad del 61,3% y una especificidad del 61,6%.

**GPT:** Seleccionamos como punto de corte el de 20 UI/ml. A este punto corresponde una sensibilidad del 77,5% y una especificidad del 62,5%. La curva COR es más clara que para otros parámetros, con un área bajo la curva mayor (0,757). Igual que ocurre con la GOT, niveles de en torno a 40 UI/ml tienen una sensibilidad muy baja para discriminar EGHNA.

**GGT:** El punto de corte se basa en las curvas COR, que en este caso tiene un área bajo la curva de 0,69. El punto de corte es de 26 UI/ml. Con este se consigue una sensibilidad del 60% y especificidad del 70%.

**Alfa 1 antitripsina:** No se utiliza la curva COR porque está invertida y es poco útil. Se elige la mediana como punto de corte, que en este caso es de 132. Este punto asocia una sensibilidad del 38,7% y especificidad 44,2%.

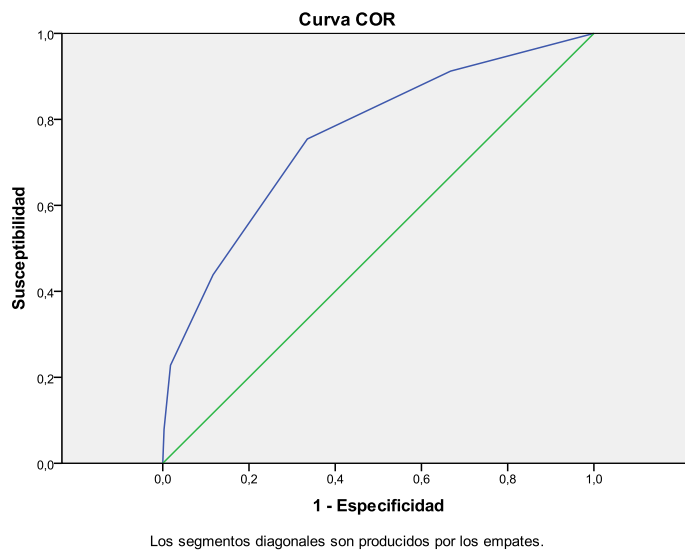
**Ceruloplasmina:** Al igual que ocurre con la alfa 1 antitripsina la curva está invertida y es difícil elegir un punto adecuado. Entonces se selecciona la mediana como punto de corte. En este caso la mediana es de 28. A este punto corresponde una sensibilidad del 34,4% y una especificidad del 44,2%.

**Urato:** El punto de corte se selecciona utilizando la curva COR, que tiene un área bajo la curva importante de 0,697. A partir de esta curva el punto de corte fue de 4,5 mg/dl. Este valor asocia una sensibilidad del 81,7% con una especificidad del 26,9%.

**Número de criterios de síndrome metabólico:** En este caso se trata de una variable cualitativa de más de dos categorías que se reúne en dos categorías para dicotomizarla. De no hacer esto, los resultados de Odds ratio expresan cuantas veces más probable es tener EGHNA si se tienen (n) criterios de síndrome metabólicos frente a si sólo tienen (n-1). Esto tiene una interpretación poco útil en la práctica clínica, y es más práctico hacer la variable dicotómica. La curva COR nos indica que valores alrededor de 1,5 criterios tienen la máxima sensibilidad y especificidad.

**Tabla 4.19. Sensibilidad y especificidad de distintos puntos de corte para predecir EGHNA en función del número de criterios de Síndrome metabólico según la curva COR.**

Punto de corte seleccionado	Sensibilidad	1 - Especificidad
,50	,912	,668
1,50	,754	,335
2,50	,439	,117
3,50	,228	,018
4,50	,079	,003
6,00	,000	,000



**Figura 4.26. Curva COR del número de criterios de síndrome metabólico para predecir EGHNA.**

Por otra parte el ajuste del modelo y OR para distintos puntos lo podemos ver en esta tabla, que se obtiene tras hacer regresión logística simple para cada punto de corte posible:

**Tabla 4.20. Ajuste de distintos modelos multivariantes (regresión logística simple) en función del uso de distintos puntos de corte del número de criterios de Síndrome metabólico**

Número de criterios de Síndrome metabólico	Devianza	R de Nagelkerke	OR
<b>0 criterios vs resto</b>	478,016	0,096	5,17
<b>0 o 1 criterios vs resto</b>	446,01	0,19	6,018
<b>0,1 o 2 criterios vs resto</b>	458,59	0,155	5,9
<b>0,1,2 o 3 criterios vs resto</b>	460,187	0,15	16,15

Con todos estos datos utilizamos como punto de corte tener 1 criterio de SM como máximo (es decir 0 o 1 criterios). Así se establecen dos grupos: Uno con cero o con un criterio y otro grupo con 2 o más criterios.

**Grado de esteatosis:** La presencia de esteatosis es lo que define la presencia de EGHNA en la mayoría de los casos, por lo que es previsible que el grado de esteatosis tenga una gran correlación con el EGHNA. Se testan todas las posibilidades realizando regresión logística simple de las distintas opciones en las que la variable grado de esteatosis se puede hacer dicotómica. Las opciones testadas son:

Ausencia de esteatosis vs esteatosis (leve, moderada o severa)

Ausencia de esteatosis o bien esteatosis leve vs esteatosis moderada o severa

Ausencia de esteatosis o bien esteatosis leve o moderada vs esteatosis severa

De ellas con mucha diferencia el punto de corte que mejor explica el modelo y tiene una mayor Odds ratio es el de ausencia de esteatosis vs esteatosis de cualquier grado.

**Tabla 4.21. Regresión logística simple de esteatosis hepática usando como punto de corte Ausencia de esteatosis vs esteatosis de cualquier grado.**

Ausencia de esteatosis vs esteatosis de cualquier grado	Devianza	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
	240,642 <sup>a</sup>	0,45	0,663

### **4.5.3. Regresión logística simple de las variables candidatas a ser incluidas en el modelo:**

Una vez seleccionados los puntos de corte, realizamos la regresión logística simple de cada una de las variables incluidas para ver cuáles son las que mejor se ajustan al modelo y tienen una OR mayor. Esta tabla muestra un resumen de cómo quedan las variables al realizar regresión logística simple utilizando la presencia de EGHNA como variable dependiente:

Tabla 4.22. Resumen de regresión logística simple de distintos parámetros para predecir EGHNA

Variable	Devianza (-2LL)	Coefficiente determinación (R de Nagelkerke)	Odds Ratio	IC 95%	p valor
Edad (cuantitativa)	499,803	0,027	1,02	[1,01-1,35]	0,004
Perím. Cintura en riesgo de EGHNA	463,01	0,141	4,59	[2,87-7,34]	<0,001
Perím. Cadera en riesgo de EGHNA	480,9	0,087	3,26	[2,05-5,17]	<0,001
Índice cintura-cadera en riesgo de EGHNA	499,48	0,02	1,666	[1,08-2,56]	0,02
Peso	491,25	0,055	2,468	[1,60-3,81]	<0,001
Presencia de DM	494,05	0,046	3,73	[1,90-7,35]	<0,001
Presencia de HTA	495,9	0,04	2,32	[1,46-3,70]	<0,001
PAS	501,9	0,02	1,86	[1,15-3,03]	0,011
PAD	496,7	0,037	2,28	[1,42-3,65]	0,001
Glucosa	466,78	0,093	3,31	[2,12-5,18]	<0,001
Insulina basal	210,87	0,082	2,86	[1,49-5,50]	0,002
HbA1C	208,175	0,045	2,15	[1,12-4,11]	0,021
HOMA-IR	200,86	0,108	3,41	[1,73-6,73]	<0,001
HOMA2 %S	208,65	0,069	0,382	[0,20-0,74]	0,004
HOMA2-IR	208,65	0,069	2,61	[1,19-4,56]	0,013
TAG	471,7	0,081	3,03	[1,94-4,75]	<0,001
Ferritina	447,5	0,06	3,08	[1,72-5,52]	<0,001
GOT	478,9	0,058	2,53	[1,63-3,94]	<0,001
GPT	441,28	0,174	5,73	[3,48-9,44]	<0,001
Relación GOT/GPT	450,118	0,148	0,185 (inverso 5,40)	[0,11-0,32]	<0,001
GGT	462,945	0,109	3,68	[2,35-5,76]	<0,001
Alfa 1 antitripsina	215,123	0,024	0,571 (inverso 1,75)	[0,3-1,08]	0,086
Ceruloplasmina	214,57	0,036	0,506 (inverso 1,98)	[0,27-0,96]	0,037
Urato	466,73	0,093	3,64	[2,19-6,05]	<0,001
Criterios de S. M.	446,01 0.19 6.01	0,19	6,088	[3,75-9,87]	<0,001
Grado de esteatosis	240,642	0,663	88,33	[43,92- 177,68]	<0,001
Colelitiasis	504,78	0,011	3,03	[0,96-9,61]	0,059



La categoría de referencia es la presencia de EGHNA, y sobre esta referencia se expresa la OR

De estas variables algunas se deben eliminar, o bien porque el ajuste del modelo no es bueno o bien porque pueden introducir colinealidad y se deben seleccionar las que mejor expliquen el modelo.

Según estas premisas hay algunas variables que se pueden eliminar y que no se van a tener en cuenta a la hora de construir el modelo multivariante. Las variables que **se pueden eliminar** son las siguientes:

- Colelitiasis, ceruloplasmina, alfa 1 antitripsina se pueden excluir porque presentan los tres devianzas altas, con coeficientes de determinación pequeños comparados con las otras variables. Desde el punto de vista científico tampoco hay mucha base para incluirlas en el modelo en el caso de la colelitiasis y la ceruloplasmina. La alfa1AT se mantuvo en el modelo por su posible relación con mecanismos inflamatorios hepáticos independientes de la resistencia a la insulina .

- PAS y PAD se eliminan porque su valor es significativamente menor que la presencia de HTA. Para confirmar su eliminación en cualquier caso se ha probado a realizar la relación logística multivariante junto con HOMA-IR y los valores son no significativos.

- HOMA2 %S y HOMA2-IR se eliminan porque su significado es el mismo que el de HOMA-IR, y esta última explica mejor el modelo.

El resto de variables se incluyen como candidatos a formar parte del modelo multivariante. Son las siguientes 21 variables: Edad, perímetro de cintura en riesgo de EGHNA, perímetro de cadera en riesgo de EGHNA, índice cintura-cadera en riesgo de EGHNA, peso, presencia de HTA, presencia de DM tipo 2, HbA1C, Glucemia, HOMA-IR, Insulina basal, TAG, ferritina, GOT,GPT, relación GOT/GPT, GGT, Urato, Criterios de SM, Grado de esteatosis, A1AT.

#### 4.5.4 Determinación de factores modificadores del efecto y factores de confusión:

A la hora de realizar un análisis multivariante, es posible que las variables independientes incluidas en él tengan interrelaciones entre sí que modifiquen el resultado de la variable dependiente. En este caso algunos factores son modificadores del efecto y otros son factores de confusión.

En general podemos distinguir varios tipos de variables: Variables relacionadas con el metabolismo de la glucosa, variables relacionadas con el metabolismo de lípidos, parámetros antropométricos determinantes de obesidad (sobre todo troncular), transaminasas y alteraciones ecográficas. De forma aislada quedan otras variables como son la ferritina, presencia de HTA, urato y números de criterios de síndrome metabólico.

Dentro del primer grupo de variables, las asociadas al metabolismo de la glucosa, se analiza la posible asociación entre ellas y si el incluirlas en el modelo aporta algo o no. La primera variable que introducimos es el HOMA-IR. Se estudia por un lado si es significativa la variable añadida al HOMA-IR, y luego si existe modificación del efecto o confusión viendo cómo se modifica la OR cruda de HOMA-IR respecto a la variable dependiente (EGHNA). Los resultados de este grupo de variables los podemos ver en la siguiente tabla:

Tabla 4.23.. Regresión logística simple de variables asociadas al metabolismo de la glucosa para valorar su adición al HOMA-IR en el modelo multivariante definitivo

Variable añadida a HOMA-IR	Nueva OR al añadir la variable	p del test de Wald (RLM)	Odds Ratio cruda de HOMA-IR sobre EGHNA	OR cruda de la nueva variable	Interacción o Confusión	Acción
HbA1C	2,98	0,113	3,41	2,15	NO	Excluir
DM	0,576	0,319	3,41	3,73	NO	Excluir

Las variable del metabolismo de lípidos que vamos a valorar si introducir o no en el modelo multivariante es la medida de triglicéridos. Como primera variable en el modelo introducimos HOMA-IR y luego valoraremos confusión en interacción.

**Tabla 4.24. Regresión logística simple de variables asociadas al metabolismo de lípidos para valorar la utilidad de su adicción al HOMA-IR en el modelo multivariante definitivo**

Variable añadida HOMA-IR	Nueva OR al añadir la variable	p del test de Wald (RLM)	Odds Ratio cruda de HOMA-IR sobre EGHNA	OR cruda de la nueva variable	Interacción o Confusión	Acción
Triglicéridos	0,752	0,436	3,41	3,03	NO	Excluir

Las transaminasas definen la presencia de enfermedad y por tanto vamos a valorar si están presentes en el modelo, y cual o cuales explican mejor la enfermedad.

**Tabla 4.25. Regresión logística simple de variables asociadas a las transaminasas para valorar la utilidad de adiconarlo al HOMA-IR en el modelo multivariante definitivo**

Variable añadida HOMA-IR	Nueva OR al añadir la variable	p del test de Wald (RLM)	Odds Ratio cruda de HOMA-IR sobre EGHNA	OR cruda de la nueva variable	Confusión	Acción
GOT	0,689	0,297	3,41	2,53	NO	Excluir
GPT	0,558	0,177	3,41	5,7	NO	Excluir
Relación GOT / GPT	0,644	0,276	3,41	Inverso 5,4	NO	Excluir
GGT	0,398	0,017	3,41	3,68	Confusión	Incluir

Ahora se evalúan los parámetros antropométricos relacionados con la obesidad. Primeramente se ve si se pueden incluir en el modelo junto con HOMA-IR, que es el parámetro principal. Sin embargo ninguno de ellos resulta significativo a pesar de que se hacen pruebas con distintos puntos de corte diferentes.

Tabla 4.26. Regresión logística simple de variables asociadas a parámetros antropométricos para valorar su adición al HOMA-IR en el modelo multivariante definitivo

Variable añadida a HOMA-IR	Nueva OR al añadir la variable	p del test de Wald (RLM)	Odds Ratio cruda de HOMA-IR sobre EGHNA	OR cruda de la nueva variable	Confusión	Acción
Perímetro de cintura riesgo EGHNA	1,397	0,783	3,41	4,59	NO	Excluir
Perímetro de cadera riesgo EGHNA	1,445	0,676	3,41	3,26	NO	Excluir
Índice cintura cadera riesgo EGHNA	1,116	0,751	3,41	1,66	NO	Excluir
Peso	1,31	0,425	3,41	2,47	NO	Excluir

Los parámetros ecográficos que han salido significativos en la regresión logística simple son el grado de esteatosis en la ecografía y la presencia de colelitiasis. Vemos en las tablas si se pueden incluir en el modelo multivariante.

Tabla 4.27. Regresión logística simple de variables asociadas a parámetros ecográficos para valorar su adición al HOMA-IR en el modelo multivariante definitivo

Variable añadida a HOMA-IR	Nueva OR al añadir la variable	p del test de Wald (RLM)	Odds Ratio cruda de HOMA-IR sobre EGHNA	OR cruda de la nueva variable	Confusión	Acción
Presencia de esteatosis	8,35	<0,001	3,41	88,33	SÍ	Incluir
Colelitiasis	8,89 x 108	0,999	3,41	3,03	NO	Excluir

El resto de variables a valorar son heterogéneas, que son las que quedan que fueron significativas en la regresión logística simple, y que se aprecian en la siguiente tabla.

Tabla 4.28.. Regresión logística simple de otras variables importantes en el estudio para valorar su adición al HOMA-IR en el modelo multivariante definitivo

Variable añadida HOMA-IR	Nueva OR al añadir la variable	p del test de Wald (RLM)	Odds Ratio cruda de HOMA-IR sobre EGHNA	OR cruda de la nueva variable	Confusión	Acción
HTA	0,905	0,787	3,41	2,32	NO	Excluir
DM tipo 2	1,737	0,319	3,41	3,73	NO	Excluir
Edad	1,000	0,99	3,41	1,02	NO	Excluir
Criterios de S. Metabólico	0,888	0,763	3,41	6,02	NO	Excluir
Urato	1,282	0,529	3,41	3,64	NO	Excluir
Ferritina	1,332	0,534	3,41	3,08	NO	Excluir
Alcohol	0,000	0,998	3,41	0,00	NO	Excluir

Se elimina como variable candidata a formar parte del análisis multivariante a los criterios de síndrome metabólico, pues incluyen la glucosa y produciría colinealidad con el HOMA-IR si se incluyen en el modelo multivariante.

#### **4.5.5 Elección del modelo multivariante definitivo: NAFLD Score**

A partir de estos datos elaboramos el modelo de análisis multivariante y seleccionamos las variables que han sido significativas, y aquellas que sin serlo mejoran mucho el ajuste del modelo.

Se seleccionan diferentes posibles modelos con distinto número de variables para ver cual explica mejor la variable dependiente con un menor número de variables. Se evalúan los siguientes modelos provisionales:

Modelo 1: HOMA-Esteatosis-GPT-ferritina-Ceruloplasmina-A1AT

Modelo 2: HOMA-Esteatosis-GGT- GPT-ferritina-A1AT

Modelo 3: HOMA-Esteatosis-GGT- GPT-ferritina-A1At-perím. cintura

Modelo 4: HOMA-Esteatosis-GGT- GPT-ferritina

Modelo 5: HOMA-Esteatosis-GGT- GPT-A1AT

Modelo 6: HOMA-Esteatosis-GGT-GPT

Modelo 7: HOMA-Esteatosis-GGT

Se realiza regresión logística binaria de los 9 modelos anteriores. De ellos obtenemos la devianza, coeficientes de determinación, % de pacientes correctamente clasificados según el modelo y el nivel de significación del estadístico de Wald. Además la regresión logística nos da los coeficientes de regresión de cada una de las variables. A partir de estos coeficientes se construye la ecuación de regresión logística.

Resumimos los datos más importantes de cada uno de los modelos testados. No se incluyen las OR de cada variable ni tampoco los coeficientes de regresión de todos los modelos propuestos

debido a la gran cantidad de datos. En todos los modelos los test de Hosmer Lemeshow son significativos con  $p < 0,005$ . La siguiente tabla ordena los modelos según la devianza (-2LL).

**Tabla 4.29. Resumen de las características de los posibles modelos multivariantes que predicen si un paciente padece EGHNA**

Nº de Variables en el modelo	Devianza -2LL	R de Nagelkerke	% clasificación	OR significativa
Modelo 1 (6 var.)	143,8	0,396	81,30%	NO en 3 var.
<b>Modelo 2 (6 var.)</b>	142,59	0,415	78,80%	NO en 2 var.
Modelo 3 (7 var.)	141,57	0,421	78,10%	NO en 3 var.
Modelo 4 (5 var.)	149,4	0,395	76,60%	NO en 2 var.
Modelo 5 (5 var.)	160,6	0,358	77%	NO en 2 var.
Modelo 6 (4 var.)	166,4	0,347	75%	NO en 1 var.
Modelo 7 (3 var.)	166,79	0,345	75%	SÍ todas

De los modelos propuestos, el que mejor explica la variable dependiente con un menor número de variables es el modelo 2. Los detalles del modelo 2 son los siguientes:

Tabla de clasificación				
Observado		Pronosticado		
		Hígado graso no alcohólico (EGHNA)		Porcentaje correcto
		NO	SI	
EGHNA	NO	35	19	64,8
	SI	13	84	86,6
Porcentaje global				78,8

Resumen del modelo		
Devianza (-2LL)	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
142,593	,302	,415

Tabla 4.30. Resumen del modelo multivariante que incluye significación y OR de las distintas variables en el modelo, tablas de clasificación, devianza y R cuadrado de Nagelkerke

Variables en la ecuación						
	Coeficiente B	Estadístico de Wald	p valor	OR Exp (B)	I.C. 95% para la OR	
					Inferior	Superior
HOMA-IR mayor de 2.54	1,304	8,162	,004	3,683	1,506	9,007
Esteatosis en eco (ausencia o presencia)	2,259	22,319	,000	9,574	3,750	24,442
GPT mayor de 20	,472	,660	,417	1,603	,513	5,007
Alfa-1 Antitripsina mayor de 132 mg/dl	-,839	3,837	,050	,432	,187	1,001
Ferritina mayor de 51 ng/ml	,309	,278	,598	1,362	,431	4,302
GGT mayor de 26 UI7ml	-1,409	6,888	,009	,244	,085	,700
Constante	-,879	1,502	,220	,415		

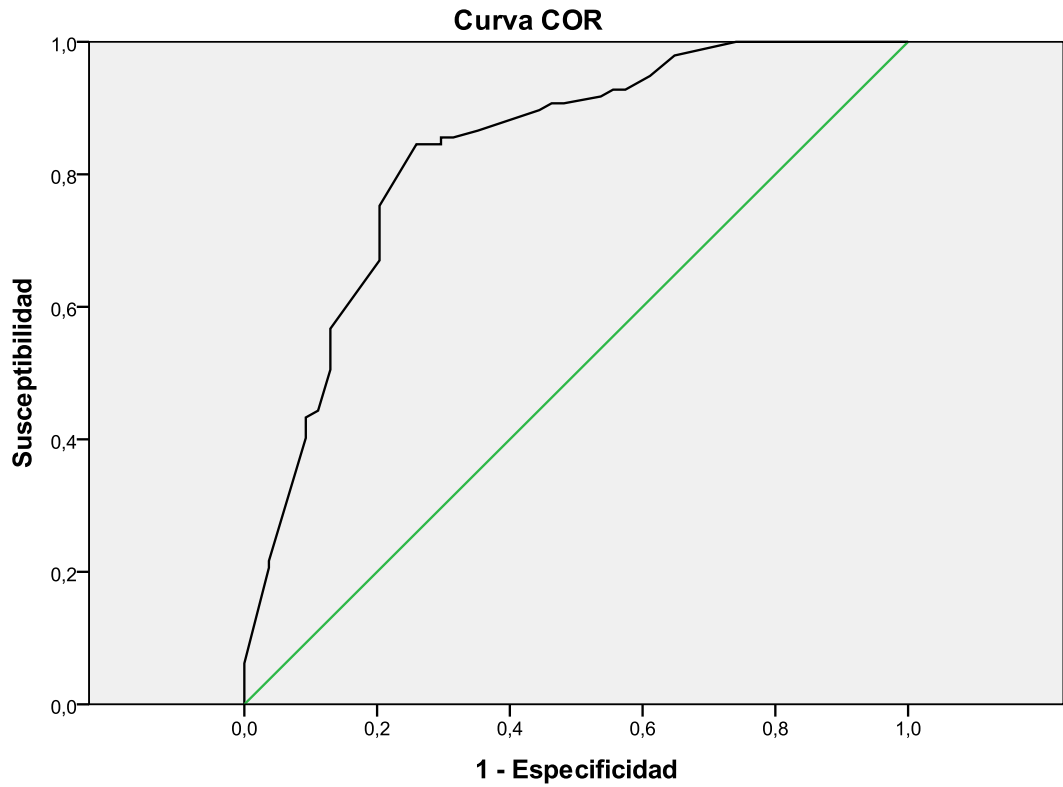
La construcción de este modelo sirve para hacer un score clínico que permita clasificar a los pacientes como presencia o ausencia de EGHNA.

Aunque existen scores clínicos para el EGHNA, son modelos que sirven para predecir el grado de fibrosis en la biopsia (Ej. El BARD score <sup>(2)</sup> o el de Campos y cols. <sup>(7)</sup>).

El modelo definitivo se puede utilizar para construir un score clínico que permita clasificar a los pacientes como presencia o ausencia de EGHNA con una determinada sensibilidad y especificidad. Para determinar cuál es el punto de corte en el cual vamos a clasificar a los pacientes como sanos o enfermos se realiza una curva COR del modelo. Por defecto el punto de corte es la probabilidad de 0.5.

En el siguiente gráfico vemos la curva COR que corresponde a nuestro modelo:





Los segmentos diagonales son producidos por los empates.

**Área bajo la curva**

Variables resultado de contraste: Probabilidad pronosticada

Área	Error típ. <sup>a</sup>	Sig. asintótica <sup>b</sup>	Intervalo de confianza asintótico al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
,830	,036	,000	,758	,901

La variable (o variables) de resultado de contraste: Probabilidad pronosticada tiene al menos un empate entre el grupo de estado real positivo y el grupo de estado real negativo. Los estadísticos pueden estar sesgados .

a. Bajo el supuesto no paramétrico

b. Hipótesis nula: área verdadera = 0,5

En la siguiente tabla vemos distintas probabilidades que pueden servir como puntos de corte

Coordenadas de la curva		
Punto de corte seleccionado	Sensibilidad	1 - Especificidad
,4191806	,907	,481
,5414996	,897	,426
,5911619	,866	,333
,6071896	,866	,296
,6765757	,825	,296
,7433893	,804	,296
,7560897	,639	,222
,7681091	,619	,222
,7805152	,546	,167

De ellos el punto que se selecciona es 0,6071896 en vez de 0,5, ya que en la curva COR es el punto que se encuentra más arriba y a la izquierda. Con este punto obtenemos una sensibilidad del 86,6% con una especificidad del 70,4%. Si se utilizara el punto 0,5, la sensibilidad sería cercana al 90% (89,7% para probabilidad 0,541) y una especificidad cercana al 61% (57,4% para probabilidad de 0,541).

Una vez seleccionado el punto de corte adecuado, se construye la ecuación de regresión logística. La fórmula para construir la ecuación de regresión logística es la siguiente:

$$p(Y=1) = \frac{1}{1 + e^{(-\alpha - \beta_1 X_1 - \beta_2 X_2 \dots - \beta_n X_n)}}$$

Donde  $p(Y=1)$  es la probabilidad de que la variable dependiente obtenga el resultado esperado (Categoría de estado). En nuestro caso significa presencia de EGHNA. Alfa es la

constante de la ecuación. Cada uno de los coeficientes  $\beta$  son los coeficientes de regresión de las variables independientes que hemos obtenido con el SPSS (etiquetada como B), y las  $X_n$  es el valor de cada variable independiente en el caso concreto que estamos aplicando (al aplicar el modelo a un paciente).

Esta ecuación general aplicada a nuestro modelo es el siguiente:

$$p(Y=1) = \frac{1}{1 + e^{(0,879 - 2,259 \text{ esteat} + 0,839 \text{ A1AT} - 0,472 \text{ GPT} - 0,309 \text{ Ferrit} - 1,304 \text{ HOMA-IR} + 1,409 \text{ GGT})}}$$

Donde  $p(Y=1)$  es la probabilidad de que un sujeto en concreto tenga EGHNA. Como hemos seleccionado como punto de corte 0,6071896, cuando la  $p(Y=1)$ , es decir el resultado de la ecuación, es mayor que este punto de corte, se considera que ese paciente en concreto tiene EGHNA, y cuando es menor que no lo tiene.

Con respecto a las variables independientes, todas ellas son dicotómicas, y están codificadas como 1 si el sujeto tiene un valor mayor que el punto de corte, y 0 si el sujeto tiene un valor menor que el punto de corte. En concreto las variables se codifican de esta manera:

Esteatosis =1 si hay esteatosis en la ecografía (cualquier grado) y =0 si no hay

A1AT =1 si el valor es mayor de 132 mg/dl y =0 si el valor igual a 132 mg/dl o menor

GPT =1 si el valor es mayor de 21 UI/l y =0 si es 21 o menor

Ferritina =1 si el valor es mayor de 51, y es =0 si es 51 o menor.

HOMA-IR =1 si el valor es mayor de 2,54 y =0 si es 2,54 o menor

GGT =1 si el valor es mayor de 26UI/l y =0 si es 26UI o menor.

Y ahora se puede ver un ejemplo. Supongamos un paciente sin esteatosis en la ecografía, que tiene una A1AT de 90 mg/dl, GPT de 40 UI/l, Ferritina de 250 ng/ml, HOMA-IR de 3 y GGT de 70 U/i.

En este caso la ecuación de regresión sería la siguiente:

$$p(Y=1) = \frac{1}{1 + e^{0,879 \cdot (2,259 \times 0) + (0,839 \times 0) - (0,472 \times 1) - (0,309 \times 1) - (1,304 \times 1) + (1,409 \times 1)}}$$

$$= \frac{1}{1 + e^{(0,203)}} = 0,4494$$

Como 0,4494 es menor al punto de corte 0,607, se considera que el paciente no tiene EGHNA.

Si utilizamos un segundo ejemplo: Paciente con esteatosis leve en la eco, con HOMA-IR de 4, GPT 15, GGT 16, Ferritina 41, A1AT 200, la ecuación quedaría de este modo:

$$P(Y=1) = \frac{1}{1 + e^{0,879 \cdot (2,259 \times 1) + (0,839 \times 1) - (0,472 \times 0) - (0,309 \times 0) - (1,304 \times 1) + (1,409 \times 0)}}$$

$$P(Y=1) = \frac{1}{1 + e^{(-0,436)}} = 0,6073$$

Como el valor es superior a 0,60718, consideramos que el paciente tiene EGHNA.

Ahora a partir de la ecuación de regresión logística se puede obtener un **score** que nos sirva para saber si un paciente tiene o no hígado graso no alcohólico a partir de los valores de las variables independientes incluidas en el modelo multivariante. Como el punto de corte es conocido, se puede calcular qué valores tienen que tomar las variables independientes para llegar al punto de corte o superarlo. De este modo la ecuación quedaría de este modo:

$$0,6071896 = \frac{1}{1 + e^{(0,879 - 2,259 \text{ esteat} + 0,839 \text{ A1AT} - 0,472 \text{ GPT} - 0,309 \text{ Ferrit} - 1,304 \text{ HOMA-IR} + 1,409 \text{ GGT})}}$$

$$\frac{1}{0,6071896} = 1 + e^{(0,879 - 2,259 \text{ esteat} + 0,839 \text{ A1AT} - 0,472 \text{ GPT} - 0,309 \text{ Ferrit} - 1,304 \text{ HOMA-IR} + 1,409 \text{ GGT})}$$

$$1,646932 = 1 + e^{(0,879 - 2,259 \text{ esteat} + 0,839 \text{ A1AT} - 0,472 \text{ GPT} - 0,309 \text{ Ferrit} - 1,304 \text{ HOMA-IR} + 1,409 \text{ GGT})}$$

$$1,646932 - 1 = (1 + e^{(0,879 - 2,259 \text{ esteat} + 0,839 \text{ A1AT} - 0,472 \text{ GPT} - 0,309 \text{ Ferrit} - 1,304 \text{ HOMA-IR} + 1,409 \text{ GGT})}) - 1$$

$$0,646932 = e^{(0,879 - 2,259 \text{ esteat} + 0,839 \text{ A1AT} - 0,472 \text{ GPT} - 0,309 \text{ Ferrit} - 1,304 \text{ HOMA-IR} + 1,409 \text{ GGT})}$$

$$\text{Ln } 0,646932 = \text{Ln } e^{(0,879 - 2,259 \text{ esteat} + 0,839 \text{ A1AT} - 0,472 \text{ GPT} - 0,309 \text{ Ferrit} - 1,304 \text{ HOMA-IR} + 1,409 \text{ GGT})}$$

$$-0,435514 = (0,879 - 2,259 \text{ esteat} + 0,839 \text{ A1AT} - 0,472 \text{ GPT} - 0,309 \text{ Ferrit} - 1,304 \text{ HOMA-IR} + 1,409 \text{ GGT})$$

$$0,435514 = -0,879 + 2,259 \text{ esteat} - 0,839 \text{ A1AT} + 0,472 \text{ GPT} + 0,309 \text{ Ferrit} + 1,304 \text{ HOMA-IR} - 1,409 \text{ GGT}$$

$$0,435514 + 0,879 = 2,259 \text{ esteat} - 0,839 \text{ A1AT} + 0,472 \text{ GPT} + 0,309 \text{ Ferrit} + 1,304 \text{ HOMA-IR} - 1,409 \text{ GGT}$$

$$1,31451 = 2,259 \text{ esteat} - 0,839 \text{ A1AT} + 0,472 \text{ GPT} + 0,309 \text{ Ferrit} + 1,304 \text{ HOMA-IR} - 1,409 \text{ GGT}$$

Ahora se multiplican ambos términos de la ecuación por 7,607397 para obtener cifras más fáciles de manejar de forma práctica y que la cifra final a la izquierda de la ecuación sea de 10.

$$10 = 17,185 \text{ esteat} - 6,3826 \text{ A1AT} + 3,5906 \text{ GPT} + 2,3507 \text{ Ferrit} + 9,92 \text{ HOMA-IR} - 10,71883 \text{ GGT}$$

De este modo se puede establecer que cuando la suma de los valores de las variables sea mayor o igual de 10, el paciente tiene EGHNA, y al contrario, si es menor no lo tiene.

Se pueden redondear los valores de los coeficientes de regresión de este modo:

$$10 = 17 \text{ esteat} - 6 \text{ A1AT} + 4 \text{ GPT} + 2 \text{ Ferritina} + 10 \text{ HOMA-IR} - 11 \text{ GGT}$$

A partir de esta ecuación, el score quedaría así:

**Tabla 4.31. Modelo definitivo de NAFLD score**

<b>NAFLD SCORE</b>	
<b>Presencia de esteatosis</b>	<b>+17</b>
<b>Alfa 1 antitripsina mayor de 132 mg/dl</b>	<b>-6</b>
<b>GPT mayor de 20 UI/l</b>	<b>+ 4</b>
<b>Ferritina mayor de 51 ng/ml</b>	<b>+ 2</b>
<b>HOMA-IR mayor de 2,54</b>	<b>+10</b>
<b>GGT mayor de 26 UI/l</b>	<b>-11</b>
* Cuando la suma de las puntuaciones de los Parámetros sean superiores a 10, el paciente tiene hígado graso no alcohólico con sensibilidad del 86,6% y una especificidad del 70,4%	

## **5. DISCUSIÓN**





# 5. DISCUSIÓN:

## 5.1. Resumen y discusión de la metodología empleada:

Se trata de un estudio realizado en la población general a través de un sistema de captación de pacientes por correo. Las cartas se envían de forma aleatoria a 1800 pacientes a partir de las bases de datos de las tarjetas sanitarias del Área de Salud de Valladolid Este por muestreo aleatorio simple y por tanto se distribuyen en principio de forma homogénea en toda la población. Este tipo de sistema es trabajoso desde el punto de vista metodológico porque es necesario enviar una gran cantidad de cartas para captar pacientes. Sin embargo los pacientes reclutados en principio son significativos de la población general. La población diana incluye a todos los pacientes que deseen participar mayores de 18 años dentro de una muestra de 1800 personas extraída de las bases de datos de tarjetas sanitarias del Área de salud Este de Valladolid. Como la mayor parte de la población tiene tarjeta sanitaria, la población diana se superpone con la población general e incluye todas las franjas de edad salvo el EGHNA pediátrico en menores de edad.

Las cartas se recogen periódicamente en un periodo de dos años por lo que los pacientes tenían un margen de tiempo muy amplio para participar y las pérdidas por este motivo son escasas.

De los 1800 pacientes participan un 24,88%, lo que suponen 448 pacientes. Estos datos concuerdan con los resultados de distintos estudios en varios ámbitos sobre participación en campañas por correo<sup>(191,192,193,194)</sup> que oscilan entre el 20 y el 25%.

El análisis estadístico demuestra que los participantes son una muestra representativa de la población general. La distribución por sexos se superpone con la de la población general. La distribución rural y urbana es similar con una disminución no significativa del número de pacientes

del medio rural (27,5% [25,4%-29,5%] en la muestra frente al 31,1% de la población general). La proporción de población urbana se asemeja bastante a la de la población general dentro de los intervalos de confianza (72,5% [68,3%-76,6%] en la muestra frente al 68,8% en la población general). Estas diferencias se pueden deber a una mayor dificultad de los pacientes del medio rural para realizar el estudio al tener que trasladarse al hospital para realizar el estudio.

La distribución por edades en la muestra fue similar a la de la población general. En general se aprecia una discreta tendencia al alza no estadísticamente significativa en los grupos de pacientes entre los 40 y los 80 años, con disminución (tampoco significativa) entre los 18 y los 40 y entre los 80 y los mayores de 90. En algunos grupos de edad la diferencia sí llega a ser significativa como entre los 20-24 (superior en la población) o entre los 60-75 (superior en la muestra que en la población). Las diferencias pueden deberse como hipótesis a una mayor preocupación por la salud y una mayor disponibilidad para trasladarse al hospital para realizar las visitas y las pruebas en el grupo de 40 a 80 años. Los pacientes de menos de 40 años y mayores de 80 en general tienen una menor preocupación por su salud y mayor dificultad para acudir al medio hospitalario. En el primer caso por motivos laborales y en el segundo por mayor limitación funcional y menor autonomía para trasladarse al hospital.

Con respecto a los pacientes que deciden participar, el sistema de citas para realizar la analítica, ecografía y visita médica es fácil para el paciente de modo que sólo tienen que venir en dos ocasiones. Esto hace que sólo dos pacientes no completen el estudio (falta la analítica). Metodológicamente se tienen en cuenta para el análisis estadístico en cuanto a ecografía y datos epidemiológicos y se consideran casos perdidos para las analíticas.

Se realiza una analítica de screening y posteriormente se realiza una segunda analítica sólo a los que se han considerado enfermos. Esto hace que ciertos resultados analíticos sólo se refieran a los enfermos, lo que supone una limitación metodológica. Los parámetros exclusivos de la

segunda visita son: Péptido C, HbA1C, LDL, HDL, amilasa, albúmina, proteínas totales, ferritina, transferrina, índice de saturación de transferrina, fracción gamma del proteinograma, Alfa 1 antitripsina, ceruloplasmina, TSH, T4L, B12, fólico, PCR, Índice de Quick, INR, TTPA, microalbuminuria, serologías virales (VHA, VHB, VIH, VHC), ANA, anticuerpos de hepatitis autoinmunes. Por tanto todos los resultados obtenidos con estos parámetros sólo se pueden extrapolar al grupo de pacientes que se ha considerado enfermos pero no a la población general. El motivo fundamental para realizar una analítica de screening y una segunda más completa es ahorrar costes ya que la analítica de estudio de enfermedad hepática es muy exhaustiva y de un alto coste económico si se realiza a todos los participantes.

Algunos pacientes que se han catalogado como sanos por no presentar alteraciones ecográficas ni hipertransaminasemia pueden no estarlo. Esto puede ocurrir con cierta frecuencia en casos de hepatitis viral B y C y supone una limitación a nuestro estudio. Este hecho se da sin embargo en un grupo de pacientes muy reducido que no influye en los resultados de prevalencia de las enfermedades más frecuentes.

La medición de los parámetros antropométricos se realiza de forma homogénea ya que se realiza con los mismos instrumentos de medida en todos los pacientes (peso electrónico y cinta métrica específicamente diseñada para la medición del perímetro abdominal). Además la mayoría de las mediciones las realiza el mismo observador. De este modo los errores de medida se limitan en gran medida.

En cuanto a la realización de las ecografías, los dos radiólogos siguen para el diagnóstico los criterios de Saverymuttu <sup>(88)</sup>. Las primeras ecografías se realizaron de forma conjunta por parte de los dos radiólogos con el fin de homogeneizar en lo posible los criterios de diagnóstico de la esteatosis sobre todo en casos límite como puede ser distinguir esteatosis muy leves de pacientes

sanos. No se aplicó el índice kappa para calcular el grado de concordancia de los dos radiólogos pues no estaba previsto en el diseño inicial del estudio.

No se realizó biopsia para el diagnóstico del EGHNA debido a que se trata de una técnica agresiva y cara. La relación beneficio riesgo con respecto al uso de esta técnica es desfavorable y por tanto no está justificada su realización a pacientes de la población general. La biopsia se sustituye por el protocolo clínico habitual en el que se descartan otras enfermedades hepáticas y se deja el EGHNA como diagnóstico de descarte. Este protocolo es sin embargo muy exhaustivo y tiene en cuenta la mayor parte de las posibles enfermedades hepáticas. Esto supone una de las principales fortalezas del estudio ya que la mayoría de los estudios dirigidos a la población general no se hacen excluyendo tantas etiologías alternativas de enfermedad hepática y en la mayoría de los casos se limitan sólo a pruebas de imagen o bien sólo hacen analíticas o no miden los parámetros antropométricos.

## **5.2. Validez interna y validez externa del estudio:**

Se considera validez al grado en que una prueba mide lo que pretende medir. En nuestro estudio esto se traduce en si el método empleado mide la prevalencia real de EGHNA o no. La validez es la ausencia de error sistemático, que son los sesgos. La validez interna es el grado en que una observación es correcta para un grupo específico de sujetos. En nuestro estudio esto supone el grado en que la prevalencia estimada de EGHNA que se ha conseguido utilizando el proceso diagnóstico se corresponde con la prevalencia real de la enfermedad en la muestra. La validez externa mide hasta qué punto los resultados del estudio se pueden extrapolar a sujetos fuera de la población en el estudio. La validez externa requiere una adecuada validez interna y además

un razonamiento que explique qué parte de los resultados y por qué motivos se puede extrapolar a sujetos que no son nuestra población de estudio.

### **5.2.1. Validez interna del estudio:**

Como se ha explicado, la validez interna está en relación con la ausencia de sesgos en el estudio. A continuación se analizan los posibles sesgos para valorar la validez del estudio.

**Sesgos de selección:** El hecho de utilizar las tarjetas sanitarias como base de datos supone que se incluye al 99% de la población de Valladolid Este. Al realizar un muestreo aleatorio simple se minimizan los sesgos de selección de la población. Además el hecho de que se obtengan pacientes de forma proporcional a la población que abarca cada Centro de Salud hace que la proporción de pacientes de la muestra sea representativa de la población general en cada zona.

La representatividad de la muestra se confirma al comparar los datos poblacionales proporcionados de la Junta de Castilla y León con los nuestros en cuanto a distribución por sexos, edad y proporción rural y urbana.

Un posible sesgo de selección que no es fácil de controlar es el **sesgo no respuesta**. Siempre que se realiza una encuesta por correo aparece en cierta medida este sesgo, que consiste en que los pacientes que responden podrían tener un perfil diferente a los que no responden y que esto modifique los resultados obtenidos. También se llama sesgo del voluntario sano, porque en general los participantes están más sanos que los que no responden. En este estudio en concreto el sesgo de no respuesta es limitado y está parcialmente controlado. Por una parte gran parte de la población relaciona el consumo de alcohol con la presencia de enfermedad hepática y sin embargo muy poca gente relaciona la obesidad y los factores que favorecen la resistencia a la insulina con presentar una hepatopatía. De este modo es posible que la proporción de bebedores en nuestra muestra sea menor que en la población general y sin embargo es menos probable que la proporción

de EGHNA esté distorsionada. Por otra parte el sesgo de no respuesta se ha controlado parcialmente utilizando un método de sustitución muestral. En este caso se sustituyen algunos no respondedores de un determinado Centro de Salud por pacientes seleccionados por orden alfabético de la lista de pacientes seleccionados dentro de ese Centro de salud. Esta sustitución muestral se aplica sólo en los Centros en los que la participación es baja (menor del 20%). El reclutamiento de estos pacientes se hace vía telefónica. La tasa de respuesta utilizando este método es mucho más alta, alrededor del 50%, y se continúa con este método hasta que se alcanza el 25% de la población del Centro de Salud correspondiente. De este modo estos pacientes reclutados por teléfono sustituyen a los no respondedores para evitar menor representación por no respuesta en algunos núcleos de población.

Se incluyeron los datos analíticos de la primera visita y la ecografía en todos los pacientes. En dos casos no se obtuvo analítica y se consideraron como casos perdidos (abandonos). Estos dos pacientes con respecto a los 448 participantes no alteran los resultados desde el punto de vista estadístico. No hubo ningún paciente que manifestara su deseo de retirarse del estudio. Por otra parte las visitas médicas se realizaron a todos los pacientes salvo a uno que no contestó más a las llamadas ni cartas que se enviaron repetidamente. Este paciente es uno de los dos de los que no se obtuvo la analítica. Se tuvieron en cuenta de todos modos los datos de la primera visita médica y la primera analítica.

Algunos resultados analíticos sólo se realizan en la analítica de la segunda visita (ver apartado anterior) a los pacientes que se consideran enfermos. Esto supone un sesgo de selección en lo que respecta a estos resultados y como comentamos anteriormente los resultados correspondientes a estos parámetros sólo se pueden extrapolar a los pacientes enfermos y no a toda la muestra.

**Sesgos de información (de observación):** Tanto las ecografías como las visitas médicas se realizaban siguiendo un protocolo en el que se contesta a un cuestionario cerrado (Ver anexos 4,5 y 6) de modo que no se modifican las preguntas ni se enfatiza ningún aspecto en los participantes que el médico considera que puede tener mayor probabilidad de estar enfermos. El cuestionario consta de preguntas concisas cuya respuesta es SI/NO o bien un número. Así se evitan sesgos de información.

La variable más difícil de valorar (que tiene mayor subjetividad) es el consumo de alcohol. Por una parte los pacientes tienden a minimizar la cantidad de alcohol consumida y por otra parte el consumo abusivo de alcohol no está bien visto desde el punto de vista social. Para que el consumo referido se acerquen más a la realidad se insiste en ello al menos dos veces en cada consulta y se volvía a interrogar a los pacientes considerados enfermos en la segunda visita. Además en los casos en que los pacientes vienen acompañados se interrogaba también al acompañante. La utilización de estas medidas minimiza la posibilidad de error.

La segunda visita sólo se realiza a los pacientes enfermos y se aplica el mismo protocolo diagnóstico y el mismo cuestionario clínico independientemente del factor por el que se consideró enfermo y sin tener en cuenta del consumo de alcohol. Al igual que en la primera visita el cuestionario es cerrado con preguntas cuya respuesta es un número o bien SI/NO (Ver anexo 6).

**Sesgo de confusión:** Un factor de confusión es aquel que distorsiona la medida de asociación entre dos variables. Es un factor de riesgo de la variable de estudio (variable dependiente) y por otra parte también se relaciona con otras variables independientes. En el estudio hay dos variables que actúan como factores de confusión que son la GGT y la presencia de esteatosis. En el caso de la **GGT**, la variable actúa como factor de confusión pero también es una variable modificadora del efecto. La GGT modifica el efecto del HOMA-IR sobre el factor de estudio que es la presencia de EGHNA:

**OR cruda del HOMA-IR respecto a la presencia de EGHNA: 3,41**

**OR del HOMA-IR modificada al introducir la GGT en el análisis multivariante: 4,37**

El cambio de la OR cruda con respecto a la OR modificada del HOMA-IR respecto a la EGHNA al introducir la variable GGT confirma que se trata de un factor de confusión. Al realizar un análisis estratificado (OR del HOMA-IR con respecto al EGHNA en pacientes con GGT alto respecto a la OR del HOMA-IR con respecto al EGHNA en pacientes con GGT normal) vemos que esta relación es más fuerte en pacientes con la GGT alta, lo que demuestra que la GGT modifica la relación del HOMA-IR con la EGHNA:

**OR de HOMA-IR respecto a EGHNA en pacientes con GGT alta: 5,87 [2,49-13,83]**

**OR de HOMA-IR respecto a EGHNA en pacientes con GGT baja: 2 [0,55-7,20]**

Para evitar este efecto de confusión y a la vez tener en cuenta el efecto modificador de la variable, la GGT se introduce en el modelo multivariante.

Con respecto a la variable **presencia de esteatosis**, también actúa como factor de confusión y al igual que la GGT es una variable modificadora del efecto de HOMA-IR sobre la EGHNA (aunque con menor intensidad):

**OR cruda del HOMA-IR respecto a la presencia de EGHNA: 3,41**

**OR del HOMA-IR modificada al introducir la esteatosis en el análisis multivariante: 2,52**

Esta diferencia demuestra que se trata de un factor de confusión. Al realizar el análisis estratificado se aprecia que hay cierta diferencia entre la relación de HOMA-IR y la presencia de EGHNA si hay esteatosis con respecto a si no la hay:



**OR de HOMA-IR respecto a EGHNA en pacientes con presencia de esteatosis:**

**2,65**

**OR de HOMA-IR respecto a EGHNA en pacientes con ausencia de esteatosis:**

**2,23**

Por lo tanto la presencia de esteatosis es un factor de confusión que tiene cierto valor como modificador de la relación entre HOMA-IR y EGHNA. Consideramos que el efecto modificador es significativo cuando la diferencia de OR entre los estratos es superior al 10% (en este caso es 2,65 vs 2,23). Para evitar este efecto de confusión y a la vez tener en cuenta el efecto modificador también se incluye en el análisis multivariante.

En conclusión, los dos factores de confusión que se detectan se incluyen en el modelo primero porque parece que influyen en la aparición del EGHNA desde el punto de vista clínico (Ver siguiente apartado) y además porque son factores modificadores del efecto desde el punto de vista estadístico.

### **5.2.2. Validez externa:**

Es la medida en que los resultados del estudio se pueden aplicar a sujetos que no han participado en el estudio y por lo tanto hasta qué punto se pueden extrapolar los resultados al resto de la población.

En este estudio las características de la población diana son muy similares a la población general ya que son los pacientes mayores de 18 años que tengan tarjeta sanitaria y sin otras restricciones. Por tanto los resultados se pueden aplicar prácticamente a toda la población

excepto los que no tienen tarjeta sanitaria (un porcentaje mínimo de la población) y la población menor de edad (la mayoría EGHNA pediátrico).

Las dos principales fortalezas del estudio son precisamente la elevada validez externa junto con la utilización de una metodología exhaustiva para llegar al diagnóstico del EGHNA.

### **5.3. Comparación de los resultados obtenidos con la bibliografía existente**

Se revisa de forma sistemática la bibliografía existente en las bases de datos de Pubmed. No existe un término MeSH específico asociado a la EGHNA, por lo que en las búsquedas se utiliza: "Non-alcoholic Fatty Liver Disease"[Supplementary Concept] OR NAFLD[Text Word]. A este término se añade el operador booleano AND y posteriormente el epígrafe sobre el que estamos investigando (ej. Metabolismo lipídico). Posteriormente se comparan los resultados obtenidos en la bibliografía con los resultados del estudio en cada uno de los siguientes epígrafes:

#### **Hábitos de consumo:**

El consumo de alcohol detectado en el estudio fue mucho más importante en hombres, probablemente por factores culturales. Estos datos coinciden con los obtenidos en otros artículos<sup>195</sup> publicados en España. El consumo que se considera excesivo (es este estudio más de 30 gramos) fue del 10,26%, fundamentalmente en hombres. Este consumo excesivo es alto si se compara con otros estudios similares específicos<sup>82</sup>, aunque en este caso los criterios de bebedor excesivo son más estrictos de 50 g en hombres y 30 en mujeres. Llama la atención también que el 77% de las mujeres no beben nada de alcohol, frente a sólo el 36% en hombres. Estas diferencias también se atribuyen a factores culturales. Aunque no se recogió ese dato, es posible que el consumo de alcohol se asocie a ciertos oficios como demuestran otros artículos<sup>82</sup>.

El consumo de tabaco fue del 29,2% [24,9%-33,4%], que prácticamente se superpone con los datos de 2006 del Ministerio de Sanidad <sup>196</sup> (29,5%). La distribución por sexos en el trabajo es similar en hombres y mujeres (30,5% vs 28% respectivamente), lo que contrasta con el 34,1% en hombres y 22,3% de mujeres obtenido en 2007 <sup>197</sup> también por el Ministerio de Sanidad. Estas diferencias pueden deberse a que en los últimos años hay una tendencia al aumento del consumo tabáquico en mujeres, que en los años 70 era del 5% <sup>(195)</sup>.

### **Prevalencia del hígado graso no alcohólico:**

El estudio muestra una prevalencia de EGHNA del 25,45% [21,4%-29,5%]. La prevalencia observada en otros estudios es muy variable en función del método diagnóstico que se utilice. En la mayoría de los estudios no se hace biopsia hepática porque es una prueba cruenta y no carente de complicaciones, por lo que no está indicado realizarla de forma sistemática.

En general los estudios que sólo realizan **pruebas de imagen** tienen una prevalencia algo menor a la detectada en este estudio. Hay al menos 6 estudios con estas características <sup>57,62,64,70,72,74</sup>, y en ellos se aprecian prevalencias de entre el 9,7% al 19,8%. En dos de ellos la prevalencia es mayor del 32-33% <sup>(57,72)</sup>, aunque no podemos determinar las causas de estas diferencias.

Dos estudios se hicieron sólo teniendo en cuenta la **hipertransaminasemia** sin hacer pruebas de imagen <sup>(48,51)</sup>. En este caso las prevalencias fueron más bajas del 7,9 y 15%. Uno es el NHANESIII, estudio poblacional en más de 6000 pacientes en los que se detectó un 7,9% de hipertransaminasemia.

Los estudios hechos **con biopsia** dan resultados dispares dependiendo de la población de origen de las que se tomaron estas biopsias. En algunos casos se obtienen de pacientes intervenidos de cirugía bariátrica <sup>(59,60,61,68,69)</sup> y en consonancia la prevalencia es muy alta del 71-85% de

pacientes con EGHNA y del 33-69,5% de EHNA. Estos resultados son muy fiables por tratarse de una biopsia, pero sólo se pueden extrapolar a la población con obesidad mórbida susceptibles de cirugía bariátrica. Los demás estudios en los que se realiza biopsia proceden de autopsias.

Algunos estudios con biopsia proceden del medio hospitalario<sup>(49,65)</sup> y otros de consultas<sup>(71)</sup>. En ellas la prevalencia de EHNA fue del 1-2,5% en pacientes no obesos y del 25% en obesos. Otros estudios especialmente destacables son los procedentes de accidentes de tráfico<sup>55</sup> o aéreos<sup>56</sup>. La prevalencia de EGHNA en estos grupos es del 15-24% de EGHNA y del 2,5% para EHNA. Por una parte son bastante parecidos a la población general, pero probablemente se trate de pacientes más jóvenes y en el caso de accidentes de tráfico con un consumo de alcohol también mayor. Además al carecer de anamnesis no se puede diferenciar entre etiología alcohólica o no alcohólica. Las biopsias hospitalarias obtuvieron una prevalencia del 1-2,8% de EHNA, y en el subgrupo de obesos del 18,5%. El estudio de pacientes de consulta presentó un 48% de pacientes con EGHNA y 35% de pacientes con EHNA. Un único estudio de biopsia se realizó en voluntarios sanos<sup>(66)</sup>.

Estos estudios mencionados no reflejan la prevalencia de la población, bien por su escasa validez externa al tratarse de pacientes de poblaciones muy seleccionadas, o bien porque los métodos utilizados no permiten un diagnóstico certero, como es utilizar sólo pruebas de imagen o sólo considerar la hipertransaminasemia.

Otros estudios utilizan una metodología más elaborada y utilizan simultáneamente pruebas de imagen y analítica más o menos completa<sup>52,53,57,60,62,72,73,78,171</sup>. Algunos de ellos están realizados en población general tras analizar sus criterios de inclusión y por tanto explican mejor la prevalencia real de la enfermedad. Son cinco artículos que merece la pena comentar:

Pendino<sup>58</sup>: Realizado en población general en 1605 participantes, realiza analítica y ecografía. Como limitación importante sólo hace la ecografía a los pacientes que considera enfermos y obtiene una prevalencia del EGHNA del 24%

Jimba <sup>73</sup>: En 1905 pacientes. Tiene como limitación que se trata de un examen de salud al que los pacientes se presentaban voluntariamente en el hospital. Además las analíticas realizadas son limitadas, de modo que no se descartan ni hepatitis virales (se le pregunta al paciente si tiene hepatitis viral), ni causas más raras de hepatopatía (déficit de A1AT, Wilson, Hemocromatosis, hepatitis autoinmune..). Los datos clínicos se recogen en un cuestionario autoadministrado, con lo que es fácil que se infraestime en mayor medida el consumo de alcohol. Además su limitación fundamental es que la clasificación de un paciente con EGHNA se basa exclusivamente en si tiene esteatosis ecográfica, sin tener en cuenta el grupo de hipertransaminasemia “ de origen metabólico”.

Zelber-Sagi <sup>75</sup>: Estudio poblacional realizado en Israel en 352 pacientes. Se realizó ecografía y analítica incluyendo la mayor parte de estudios realizados en la práctica clínica habitual para el diagnóstico de la enfermedad hepática. Se encuentra una prevalencia del EGHNA del 30%.

Caballería <sup>77</sup>: Estudio poblacional realizado en España en 766 pacientes. Metodológicamente es muy similar al nuestro, con estudio poblacional, con ecografía en todos los pacientes, estudio analítico completo, historia clínica atendiendo al alcohol. Por todo ello lo tomaremos como referencia en toda la discusión por la similitud y corrección de la metodología empleada. En él se diagnostica EGHNA en el 25,8%. En sus criterios de exclusión sin embargo están los pacientes con un consumo de alcohol elevado. Por tanto calcula la prevalencia del EGHNA realmente sólo en los pacientes no bebedores. De esta forma aunque los pacientes bebedores por definición no padecen EGHNA, no se tienen en cuenta para realizar el recuento y por tanto para calcular la proporción de EGHNA, que en este caso podría estar supraestimada (la población diana no es la población general sino la población general de no bebedores).

En nuestro caso se reclutan 448 pacientes de entre 1800 de la población general. Como fortalezas fundamentales del estudio están primero la selección de los pacientes, que hace que se parezca mucho a la población general como hemos analizado previamente. Además una segunda fortaleza del estudio es la metodología empleada para el diagnóstico. Se ha empleado en líneas generales (ver material y métodos) el mismo procedimiento que se habría realizado en un paciente con sospecha de hepatopatía y sin las limitaciones que supone realizar un estudio poblacional. Así además de realizar ecografía a todos los participantes historia clínica que incluye valoración del consumo de alcohol y una primera analítica con transaminasas e insulina basal, incluye una segunda fase con analíticas ampliadas que permiten descartar prácticamente todas las enfermedades hepáticas evaluadas rutinariamente en las consultas externas. De este modo la proporción de pacientes que tienen en el seguimiento posterior un diagnóstico diferente al que se llega durante el estudio es mínimo. La prevalencia del 28,3% se parece bastante a la obtenida por otros trabajos de características similares. Junto con el trabajo de Caballería et al.<sup>77</sup> son los únicos estudios, al menos que conozcamos, que se han realizado en España con esta metodología compleja y en población general.

Otro resultado importante del estudio que es importante destacar es que la mayor parte de pacientes con esteatosis en la ecografía presentan como diagnóstico EGHNA (78,74% [71,62%-85,86%]). Por tanto si un paciente tiene esteatosis y sabemos que no bebe, es muy probable que la causa de la esteatosis sea el EGHNA,

La mayoría de los casos de EGHNA se concentran entre los 50 y los 70 años (52 casos), que suponen el 46% [41,4%-50,6%] del total. Esto se debe entre otros factores a que la edad modifica el peso (que es mayor, en edades más avanzadas,  $p < 0,0001$ ) y la distribución de la grasa visceral estimada a través del perímetro abdominal tanto en cadera como en cintura ( $p < 0,0001$ ).

Probablemente la prevalencia vuelve a disminuir al llegar a los 80 años porque los pacientes con mayor obesidad y resistencia a la insulina ya han fallecido a esta edad.

La EGHNA se distribuye por igual en zonas rurales y urbanas sin diferencias significativas. Esto hace pensar que no hay diferencias significativas en cuanto a alimentación y hábitos de vida en ambas poblaciones.

### **Prevalencia y etiología de la hipertransaminasemia:**

El estudio demuestra una prevalencia de hipertransaminasemia del 17,7%. La mayoría de los casos esta hipertransaminasemia se debe a elevación de la GPT o la GGT (de 78 pacientes sólo 28 tenían elevada la GOT). Como la GPT está elevada, en un porcentaje importante la relación GOT/GPT es menor de 1. Esto se debe a que una proporción importante de pacientes presentan hipertransaminasemia por EGHNA, y estos pacientes presentan una GPT más elevada que en otros tipos de hepatopatía.

Comparado con otros estudios de características similares la proporción de hipertransaminasemia fue parecida. Un estudio realizado en China por Hong Z et al<sup>198</sup> evalúa 4072 individuos con una prevalencia de elevación de GPT del 17.53%. No se evaluaba la GOT ni la GGT con lo que es de esperar que la prevalencia de hipertransaminasemia fuera aún mayor. Cabe destacar que en esta población la prevalencia de hepatitis viral B era muy alta del 1,69% de la población (9,66% de las causas de hipertransaminasemia) y sin embargo la proporción de hepatopatía por alcohol fue muy baja (5,6% de las causas de hipertransaminasemia).

Si se compara con estudios realizados en Estados Unidos, como en un subanálisis de la población del estudio americano NHANES III<sup>(51)</sup>, la prevalencia de hipertransaminasemia fue mayor en nuestro estudio. En el NHANES III se valora la GOT y GPT, con una prevalencia global del 7,9% frente al 11,39% [8,4%-14,3%] de elevación de GOT y/o GPT obtenido en este estudio.

Los límites de transaminasas utilizados en el NHANES III fueron de 37 U/l para GOT y 40 U/l para GPT en hombres y de 31 U/l para GOT y GPT en mujeres. En el nuestro fueron de 38 U/l para GOT, 40 U/l para GPT tanto en hombres como en mujeres. Por lo tanto la diferencia es pequeña y las diferencias encontradas no se deben al umbral utilizado para distinguir sanos de enfermos.

En un estudio realizado en Italia por Pendino et al <sup>58</sup> se aprecia una prevalencia de hipertransaminasemia baja del 3,3% en lugar del 17,7% en nuestro estudio. En este estudio se considera tanto GOT como GPT y GGT pero los niveles considerados como patológicos son excesivamente altos. Se considera enfermo en este estudio una GOT de 45 U/l, GPT de 50 U/l y GGT de 60 U/l. Estas diferencias explican parcialmente las diferencias encontradas. Si en nuestro estudio se aplicaran estos puntos de corte la prevalencia sería aún muy alta del 14,35%. Las diferencias encontradas tampoco se deben a la fecha en que se realiza el estudio (2005), que es algo anterior al nuestro pero no suficiente para que haya cambiado el patrón poblacional de hipertransaminasemia.

Existe un reciente estudio español realizado por Vallejo et al <sup>(199)</sup> que valora la hipertransaminasemia asintomática en Atención Primaria obteniendo un 15,15% de hipertransaminasemia, muy similar a la encontrada en nuestro propio estudio. Es un estudio realizado sobre 1136 muestras de pacientes no bebedores que se realizaron analíticas. No se trata por tanto de población general, ya que las analíticas se realizan a pacientes a los que se les hizo una analítica por algún motivo y se excluyeron los pacientes bebedores. Los datos se recogen de modo retrospectivo entre 2006 y 2009.

En cuanto a las **causas de hipertransaminasemia**, la más frecuente fue la debida a EGHNA (56,41%), seguida del alcohol (19,23%) y luego fármacos (14,10%). Entre estas 3 causas se



explica el 89,6% del total de hipertransaminasemias. El resto de causas son minoritarias, y entre ellas destaca la infección VHC, que supone un 3,85% de las causas de hipertransaminasemia y el 1,1% de la población. Estos datos coinciden con los obtenidos en otros estudios sobre hepatitis C (200,201). Cabe destacar que ninguno de los dos pacientes con hepatitis B tenían hipertransaminasemia (estaban previamente diagnosticados) y dentro de los casos de hepatitis C, la hipertransaminasemia se encontró en 4 de los 5 casos (el otro estaba diagnosticado). Según fuentes bibliográficas, el 25% y el 50% de los pacientes con infección VHC no tienen hipertransaminasemia (200,202)

Se debe tener en cuenta que el estudio está diseñado para detectar la prevalencia del hígado graso no alcohólico y no tiene la potencia suficiente para determinar la prevalencia exacta de patologías raras con prevalencias inferiores al 5%. Por tanto los resultados de prevalencia de hepatitis autoinmune (0,4%), hemocromatosis (0,4%), sobrecrecimiento bacteriano (0,4%) y hepatitis B (0,4) se obtienen de uno o dos pacientes y son sólo aproximaciones que se deben valorar con cautela.

Si revisamos los grandes estudios de hipertransaminasemia realizados en Italia, China y Estados Unidos se aprecia en general que el EGHNA es la causa más frecuente de hipertransaminasemia en todos los grupos.

En el estudio chino de Hong Z et al (198), el 20,31% de las causas de hipertransaminasemia se deben bien a EGHNA, a Síndrome metabólico o a las dos simultáneamente. Sin embargo, hay un 34,56% de causas inexplicadas de hipertransaminasemia que en nuestro estudio las hemos atribuido a un origen metabólico. Por tanto si sumamos los dos porcentajes un 54,87% de los pacientes con hipertransaminasemia presentaban EGHNA. Estos datos son muy similares a los obtenidos en nuestro estudio del 56,41%.

La hipertransaminasemia debida a **alcohol** en nuestro estudio fue del 19,23%. Estas cifras son muy superiores al 5,6% encontrado en la cohorte de Hong Z<sup>(198)</sup>. Las diferencias se deben en parte a motivos culturales ya que el consumo de alcohol es menor en la población asiática que en los países mediterráneos pero el factor fundamental es que en este estudio uno de los criterios de exclusión es el consumo de alcohol superior a 40 gramos diarios (hipertransaminasemia por alcohol infraestimada). En un subanálisis del estudio americano NHANES III publicado por Clarck et al. <sup>(51)</sup> la hipertransaminasemia por el consumo de alcohol supone el 1% de la población y el 38,3% de las causas de hipertransaminasemia (aunque la proporción de hipertransaminasemia en este estudio fue sólo del 7,9%). En el estudio de Pendino et al <sup>58</sup> el alcohol supone el 45,6% de las causas de hipertransaminasemias. Este estudio se realizó en Cittanova en Italia lo que supone que se comparten muchas características culturales y de hábitos de consumo con nuestro medio por el hecho de ser países mediterráneos. Las diferencias encontradas pueden deberse en parte a que la prevalencia de hipertransaminasemia atribuida a EGHNA fue relativamente menor (24% de las causas de hipertransaminasemia frente al 56,41%). Esto ocurre en parte porque el IMC fue también inferior al encontrado en nuestro estudio (25,8 frente a 27,2 en nuestro estudio). El límite de alcohol excesivo que se considera para este estudio fue de 28 gramos diarios, similar al considerándose patológico en nuestro estudio de 30 gramos diarios por lo que las diferencias no se deben a este hecho. Como factor fundamental el consumo de alcohol fue muy superior en el estudio de Pendino (38,5 gramos/día frente a 10,14 gramos/día en nuestro estudio) lo que determina una mayor proporción de hipertransaminasemia por alcohol. No podemos determinar las causas de estas diferencias en el consumo de alcohol aunque en parte y como hipótesis pueden deberse a que el estudio de Pendino se realiza exclusivamente en un medio rural de Italia (Cittanova) según refiere el propio autor en la discusión de su artículo. Estas diferencias entre consumo de alcohol entre medio rural y urbano no se encuentran en nuestro estudio (p=0,200).

### **Prevalencia de la hepatopatía por fármacos y por alcohol:**

La prevalencia de **hepatopatía alcohólica** encontrada en nuestro estudio fue del 6,25%. Es este grupo se incluye tanto a pacientes con hipertransaminasemia asociada al consumo de alcohol como a pacientes con esteatosis hepática por consumo de alcohol. Varios estudios evalúan la prevalencia de hipertransaminasemia por alcohol, pero ninguno de ellos valora la presencia de esteatosis como consecuencia del alcohol y por tanto ninguno valora la prevalencia real de la hepatopatía por alcohol. Por tanto nuestro estudio aporta datos más completos acerca de la prevalencia de la enfermedad. El número de pacientes reclutados y al hecho de que no se han excluido los pacientes con un consumo de alcohol elevado hacen que los resultados sean válidos. El 75% de los pacientes con hepatopatía por alcohol presentan esteatosis y el 53,6% presenta hipertransaminasemia. La esteatosis e hipertransaminasemia coinciden en el 28,5% de pacientes con hepatopatía por alcohol (total 8 pacientes). El predominio es claro de hombres sobre mujeres teniendo en cuenta un mayor consumo en hombres (17,8 gramos frente a 2,5 gramos diarios en mujeres). Se aprecia que la mayor parte de los casos aparecen entre los 60 y 70 años y todos los casos en hombres. A partir de los 80 años disminuye mucho la prevalencia probablemente porque fallecen los pacientes con consumo de alcohol muy elevado.

Al menos en nuestro medio no hay diferencia entre el consumo de alcohol rural y urbano, y por tanto tampoco hay diferencias entre hepatopatía alcohólica en medio rural y urbano.

La **hepatopatía por fármacos** supone la tercera causa de hipertransaminasemia en nuestro estudio (14,1% de las causas de hipertransaminasemia). Además algunos pacientes presentan esteatosis atribuible a fármacos (4 casos que suponen el 3,15% de las causas de esteatosis). En algunos pacientes se superponen hipertransaminasemia y esteatosis. En conjunto la hepatopatía por fármacos afecta al 3,35% de la población global del estudio.

Comparándolo con otros estudios como el de Vallejo et al <sup>(199)</sup> el porcentaje de hipertransaminasemia asociada a fármacos fue del 27,3%, superior al encontrado en nuestro estudio. Dado que este estudio no realiza ecografía, no se puede estimar realmente a partir de este estudio la prevalencia de hepatopatía por fármacos. Nuestro estudio permite realizar una evaluación adecuada de la prevalencia de hepatopatía por fármacos al realizar simultáneamente historia clínica, ecografía y analítica.

Al contrario de lo que cabría esperar la hepatopatía por fármacos no aumenta al aumentar la edad a pesar de que el consumo de fármacos es superior en pacientes de edad superior. A modo de ejemplo el gasto sanitario en jubilados supone el 77% del gasto farmacéutico sanitario en Cataluña <sup>(203)</sup>. El grupo de edad en el que se detectó mayor prevalencia de hepatopatía por fármacos fue entre los 50 y 70 años para posteriormente disminuir, pero no se ha encontrado ninguna justificación para este hallazgo.

#### **Prevalencia total de pacientes con enfermedad hepática:**

Nuestro estudio demuestra una prevalencia de enfermedad hepática del 37,95%. Esta cifra es sorprendentemente elevada e implica que más de 1 de cada 3 personas presenta enfermedad hepática, bien sea en forma de hipertransaminasemia o de lesiones hepáticas (fundamentalmente esteatosis) en la ecografía. Esta prevalencia tan elevada se debe a la alta prevalencia de EGHNA como factor fundamental unido al consumo de alcohol y de fármacos. La mayor parte de los casos se trata de hipertransaminasemia leve y transitoria o bien esteatosis leve en la ecografía. Tras realizar una búsqueda bibliográfica en Medline no se han encontrado otros estudios en los que se haya estudiado la prevalencia de la enfermedad hepática en la población.

#### **Relación del EGHNA con parámetros antropométricos:**

La EGHNA se relaciona con el peso de forma muy directa. De este modo el IMC predice la aparición de EGHNA de forma que los pacientes con obesidad mórbida presentan en nuestro estudio EGHNA en un 100% de los casos y los pacientes con obesidad en un 47,1%. Los pacientes con un IMC normal sólo presentan EGHNA en un 11% de los casos. Sin embargo, como el IMC medio de nuestro estudio fue de 27,2 la prevalencia fue mucho mayor de alrededor del 25%. El porcentaje de obesos en la población fue del 23,8% [19,8%-27,7%] (total 107 pacientes), cifras bastante alarmantes que se acercan a los observados en Estados Unidos. Esto hace que la prevalencia de EGHNA respecto a Estados Unidos tampoco sea muy diferente y a la vez demuestra que se posiblemente se estén perdiendo en nuestra cultura la dieta mediterránea y los hábitos de alimentación tradicionales.

El efecto del peso no es significativo en el análisis multivariante a pesar de que sí lo es en el análisis bivariante. Esto se explica porque el efecto del peso sobre el EGHNA, que es real, está mediado por la resistencia a la insulina, de modo que añadir el peso a la resistencia a la insulina (medido a través del HOMA) no aporta nada al modelo multivariante.

El índice cintura-cadera y el perímetro abdominal (tanto en ombligo como en caderas) también se relacionan con la EGHNA. Esto es lógico pues se relaciona también con el peso y con la cantidad de grasa visceral abdominal. Al comparar el índice cintura cadera y el perímetro abdominal con el peso como factores de riesgo de padecer EGHNA, estos parámetros tienen una relación más fuerte con el EGHNA (OR para perímetro de la cintura 4,59 y OR para el peso de 2,46). Sin embargo, al igual que ocurre con el peso, esta relación aunque es muy fuerte depende casi completamente de la resistencia a la insulina. De este modo al añadir al análisis multivariante cualquiera de estos perímetros al HOMA-IR se obtiene un resultado no significativo. Este mismo

fenómeno se aprecia en otros trabajos como el de Caballería et al <sup>(77)</sup> realizado en España lo que reafirma esta hipótesis.

### **Relación del EGHNA con la resistencia a la insulina:**

La insulina basal favorece la síntesis de TAG a partir de ácidos grasos libres. Esto induce la acumulación de grasa en el hígado e induce esteatosis. Por tanto al menos teóricamente debería existir relación entre la presencia del EGHNA y los niveles de insulina basal. El análisis estadístico confirma esta teoría obteniéndose una insulinemia mayor en pacientes con EGHNA (1,94 mU/ml [0,19-3,70]) mayor en el grupo de EGHNA,  $p=0,002$ ).

Aunque la insulina tiene una relación significativa con el EGHNA, para valorar mejor la resistencia a la insulina se debe tener en cuenta la glucosa para un nivel determinado de insulinemia. Para tener en cuenta ambos parámetros existe el HOMA, que es un modelo que mide la insulinemia en función de la glucemia que hay en un momento dado. Este tiene una validez similar al clamp euglicémico para valorar la resistencia a la insulina. Como resultado en nuestro estudio el EGHNA tiene una relación muy importante con el HOMA-IR en el análisis bivalente (OR cruda de 3,44) y también en el análisis multivariante (OR en el modelo multivariante de 3,68). Estos resultados respaldan la idea de que la resistencia a la insulina es un elemento patogénico fundamental en el EHGNA. La resistencia a la insulina favorece los mecanismos de acumulación de TAG en los hepatocitos y la sobrecarga de ácidos grasos libres que a nivel mitocondrial produce stress oxidativo y liberación de radicales libres.

La observación de la relación entre resistencia a la insulina y EGHNA coincide con la de múltiples trabajos en los que se confirma dicha asociación <sup>(204,205)</sup> medida fundamentalmente por el HOMA en sus distintas versiones.

Además del HOMA-IR también hubo relación significativa del EGHNA en nuestro estudio con el HOMA-%S como medida de la sensibilidad a la insulina de las células beta. No fueron

significativos sin embargo el HOMA.%B y el HOMA2%B. Su significado es el funcionamiento en porcentaje de las células beta. Esto se puede atribuir a que el porcentaje de pacientes diabéticos era relativamente pequeño y a que el deterioro significativo de las células beta aparece en la diabetes avanzada pero no en el EGHNA o el síndrome metabólico en los que el deterioro de la célula beta es mucho menor.

La HbA1C se relaciona también con la presencia de EGHNA en nuestro estudio, de modo que es un 0,3% mayor en los pacientes con EGHNA. Esta observación coincide con la realizada en el estudio de Ji Cheol Bae et al <sup>(204)</sup> en pacientes no diabéticos, en los que también la HbA1C es superior en el grupo del EGHNA.

#### **Relación del EGHNA con el metabolismo lipídico:**

No hay relación entre el colesterol y sus fracciones con el diagnóstico de EGHNA en nuestro estudio. En cambio se confirma relación entre el EGHNA y los TAG como cabría esperar. Al realizar un análisis más profundo vemos que estas diferencias de TAG encontradas se deben al peso. En el análisis estratificado se aprecia que la relación de TAG con EGHNA sólo aparece en los pacientes con IMC alto pero no en los de IMC bajo utilizando la media de IMC (27,2) para distinguir entre IMC elevado o normal.

En general los pacientes con IMC menor tienen también menor resistencia a la insulina. Como hipótesis sería la resistencia a la insulina la que favorece la hipertrigliceridemia que induce posteriormente esteatosis (Ver apartado de Patogenia). Esta resistencia a la insulina aparece en pacientes con IMC elevado y es por eso que en estos pacientes la hipertrigliceridemia se relaciona con el EGHNA. Si la hipertrigliceridemia del paciente no está mediada por este mecanismo (ej. Asociada a fármacos o alcohol) no producirá esteatosis y por eso en pacientes con IMC bajo, en los que la resistencia a la insulina es menor, no hay asociación entre TAG y EGHNA. Esta hipótesis explica también por qué aunque hay importante relación entre TAG y EGHNA en el análisis

bivariante, en el multivariante este efecto se difumina y se hace no significativo. Se debe a que la relación de los TAG y el EGHNA está mediada también por la resistencia a la insulina o dicho de otro modo, no son los TAG los que inducen EGHNA sino que la resistencia a la insulina produce una hipertrigliceridemia. Esto junto con otros mecanismos producen EGHNA.

En otros trabajos como el de Caballería et al <sup>(77)</sup> se confirma también la observación de que la hipertrigliceridemia se relaciona con el EGHNA. Del mismo modo tampoco se incluye en el modelo multivariante final aunque no hace mención al análisis estratificado en función del IMC.

### **Relación entre EGHNA y metabolismo férrico:**

Un elemento que es importante analizar es si el IST influye en la génesis del EGHNA. El IST en nuestro estudio no se relaciona con el EGHNA. Tampoco se encuentra relación entre el EGHNA y la sideremia, ni tampoco con la transferrina. Esto hace pensar que es poco probable que la sobrecarga férrica intervenga en la patogenia del EGHNA.

La ferritina en cambio sí está aumentada en pacientes con EGHNA frente a los sanos en nuestro estudio. Existe un cuerpo de evidencia que avala el hecho de que los pacientes con EGHNA presentan elevación de la ferritina <sup>(206,207,208,209,210,211,212,213)</sup>. La ferritina está aumentada no sólo en el hígado graso no alcohólico sino en todas las enfermedades hepáticas de forma general. Esto podría deberse en parte a sobrecarga férrica y en parte a que se trate de un reactante de fase aguda. En nuestro estudio se ha podido demostrar que existe hiperferritinemia asociada al EGHNA pero no se ha objetivado ningún dato de sobrecarga hepática de hierro dado que el IST, la sideremia y la transferrina no se correlacionan con el EGHNA. Esta observación de hiperferritinemia con IST normal en pacientes con EGHNA se ha encontrado en varios artículos entre los que destaca el de Mendler et al. <sup>(214)</sup>. En función de los resultados de nuestro estudio la ferritina está elevada en pacientes con EGHNA debido a que es un reactante de fase aguda.



La ferritina probablemente se relaciona con la gravedad de la enfermedad y el grado de fibrosis según avalan algunos artículos <sup>(206-209,213)</sup>. En nuestro estudio se incluye la ferritina en el modelo multivariante y en el NAFLD score, lo que indica que explica parte de la enfermedad que no se asocia con la resistencia a la insulina o la presencia de esteatosis en la ecografía. Como hipótesis en nuestro estudio la ferritina podría servir de marcador del componente inflamatorio que aparece en el espectro del hígado graso no alcohólico.

### **Relación entre EGHNA y transaminasas:**

Como cabe esperar tanto GOT como GPT están más aumentadas en nuestro estudio en los pacientes con EGHNA que en pacientes sanos. Esta relación está descrita en la mayoría de los artículos que estudian la prevalencia del EGHNA y sus factores asociados. Por mencionar alguno, nuestro artículo de referencia de Caballería et al <sup>(77)</sup> o el artículo de Hou et al <sup>(215)</sup> presentan una alta prevalencia de GPT elevada en la población con EGHNA.

La relación GOT/GPT, también según cabía esperar, es menor de 1 en una alta proporción en los pacientes con EGHNA en relación con un aumento relativo de la GPT respecto a la GOT en pacientes con EGHNA.

La observación más importante y paradójica de nuestro estudio es sin embargo el aumento de la GGT. En el análisis bivariante se aprecia que los niveles de GGT son mayores en los pacientes con EGHNA que en los pacientes control. Sin embargo al realizar el análisis multivariante se aprecia que los niveles de GGT altos excluyen a los pacientes con EGHNA y que son, al contrario de lo que cabría esperar, los niveles más bajos de GGT los que predicen EGHNA. Esta situación aparentemente paradójica puede tener sin embargo una explicación lógica. Por una parte los pacientes con EGHNA comparados con la población general tienen niveles de GGT superiores como ocurre en la mayor parte de las hepatopatías. No hay relación entre el consumo

de alcohol y GGT en los pacientes con EGHNA, por lo que los pacientes con EGHNA presentan elevación de la GGT de forma independiente al consumo de alcohol.

Si en cambio hablamos de análisis multivariante se tienen en cuenta muchos factores de forma simultánea, de modo que los pacientes con GGT más elevada probablemente corresponden a los que tienen un consumo de alcohol más elevado que orienta más al diagnóstico de hepatopatía alcohólica que a EGHNA.

Si bien la asociación directa en el análisis bivariante se aprecia en varios artículos, y entre ellos el de Caballería et al<sup>(77)</sup>, la relación inversa entre GGT y EGHNA en el análisis multivariante no se encuentra en este estudio, fundamentalmente debido a que el consumo de alcohol es criterio de exclusión. Por este motivo si se excluyen los pacientes que consumen alcohol, la GGT será mayor en los pacientes con EGHNA y no menor, al igual que ocurre en el análisis bivariante.

En otros dos estudios<sup>(216,217)</sup> se aprecia una elevación de la GGT asociada a EGHNA (relación directa) y sobre todo en pacientes con síndrome metabólico, pero al igual que en el de Caballería se excluyen los pacientes que consumen alcohol de la población diana.

### **Relación del EGHNA con otros parámetros bioquímicos:**

Si bien en el apartado de resultados se expresan muchas relaciones del EGHNA con distintos parámetros bioquímicos, merece la pena detenerse en 4 de ellos:

La **Homocisteína** es un factor de riesgo en algunas patologías como en el ictus. En nuestro estudio no se aprecia ninguna relación con el EGHNA y sólo se encuentra relación con sustancias que intervienen en su metabolismo como el ácido fólico y la vitamina B12. Ninguna de ellas tampoco se relaciona con el EGHNA.

El **urato** se ha intentado relacionar con el Síndrome metabólico, aunque finalmente no se ha incluido dentro de los criterios de clasificación. En nuestro estudio existe asociación entre el

EGHNA y el urato en el análisis bivariante, pero al realizar el análisis multivariante se excluye porque no aporta nada al modelo. Esto puede deberse como hipótesis a que el urato es un epifenómeno que ocurre paralelo a la EGHNA pero que no se relaciona patogénicamente con ella. Es posible que el urato se asocie a ciertos hábitos de vida, consumo de fármacos, alcohol o alimentación que ocurren con más frecuencia en los pacientes con EGHNA y sobre todo con el Síndrome metabólico pero que no se relacionan directamente con el origen de la enfermedad

La **ceruloplasmina** se asocia de forma inversa al EGHNA en nuestro estudio de forma estadísticamente significativa. Esto parece deberse, como apuntan algunos artículos <sup>(218)</sup>, a que ciertos subgrupos de pacientes con EGHNA presentan una deficiencia relativa de cobre en sangre que se asocia con hiperferritinemia y que favorece la aparición de la enfermedad. La sobrecarga de hierro inducida por el déficit de cobre está mediada según este artículo por disminución de la ferroproteína 1 (FP-1).

La **alfa 1 antitripsina** está ligeramente disminuida en nuestro estudio en los pacientes con EGHNA en comparación con los controles. Esta disminución es ligera y coincide bastante con las cifras observadas por otros autores como en el estudio de Valenti et al <sup>(219)</sup>. En este estudio el déficit parcial de A1AT no se relaciona con mayor daño hepático en la biopsia. La A1AT es una enzima relacionada con la inmunidad innata, cuyo déficit promueve un estado proinflamatorio. En el análisis multivariante se incluye la A1AT pues podría dar una idea indirecta del grado de inflamación que no se relaciona con la resistencia a la insulina ni con el grado de esteatosis en la ecografía por lo que aporta información adicional.

### Relación del EGHNA con el Síndrome metabólico:

Nuestro estudio demuestra la relación amplia que existe entre EGHNA y Síndrome metabólico, de modo que el EGHNA puede considerarse la manifestación hepática del Síndrome metabólico. Como datos más significativos más de la mitad de pacientes (56,2%) con diagnóstico de Síndrome metabólico de la ATP-III presentan EGHNA. No todos los criterios de Síndrome metabólico son igual de frecuentes, y podemos ver la frecuencia de cada uno de estos criterios en los pacientes con Síndrome metabólico en la población y en los pacientes con Síndrome metabólico como se ve en esta tabla:

Tabla 6.1 Frecuencia de distintos criterios de SM en la población y en los pacientes con SM

<b>Criterio de Síndrome metabólico</b>	<b>Frecuencia en la población</b>	<b>Frecuencia en pacientes con S. Metabólico</b>
Aumento del perímetro abdominal	41,96%	94,38%
PA mayor de 135/85	50,66%	86,52%
Glucosa mayor de 110 mg/dl	22,54%	71,91%
<b>PRESENCIA DE EGHNA</b>	25,45%	56,20%
TAG mayor de 150 mg/dl	19,19%	53,00%
HDL baja	12,05%	41,57%

La presencia de EGHNA en los pacientes con Síndrome metabólico es tan frecuente como otros criterios que definen al Síndrome metabólico. Esto nos da una idea de que esta enfermedad es parte del espectro del Síndrome metabólico.

Otro dato que demuestra la relación entre estas dos patologías es que la prevalencia de EGHNA es muy baja en pacientes que no cumplen ningún criterio de Síndrome metabólico (8,4%) mientras que es del 90% en los pacientes que cumplen los 5 criterios.

Comparando nuestros datos con los de la literatura médica, se confirman algunas de las observaciones realizadas. Un estudio realizado en Japón <sup>(220)</sup> demuestra que la utilización de los criterios de síndrome metabólico son útiles para el diagnóstico del EGHNA utilizando como punto

de corte la presencia de uno o más criterios de Síndrome metabólico. En este mismo sentido, otro estudio realizado en Taiwan <sup>(221)</sup> demuestra que los distintos criterios diagnósticos del Síndrome metabólico predicen la aparición de EGHNA. Además en este estudio la proporción de pacientes con Síndrome metabólico que presentan además EGHNA fue más alta que la observada en nuestro grupo (74,3% vs 56,2%)

#### **Relación del EGHNA con parámetros ecográficos:**

La relación entre el EGHNA y el grado de esteatosis es obvia pues la presencia de esteatosis define el EGHNA descartadas otras causas de enfermedad. Esto hace que se incluya también en el modelo multivariante, pues explica una parte importante de la enfermedad.

Llama la atención la relación entre el grado de esteatosis y la presencia de Síndrome metabólico de modo que los pacientes sin esteatosis en la ecografía es raro que tengan Síndrome metabólico (sólo un 8,4%), mientras que los pacientes con esteatosis moderada o severa tienen Síndrome metabólico con bastante frecuencia (59%). Igualmente la intensidad de la esteatosis se relaciona con el número de criterios de Síndrome metabólico de forma muy llamativa, de modo que los pacientes sin criterios de síndrome metabólico sólo tienen en nuestro estudio esteatosis leve o ausencia de esteatosis, mientras que los que cumplen 5 criterios sólo tienen grados de esteatosis importante moderada o severa. Esto confirma la asociación entre la presencia de hígado graso no alcohólico y el número de criterios de síndrome metabólico por un lado y nos dice que el grado de esteatosis en la ecografía es un factor predictor de síndrome metabólico.

Esta relación entre esteatosis y síndrome metabólico se debe a que en ambos el mecanismo patogénico central es la resistencia a la insulina. Así el grado de esteatosis se asocia con el grado de resistencia a la insulina medido a través del HOMA-IR, HOMA2-IR y HOMA2-%S.

La relación del grado de esteatosis con el Síndrome metabólico y con el grado de resistencia a la insulina medido por el HOMA se ha observado en un artículo italiano<sup>(222)</sup> en el que se alcanza una prevalencia de EGHA en pacientes con Síndrome metabólico del 78%.

### **Relación del EGHNA con la colelitiasis:**

Al comparar la prevalencia del EGHNA con distintas lesiones ocupantes de espacio en nuestro estudio se encuentra asociación con la colelitiasis con una OR de 3,9 [0,95-9,61], ( $p= 0,048$ ). No se incluyó sin embargo en el análisis multivariante porque su efecto quedaba anulado al añadir el resto de variables independientes.

La relación entre colelitiasis y EGHNA no está aparentemente mediada por la resistencia a la insulina (no hay asociación entre colelitiasis y HOMA en nuestro estudio).

Esta asociación ya se había descrito en un artículo de un grupo escandinavo<sup>(223)</sup> en el que además de encontrar asociación entre EGHNA y colelitiasis, se define la colelitiasis como un factor de riesgo independiente para EGHNA y lo incluyen en el análisis multivariante. Además en este artículo sí se encuentra asociación entre el EGHNA y la resistencia a la insulina. Las diferencias encontradas en los estudios pueden deberse a que la población diana de este estudio escandinavo fueron pacientes con factores de riesgo metabólico que acuden a una clínica especializada en lugar de población general como ocurre en nuestro estudio. Por tanto es probable que los datos obtenidos en nuestro estudio sean más fácilmente extrapolables a la población general (mayor validez externa).

### **Diagnóstico del EGHNA a través de un score clínico: NAFLD Score**

Se ha diseñado un score clínico utilizado específicamente para el diagnóstico del EGHNA. Para ello se parte del análisis multivariante de los factores que se relacionan con el EGHNA de forma

independiente. Posteriormente cada uno de esos factores se pondera en función de los coeficientes de regresión obtenidos en la ecuación de regresión logística.

El NAFLD Score evalúa 6 parámetros que son analíticos y radiológicos: GGT, GPT, Ferritina, Alfa 1 antitripsina, HOMA-IR y presencia de esteatosis. Si la suma de las puntuaciones de estos parámetros es superior a 10 puntos el NAFLD Score predice la presencia de EGHNA en un paciente en concreto con una sensibilidad del 88.6% y una especificidad del 70.4%.

Puede pensarse que faltan algunos parámetros en el score, como pueden ser el peso, el perímetro abdominal o la presencia de Síndrome metabólico. Sin embargo no se incluyen en el score porque no aportan nada al modelo. Esto ocurre porque estos parámetros están indirectamente relacionados con la resistencia a la insulina y al incluirlos en el análisis multivariante no son significativos ya que quedan eclipsados por el efecto de la resistencia a la insulina medida por el HOMA-IR.

De este modo el score permite un diagnóstico rápido, con una seguridad bastante razonable y obtenido sólo a partir de los datos de una analítica y ecografía.

Aunque se pueden aplicar a todos los pacientes, hay ciertos casos que comentamos a continuación en los que la utilización del NAFLD Score puede ser especialmente útil:

- **Pacientes en los que no queda claro en la anamnesis si el paciente consume alcohol o no**

En el NAFLD Score no se valora el consumo de alcohol y por lo tanto se puede aplicar el Score sin conocer este dato y permite clasificar al paciente como EGHNA con bastante seguridad. La capacidad del score para clasificar a estos pacientes se debe fundamentalmente a que los pacientes con consumo elevado de alcohol presentan una GGT mayor y no presentan resistencia a la insulina significativa medida por el HOMA-IR.

- **Evaluación de pacientes no bebedores que no tienen fenotipo de Síndrome metabólico.**

Habitualmente el diagnóstico de confirmación del EGHNA es histológico y en la práctica clínica se basa en descartar las causas conocidas de enfermedad hepática según se ha realizado en el protocolo de este estudio. En estos pacientes no bebedores sin fenotipo de Síndrome metabólico el Score no sustituye al estudio hepático pero su realización tras finalizar el estudio y no encontrar ninguna causa alternativa supone una ayuda para confirmar que se trata de un caso de EGHNA

- **Permite la aproximación al diagnóstico de EGHNA a partir de datos exclusivamente**

**analíticos sin tener ecografía.** Si encontramos un paciente con una elevada resistencia a la insulina junto con o bien elevación de la ferritina o elevación de la GPT, la probabilidad de presentar EGHNA es elevada aún sin disponer de datos ecográficos ni sobre su consumo de alcohol.



## **6. CONCLUSIONES**



## 6. Conclusiones:

1. La prevalencia de hígado graso no alcohólico en nuestro medio es del **25.78%**. Esto supone la primera causa de hepatopatía en nuestro medio y supone el 67.05% del total de pacientes con enfermedad hepática.
2. El hígado graso no alcohólico aparece en todas las edades de la vida, pero es más frecuente entre los 50 y 70 años de edad , con un 44,9% de los casos. No hay diferencias entre sexos ni zona rural o urbana. El EGHNA también se relaciona con el perímetro de la cintura, perímetro de la cadera y con el índice cintura cadera mayor de 1.
3. Los factores que predicen el EGHNA son la resistencia a la insulina medida por el HOMA-IR, la GPT, ferritina mayor de 51, presencia de cualquier grado de esteatosis en la ecografía, GGT menor de 26 UI/ml, alfa 1 antitripsina menor de 132 mg/dl y la presencia de dos o más criterios de síndrome metabólico.
4. La Alfa 1 antitripsina se encuentra disminuida de forma significativa en los pacientes con EGHNA respecto a los pacientes con otros tipos de hepatopatías. Los niveles no son suficientemente bajos como para considerarlos un déficit parcial de alfa 1 antitripsina. Dicha disminución no se encuentra en otras hepatopatías.
5. En conjunto, la enfermedad hepática afecta al 37.95% de la población bien sea en forma de elevación de transaminasas o de alteraciones ecográficas. Por orden, las causas más importantes de enfermedad hepática en la población son primero el EGHNA (25.7%), luego la hepatopatía alcohólica (6.3%), la hepatopatía por fármacos (3.3%) y la hepatitis C (1.1%).
6. El Síndrome metabólico aparece en el 19.9% de la población (IC95% [0.166-0.235]). Al igual que en el EGHNA, el elemento patogénico central en ambas patologías es la resistencia a la

insulina, por lo que puede considerarse el EGHNA como la manifestación hepática del síndrome metabólico.

7. Se determina un Score clínico radiológico, que llamamos NAFLD score y que permite, a partir de datos analíticos, clínicos y ecográficos predecir si un paciente tiene o no EGHNA con una sensibilidad de 88.6% y una especificidad del 70.4%

## **Participantes:**

Directores de la tesis: Dr. Alberto Pérez Rubio

Dr. David Andaluz Ojeda

Doctorando: Iván Cusáovich

Ecografistas: Dr. Israel Sánchez Lite y Dr. Borja Toribio

## **7. ANEXOS**

## **7. Anexos:**

### **ANEXO 1: Carta a los pacientes (fase de screening)**

Estimado D. Nombre Apellido:

Nos alegramos de poder contactar con usted, para informarle sobre la campaña contra la enfermedad hepática que estamos realizando en Valladolid.

Las enfermedades del hígado son frecuentes y afectan a todos los grupos de edad. Estimamos que estas enfermedades afectan a casi 1 de cada 10 personas en Valladolid, independientemente de la edad. Estas enfermedades apenas producen síntomas hasta que no están en fases muy avanzadas. Para evitar esto, estamos realizando una campaña de prevención para detectar la enfermedad hepática en sus fases más iniciales, y en ese caso, poner un tratamiento adecuado para evitar su avance.

Además recogiendo los datos de todos los participantes, podremos conocer lo frecuente o rara que es la enfermedad del hígado en nuestra ciudad, datos que no se conocen con exactitud en este momento.

Su participación consistiría en una breve consulta médica (de aproximadamente 15 minutos), una analítica de sangre, y una ecografía del abdomen para ver el hígado. La ecografía se realiza por un ecografista experto del Hospital Clínico, y los análisis se procesan en el Laboratorio Central del Hospital. Algunos análisis especiales se envían a otros centros especializados.

Le rogamos que nos envíe esta misma carta dentro del sobre que se adjunta, marcando con una cruz en el cuadrado de abajo. El sobre ya está franqueado y con la dirección correcta.

Posteriormente nosotros nos pondremos en contacto con usted por carta o por teléfono para citarle para estas pruebas. Los horarios para las citas pueden ser flexibles según sus necesidades.

Atentamente, le agradecemos su participación en esta campaña de screening

**Valladolid a X de Enero de 2007**

**Dr. J. Manuel González**

**Dr. Cusáovich**

Jefe de Servicio de Aparato Digestivo

Médico Residente Medicina Interna

Hospital Clínico de Valladolid

H. Clínico de Valladolid

Para cualquier tipo de duda o consulta que pueda tener acerca de nuestra campaña de prevención de la enfermedad hepática, pueden llamar siempre que lo necesiten al Tlfno.677-502463

**ANEXO 2: Hoja de aceptación (en una cuartilla)**

- Deseo participar en el programa y que me citen para realizar una consulta, analítica y ecografía

### **ANEXO 3: Consentimiento informado**

## **Consentimiento informado para investigación clínica:**

### **Estudio sobre la prevalencia de la Esteatohepatitis no alcohólica en Valladolid**

La esteatohepatitis no alcohólica (grasa en el hígado) es una enfermedad del hígado que aparece fundamentalmente en paciente obesos, y que se relaciona además con las alteraciones de los triglicéridos y del colesterol y con la hipertensión arterial. Es una enfermedad que produce muy pocos síntomas hasta que se encuentra en fases muy avanzadas. Además se sabe que en ocasiones puede evolucionar a cirrosis hepática.

Por otra parte, las enfermedades del hígado, y en concreto la esteatohepatitis no alcohólica, son frecuentes y afectan a todos los grupos de edad.. Para prevenir esto, estamos realizando un estudio para detectar la enfermedad hepática (del hígado) en sus fases más iniciales.

**El objetivo de este estudio clínico**, consiste en investigar la frecuencia de la enfermedad hepática, y en concreto la esteatohepatitis no alcohólica en la provincia de Valladolid. Estos datos no se conocen en España, pero en otros países del mundo estas enfermedades que afectan a 1 de cada 10 personas.

**Dicho estudio ha sido aprobado** por la Gerencia de Atención Primaria del área Este de Valladolid, así como por la Comisión de investigación del Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

**Su participación en el estudio consistirá en** contestar primero a una serie de preguntas en una consulta, junto con una exploración física sencilla, en la que se mide el peso, la presión arterial y la talla fundamentalmente. Además de esto, para detectar la enfermedad del hígado es necesario realizar un **análisis de sangre** y una **ecografía del abdomen**. Para ello le citaremos para la realización de la ecografía del abdomen (en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid) y la analítica (en su Centro de Salud).

Mediante la encuesta, la analítica y la ecografía se descarta de forma razonable la enfermedad hepática, que afecta aproximadamente a una de cada 10 personas de todas las edades en España.

**En caso de que se encuentre alguna anomalía** tanto en la exploración como en las pruebas que le hagamos, le recomendaríamos ponerse en contacto con el especialista médico



adecuado, y pondríamos todas las facilidades para que la consulta con dicho médico se realice de la forma más eficaz posible.

**Todos los datos** que se obtengan de usted a través de este estudio **son confidenciales**, así como los resultados de las analíticas y de la ecografía que se realizarán. Asimismo, tras obtener los resultados de dichos análisis, las muestras serán destruidas de acuerdo con los protocolos del Hospital Clínico de Valladolid. En caso de que esté interesado, podemos proporcionarle una copia de los informes de las pruebas realizadas, de los análisis, o de la exploración.

Por medio de la presente, yo, D / D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_ **acepto participar en el protocolo de investigación** titulado: Estudio sobre la prevalencia de la Esteatohepatitis no alcohólica en Valladolid.

Declaro que he leído esta hoja de información que se me ha enviado, que la he comprendido en su totalidad, y he recibido información suficiente sobre el estudio.

Además he hablado con el Dr. \_\_\_\_\_ que también me ha informado del contenido del estudio, y he podido realizar las preguntas sobre el estudio que he considerado necesario.

Comprendo que mi participación en el estudio es voluntaria, y que puedo retirarme del mismo en cualquier momento, sin dar ningún tipo de explicación, y que mi retirada del estudio no repercutirá en mi atención médica.

Por todo ello presto libremente mi conformidad para participar en el estudio

En \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_

**Firma del paciente**

**Firma del investigador responsable**

**En caso de existir cualquier duda o pregunta en relación con el estudio, puedo contactar con el N° de teléfono 677-502463**



## **ANEXO 5: Formulario de la ecografía**

---

**Paciente:** nnnnn aaaaa aaaa      **Número de paciente:**

**Informe de ecografía abdominal de fecha: dd/mm/aaaa**

Rodee con un círculo la presencia o ausencia de los siguientes hallazgos:

Presencia de hepatomegalia:	No	Si	
Presencia de esplenomegalia:	No	Si	
Dilatación de las venas suprahepáticas	No	Si	
Presencia de LOE:	No	Si	
Presencia de ascitis:	No	Si	
Trombosis portal:	No	Si	
Signos de hipertensión portal:	No	Si	
Esteatosis focal	No	Si	
Esteatosis difusa	No	Si	
Signos de hepatitis	No	Si	
Signos de cirrosis con nódulos de regeneración	No	Si	
Lesiones sospechosas de hepatocarcinoma	No	Si	
Grado de esteatosis	Leve	Moderado	Severo

Otras anotaciones:

**ANEXO 6: Datos a recoger en la segunda visita: Estudio de la enfermedad hepática.**

**Formulario de la anamnesis para la segunda visita médica:**

---

Presencia de alguna de las siguientes enfermedades:

Abetalipoproteinemia	Si	No
Galactosemia	Si	No
Tirosinemia	Si	No
Enfermedad de Weber Christian	Si	No

Antecedentes de cirugías abdominales (con riesgo de sobrecrecimiento bacteriano):

	Si	No
--	----	----

Pérdida de peso significativa los últimos 6 meses (7 o más Kg):

	Kg
--	----

Drogas por vía parenteral:

	Si	No
--	----	----

Infección VIH conocida:

	Si	No
--	----	----

Fármacos hepatotóxicos:

	Si	No
--	----	----

Si hay fármacos hepatotóxicos, especificar cuáles:

Consumo de alcohol en gramos / día (contrastar con datos de primera visita):

**Exploración física:**

Abdomen: Patológico

	No patológico
--	---------------

Hallazgos:

## ANEXO 7: Definición de la base de datos

### Datos de filiación:

1. Nombre
2. Primer Apellido
3. Segundo Apellido: En caso de tener solo uno se marcará XX
4. Sexo: 0 si es mujer y 1 si es hombre.
5. Fecha de nacimiento: Día con 2 cifras, mes numérico con 2 cifras, y año con las 4 cifras (dd/mm/yyyy)
6. Edad expresada en años, y calculada a partir de la fecha de nacimiento por SPSS
7. Tipo de vía donde reside: CL para calle UR Urbanización PZ Plaza TR Travesía RD Ronda PS Paseo GL Glorieta CR Carretera CM Camino AV Avenida
8. Dirección: Nombre de la vía
9. Número de la vía
10. Altura (del piso): Definido por un número seguido de una letra mayúscula, separados ambos por un guión (-) En caso de entreplanta se escribe ENTREPLANTA, en caso de Bajo BJ, Izquierda Izq y Derecha Dcha. Si se especifica la escalera, ESC (Izq o Dcha), si en lugar de letra va por número, PUERTA y luego N° (Ej. PUERTA 10). En algunos no está especificado.
11. Código postal
12. Localidad: En Mayúsculas
13. Número de teléfono
14. CIAS de su médico responsable
15. Zona que le corresponde.
16. Centro que le corresponde

### Datos obtenidos en la anamnesis y exploración física:

17. HTA: No =0 Si =1
18. DM: No =0 Si =1
19. Pérdida de peso en Kg: Especificar el número en Kg si se ha perdido peso de forma significativa en los últimos 6 meses. Se considera significativa una pérdida mayor de 5 Kg.
20. Antecedentes familiares de enfermedad hepática: No=0 Si =1
21. Presencia de cirugía bariátrica: No =0 Gastroplastia= 1 By pass yeyunoileal= 2
22. Consumo de alcohol: en gramos por día. Se considera como bebedor excesivo un consumo de alcohol por encima de 30 g/día
23. Fumador: Especificar número de cigarrillos por día
24. Drogas por vía parenteral: No =0 Si =1

25. Sedentarismo: No =0 Si =1. Se define por realizar ejercicio (en el que se incluye caminar) durante menos de 20 minutos por día.
26. Infección VIH conocida: No =0 Si =1
27. Fármacos hepatotóxicos: No =0 Si =1. Hay que definir qué fármacos producen alteraciones de las pruebas hepáticas.
28. Amiodarona: No=0 Si =1
29. Tamoxifeno: No=0 Si=1
30. Estrógenos: No=0 Si=1
31. Glucocorticoides: No=0 Si=1
32. Insecticidas tipo DDT: No=0 Si =1
33. Antidepresivos tricíclicos u otros psicofármacos que inducen hepatopatía: No=0, Sí=1.
34. Nutrición parenteral en los últimos 6 meses: No=0 Si=1
35. Presencia de Abetalipoproteinemia No=0 Si=1
36. Presencia de galactosemia No=0 Si=1
37. Presencia de tirosinemia No=0 Si=1
38. Síndrome de Weber-Christian No=0 Si=1
39. Sobrecrecimiento bacteriano: No=0 Si=1
40. Peso en Kg
41. IMC
42. Índice cintura-Cadera
43. PAS en mm de Hg
44. PAD en mm de Hg
45. PAM en mm de Hg
46. Perímetro abdominal en ombligo en cm
47. Perímetro abdominal en espinas iliacas
48. Talla en cm
49. El paciente accede a realizarse la analítica: No=0 Si=1
50. El paciente accede a realizarse la ecografía No=0 Si=1

### Datos obtenidos de la analítica general con bioquímica: (todas ellas variables numéricas)

51. Glucosa basal mg/dl
52. Hb A1C
53. Insulina basal
54. Péptido C
55. Colesterol total mg/dl
56. Colesterol LDL mg/dl
57. Colesterol HDL mg/dl
58. TAG mg/dl
59. GOT
60. GPT
61. GGT
62. FA
63. Bilirrubina total
64. Bilirrubina directa
65. Bilirrubina indirecta
66. Relación GOT/GPT

107. SLP Negativa= 0 positiva= 1

- 67. Amilasa
- 68. Hb en g/dl
- 69. VCM en fl
- 70. Creatinina
- 71. Urea
- 72. Plaquetas/ mm<sup>3</sup>
- 73. Fracción gamma en el proteinograma
- 74. Índice de protrombina
- 75. INR
- 76. TTPA
- 77. Fibrinógeno
- 78. Proteínas totales
- 79. Albúmina
- 80. Vitamina B12
- 81. Ácido fólico
- 82. Homocisteína
- 83. PCR
- 84. Índice HOMA

**Datos obtenidos de la analítica de orina:**

- 85. Etanol en orina
- 86. Microalbuminuria: Numérico
- 87. Cobre en orina

**Datos obtenidos a partir de pruebas especiales:**

- 88. Serología VHA: Negativa= 0 positiva= 1
- 89. Serología VHB: : Negativa= 0 positiva
- 90. Serología VHC : Negativa= 0 positiva= 1
- 91. Serología VIH: Negativa= 0 positiva= 1
- 92. Ferritina
- 93. Índice de saturación de transferrina
- 94. Transferrina
- 95. Sideremia
- 96. Alfa 1 antitripsina
- 97. Ceruloplasmina
- 98. Cobre en sangre
- 99. TSH
- 100. T4L
- 101. ANA: Negativa= 0 positiva= 1
- 102. Anti DNA: : Negativa= 0 positiva= 1
- 103. Anti LKM: : Negativa= 0 positiva= 1
- 104. Anti- Músculo liso: Negativa= 0 positiva= 1
- 105. AMA (Antimitocondriales) : Negativa= 0 positiva= 1
- 106. SLA Negativa= 0 positiva= 1

**Datos obtenidos a partir de la ecografía abdominal:**

- 108. Presencia de hepatomegalia: No=0 Si =1
- 109. Presencia de esplenomegalia: No=0 Si =1
- 110. Dilatación de las venas suprahepáticas (signo de IC) No=0 Si=1
- 111. Presencia de LOE (en eco o en los cortes de TAC): No=0 Si =1
- 112. Presencia de ascitis: No=0 Si=1
- 113. Trombosis portal: No=0 Si=1
- 114. Signos de hipertensión portal: No=0 Si=1
- 115. Esteatosis focal No=0 Si=1
- 116. Esteatosis difusa No=0 Si=1
- 117. Signos de hepatitis No=0 Si=1
- 118. Signos de cirrosis con nódulos de regeneración No=0 Si=1
- 119. Lesiones sospechosas de hepatocarcinoma
- 120. Presencia de líquido libre No=0 Si=1
- 121. Grado de esteatosis: Ausencia de esteatosis=0, Leve=1, moderada=2 y severa

## ANEXO 8: Permiso de la Comisión de investigación:



HOSPITAL CLINICO UNIVERSITARIO  
Avda Ramón y Cajal, 3  
47005 VALLADOLID

COMISIÓN DE INVESTIGACIÓN  
Tfno +34 983420000 ext 20383; 20325



### COMISION DE INVESTIGACIÓN AUTORIZACIÓN PARA LA REALIZACIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

**ANTONIO ORDUÑA DOMINGO**, presidente de la Comisión de Investigación del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, una vez revisado por la Comisión de Investigación en su reunión del 11 de febrero de 2009 el proyecto de investigación:

**Título:** “Estudio prospectivo observacional sobre la prevalencia de la esteatohepatitis no alcohólica en Valladolid

**Investigador Principal:** Dr. José Manuel González Hernández

**Investigadores:** Dr. Ivan Cusácovich Torres  
Dr. Israel Sánchez-Lite  
Dr. Borja Toribio Calvo

**Servicios implicados:** Digestivo, Medicina Interna, Radiología

**Informa que la Comisión de Investigación ha decidido:**

- Autorizar la ejecución del proyecto en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid

**Observaciones:** Ninguna

En Valladolid a 11 de Febrero de 2009

El Presidente de la Comisión de Investigación

Fdo: Antonio Orduña Domingo





## **8. BIBLIOGRAFÍA**

## Bibliografía

---

- <sup>1</sup> Banner BF, Savas L, Zivny J, Tortorelli K, Bonkovsky HL. Ubiquitin as a marker of cell injury in nonalcoholic steatohepatitis.  
*Am J Clin Pathology* 2000;(114:860-6)
- <sup>2</sup> Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions  
*Am Journal of Gastroenterology* 1999;94:(2467-74)
- <sup>3</sup> Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Ott BJ. Nonalcoholic steatohepatitis. Mayo Clinic experience with a hitherto unnamed disease.  
*Mayo Clinic Procedures* 1980; 55:(434-8)
- <sup>4</sup> Cortez-Pinto, H, Chatham, J, Chacko, VP, et al. Alterations in liver ATP homeostasis in human nonalcoholic steatohepatitis: A pilot study.  
*JAMA* 1999; 282:1659
- <sup>5</sup> Day CP, James OF Steatohepatitis: A tale of two hits?  
*Gastroenterology* 1998;114 (842-845)
- <sup>6</sup> Jou J, Choi SS, Diehl AM. Mechanisms of disease progression in nonalcoholic fatty liver disease  
*Semin Liver Dis* 2008;28: 370-379
- <sup>7</sup> Roskams T, Yang SQ, Koteish A, Durnez A, DeVos R, Huang X et al. Oxidative stress and oval cell accumulation in mice and humans with alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease  
*American Journal of Pathology* 2003;163: (1301-1311)
- <sup>8</sup> Mae Diehl Anna. Tumor necrosis factor and its potential role in insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease.  
*Clinical Liver Dis* 8 (2004) 619-638
- <sup>9</sup> Sanyal AJ Mechanism of Disease: Pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease  
*Gastroenterology and Hepatology* 2005;2:1
- <sup>10</sup> Solis Herruzo JA Progresión de la esteatohepatitis a cirrosis. Papel del stress oxidativo y la muerte celular.  
*Gastroenterology Hepatology* 2006;29(Supp 1):(101-110)
- <sup>11</sup> Bradbury M, Berck P Lipid metabolism in hepatic steatosis.  
*Clinical Liver Dis* 8 (2004)639-67
- <sup>12</sup> Sung KC, Jeong WS, Wild SH, Byrne CD. Combined influence of insulin resistance, overweight/obesity, and fatty liver as risk factors for type 2 diabetes.  
*Diabetes Care* 2012;35:717-22
- <sup>13</sup> Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease  
*New England Journal of Medicine* 2002;346:1221
- <sup>14</sup> Nocito A, Dahm F, Jochum W et al. Serotonin mediates oxidative stress and mitochondrial toxicity in a murine model of nonalcoholic steatohepatitis.  
*Gastroenterology* 2006;133:608
- <sup>15</sup> Lebensztejn DM, Wojtkowska M, Skiba E, Werpachowska I, Tobolczyk J, Kaczmarek M Serum concentration of adiponectin, leptin and resistin in obese children with non-alcoholic fatty liver disease.  
*Advances in Medical Science* 2009; 54(2):177-182).
- <sup>16</sup> Xiao-Dong Huang, Yan Fan, Hen Zhang, Ping Wang, Jiming Ping Yuan, Ming-Jie Li, Xi-Yan Zhan Serum leptin and soluble leptin receptor in non-alcoholic fatty liver disease.  
*World Journal of Gastroenterology* 200814(18): (2888-2893)

- 
- <sup>17</sup> **Musso G, Gambino R, Durazzo M, Biroli G, Carello M, Faga E, Pacini G, De Michieli F, Rabbione L, Premoli A, Cassader M Pagano G.** Adipokines in EHNA: Postprandial lipid metabolism as a link between adiponectin and liver disease.  
*Hepatology* 2005;42:(1175-1183)
- <sup>18</sup> **Uygun A, Kadayifci A, Yesilova Z, Erdil A, Yaman H, Saka M, Deveci M, Bagci S, Gulsen M, Karaeren N, Dagalp K,** Serum leptin levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis  
*American Journal of Gastroenterology* 2000;95:3584-3589)
- <sup>19</sup> **Chalasan N, Crabb D, Cummings O, Kwo P, Asghar A, Pandya P, Considine R.** Does leptin play a role in the pathogenesis of human nonalcoholic steatohepatitis  
*American Journal of Gastroenterology* 2003;98:(2771-2776)
- <sup>20</sup> **Clark JM Diehl AM.** Nonalcoholic fatty liver disease: An underrecognized cause of criptogenic cirrhosis  
*JAMA* 2003;289: (3000-3004)
- <sup>21</sup> **Takeharu A, Kiyotaka W, Naoto K, Toshiaki G, Masao O, Kadowaki T, Ohnishi S.** Adiponectin knockout mice on high fat diet develop fibrosing steatohepatitis.  
*Gastroenterology and Hepatology* 2009; 24: (1669-1676)
- <sup>22</sup> **Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J** Beyond insulin resistance in EHNA: TNF or adiponectin?  
*Hepatology* 2004;40:(46-54)
- <sup>23</sup> **Clark JM, Brancati FL, Diehl AM** Nonalcoholic fatty liver disease  
*Gastroenterology* 2002;122:1649-57
- <sup>24</sup> **Utzschneider KM, Largajolli A, Bertoldo A, Marcovina S, Nelson JE, Yeh MM, et al.** Serum ferritin is associated with non-alcoholic fatty liver disease and decreased beta-cell function in non-diabetic men and women.  
*J Diabetes Complications* 2014;28:177-84
- <sup>25</sup> **George DK, Goldwurn S, Macdonald GA et al.** Increased hepatic iron concentration in nonalcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis.  
*Gastroenterology* 1998;114: (311-318)
- <sup>26</sup> **Angulo P., Keach JC, Batts KP et al.** Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis.  
*Hepatology* 1999;30: (1356-62)
- <sup>27</sup> **Bonkovsky HL, Jawaid Q, Tortorelli K et al.** Non-alcoholic steatohepatitis and iron: Increased prevalence of mutations of the HFE gen in nonalcoholic steatohepatitits  
*Journal of Hepatology* 1999; 31:421
- <sup>28</sup> **Yoshio Sumida, Toshikazu Yoshikawa, Takeshi Okanoue** Role of hepatic iron in non-alcoholic steatohepatitis  
*Hepatology Research* 2009;39: (213-222)
- <sup>29</sup> **Fachinni FS, Hua NW, Stoohs RA.** Effects of iron depletion in carbohydrate intolerant patients with clinical evidence of nonalcoholic fatty liver disease  
*Gastroenterology* 2002;122: (931-9)
- <sup>30</sup> **Gyorgy Baffy** Kupffer cells in non-alcoholic fatty liver disease: The emerging view.  
*Journal of Hepatology* 2009;51:(212-223)
- <sup>31</sup> **Requarth JA, Burchard KW, Colacchio TA et al.** Long term morbidity following jejunoileal bypass. The continuing potential need for surgical reversal.  
*Archives of Surgery* 1995;130:318

- 
- <sup>32</sup> Haynes P, Liangpunsakul S, Chalasani N Nonalcoholic fatty liver disease in individuals with severe obesity  
*Clinical Liver Disease* 2004;8: (535-547)
- <sup>33</sup> Musso G, Gambino R, Durazzo M, Biroli G, Carello M, Faga E, Pacini G, De Michieli F, Rabbione L, Premoli A, Cassader M, Pagano G. Adipokines in EHNA: Postprandial lipid metabolism as a link between adiponectin and liver disease.  
*Hepatology* 2005;42:(1175-1183)
- <sup>34</sup> Musso, G, Gambino, R, De Michieli, F, et al. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis.  
*Hepatology* 2003; 37:909.
- <sup>35</sup> Medina J, Fernández Salazar LI, García-Buey L, et al. Approach to the pathogenesis and treatment of nonalcoholic steatohepatitis  
*Diabetes Care* 2004;27(8):2057-2066
- <sup>36</sup> Musso G, Gambino R, Michieli FD, Casander M, Rizzetto M, Durazzo M, Faga E, Silli B, Pagano G. Dietary habits and their relation to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis.  
*Hepatology* 2003;37:(909-916)
- <sup>37</sup> Charlton M, Sreekumar R, Rasmussen D, Lindor K, Nair KS Apolipoprotein synthesis in nonalcoholic steatohepatitis.  
*Hepatology* 2002;35(4):898-904.
- <sup>38</sup> Caballería Rovira Esteatosis y Esteatohepatitis no alcohólica  
*Capítulo 45 Farreras Rozman 15ª Edición.*
- <sup>39</sup> Neuschwander-Tetri BA, Caldwell S Nonalcoholic steatohepatitis: Summary of an AASLD Single topic conference.  
*Hepatology* 2003;37:(1202-1219)
- <sup>40</sup> Melissa J. Contos, Jayanta Choudhury, A. Scout Mills, Arun J. Sanyal The histological spectrum of nonalcoholic fatty liver disease  
*Clinical Liver Disease* (2004);8: (481-500)
- <sup>41</sup> 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;116(6):(1413-1419).
- <sup>42</sup> Kamal Ishak, Amelia Baptista, Leonardo Bianchi, Francesco Callea, Jan de Groote, Fred Gudat, Helmut Denk, Valeer Desmet, Gerhard Korb, Roderick N.M. McSween, M. James Phillips, Bernard G. Portmann, Hemming Poulsen, Peter J. Scheuer, Martin Schmid and Heribert Thaler Histological grading and staging of chronic hepatitis  
*Journal of Hepatology* 1995;22( 696-699)
- <sup>43</sup> AGA Governing Board, AASLD Governing Board and AASLD Practice Guidelines Committee American Gastroenterological Association medical position statement: nonalcoholic fatty liver disease.  
*Gastroenterology* 2002;123: (1702-1704)
- <sup>44</sup> Mendler MH, Kanel G, Govindarajan S. Proposal for a histological scoring and grading system for non alcoholic fatty liver disease.  
*Liver international* 2005;25(294-304)
- <sup>45</sup> Mollleston JP, White F, Teckman J, Fitzgerald JF. Obese children with steatohepatitis can develop cirrhosis in childhood.  
*American Journal of Gastroenterology* 2002; 97(9):(2460-2462)
- <sup>46</sup> Moreno-Sánchez D. Epidemiología e Historia natural de la hepatopatía grasa no alcohólica primaria.

- 
- Gastroentero Hepatol* 2006;29 (4): (244-254)
- <sup>47</sup> Neuschwander-Tetri BA, Caldwell S Nonalcoholic steatohepatitis: Summary of an AASLD Single topic conference.  
*Hepatology* 2003;37:(1202-1219)
- <sup>48</sup> Papatheodoridis GV, Goulis J, Christodoulou D, Manolakopoulos S, Raptopoulou M, Andrioti E, Alexandropoulos N, Savvidou S, Papachristou A, Zervou E, Seferiadis K, Kousidou P, Vogiatzakis E, Tsianos E. High prevalence of elevated liver enzymes in blood donors: associations with male gender and central adiposity.  
*Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2007 Apr;19(4):(281-7)
- <sup>49</sup> Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors.  
*Hepatology.* 1990;12(5):(1106-1110)
- <sup>50</sup> Bellentani S, Tiribelli C The spectrum of liver disease in the general population: lesson from the Dionysos study  
*Journal of Hepatology* 2001;35: (531-537)
- <sup>51</sup> Clark J, Brancati FL, Diehl AM The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States  
*The American Journal of Gastroenterology* 2003;98:(960-967)
- <sup>52</sup> Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity.  
*Hepatology* 2004;40:(1387-1395)
- <sup>53</sup> Parés A, Tresserras R, Nuñez I, Cerralbo M, Plana P, Pujol FG, Massip J, Caballería L, Bru C, Caballería J, Vidal J, Salleras L, Rodés J Prevalencia de factores asociados a la presencia de esteatosis hepática en varones adultos aparentemente sanos.  
*Medicina Clínica* 2000;114(15):(561-565)
- <sup>54</sup> Nomura F, Ohnishi K, Satomura Y, Ohtsuki T, Fukunaga K, Honda M, Tohyama T, Sugita S, Saito M. Liver function in moderate obesity- study in 534 moderately obese subjects among 4613 male company employees,  
*Int J Obes* 1986;10(5):(349-354)
- <sup>55</sup> Hilden M, Christoffersen P, Juhl E, Dalgaard JB Liver histology in a “normal” population examinations of 503 consecutive fatal traffic casualties  
*Scan J Gastroenterol* 1977;12(5):(593-597)
- <sup>56</sup> Ground KE Liver pathology in aircrew  
*Aviat Space Environ Med.* 1982 Jan;53(1):14-8.
- <sup>57</sup> Szczepaniak LS, Nuremberg P, Leonard D, Browning JD, Reingold JS, Grundy S, Hobbs HH, Dobbins RL Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population  
*Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005;288(2):E462-8
- <sup>58</sup> Pendino GM, Mariano A, Surace P, Caserta CA, Fiorillo MT, Amante A, Bruno S, Mangano C, Polito I, Amato F, Cotichini R, Stroffolini T, Mele A, ACE collaboration Group. Prevalence and etiology of altered liver tests: A population based survey in a Mediterranean Town.  
*Hepatology* 2005;41:(1151-1159)
- <sup>59</sup> Beymer C, Kowdley KV, Larson A, Edmonson P, Dellinger EP, Flum DR. Prevalence and predictors of asymptomatic liver disease in patients undergoing gastric bypass surgery  
*Arch Surg.* 2003;138:1240-1244
- <sup>60</sup> Del Gaudio A, Boschi L, Del Gaudio GA, Mastrangelo L, Munari D. Liver damage in obese patients

- 
- Obesity surgery* 2002;12:(802-804)
- <sup>61</sup>Dixon JB, Brathal PS, O'Brien PE Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese.  
*Gastroenterology* 2001;121: (91-100)
- <sup>62</sup>El-Hassan AY, Ibrahim EM, al-Mulhim FA, Mabhan AA, Chammas MY. Fatty infiltration of the liver: analysis of prevalence, radiological and clinical features and influence on patient management  
*Br J Radiol* 1992;65:(774-8).
- <sup>63</sup>Hultcrantz R, Glaumann H, Lindberg G, Nilsson LH Liver investigation in 149 asymptomatic patients with moderately elevated activities of serum aminotransferases  
*Scand J Gastroenterol.* 1986 Jan;21(1):109-13
- <sup>64</sup>Lonardo A, Bellini M, Tartoni P, Tondelli E. The bright liver syndrome. Prevalence and determinants of a bright liver ecopattern  
*Ital J Gastroenterol Hepatol.* 1997;29(4):(351-6)
- <sup>65</sup>Nomura A, Mizukami Y, Unoura M, Kobayashi K, Takeda Y, Takeda R. Clinicopathologic study of alcohol-like liver disease in non-alcoholics; non-alcoholic steatohepatitis and fibrosis  
*Gastroenterol Jpn.* 1992;27(4):(521-8)
- <sup>66</sup>BernalReyes R, Saez Labra A, Bernardo-Escudero R Prevalence of nonalcoholic steatohepatitis. Comparative study with diabetic patients.  
*Rev Gastroenterol Mex* 2000;65(2):(58-62)
- <sup>67</sup>Omagari K, Kadokawa Y, Masuda J, Egawa I, Sawa T, Hazama H, Ohba K, Isomoto H, Mizuta Y, Hayasida K, Murase K, Kadota T, Murata Y, Kohno S Fatty liver in nonalcoholic, non overweight Japanese patients: incidence and clinical characteristics  
*Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2002;17:(1098-1105)
- <sup>68</sup>Shalhub S, Parsee A, Gallagher SF, Haines KL, Willkomm C, SG Brantley, Pinkas H, Saff-Koche K, Murr MM The Importance of routine Liver Biopsy in diagnosing Nonalcoholic Steatohepatitis in bariatric Patients  
*Obesity surgery* 2004;14:(54-59)
- <sup>69</sup>García-Monzón C, Martín Pérez E, Lo Iacomo O, Fernández Bermejo M, Majano PL, Apolinario A, Larrañaga E, Moreno Otero R. Characterization of pathogenic and prognosis factors of nonalcoholic steatohepatitis associated with obesity.  
*Journal of Hepatology* 2000;33:(716-724)
- <sup>70</sup>Nomura H, Kashiwagi S, Hayashi J, Kajiyama W, Tani S, Goto M. Prevalence of fatty liver in general population of Okinawa, Japan.  
*Japanese Journal of Medicine* 1988;27:(142-149)
- <sup>71</sup>Daniel S, Ben-Benachem T, Vasudevan G, Ma CK, Blumenkehl M Prospective evaluation of unexplained chronic liver transaminase abnormalities in asymptomatic and symptomatic patients.  
*The American Journal of Gastroenterology* 94;10:(3010-3014)
- <sup>72</sup>Dai HF, Hui Yu C, Zhang XC, Li YM. Epidemiology of fatty liver in a islander population of China: a population-based case-control study.  
*Hepatobiliary pancreat Dis Int* 2008; 7(4): (373-378)
- <sup>73</sup>Jimba S, Nakagami T, Takahashi M, Wakamatsu T, Hirota Y, Iwamoto Y, Wasada T. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with impaired glucose metabolism in Japanese adults.  
*Diabetic Medicine* 2005;22:(1141-1145)
- <sup>74</sup>Park SH, Jeon WK, Kim SH, Kim HJ, Park DI, Cho YK, Sung IK, Sohn CI, Keum DK, Kim BI Prevalence and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease among Korean adults  
*Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2006;21:(138-143)

- 
- <sup>75</sup> **Zelber-Sagi S, Nitzan-Kaluski D, Halpern Z, Oren R** Prevalence of primary non alcoholic fatty liver disease in a population-based study and its association with biochemical and anthropometric measures  
*Liver International* 2006;26:(856-863)
- <sup>76</sup> **Chen CH, Huang MH, Yang JC, Nien CK, Yang CC, Yeh YH, Yueh SK** Prevalence and etiology of elevated serum alanine aminotransferase level in an adult population in Taiwan  
*Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2007;22:(1482-1489)
- <sup>77</sup> **Caballeria L, Pera G, Auladell MA, Torán P, Muñoz L, Miranda D, Aluma A, Casas JD, Sánchez C, Gil D, Auba J, Tibau A, Canut S, Bernad J, Aizpurua MM** Prevalence and factors associated with the presence of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population in Spain.  
*European Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2010;22:(24-32)
- <sup>78</sup> **Williams CD, Stenger J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, Landt CL, Harrison SA.** 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; 140: 124-131.
- <sup>79</sup> **Ali R, Cusi K** New diagnostic and treatment approaches in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)  
*Annals of Medicine* 2009;41: (265-278)
- <sup>80</sup> **Sunil G Sheth, Shanjiv Chopra** Nonalcoholic steatohepatitis  
*Up to date online* 13.2, Mayo 2005
- <sup>81</sup> **Williams CD, Stengel J, Asike M.I., Torres DM, Shaw J, Contreras M, Landt C., Harrison SA** 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;140:(124-131)
- <sup>82</sup> **Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH** Nonalcoholic Steatohepatitis: Summary of an AASLD Single topic conference.  
*Hepatology* 2003;37:(1202-1219)
- <sup>83</sup> **Caldwell SH, Harris DM, Patrie JT, Hespeneide EE** Is EHNA underdiagnosed among African Americans?  
*Am J Gastroenterol* 2002;97(6):(1496-1500)
- <sup>84</sup> **Liagnpunsakul S, Chalasani N.** What do we recommend our patients with NAFLD about alcohol consumption?  
*Am J Gastroenterol* 2012;107:(976-978)
- <sup>85</sup> **Yano E, Tagawa K, Yamaoka K, Mori M** Test validity of periodic liver function tests in a population of Japanese male bank employees.  
*Journal of Clinical Epidemiology* 2001; 54: (945-951)
- <sup>86</sup> **Vuppalanchi R, Gould RJ, Wilson LA, Unalp-Arida A, Cummings OW, Chalasani N, Kowdley KV.** Clinical significance of serum autoantibodies in patients with NAFLD: results from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network.  
*Hepatology* 2011; 6:(379-385)

- 
- <sup>87</sup> 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;60:1055-62.
- <sup>88</sup> Saverymuttu SH, Joseph AE, Maxwell JD. Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. *British Medical Journal (Clin Res ed.)* 1986;292 (6512):13-15
- <sup>89</sup> Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chan HL, Le Bail B. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in non-alcoholic liver disease. *Hepatology* 2010;51:(454-62).
- <sup>90</sup> Sasso M, Miette V, Sandrin L, Beaugrand M. The controlled attenuation parameter (CAP): a novel tool for the non-invasive evaluation of steatosis using Fibroscan. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012;36:13-20.
- <sup>91</sup> Brea A, Mosquera D, Martín E, Arizti A, Cordero JL, Ros E. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with carotid atherosclerosis: a case-control study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1045-1050
- <sup>92</sup> Nakao H, Yoneda M. The intertwined correlations among non-alcoholic fatty liver disease, atherosclerosis, and metabolic syndrome. *Journal of Gastroenterology* 2009;44: (1162-1164)
- <sup>93</sup> Hashimoto E, Ferrell GC. Will non-invasive markers replace liver biopsy for diagnosing and staging fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease? *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2009;24: (501-503)
- <sup>94</sup> Wieckowska A, Zein N, Yerian LM et al. In vivo assessment of liver cell apoptosis as a novel biomarker of disease severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2006;44: (27-33)
- <sup>95</sup> Malik R, Chang M, Bhaskar K. The clinical utility of biomarkers and the nonalcoholic steatohepatitis CRN liver biopsy scoring system in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology Hepatology* 2009; 24: (564-568)
- <sup>96</sup> Diab D, Yerian L, Schauer P et al. Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive marker for nonalcoholic steatohepatitis in bariatric surgery patients. *Clinical Gastroenterology Hepatology* 2008;6: (1249-1254)
- <sup>97</sup> Cusi K, Chang Z, Harrison S. Limited value of plasma cytokeratin-18 as a biomarker for EHNA and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2014;60:167-174.
- <sup>98</sup> Campos GM, Bambha K, Vittinghoff E et al. A clinical scoring system for predicting nonalcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients. *Hepatology* 2008;47: (1916-1923)
- <sup>99</sup> Younossi ZM, Nugent C et al. A novel diagnostic biomarker panel for obesity-related nonalcoholic steatohepatitis (EHNA). *Obesity Surgery* 2008;18: (1430-1437)
- <sup>100</sup> Angulo P, Hui JM, Marchesini G et al. The NAFLD fibrosis score: A noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology* 2007;45: (846-854)
- <sup>101</sup> Harrison SA, Oliver D, Arnold HL et al. Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease. *Gut* 2008;57: (1441-1447)



- 
- <sup>102</sup> **Cales P, Laine F, Boursier J et al.** Comparison of blood test for liver fibrosis specific or not to NAFLD  
*Journal of Hepatology* 2009;50: (165)
- <sup>103</sup> **Ratziu V, Giral P, Charlotte F, Bruckert E, Thibault V, Theodorou I, Khalil L, Turpin G, Opolon P, Poynard T** Liver fibrosis in overweight patients  
*Gastroenterology* 2000;118:(1117-1123)
- <sup>104</sup> **Loomba R, Abraham M, Unalp A, Wilson L, Lavine J, Doo E, et al.** Association between diabetes, family history of diabetes, and risk of nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis.  
*Hepatology* 2012;56:943-51.
- <sup>105</sup> **Arthur J McCollough** The clinical features, diagnosis and natural history of nonalcoholic fatty liver disease  
*Clinical Liver Disease* 2004;8:(521-533)
- <sup>106</sup> **Bhala N, Angulo P, van der Poorten D, Lee E, Hui JM, Saracco G, Adams LA, et al.** The natural history of nonalcoholic fatty liver disease with advanced fibrosis or cirrhosis. An international collaborative study.  
*Hepatology* 2011; **54**( 4): 1208-16.
- <sup>107</sup> **Ratziu V, Bonyhay L, Di Martino V, Charlotte F, Cavallaro L, Sayegh-Tainturier MH et al.** Survival, liver failure and hepatocellular carcinoma in obesity related cryptogenic cirrhosis.  
*Hepatology* 2002; **35**: (1485-1493)
- <sup>108</sup> **Fassio E, Álvarez E, Dominguez N, Landeira G, Longo C.** Natural History of nonalcoholic steatohepatitis: A longitudinal study of repeat liver biopsies.  
*Hepatology* 2004;40 (820-826).
- <sup>109</sup> **Harrison SA, Torgerson S, Hayashi PH.** The Natural History of nonalcoholic fatty liver disease: A clinical histopathological study  
*American Journal of Gastroenterology* 2003;98: ( 2042-2047)
- <sup>110</sup> **Hui AY, Wong vW, Chan HL, Liew CT, Chan JL, Chan KF et al.** Histological progression of nonalcoholic fatty liver disease in Chinese patients  
*Aliment Pharmacol Ther* 2005;21: (407-413)
- <sup>111</sup> **RafiqN, Bai C, Fang Y, Srishord M, McCullough A, Gramlich T.** Long-term follow up of patients with nonalcoholic fatty liver disease.  
*Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:(234-238)
- <sup>112</sup> **Angulo P** Long term mortality in nonalcoholic fatty liver disease: Is liver histology of any prognostic significance?  
*Hepatology* 2010;51(2):(373-375)
- <sup>113</sup> **Ekstedt M, Lennart E, Franzen, Ulrik L. Mathiesen, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, Kechagias S** Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes.  
*Hepatology* 2006;44:(865-873)
- <sup>114</sup> **Sutedja DS, Gow PJ, Hubscher SG, Elias E** Revealing the cause of cryptogenic cirrhosis by postransplant liver biopsy.  
*Transplant procedures* 2004;36: (2334-2337)
- <sup>115</sup> **Browning JD, Kumar KS, Saboorian MH, Thiele DL,** Ethnic differences in the prevalence of cryptogenic cirrhosis.  
*American Journal of Gastroenterology* 2004;99: (292-298)
- <sup>116</sup> **Poonawala A, Nair SP, Thuluvath PJ** Prevalence of obesity and diabetes in patients with cryptogenic cirrhosis: A case control study.

- 
- Hepatology* 2000;32: (689-692)
- <sup>117</sup> Caldwell, SH, Oelsner, DH, Lezzoni, JC, et al. Cryptogenic cirrhosis: Clinical characterization and risk factors for underlying disease.  
*Hepatology* 1999; 29:664.
- <sup>118</sup> Teli MR, James OF, Burt AD, et al. The natural History of fatty liver: a follow-up study  
*Hepatology* 1995;22: (1714-1719)
- <sup>119</sup> Serfaty L, Lemoine M. Definition and natural history of metabolic steatosis: Clinical aspects of NAFLD, EHNA and cirrhosis.  
*Diabetes and Metabolism* 2008;34: (634-637)
- <sup>120</sup> Powell EE, Cooksley WG, Hanson R, Searle J, Halliday JW, Powell LW The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a follow-up study of forty-two patients for up to 21 years  
*Hepatology* 1990;11: (74-80)
- <sup>121</sup> Contos MJ, Cales W, Sterling RK, Luketic VA, Shiffman ML, Mills AS et al. Development of nonalcoholic fatty liver disease after orthotopic liver transplantation for cryptogenic cirrhosis  
*Liver transplantation* 2001;7: (363-373)
- <sup>122</sup> Adams L, Lymp J, Sauver J, Schuyler, Lindor K, Feldstein A, Angulo P The Natural History of nonalcoholic fatty liver disease: A population-based cohort study  
*Gastroenterology* 2005;129: (113-121)
- <sup>123</sup> M Stepanova, N Rafiq, ZM. Younossi. Components of metabolic syndrome as independent predictors of mortality in chronic liver disease: A population-based study.  
*Gut*.2010; 59( 10): 1410-5.
- <sup>124</sup> Dam-Larsen S, Franzmann M, Andersen IB, Christoffersen P et al. Long term prognosis of fatty liver: Risk of chronic liver disease and death.  
*Gut* 2004;53: (750-755)
- <sup>125</sup> Feldstein AE, Charatchoenwittaya P, Treeprasertsuk S, Angulo P The natural history of non-alcoholic fatty liver disease in children: a follow-up study for up to 20 years.  
*Gut* 2009;58: (1538-1544)
- <sup>126</sup> Sodeberg C, Stal P, Askling J, Glaumann H, Lindberg G, Marmur J et al. Decreased survival of subjects with elevated function test during a 28-year follow up.  
*Hepatology* 2010;51:(595-602)
- <sup>127</sup> Ekstedt M, Hagstrom H, Nasr P. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up.  
*Hepatology* 2015;61:1547-1554
- <sup>128</sup> Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S Liver fibrosis, but no other histologic features, associates with long-term outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease  
*Gastroenterology* 2015;149:389-397.
- <sup>129</sup> Pais R, Charlotte F, Fedchuk L, et al; LIDO Study Group. A systematic review of follow-up biopsies reveals disease progression in patients with non-alcoholic fatty liver.  
*J Hepatol.* 2013;59:550-556
- <sup>130</sup> Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015;1):643-654
- <sup>131</sup> Andersen T, Gluud C, Franzmann M, Christoffersen P Hepatic effects of dietary weight loss in morbidly obese subjects

- 
- Journal of Hepatology* 1991;12: (224-229)
- <sup>132</sup> Bouneva I, Kirby DF et al. Management of nonalcoholic fatty liver disease: Weight control. *Clinical Liver Disease* 2004;8: (693-713)
- <sup>133</sup> Elias MC, Parise ER, de Carvalho L, Szejnfeld D, Netto JP Effect of 6 month nutritional intervention on nonalcoholic fatty liver disease. *Nutrition xxx* 2009;doi:10.1016/j.nut.2009.09.001
- <sup>134</sup> Ueno T, Sagarawa H, Sujaka K, et al. Therapeutic effects of restricted diet and exercise in obese patients with fatty liver *Journal of Hepatology* 1997;27: (103-107)
- <sup>135</sup> Anderson T, Gluud C, Franzmann MB, et al. Hepatic effects of dietary weight loss in morbidly obese patients *Journal of Hepatology* 1991;12: (224-229)
- <sup>136</sup> Luyckx FH, Scheen AJ, Desai C, Thiry A, Lefebvre PJ Parallel reversibility of biological markers of the metabolic syndrome and liver steatosis after gastroplasty induced weight loss in severe obesity *Journal of clinical Endocrinology Metabolism* 1999;84:4293
- <sup>137</sup> Palmer M, Schaffner F. Effect of weight reduction on hepatic abnormalities in overweight patients *Gastroenterology* 1990;99: (1408-1413)
- <sup>138</sup> Keffe EB, Adesman PW, Stenzel P, Palmer RM Steatosis and cirrhosis in an obese diabetic. Resolution of fatty liver by fasting. *Dig Dis Sci* 1987;32:441-445
- <sup>139</sup> Browning JD, Davis J, Saboorian MH, Burgess SC A low carbohydrate diet rapidly and dramatically reduces intrahepatic triglyceride content *Hepatology* 2006;44:487-488
- <sup>140</sup> Tendler D, Lin S, Yancy WS Jr, Mavropoulos J, Sylvestre P, Rockey DC, et al. The effect of a low-carbohydrate ketogenic diet on nonalcoholic fatty liver disease: A pilot study *Dig Dis Sci* 2007;52:(589-593)
- <sup>141</sup> Ryan MC, Abbasi F, Lamendola C, Carter S, McLaughlin TL. Serum alanine aminotransferase levels decrease further with carbohydrate than fat restriction in insulin resistant adults. *Diabetes Care* 2007;30:(1075-1080)
- <sup>142</sup> Frank M, Sacks, M.D., George A, Bray, M.D., Vincent J, Carey, Ph.D., Steven R. Smith, M.D., Donna H. Ryan, M.D., Stephen D. Anton, Ph.D., Katherine McManus, M.S., R.D., Catherine M. Champagne, Ph.D., Louise M. Bishop, M.S., R.D., Nancy Laranjo, B.A., Meryl S. Leboff, M.D., Jennifer C. Rood, Ph.D., Lilian de Jonge, Ph.D., Frank L. Greenway, M.D., Catherine M. Loria, Ph.D., Eva Obarzanek, Ph.D., and Donald A. Williamson, Ph.D. Comparison of Weight-Loss Diets with Different Compositions of Fat, Protein, and Carbohydrates *N Engl J Med* 2009; 360:859 – 873
- <sup>143</sup> St George A, Bauman A, Johnston A, Farrell G, Chey T, George J. Effect of lifestyle intervention in patients with abnormal liver enzymes and metabolic risk factors. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2009;24:(399-407)
- <sup>144</sup> Wong VW, Chan RS, Wong GL. Community-based lifestyle modification programme for non-alcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *J Hepatol.* 2013;59:536-542.
- <sup>145</sup> Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Weight loss via lifestyle modification significantly reduces features of nonalcoholic steatohepatitis *Gastroenterology* 2015;149:367–378
- <sup>146</sup> Harrison SA, Ramrakhiani S, Brunt EM Orlistat in the treatment of EHNA: a case series *American Journal of Gastroenterology* 2003;98: (926-930)

- 
- <sup>147</sup> Harrison SA, Fincke C, Helinsky D, et al. Orlistat treatment in obese, nonalcoholic steatohepatitis patients: A pilot trial.  
*Hepatology* 2002;36:406A
- <sup>148</sup> Zelber-Sagi S, Kessler A, Brazowsky E, Webb M, Lurie Y, Santo M et al. A double-blind randomized placebo-controlled trial of orlistat for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease.  
*Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:(639-644)
- <sup>149</sup> Promrat K, Luthman G, Uwaifo GI, Freedman RJ, Soza A, Heller T, et al. A pilot study of pioglytazone treatment for nonalcoholic steatohepatitis.  
*Hepatology* 2004;39:(188-196)
- <sup>150</sup> Sanyal AJ, Mofrad PS, Contos MJ, Sargeant C, Luketic VA, Sterling RK, et al. A pilot study of vitamin E versus vitamin E and pioglytazone for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis  
*Clin Gastroenterol Hepatol* 2004;2:(1107-1115)
- <sup>151</sup> Belfort R, Harrison SA, Brown K, Darland C, Finch J, Hardies J, et al. A placebo-controlled trial of pioglytazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis.  
*New England Journal of Medicine* 2006;355:(2297-2307)
- <sup>152</sup> Ratziu V, Charlotte F, Bernhardt C, Giral P, Halbron M, LeNaour G, Hartemann-Heurtier A, Bruckert E and Poynard T for the LIDO Study Group. Long-term efficacy of rosiglitazone in nonalcoholic steatohepatitis: results of the fatty liver improvement by rosiglitazone therapy (FLIRT 2) extension trial.  
*Hepatology* 2010; 51: 445-453
- <sup>153</sup> Marchesini G, Brizi M, Bianchi G., Tomaselli S, Zoli M, Melchionda N. Metformin in nonalcoholic steatohepatitis  
*Lancet* 2001;100:(328-341)
- <sup>154</sup> Uygun A, Kadayifci A, Isik AT, Ozgurtas T, Devenci S, Tuzun A et al. Metformin in the treatment of patients with nonalcoholic steatohepatitis  
*Aliment Pharmacol Ther.* 2004;19:(537-544)
- <sup>155</sup> Nair S, Diehl AM, Wiseman M, Far GH Jr, Perrillo RP. Metformin in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: A pilot open label trial.  
*Aliment Pharmacol Ther* 2004;20:(23-28)
- <sup>156</sup> Bugianesi E, Gentilecore E, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N et al. A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease.  
*American Journal of Gastroenterology* 2005;100:(1082-1090)
- <sup>157</sup> Idilman R, Mizrak D, Corapcioglu D, Bektas M, Doganay B, Sayki M, Coban S, Erden E, Soykan I, Emral R, Uysal R, Ozden A. Clinical trial: Insulin-sensitizing agents may reduce consequences of insulin resistance in individuals with non-alcoholic steatohepatitis.  
*Aliment Pharmacol Ther* 2008;28:(200-208)
- <sup>158</sup> Loguercio C, Simone TD, Federico A, Terraciano F, Tuccillo C, Chicco MD, Carteni M. Gut liver axis: A new point to treat chronic liver damage.  
*American Journal of Gastroenterology* 2002;97:(2144-2146)
- <sup>159</sup> Ceriani R, Bunati S, Morini L, et al. Effect of ursodesoxicolic acid plus diet in patients with nonalcoholic steatohepatitis  
*Hepatology* 1998;28:386A
- <sup>160</sup> Guma G, Viola L, Thome M et al. Ursodesoxicolic acid in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: Results of a prospective clinical controlled trial  
*Hepatology* 1997;26:387A

- 
- <sup>161</sup> Laurin J, Lindor KD, Crippen JS, et al. Ursodesoxicolic acid or clofibrate in the treatment of nonalcohol-induced steatohepatitis: A pilot study. *Hepatology* 1996;23: (1464-1467)
- <sup>162</sup> Kiyici M, Gulden M, Gurel S, Nak SG, Dolar E, Savci G, Adim SB, Yerci O, Memik F. Ursodesoxicolic acid and atorvastatin in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Can J Gastroenterol* 2003;17(12):(713-718)
- <sup>163</sup> Leushner U, Lindenthal B, Herrman G, Arnold JC, Rossle M, Cordes H-J, et al. High-dose Ursodeoxycholic acid therapy for nonalcoholic steatohepatitis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Hepatology* 2010; 52: 472-479.
- <sup>164</sup> Harlander JC, Kwo PY, Cummings OW, Koukoulis GA. Atorvastatin for the treatment of EHNA. *Gastroenterology* 2001;120:A544 (Abstract)
- <sup>165</sup> Nair S, Wiseman M. HMG-CoA reductase inhibitors in nonalcoholic fatty liver disease: Is their potential hepatotoxicity an issue in these patients? A case control study based on Histology. *Hepatology* 2002;36:409A (Abstract).
- <sup>166</sup> Cohen DE, Anania FA, Chalasani N. An assesment of statin safety by hepatologists. *American Journal of Cardiology* 2006;97:77C-81C
- <sup>167</sup> Rallidis LS, Drakoulis CK, Parasi AS. Pravastatin in patients with nonalcoholic steatohepatitis: results of a pilot study. *Atherosclerosis* 2004;174:(193-196)
- <sup>168</sup> Ahmed MH, Byrne CD. Current treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2009;11:(188-195)
- <sup>169</sup> Gómez Dominguez E, Gisbert JP, Moreno-Monteagudo JA, García Buey L, Moreno Otero R. A pilot study of Atorvastatin treatment in dyslipidemic, non alcoholic fatty liver patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;23:(1643-1647)
- <sup>170</sup> Liberopoulos EN, Athyros VG, Elisaf MS, Mikhailidis DP. Statins for nonalcoholic fatty liver disease: A new indication? *Aliment Pharmacol Ther* 2006;24:(698-699)
- <sup>171</sup> Antonopoulos S, Mikros S, Mylonopoulou M, Kokkoris S, Giannoulis G. Rosuvastatin as a novel treatment of nonalcoholic fatty liver disease in hyperlipidemic patients. *Atherosclerosis* 2006;184:(233-234)
- <sup>172</sup> Abel T, Feher J, Dinya E, Gamal Eldin M, Kovacs A. Safety and efficacy of combined ezetimibe/simvastatin treatment and simvastatin monotherapy in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Med Sci Monit* 2009;15(12):(MS6-MS11)
- <sup>173</sup> Shiro Yokohama, Masashi Yoneda, Masakazu Haneda, Satoshi Okamoto, Mituyoshi Okada, Kazunobu Aso, Takenao Hasegawa, Yoshihiko Tokusashi, Naoyuki Miyokawa and Kimihide Nakamura. Therapeutic effect of an angiotensin II receptor antagonist in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2004;40:(1222-1225)
- <sup>174</sup> Harrison SA, Torgerson S, Hayashi P, Ward J, Schenker S. Vitamin E and vitamin C treatment improve fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *American Journal of Gastroenterology* 2003;98:(2485-2490)
- <sup>175</sup> Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCollough A, Diehl AM, Bass NM, Neuschwander-Tetri BA, Lavine JE, Tonascia J, Unalp A, Van Natta M, Clarck J, Brunt EM, Kleiner DE, Hoofnagle JH, Robuck P. PIVENS Study: Pioglitazone, Vitamin E, or Placebo for Nonalcoholic Steatohepatitis. *New England Journal of Medicine* 2010;362:(1675-1685)

- 
- <sup>176</sup> **Satapathy SK, Sakhuja P, Malhotra V., Sharma BC and Sarin SK.** Beneficial effects of pentoxifylline on hepatic steatosis, fibrosis and necroinflammation in patients with nonalcoholic steatohepatitis.  
*Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2007;22:(634-638)
- <sup>177</sup> **Desai TK** Phlebotomy reduces transaminase levels in patients with chronic non viral nonalcoholic steatohepatitis.  
*Hepatology* 1996;24(Suppl):1498A
- <sup>178</sup> **Desai TK.** Phlebotomy reduces transaminase levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis.  
*Gastroenterology* 2000;118:A1071
- <sup>179</sup> **Nitecki J, Jackson FW, Allen ML, et al.** Effect of phlebotomy on nonalcoholic steatohepatitis  
*Gastroenterology* 2000;118:A6679
- <sup>180</sup> **Czaja AJ.** Recurrence of nonalcoholic steatohepatitis after liver transplantation.  
*Liver Transplant Surg* 1997;3:(185-186)
- <sup>181</sup> **Molloy RM, Komorowsky R, Varma RR.** Recurrent nonalcoholic steatohepatitis and cirrhosis after liver transplantation.  
*Liver Transplant Surg* 1997;3:(177-178)
- <sup>182</sup> **Carson K, Washington MK, Treem WR, Clavien PA, Hunt CM.** Recurrence of nonalcoholic steatohepatitis in a liver transplantation recipient  
*Liver Transplant Surg* 1997;3:(174-176)
- <sup>183</sup> **Kim WR, Poterucha JJ, Porayko MK, Dickson ER, Steers JL, Wiesner RH.** Recurrence of nonalcoholic steatohepatitis following liver transplantation.  
*Transplantation* 1996;62:(1802-1805)
- <sup>184</sup> **Tsochatzis EA, Papatheodoridis GV, Archimandritis AJ** Adipokines in nonalcoholic steatohepatitis: From pathogenesis to implications in diagnosis and therapy.  
*Mediators of Inflammation* 2009; Article ID 831670, 8 pages doi:10.1155/2009/831670
- <sup>185</sup> **Sutedja DS, Gow PJ, Hubscher SG, Elias E** Revealing the cause of cryptogenic cirrhosis by postransplant liver biopsy.  
*Transplant procedures* 2004;36: (2334-2337)
- <sup>186</sup> **Browning JD, Kumar KS, Saboorian MH, Thiele DL,** Ethnic differences in the prevalence of cryptogenic cirrhosis.  
*American Journal of Gastroenterology* 2004;99: (292-298)
- <sup>187</sup> **Poonawala A, Nair SP, Thuluvath PJ** Prevalence of obesity and diabetes in patients with cryptogenic cirrhosis: A case control study.  
*Hepatology* 2000;32: (689-692)
- <sup>188</sup> **Caldwell SH, Oelsner, DH, Iezzoni, JC, et al.** Cryptogenic cirrhosis: Clinical characterization and risk factors for underlying disease.  
*Hepatology* 1999; 29:664.
- <sup>189</sup> **Takuma Y, Nouse K.** Nonalcoholic steatohepatitis-associated hepatocellular carcinoma: our case series and literature review.  
*World J Gastroenterol.*2010; **16**: 1436-41.
- <sup>190</sup> **Ascha MS, Hanouneh IA, Lopez R, Tamimi TA, Feldstein AF, Zein NN.** The incidence and risk factor of hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic steatohepatitis.  
*Hepatology*2010; **51**: 1972-1978

- 
- <sup>191</sup>Palacio P, Merino M, Madina L, Zubimendi M, Irigoyen V, Sánchez I. Diferencias en los costes y resultados de dos técnicas de encuesta: Teléfono y correo. *Rev Calidad Asistencial* 2006;21:20-24
- <sup>192</sup>Naresh K, Malhotra J, Dávila Martínez J, Treviño Rosales ME. Capítulo 6. Diseño de investigación descriptiva: Encuesta y observación. En: Naresh K, Malhotra J, Dávila Martínez J, Treviño Rosales ME. Investigación de mercados. Un enfoque aplicado. Cuarta edición. México: Editorial Pearson Educación; 2004 (173-184)
- <sup>193</sup>McColl E, Jacoby A, Thomas L, Soutter J, Bamford C, Steen N et al. Design and use of questionnaires: a review of best practice applicable to surveys of health service staff and patients. *Health Technol Assess* 2001;5:1-256
- <sup>194</sup>Eaker S, Bergstrom A, Adami HO, Nyren O. Response rate to mailed epidemiologic questionnaires: a population-based randomized trial of variations in design and mailing routines. *Am J Epidemiol* 1998;147:74-82
- <sup>195</sup>Benavides FG, Ruiz-Forès N, Delclós J, Domingo-Salvany A. Consumption of alcohol and other drugs by the active population in Spain. *Gac Sanit.* 2012 Jul 26.
- <sup>196</sup>Encuesta Nacional de Salud. Ministerio de Sanidad y Consumo 2006
- <sup>197</sup>Indicadores Clave del Sistema Nacional de Salud. Ministerio de Sanidad y Consumo 2007.
- <sup>198</sup>Hong Z, Yan-fang J, Shu-mei H, Jie S, Qing G, Xiang-wei F, Bing D, Wei W, Xiao-dong S, Chun-yan W, Si-qi Z, Wan-yu L and Jun-qi N. Etiology and prevalence of abnormal serum alanine aminotransferase levels in a general population in Northeast China. *Chin Med J* 2011;124(17):2661-2668
- <sup>199</sup>Díez-Vallejo J, Comas-Fuentes A. Asymptomatic hypertransaminasemia in patients in Primary Care. *Rev Esp Enferm Dig* 2011; 103 (10): 530-535
- <sup>200</sup>Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med.* 2006;144:705-14.
- <sup>201</sup>Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, Kaslow RA, Margolis HS. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med.* 1999;341:556-62
- <sup>202</sup>S. Zeuzem, A. Alberti, W. Rosenberg, P. Marcellin, M. Diago, F. Negro, D. Prati, C. Puot, S.K. Roberts and Shiffman ML. Review article: management of patients with chronic Hepatitis C virus infection and 'normal' alanine aminotransferase activity. *Aliment Pharmacol Ther* 24, 1133-1149
- <sup>203</sup>S. Sans, G. Paluzie, T. Puiga, L. Balañá, I. Balaguer-Vintró. Prevalencia del consumo de medicamentos en la población adulta de Cataluña. *Gac Sanit* 2002;16(2):121-30
- <sup>204</sup>Cheol Bae J, Yong Kyun Cho, Won Young Lee, Hyun Il Seo, Eun Jung Rhee, Se Eun Park, MD 1, Cheol Young Park, Ki Won Oh, Ki Chul Sung and Byung Ik Kim. Impact of Nonalcoholic Fatty Liver Disease on Insulin Resistance in Relation to HbA1c Levels in Nondiabetic Subjects. *Am J Gastroenterol* 2010; 105:2389-2395
- <sup>205</sup>Bloomgarden Z. The 6th annual world congress on the insulin resistance syndrome. *Diabetes Care* 2009;32(11):e127-e133
- <sup>206</sup>Fargion S, Mattioli M, Fracanzani AL, Sampietro M, Tavazzi D, Fociani P, Taioli E, Valenti L, Fiorelli G. Hyperferritinemia, iron overload, and multiple metabolic alterations identify patients at risk for nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2448-2455
- <sup>207</sup>Bugianesi E, Manzini P, D'Antico S, Vanni E, Longo F, Leone N, Massarenti P, Piga A, Marchesini G, Rizzetto M. Relative contribution of iron burden, HFE mutations, and insulin resistance to fibrosis in nonalcoholic fatty liver. *Hepatology* 2004; 39: 179-187

- 
- <sup>208</sup>Valenti L, Fracanzani AL, Bugianesi E, Dongiovanni P, Galmozzi E, Vanni E, Canavesi E, Lattuada E, Roviato G, Marchesini G, Fargion S. HFE genotype, parenchymal iron accumulation, and liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2010; 138: 905-912
- <sup>209</sup>Valenti L, Canavesi E, Galmozzi E, Dongiovanni P, Rametta R, Maggioni P, Maggioni M, Fracanzani AL, Fargion S. Beta-globin mutations are associated with parenchymal siderosis and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2010; 53: 927-933
- <sup>210</sup>Mendler MH, Turlin B, Moirand R, Jouanolle AM, Sapey T, Guyader D, Le Gall JY, Brissot P, David V, Deugnier Y. Insulin resistance-associated hepatic iron overload. *Gastroenterology* 1999; 117: 1155-1163
- <sup>211</sup>Nelson JE, Wilson L, Brunt EM, Yeh M, Kleiner DE, Unalp-Arida A, Kowdley KV. Hepatic iron deposition in reticuloendothelial cells but not hepatocytes is associated with more severe EHNA: results from the EHNA clinical research network. *International BioIron society meeting 2009*: 185
- <sup>212</sup>Dongiovanni P, Fracanzani AL, Fargion S, Valenti L. Iron in fatty liver and in the metabolic syndrome: a promising therapeutic target. *J Hepatol* 2011; 55: 920-932
- <sup>213</sup>Manousou P, Kalambokis G, Grillo F, Watkins J, Xirouchakis E, Pleguezuelo M, Leandro G, Arvaniti V, Germani G, Patch D, Calvaruso V, Mikhailidis DP, Dhillon AP, Burroughs AK. Serum ferritin is a discriminant marker for both fibrosis and inflammation in histologically proven non-alcoholic fatty liver disease patients. *Liver International* 2011 ISSN 1478-3223
- <sup>214</sup>Mendler MH, Turlin B, Moirand R, Jouanolle AM, Sapey T, Guyader D, et al. Insulin resistance-associated hepatic iron overload. *Gastroenterology* 1999; 117: 1155-1163.
- <sup>215</sup>Hou XH, Zhu YX, Lu HJ, Chen HF, Li Q, Jiang S, Xiang KS, Jia WP. Non-alcoholic fatty liver disease's prevalence and impact on alanine aminotransferase associated with metabolic syndrome in the Chinese. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 26 (2011) 722-730
- <sup>216</sup>Cotrim HP, Parise ER, Oliveira CP, Leite N, Martinelli A, Galizzi J, Silva Rde C, Mattos A, Pereira L, Amorim W, Ivantes C, Souza F, Costa M, Maia L, Pessoa M, Oliveira F. Nonalcoholic fatty liver disease in Brazil. Clinical and histological profile. *Ann Hepatol.* 2011; 10(1): 33-7.
- <sup>217</sup>Oh HJ, Kim TH, Sohn YW, Kim YS, Oh YR, Cho EY, Shim SY, Shin SR, Han AL, Yoon SJ, Kim HC. Association of serum alanine aminotransferase and  $\gamma$ -glutamyltransferase levels within the reference range with metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease. *Korean J Hepatol.* 2011 Mar; 17(1): 27-36.
- <sup>218</sup>Aigner E, Theurl I, Haufe H, Seifert M, Hohla F, Scharinger L, Stickel F, Murlane F, Weiss G, Datz C. Copper availability contributes to iron perturbations in human nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2008; 135(2): 680-688.
- <sup>219</sup>Valenti L, Dongiovanni P, Piperno A, Fracanzani AL, Maggioni M, Rametta R, Loria P, Casiraghi MA, Suigo E, Ceriani R, Remondini E, Trombini P, Fargion S. Alpha 1-antitrypsin mutations in NAFLD: high prevalence and association with altered iron metabolism but not with liver damage. *Hepatology.* 2006 Oct; 44(4): 857-64.
- <sup>220</sup>Hamaguchi M, Takeda N, Kojima T, Ohbora A, Kato T, Sarui H, Fukui M, Nagata C, Takeda J. Identification of NAFLD by metabolic syndrome diagnostic criteria. *World J Gastroenterol* 2012 April 7; 18(13): 1508-1516
- <sup>221</sup>Tsai CH, Li TC, Lin CC. Metabolic Syndrome as a Risk Factor for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Southern Medical Journal* 2008; 101: 900-905
- <sup>222</sup>Soresi M, Noto D, Cefalù AB, Martini S, Vigna GB, Fonda M, Manzato E, Cattin L, Fellin R, Averna MR, Notarbartolo A. Nonalcoholic fatty liver and metabolic syndrome in Italy: results from a multicentric study of the Italian Arteriosclerosis society. *Acta Diabetol.* 2012
- <sup>223</sup>Koller T, Kollerova J, Hlavaty T, Huorka M, Payer J. Cholelithiasis and markers of nonalcoholic fatty liver disease in patients with metabolic risk factors. *Scandinavian Journal of Gastroenterology.* 2012; 47: 197-203