



Universidad de Valladolid



PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA SALUD

TESIS DOCTORAL:

**ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS Y
GENOTÍPICAS EN PACIENTES CON HIGADO GRASO NO
ALCOHÓLICO CON SOBREPESO VS. OBESIDAD**

Presentada por

Beatriz Burgueño Gómez

Para optar al grado de Doctora por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:

Dra. Rocío Aller de la Fuente

Valladolid, 2023

A mis padres



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría agradecer a los Doctores Rocío Aller y Daniel de Luis por su tiempo dedicado, sus consejos, su paciencia, su motivación, su buen hacer, y la oportunidad de poder emprender este proyecto.

A mis compañeros del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, y en especial a mis compañeras de Residencia con las que empecé la aventura, habéis sido un apoyo clave en estos años, además de grandes amigas.

A mis compañeros del Hospital Universitario Río Hortega, donde he encontrado a personas que han sido todo un ejemplo.

También quiero agradecer el apoyo incondicional de mis padres, sin vosotros nada de esto hubiera sido posible, infinitas gracias por todo vuestro sacrificio y por creer en mí.

A mis amigos del alma, y casi familia, por sus ánimos y su comprensión, gracias por ayudarme en este camino.

A todos, muchas gracias.



ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
1. CONCEPTO E HISTORIA NATURAL DEL HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO (HGNA) Y ESTEATOHEPATITIS	3
1.1. Concepto	3
1.2. Historia natural	3
2. EPIDEMIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO	7
2.1. Epidemiología	7
2.2. Factores de riesgo asociados a HGNA y su epidemiología	8
2.2.1. Diabetes mellitus tipo 2 (DM-2)	8
2.2.2. Hipertensión arterial	10
2.2.3. Obesidad	11
2.2.4. Síndrome metabólico	13
3. PATOGENIA DEL HGNA	16
3.1. Nivel extrahepático	17
3.1.1. Obesidad e inflamación	17
3.1.1.1. Distribución de la grasa	17
3.1.1.2. Estado proinflamatorio: citoquinas y adipocitoquinas.	18
3.1.2. RI y desarrollo de esteatosis	25
3.2. Nivel hepático	28
3.2.1. Cambios en el metabolismo lipídico y lipotoxicidad	29
3.2.2. Estrés oxidativo	31
3.2.2.1. Disfunción mitocondrial	31
3.2.2.2. Estrés del retículo endoplásmico (RE)	31
3.2.2.3. Peroxidación lipídica	32
3.2.2.4. Déficit de antioxidantes	34
3.2.2.5. Papel de la microbiota y disbiosis intestinal: eje intestino-hígado	35



4. DIAGNÓSTICO DEL HGNA.....	35
4.1. Pruebas de laboratorio.....	36
4.2. Pruebas de imagen.....	36
4.2.1. Ecografía abdominal.....	36
4.2.2. Tomografía computerizada (TC).....	37
4.2.3. RM: imagen y espectroscopia.....	37
4.2.4. DeMILI® (<i>Detection of Metabolic-Induced Liver Injury</i>).....	38
4.2.5. Métodos elastográficos.....	38
4.3. Diagnóstico histológico.....	39
4.4. Combinación de marcadores séricos y clínicos para la predicción de HGNA: Índices no invasivos.....	41
5. TRATAMIENTO DEL HGNA.....	44
5.1. Efectos de la pérdida de peso.....	44
5.2. Tratamiento dietético.....	45
5.3. Efectos del ejercicio físico.....	46
5.4. Tratamiento farmacológico.....	47
5.4.1. Fármacos para frenar progresión: EHNA y fibrosis.....	47
5.4.2. Fármacos para controlar factores de riesgo y comorbilidades	50
5.5. Otros tratamientos.....	51
5.5.1. Cirugía bariátrica.....	51
5.5.2. Endoscopia bariátrica y metabólica.....	52
5.5.3. Trasplante hepático.....	53
2. JUSTIFICACIÓN.....	57
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	61
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	65
4.1. Diseño del estudio.....	67
4.2. Ámbito de realización.....	67
4.3. Población de estudio.....	67
4.4. Criterios de inclusión y exclusión.....	68
4.5. Variables estudiadas.....	69



4.5.1. Variables epidemiológicas	69
4.5.2. Variables clínicas	69
4.5.3. Variables antropométricas	69
5. RESULTADOS	97
5.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO	99
5.1.1. Características basales	99
5.2. ESTADÍSTICA INFERENCIAL	107
5.2.1. Características de la muestra en función del índice de masa corporal (sobrepeso vs obesidad)	107
5.2.2. Factores asociados a la presencia de ESTEATOHEPATITIS en la biopsia hepática en pacientes con sobrepeso y Enfermedad por hígado graso no alcohólico	117
5.2.2.1. Análisis univariante	117
5.2.2.2. Análisis multivariante. Factores asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso	123
5.2.3. Factores asociados a la presencia de FIBROSIS hepática en pacientes con sobrepeso y Enfermedad por hígado graso no alcohólico	124
5.2.3.1. Análisis univariante	124
5.2.3.2. Análisis multivariante	129
5.2.4. Factores asociados a la presencia de ESTEATOHEPATITIS en la biopsia hepática en pacientes con OBESIDAD y Enfermedad por hígado graso no alcohólico	129
5.2.4.1. Análisis univariante	129
5.2.4.2. Análisis multivariante	135
5.2.5. Factores asociados a la presencia de FIBROSIS hepática en pacientes con OBESIDAD y Enfermedad por hígado graso no alcohólico	135
5.2.5.1. Análisis univariante	135
5.2.5.2. Análisis multivariante	141



6. DISCUSIÓN	143
6.1 Aspectos generales.	145
6.2. Hallazgos histológicos en relación con el IMC en nuestra muestra de pacientes con HGNA.	146
6.3. Presencia de SM y factores de riesgo cardiovascular: relación con el IMC en nuestra muestra de pacientes con HGNA	148
6.4. Relación entre las variables analíticas estudiadas y el índice de masa corporal en nuestra muestra de pacientes con HGNA	151
6.5. Antropometría y su relación con el IMC en nuestra muestra de pacientes con HGNA.	154
6.6. Adherencia a la dieta Mediterránea y su relación con el IMC en nuestra muestra de pacientes con HGNA.	155
6.7. Índices no invasivos	160
6.8. Papel de las adipocitoquinas en relación con el IMC en el HGNA	161
6.8.1. Adiponectina	161
6.8.2. Leptina.	162
6.8.3. Resistina	164
6.9. Polimorfismos de los genes PNPLA3 y TNF α : relación con nuestra muestra de pacientes con HGNA obesos vs sobrepeso y los hallazgos histológicos	165
6.9.1. PNPLA3	166
6.9.2. TNF alfa	167
7. LIMITACIONES	171
8. CONCLUSIONES	175
9. BIBLIOGRAFÍA	179



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (1999).	14
Tabla 1.2. Definición del Programa Nacional de Educación en Colesterol (NCEP-ATP III) (<i>National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel III</i>) (2001).....	14
Tabla 1.3. NAS- score	40
Tabla 4.1. Variables antropométricas realizadas. <i>m: metro, Kg: kilogramo, cm: centímetro, IMC: Índice de masa corporal, ICC: índice cintura-cadera, mm: milímetro, mm: milímetros.</i>	69
Tabla 4.2. Resumen de las variables analizadas por BIA (análisis de impedancia bioeléctrica) * <i>L: litros; Kg: kilogramos; %: porcentaje del total, Kcal: kilocalorías.</i>	74
Tabla 4.3. Valores de referencia de las variables examinadas en el laboratorio. PCR: proteína C reactiva; g: gramos; mg: miligramos; µg: microgramos; UI: unidades internacionales, ng: nanogramos, dL: decilitros, ml: mililitros..	75
Tabla 4.4. Concentraciones del calibrador en base al vial.....	81
Tabla 4.5. Cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea (PREDIMED).	86
Tabla 4.6. Variables (micro y macronutrientes) analizadas respecto a la composición de la dieta, g:gramos, mg: miligramos.	87
Tabla 4.7. NAS-score de Kleiner.	90
Tabla 4.8. Estadía de fibrosis.	90
Tabla 4.9. Factores de riesgo cardiovascular presentados por la NCEP- ATP III, con sus pertinentes límites. FRCV: factores de riesgo cardiovascular; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; ¹ : límite por encima del cual se considera patológico; ² : límite por debajo del cual se considera patológico.	92



Tabla 5.1. Variables epidemiológicas de nuestra muestra.....	99
Tabla 5.2. Número de criterios según ATP III para la definición de SM.	100
Tabla 5.3. Pacientes con DM-2.....	100
Tabla 5.4. Medidas de TA sistólica y diastólica.....	100
Tabla 5.5. Pacientes con HTA.....	101
Tabla 5.6. Variables bioquímicas de nuestra muestra de pacientes.....	101
Tabla 5.7. Variables antropométricas incluidas en nuestro estudio. IMC: índice de masa corporal. ICC: índice cintura cadera.	102
Tabla 5.8. Evaluación nutricional con cuestionario de adherencia a dieta mediterránea (cuestionario MEDAS - <i>Mediterranean Diet Adherence Screener</i> - PREDIMED).	102
Tabla 5.9. Proporción de macronutrientes (proteínas, grasas e hidratos de carbono), vitamina E, calorías de la dieta y gasto energético basal.....	103
Tabla 5.10. Medias de los valores de los índices no invasivos (FLI: Fat liver index, LAP: Lipid accumulation product, NAFLD FS: Non alcoholic fatty liver disease, FIB4: Fibrosis 4).	103
Tabla 5.11. Esteatosis (<5% = 0, de 5 a 33% = 1,> 33 al 66% = 2,> 66% = 3).....	104
Tabla 5.12. Balonización o degeneración hidrópica (ninguna célula = 0; pocas células balonizadas = 1, muchas células / balonización prominente = 2)..	104
Tabla 5.13. Inflamación lobular (sin focos = 0, <2 focos de 200 por campo = 1; de 2 a 4 de 200 focos por campo = 2; > 4 focos de 200 por campo = 3)....	105
Tabla 5.14. Esteatohepatitis (aquel paciente que presentara al menos un grado 1 de las tres siguientes características: esteatosis, balonización e inflamación lobular).....	105
Tabla 5.15-. Fibrosis (sin fibrosis= 0, perisinusoidal o periportal= 1, perisinusoidal y portal/ periportal= 2, puentes de fibrosis= 3, cirrosis con o sin fibrosis perisinusoidal=4).	106
Tabla 5.16. Niveles de adipocitoquinas en plasma.....	106
Tabla 5.17. Genotipos: polimorfismos de los genes PNPLA3 y TNF α estudiados en nuestra muestra de pacientes.....	107
Tabla 5.18. Características epidemiológicas en función de IMC: sobrepeso vs. obesos. Edad y sexo.	108
Tabla 5.19. DM2 en función de obesos vs. sobrepeso diagnosticados de EHGNA	108
Tabla 5.20. Presencia de SM en función de ambos grupos: pacientes con sobrepeso vs. obesidad diagnosticados de EHGNA.	109



Tabla 5.21. Tensión arterial sistólica y diastólica según IMC: obesos vs. sobrepeso con EHGNA.	109
Tabla 5.22. Niveles de los diferentes parámetros bioquímicos analizados según pacientes con sobrepeso vs. obesos con EHGNA. Valores expresados como media±DS.	110
Tabla 5.23. Parámetros antropométricos en función de pacientes con sobrepeso vs. obesos con EHGNA. ICC: índice cintura-cadera.	111
Tabla 5.24. Evaluación nutricional con cuestionario de adherencia a dieta mediterránea (cuestionario MEDAS - <i>Mediterranean Diet Adherence Screener</i> -) en función de pacientes con sobrepeso vs. obesos con EHGNA.	112
Tabla 5.25. Proporción de macronutrientes (proteínas, grasas e hidratos de carbono), vitamina E, calorías de la dieta y gasto energético basal en función de pacientes con sobrepeso vs. obesos con EHGNA. (g= gramos, kcal= kilocalorías).	112
Tabla 5.26. Índices no invasivos en función de pacientes con sobrepeso vs. obesos con EHGNA (FLI: Fat liver index, LAP: Lipid accumulation product, NAFLD FS: Non alcoholic fatty liver disease, FIB4: Fibrosis 4)..	113
Tabla 5.27. Parámetros histológicos en pacientes con sobrepeso vs. obesos diagnosticados de EHGNA.	114
Tabla 5.28. Adipocitoquinas según grupo de pacientes obesos vs. sobrepeso diagnosticados de EHGNA. Valores expresados como media ±DS.	115
Tabla 5.29. Polimorfismos de los genes PNPLA3 y TNF α según pacientes con sobrepeso vs. obesos con EHGNA.	116
Tabla 5.30. Análisis univariante de factores epidemiólogos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA..	117
Tabla 5.31. Análisis univariante de los factores de riesgo cardiovascular y metabólicos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.	118
Tabla 5.32. Análisis univariante de factores bioquímicos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA..	119
Tabla 5.33. Análisis univariante de los factores antropométricos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA..	120
Tabla 5.34. Análisis univariante de los factores nutricionales medidos mediante el cuestionario MEDAS asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.	120



Tabla 5.35. Análisis univariante de las proporciones de los diferentes macronutrientes analizados, vitamina E, calorías de la dieta y gasto energético basal asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.....	121
Tabla 5.36. Análisis univariante de las medidas de los índices no invasivos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA. (FLI: Fat liver index, LAP: Lipid accumulation product, NFS: Non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score, FIB4: Fibrosis 4).	121
Tabla 5.37. Análisis univariante de las adipocitoquinas analizadas asociadas a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA..	122
Tabla 5.38. Análisis univariante de los polimorfismos de riesgo de PNPLA3 y TNF α asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.....	122
Tabla 5.39. Análisis multivariante del HOMA-IR asociado a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.....	123
Tabla 5.40. Análisis multivariante de los factores nutricionales medidos mediante el cuestionario MEDAS asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.	123
Tabla 5.41. Análisis univariante de factores epidemiológicos asociados a la fibrosis hepática en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.....	124
Tabla 5.42. Análisis univariante de los factores de riesgo cardiovascular y metabólicos asociados a la fibrosis hepática en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.....	124
Tabla 5.43. Análisis univariante de factores bioquímicos asociados a la fibrosis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.....	125
Tabla 5.44. Análisis univariante de los factores antropométricos asociados a la fibrosis hepática en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA..	126
Tabla 5.45. Análisis univariante de los factores nutricionales medidos mediante el cuestionario MEDAS asociados a la fibrosis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.....	126
Tabla 5.46. Análisis univariante de las proporciones de los diferentes macronutrientes analizados, vitamina E, calorías de la dieta y gasto energético basal asociados a la fibrosis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.....	127
Tabla 5.47. Análisis univariante de las medidas de los índices no invasivos asociados a la fibrosis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA. (FLI: Fat liver index, LAP: Lipid accumulation product, NFS: Non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score, FIB4: Fibrosis 4).	127



Tabla 5.48. Análisis univariante de las adipocitoquinas analizadas asociados a la fibrosis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.....	128
Tabla 5.49. Análisis univariante de los polimorfismos de riesgo de PNPLA3 y TNF α asociados a la fibrosis hepática en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.....	128
Tabla 5.50. Análisis multivariante del factor bioquímico HOMA-IR como factor asociado a fibrosis hepática en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA y de los factores nutricionales medidos mediante el cuestionario MEDAS asociados a la fibrosis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.....	129
Tabla 5.51. Análisis univariante de factores epidemiólogos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA. ..	129
Tabla 5.52. Análisis univariante de los factores de riesgo cardiovascular y metabólicos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.....	130
Tabla 5.53. Análisis univariante de factores bioquímicos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA. ..	131
Tabla 5.54. Análisis univariante de los factores antropométricos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA. IMC: índice de masa corporal.	132
Tabla 5.55. Análisis univariante de los factores nutricionales medidos mediante el cuestionario MEDAS asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.	132
Tabla 5.56. Análisis univariante de las proporciones de los diferentes macronutrientes analizados, vitamina E, calorías de la dieta y gasto energético basal asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.....	133
Tabla 5.57. Análisis univariante de las medidas de los índices no invasivos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA. (FLI: Fat liver index, LAP: Lipid accumulation product, NFS Non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score, FIB4: Fibrosis 4).	133
Tabla 5.58. Análisis univariante de las adipocitoquinas analizadas asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA. ..	134
Tabla 5.59. Análisis univariante de los polimorfismos de riesgo de PNPLA3 y TNF α asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.....	134



Tabla 5.60. Análisis multivariante del HOMA-IR asociado a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.	135
Tabla 5.61. Análisis univariante de factores epidemiológicos asociados a la fibrosis hepática en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA..	135
Tabla 5.62. Análisis univariante de los factores de riesgo cardiovascular y metabólicos asociados a la fibrosis hepática en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA	136
Tabla 5.63. Análisis univariante de factores bioquímicos asociados a la fibrosis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.	137
Tabla 5.64. Análisis univariante de los factores antropométricos asociados a la fibrosis hepática en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA... ..	138
Tabla 5.65. Análisis univariante de los factores nutricionales medidos mediante el cuestionario MEDAS asociados a la fibrosis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.....	138
Tabla 5.66. Análisis univariante de las proporciones de los diferentes macronutrientes analizados, vitamina E, calorías de la dieta y gasto energético basal asociados a la fibrosis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.....	139
Tabla 5.67. Análisis univariante de las medidas de los índices no invasivos asociados a la fibrosis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA. (FLI: Fat liver index, LAP: Lipid accumulation product, NFS Non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score, FIB4: Fibrosis 4).	140
Tabla 5.68. Análisis univariante de las adipocitoquinas analizadas asociados a la fibrosis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.....	140
Tabla 5.69. Análisis univariante de los polimorfismos de riesgo de PNPLA3 y TNF α asociados a la fibrosis hepática en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.....	141
Tabla 5.70. Análisis multivariante para la edad asociado a la fibrosis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA, y de los factores nutricionales medidos mediante el cuestionario MEDAS asociados a la fibrosis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.	141
 Tabla 6.1. <i>MedDietScore</i> , cuestionario utilizado para evaluar la adherencia a la dieta mediterránea en el estudio griego ATTICA (243). El rango de la puntuación de la dieta está entre 0 y 55. Los valores más altos de la puntuación de la dieta sugerida indican una mayor adherencia a la dieta mediterránea.....	 159



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Historia natural de EHGNA. El término EHGNA engloba un amplio espectro de escenarios, desde el simple depósito de grasa (“hígado graso” o esteatosis) hasta la EHNA, la fibrosis y la cirrosis con sus consecuencias clínicas. A pesar de la alta prevalencia de EHGNA en la población general, la gran mayoría de los pacientes presentan esteatosis simple, que no se relaciona con una menor supervivencia. Solo el 5-10% de los pacientes diagnosticados con EHGNA desarrollarán EHNA y el 30% de estos desarrollarán cirrosis, de estos tras 10 años del diagnóstico de cirrosis, 5-10% presentarán descompensaciones hepáticas y 1-5% desarrollarán CHC.	6
Figura 1.2. Prevalencia global y regional de EHGNA entre pacientes con DM2. Los datos se muestran como prevalencia (IC del 95 %).	10
Figura 1.3. Prevalencia obesidad España: Estudio ENRICA 2012 (encuesta tlf) (48).	12
Figura 1.4. Estudio estudio ENPE, en población representativa española entre 25 y 64 años, ha estimado la prevalencia de sobrepeso en 39,3%; de obesidad en un 21.6%, siendo mayor entre los hombres (22,8%) que en las mujeres (20,5%) y han evidenciado que ésta aumenta con la edad. . . .	12
Figura 1.5. Prevalencia del SM en los Estados Unidos, 2003-2012. De 2003 a 2012, la prevalencia general del SM en los Estados Unidos fue del 33 % (IC del 95 %, 32,5 %-33,5 %), con una prevalencia significativamente mayor en mujeres que en hombres (35,6 % frente a 30,3 %, respectivamente, $P < .001$) (55)..	15
Figura 1.6 Contribución de los diferentes tipos celulares a la inflamación local a nivel del tejido adiposo.	18
Figura 1.7. Contribución del tejido adiposo blanco (WAT) a la obesidad y sus complicaciones metabólicas y vasculares asociadas.	20
Figura 1.8. Rutas moleculares que componen el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria con la labor de la insulina. IRS-1 e IRS-2 son moléculas activadas por el receptor de insulina. Los pacientes obesos presentan altos niveles de TNF- α , IL-6, lípidos y ROS, que activan receptores y cinasas (IKK, PKC y JNK) que fosforilan residuos de serina en las IRS1 e IRS-2. Como resultado la señalización de la insulina se ve inhibida. IRS: Sustratos del Receptor de Insulina; JNK: JUN-amino terminal; ROS: especies reactivas de oxígeno; AP-1: proteína activada-1; IKK: cinasa beta del inhibidor del factor kappa B; NF-kB: Factor Nuclear kappa B; LXR: Receptor X del hígado.	26



Figura 1.9. Modelo de metabolismo de lípidos hepáticos, inflamación y fibrosis. El contenido de lípidos hepáticos es un equilibrio entre la captación y la síntesis de lípidos y la eliminación/exportación de los mismos. 30

Figura 1.10. 1) Al desencadenar los radicales libres del oxígeno (RLO) la peroxidación lipídica, la liberación de malondialdehído (MDA) y de 4-hidroxinonenal (HNE) causa toxicidad directa. Tanto MDA y HNE producen reacciones inmunitarias al acoplarse covalentemente a las proteínas, también intervienen en la formación de los cuerpos de Mallory, formados por la agregación de monómeros de citoqueratinas, así como una mayor síntesis de colágeno por parte de las células estrelladas. 2) Los RLO estimulan la formación de citosinas por parte de las células de Kupffer y por los hepatocitos. El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y el factor de crecimiento tumoral beta (TGF- β) activan caspasas y la lisis de los hepatocitos. El TGF- β también impulsa la síntesis de colágeno por las células estrelladas. El HNA y la interleucina o (IL-8) favorecen la quimiotaxis de los neutrófilos. 3) Los RLO originan la expresión de ligandos Fas en los hepatocitos; los ligandos Fas de un hepatocito tienen la capacidad de interactuar con los ligandos de otros hepatocitos activando el programa de apoptosis entre ellos.. . . . 33

Figura 1.11. Imagen histológica de los diferentes estadios de HGNA. 41

Figura 1.12. Métodos no invasivos de diagnóstico de esteatosis en el HGNA (8). 41

Figura 1.13. Características metodológicas de los estudios incluidos en el metaanálisis llevado a cabo por Yan-Yan Ma y col. (189) 49

Figura 4.1. Realización de bioimpedanciometría. 71

Figura 4.2. Interpretación de bioimpedanciometría. 72

Figura 4.3. Procedimiento para la determinación del valor de adiponectina. . . . 79

Figura 4.4. Procedimiento para la determinación del valor de resistina. 83

Figura 4.5. Realización de biopsia hepática percutánea con aguja de biopsia tipo Menghini 88



Figura 6.1. El estado metabólico impacta en el riesgo de lesión hepática en pacientes EGHNA más allá de la obesidad.	150
Figura 6.2. Predictores independientes de fibrosis hepática. La figura muestra el odds ratio con un intervalo de confianza del 95 % de los predictores independientes en el análisis multivariante para (a,b) fibrosis significativa y (c,d) fibrosis avanzada. (a,b) El modelo 1 no incluye SM y el modelo 2 lo incluye. (c,d) El modelo 1 no incluye la diabetes y el modelo 2 la incluye. ALT, alanina aminotransferasa; IC: intervalo de confianza; HOMA-IR, modelo de homeostasis para la RI; MS, SM; EHNA, esteatohepatitis no alcohólica; TCH, colesterol total..	153
Figura 6.3. Pirámide de la dieta mediterránea (244).....	158
Figura 6.4. Niveles plasmáticos de adiponectina, resistina y leptina (pg/ml) en sujetos delgados (n = 24), con sobrepeso (n = 30) y obesos (n = 50).	163



ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AASLD	American Association for the Study of Liver Diseases
ACT	Agua corporal total
AEC	Agua extracelular
AGL	Ácidos grasos libres
AIC	Agua intracelular
ALT:	Alanino aminotransferasa
ARFI:	Acoustic Radiation Force Impulse
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
AST	Aspartato aminotransferasa
ATP III	Adult Treatment Panel
AUROC	Area under the receiver operator characteristic curve
BAT	Tejido adiposo pardo
BIA	Impedancia bioeléctrica
CAP	Control Attenuation Parameter
CEH	Células estrelladas hepáticas
CHC	Carcinoma hepatocelular
CK-18	Citoqueratina -18
DeMILI*	Detection of Metabolic-Induced Liver Injury
DGAT2	Diacylglycerol acyltransferase 2
DL	Dislipemia
DM-2	Diabetes mellitus tipo 2
DS	Desviación estándar
ECV	Enfermedad cardiovascular
EDTA	Ácido etilendiaminetetraacético
EHGNA	Enfermedad por hígado graso no alcohólico
EHNA	Esteatohepatitis no alcohólica
ENPE	Estudio Nutricional de la Población Española
ENRICA	Estudio de Nutrición y Riesgo Cardiovascular en España
FA	Fosfatasa Alcalina
FIB-4	Fibrosis-4
FLI	Fatty Liver Index



FRCV	Factores de riesgo cardiovascular
FXR	Farnesoid X Receptor
GWAAs	Genome-wide association studies
GGT	Gamma-Glutamil Transferasa
GLP-1	Péptido similar al glucagón 1
GLUT-4	Glucose transporter type 4
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HCUV	Hospital clínico universitario Valladolid
HDL	High Density Protein
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HGNA	Hígado graso no alcohólico
HOMA-IR	Homeostatic Model Assesment insuline resistance
HSI	Índice de esteatosis hepática
HRM	High-resolution melting analysis
HTA	Hipertensión arterial
IC	Intervalo de Confianza
ICC	Índice Cadera Cintura
IDF	International Diabetes Federation
IKKb	Quinasa Ikb-b
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de masa corporal
IRS	Insulin Receptor Substrate
JNK	c-Jun N-terminal kinase
kPa	Kilo pascales
LAP	Liver Accumulation Product-
LDL	Low Density Protein
LDN	Lipogénesis hepática de Novo
LPS	Lipopolisacáridos
MELD	Model for End-stage Liver Disease
MG	Masa grasa
MLG	Masa libre de grasa
MM	Masa magra
MTP	Microsomal Transference Protein
NAFLD-FS	Non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score



NCEP	National Cholesterol Education Program
NF-κB	Nuclear factor- kappaB
NFS	NAFLD Fibrosis Score
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
NICE	<i>National Institute for Health and Care Excellence</i>
Nrf2	Nuclear factor-erythroid-derived 2-related factor 2
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	Odds Ratio
PCR	Proteína C reactiva.
PNPLA3	Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3
POSE*	Primary Obesity Surgery Endolumenal
PPAR	Peroxisomal proliferator activated receptors
PREDIMED	Prevención con dieta mediterránea
PUFA	Ácidos grasos poliinsaturados
RE	Retículo Endoplasmático
RI	RI
RLO	Radicales libres de oxígeno
RM	Resonancia Magnética
SAF	Esteatosis, actividad y fibrosis
SEEDO	Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad
SGLT2	Cotransportador 2 de glucosa y sodio
SM	SM
SNP	Polimorfismo de un único nucleótido
SREBP-1	Sterol regulatory element-binding protein 1
TAD	Tensión Arterial Diastólica
TAS	Tensión Arterial Sistólica
TC	Tomografía computarizada
TG	Triglicéridos
TLR	Toll-like receptors
TNF-α	Tumor Necrosis Factor alfa
UBE	Unidad de Bebida Estándar
UPR	<i>Unfolded Protein Response</i>
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
WAT	Tejido adiposo blanco



1. INTRODUCCIÓN



1. Concepto e historia natural del hígado graso no alcohólico (HGNA) y esteatohepatitis

1.1. Concepto

El hígado graso no alcohólico (HGNA) se caracteriza por la acumulación de grasa a nivel hepático, después de excluir otras causas secundarias, fundamentalmente el consumo significativo de alcohol. El HGNA abarca un amplio espectro de enfermedad, desde la esteatosis simple a la esteatohepatitis hepática cuando se suman procesos inflamatorios, la cual puede degenerar a cirrosis y es probablemente una importante causa de cirrosis criptogenética, y la causa más frecuente de hepatopatía crónica en nuestro medio (1) (2) (3) (4).

1.2. Historia natural

El HGNA incluye un amplio espectro de lesiones histológicas que definirán el estadio y severidad al diagnóstico de la enfermedad (**Figura 1.1**). La esteatosis simple es el primer estadio, el más benigno y de curso habitualmente estable con un bajo riesgo de evolucionar a fibrosis en 15 a 20 años. El siguiente estadio es la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), que se caracteriza por la presencia de inflamación y daño celular con balonización de los hepatocitos; en este estadio es más probable la evolución a fibrosis, pudiendo llegar a cirrosis hepática e incluso carcinoma hepatocelular (CHC). En estos pacientes con EHNA la progresión a fibrosis también es lenta, evolucionando de un estado de fibrosis a otro más avanzado en un periodo de 6-15 años, si bien, existe un 20% de estos pacientes que presentan una rápida progresión a fibrosis en el curso de 5 años. (5)

Singh y col. realizaron en 2015 una revisión sistemática y metaanálisis de 11 estudios de cohortes que incluían un total de 411 pacientes diagnosticados de HGNA por biopsia hepática (150 pacientes con esteatosis y 261 con EHNA). Los



autores encontraron que los pacientes con EHNA progresaron a fibrosis en un 33.6% y observaron una mejoría de la fibrosis en un 22.3% de estos pacientes (6). Otro estudio de 2016 de McPherson y col. que incluía 108 pacientes observaron que el 44% que presentaban esteatosis simple en la biopsia inicial diagnóstica progresaba a EHNA, con una evolución a fibrosis en un 37% y a fibrosis avanzada en un 22% en un tiempo medio de seguimiento de 6.6 años (7).

La mortalidad asociada a HGNA depende del estadio de la enfermedad, en los casos de pacientes con esteatosis simple existe un riesgo muy bajo de muerte a los 10 años; sin embargo, aquellos pacientes en estadios más avanzados como EHNA entre el 5-10% desarrollarán cirrosis descompensada y 1-2% tendrán CHC (5), además presentan una mortalidad estimada de 10-12% a los 10-15 años del diagnóstico (8). La mortalidad secundaria a hepatopatía de los pacientes en estadio de EHNA se sitúa hasta el 18% en comparación con el 3% sin EHNA a los 18.5 años de seguimiento (9). Aquellos pacientes en estadio de cirrosis hepática el riesgo de presentar una complicación en relación a la hipertensión portal aumenta con los años de evolución, siendo del 17%, 23% y 52% a los 1, 3 y 10 años (10); así mismo su supervivencia desciende drásticamente tras la presentación de su primera descompensación, con una supervivencia de 2 años tras la misma (11).

La comorbilidad de los pacientes con HGNA, especialmente aquellos en estadio de EHNA, va a condicionar su supervivencia. Los factores ambientales y de estilo de vida juegan un papel importante en el desarrollo y progresión de la enfermedad, estando estrechamente relacionada con la obesidad y la RI (RI) y, por tanto, asociada al SM. Por todo ello, se ha descrito en varias series que la primera causa de muerte de estos pacientes es la enfermedad cardiovascular (ECV), seguida de neoplasias extrahepáticas y la asociada a cirrosis. Ekstedt y col. observan en su estudio que pacientes con esteatosis simple la mortalidad no es superior a la de la población general, sin embargo, aquellos pacientes en estadio de EHNA tenían el doble de probabilidades de morir por ECV en comparación con la población



general (15.5% versus 7.5%) durante un período de seguimiento medio de 13.7 años (12). Así mismo se ha descrito una mejoría del estadio histológico y de las alteraciones analíticas en estos pacientes tras una pérdida de peso, observándose una disminución de los valores de transaminasas tras una pérdida de peso del 5% y una mejoría en la inflamación e incluso fibrosis perisinusoidal en pérdida de peso del 10%, particularmente si la pérdida es gradual y se asocia dieta con ejercicio físico (13).

La progresión de la enfermedad depende principalmente de la severidad del daño histológico al diagnóstico, aunque la edad mayor de 40 años, hiperglucemia, mayor índice de masa corporal (IMC) y la ratio Aspartato aminotransferasa (AST)/ Alanino aminotransferasa (ALT) han sido validados como factores de riesgo independientes de progresión de la fibrosis y evolución a cirrosis hepática (14). Otros estudios han demostrado que la presencia concomitante de DM-2 es un factor pronóstico de la enfermedad, asociándose con inflamación severa y fibrosis en la biopsia hepática y con progresión más rápida; así como un mayor riesgo de complicaciones relacionadas con cirrosis (15).

Actualmente se ha postulado la teoría de los “múltiples impactos”, numerosos impactos paralelos y diferentes como los favorecedores del desarrollo de esteatosis e inflamación hepática (RI, cambios en el metabolismo lipídico, estrés oxidativo, estrés en el retículo endoplásmico, disfunción mitocondrial, inflamación, liberación de endotoxinas de la microbiota intestinal...) (16).

Además, numerosos genes con múltiples polimorfismos se han asociado con el HGNA gracias a los estudios de asociación del genoma completo (*en inglés genome-wide association studies – GWAAAs –*), en concreto para dos genes: *patatin-like phospholipase domain-containing 3* (PNPLA3) y *transmembrane 6 superfamily member 2* (TM6SF2) (18). Se ha evidenciado que la presencia del polimorfismo rs738409 de un único nucleótido (SNPs) del gen PNPLA3 (19) y el polimorfismo rs58542926 SNPs del TM6SF2 (20) confiere susceptibilidad



para el desarrollo de la enfermedad y aumento de la progresión a formas más severas. Además, existen ensayos clínicos que indican que la variante de riesgo de PNPLA3 puede estar asociada a la respuesta a intervenciones en el estilo de vida y al tratamiento farmacológico (21). Un reciente estudio ha evidenciado la variante I148M de PNPLA3 como factor de riesgo para fibrosis en pacientes obesos con HGNA, pero sin esteatohepatitis en el estudio histopatológico (22).

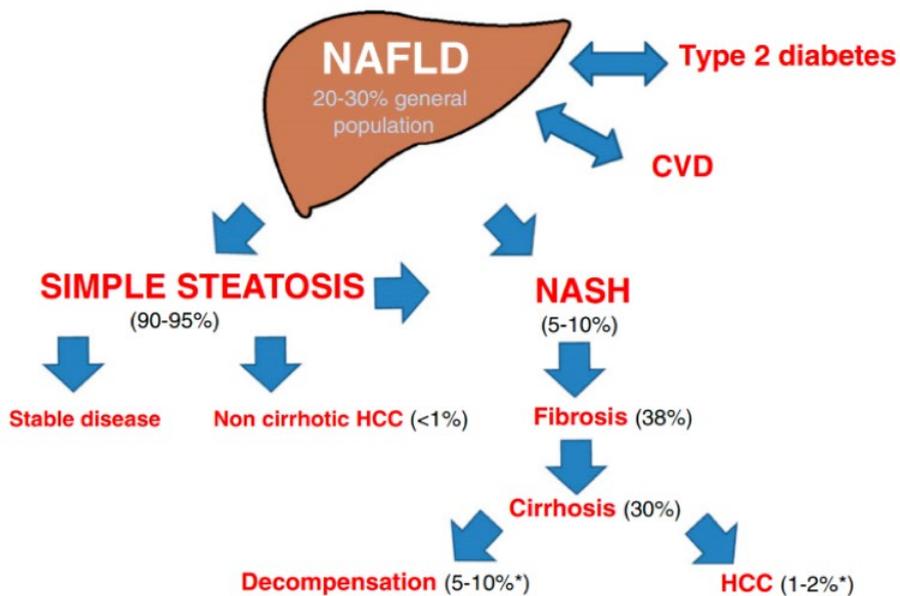


Figura 1.1. Historia natural de EHGNA. El término EHGNA engloba un amplio espectro de escenarios, desde el simple depósito de grasa (“hígado graso” o esteatosis) hasta la EHNA, la fibrosis y la cirrosis con sus consecuencias clínicas. A pesar de la alta prevalencia de EHGNA en la población general, la gran mayoría de los pacientes presentan esteatosis simple, que no se relaciona con una menor supervivencia. Solo el 5-10% de los pacientes diagnosticados con EHGNA desarrollarán EHNA y el 30% de estos desarrollarán cirrosis, de estos tras 10 años del diagnóstico de cirrosis, 5-10% presentarán descompensaciones hepáticas y 1-5% desarrollarán CHC.

Abreviaturas imagen: NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease; CVD, cardiovascular disease; NASH, non-alcoholic steatohepatitis; HCC, hepatocellular carcinoma; (% prevalencia/ incidencia).



2. Epidemiología y factores de riesgo

2.1. Epidemiología

La prevalencia global de HGNA es elevada, si bien, la estimación de la prevalencia varía según el método diagnóstico utilizado, la población estudiada (edad, sexo, raza y comorbilidades) y las diferencias geográficas. La mayoría de estimaciones proceden de estudios donde se han utilizado técnicas diagnósticas no invasivas, principalmente ecografía o resonancia magnética (RM); la prevalencia de HGNA en aquellas series que usaron exclusivamente ecografía varía de entre un 17 a un 46% (8). Recientemente se han publicado los resultados de un metaanálisis que analizó un total de 86 estudios, con una muestra de más de 8 millones de individuos de 22 países diferentes, que muestra una prevalencia global de HGNA del 25% (23). Esta prevalencia es superior en pacientes con SM y particularmente en aquellos pacientes con obesidad, alcanzando el 91%, y hasta en un 40-70% en individuos con DM-2 (24).

Respecto a la edad, su presencia aumenta con la misma, y es frecuente el diagnóstico entre los 40 y 60 años (25). En los últimos años se está describiendo con mayor frecuencia HGNA en la población pediátrica debido a la epidemia de obesidad infantil actual de los países desarrollados (26). En este momento no existe consenso en cuanto a la distribución por sexos.

La prevalencia de HGNA varía según las distintas razas. El HGNA es más frecuente en la población hispana (45%), seguida de caucásicos (33%) y población afroamericana (24%) (27). Estas diferencias encontradas pueden deberse a la distribución de la grasa corporal o bien a diferentes hábitos alimentarios; varios estudios evidencian que los pacientes asiáticos afectados de HGNA presentan mayor adiposidad visceral con IMC menores que en la población caucásica (28).



En cuanto a la distribución geográfica, el HGNA es la hepatopatía más común en los países industrializados del mundo occidental (29).

Todos los estudios poblacionales y distintos metaanálisis demuestran que el HGNA y la EHNA se encuentran fuertemente asociadas con los factores que constituyen el SM, aumentando su prevalencia paralelamente (30) (31). Especial mención a la RI, base de la patogenia del SM, la cual se ha asociado con la severidad del daño hepático, la presencia de EHNA, cirrosis hepática e incluso la aparición de complicaciones como CHC (9) (32). En general, el 80% de los pacientes presenta alguno de los factores de riesgo cardiovascular que componen el SM (RI, obesidad, dislipemia e hipertensión arterial) (33) (34), y la prevalencia de HGNA aumenta directamente con el número de estos factores metabólicos asociados (35) (36).

2.2. Factores de riesgo asociados a HGNA y su epidemiología

2.2.1. Diabetes mellitus tipo 2 (DM-2)

La DM-2 es un desorden metabólico que se caracteriza por la hiperglucemia crónica asociada a alteraciones en el metabolismo de hidratos de carbono, proteínas y grasas. Es secundaria a la insulinoresistencia en los tejidos periféricos, con mayor o menor medida de una secreción compensatoria deficiente de insulina. Tiene una importante agrupación familiar, con causas múltiples y de genética no totalmente definida (37).

La relación entre el HGNA y DM2 está ampliamente demostrada, sin embargo, es compleja y bidireccional.

Un estudio de una cohorte, prospectiva, clínica e histológicamente bien caracterizada de 1069 pacientes con HGNA confirmada por biopsia, demostró que tanto los antecedentes personales, como los antecedentes familiares



de DM2 están asociados con la presencia de EHNA y fibrosis entre pacientes con HGNA, y sugieren que los factores de riesgo familiares podrían ayudar a esclarecer mecanismos genéticos y ambientales compartidos con el desarrollo de EHNA, progresión a fibrosis avanzada y CHC. (38). Aunque no es claro si el HGNA es causa y/o consecuencia de la RI, la NICE (*National Institute for Health and Care Excellence*) recientemente ha catalogado al HGNA como un factor de riesgo independiente para DM2, tanto para hombres como para mujeres, cuando se ajusta con los parámetros de edad, sexo, IMC, tabaquismo, ejercicio físico, toma de alcohol, hipertensión arterial, dislipemia, ALT, HOMA-IR, creatinina e historia familiar de DM2. (39). Hay muchos pacientes con HGNA que no son obesos o no presentan DM2, Sung y col. han analizado en un grupo de 12853 pacientes no diabéticos el impacto de la esteatosis hepática, RI y la obesidad y el riesgo de desarrollar DM2 durante 5 años, evidenciando que cada factor se asocia de manera independiente con DM2, y cuando los tres factores se presentan de manera conjunta el riesgo de desarrollar DM2 es 14 veces más alto (40).

En cuanto a la mortalidad, hay estudios donde han evidenciado que las personas diabéticas tenían un riesgo aproximadamente tres veces mayor de morir de enfermedades hepáticas crónicas, principalmente asociadas con una etiología no relacionada con virus ni alcohol, que es en gran parte atribuible al HGNA (41).

La DM2 es la forma más prevalente de diabetes (90 - 95%) y el riesgo de desarrollarla se eleva con la edad, la obesidad y el sedentarismo. Younossi y col. realizaron un metaanálisis, analizando hasta un total de 80 estudios de 20 países diferentes, para estimar la prevalencia de HGNA, EHNA y fibrosis en pacientes con DM2, concluyendo una prevalencia global de HGNA entre pacientes con DM2 de 55.5%, EHNA en el 37,3%, y fibrosis avanzada en el 17%. En un estudio europeo se observó igualmente prevalencias más elevadas de HGNA en pacientes con DM2 (42) (**Figura 1.2**).



En España la DM2 es un importante problema de salud pública ya que afecta alrededor de 3,5 millones de personas, siendo unos de los países europeos con una prevalencia más alta, alcanzando un 10,4% según la Federación Internacional de Diabetes (43).

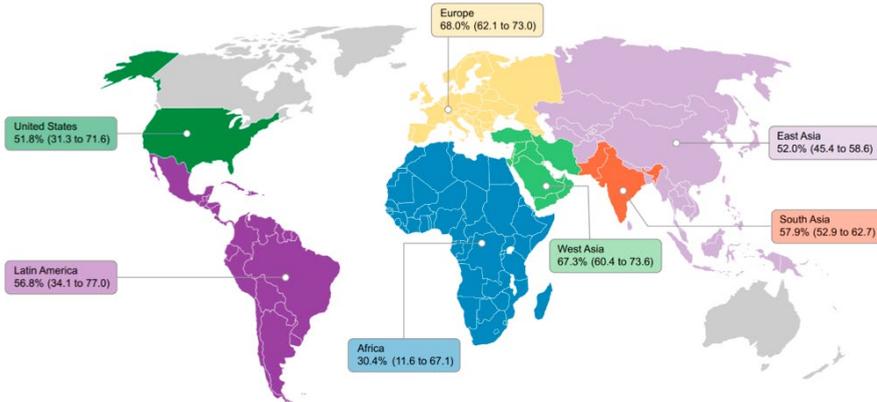


Figura 1.2. Prevalencia global y regional de EHGNA entre pacientes con DM2. Los datos se muestran como prevalencia (IC del 95 %).

Imagen de Younossi ZM y cols. (41).

2.2.2. Hipertensión arterial

El HGNA y la hipertensión arterial (HTA) están asociados con el SM, definida en el contexto de éste como $TA \geq 130 \text{ mmHg} / \geq 85 \text{ mmHg}$ por la NCEP-ATP III (*National Cholesterol Education Program, American Heart Association*). La base patogénica del SM es la RI, que también se encuentra íntimamente relacionado con el desarrollo de HTA. La hiperinsulinemia secundaria a la RI estimula la proliferación de las células endoteliales e induce un desequilibrio entre el óxido nítrico y la endotelina I, provocando una disfunción endotelial grave a nivel arterial por el aumento de producción de endotelina I que da lugar a respuestas vasoconstrictoras. Hay estudios realizados in vitro donde se ha puesto de manifiesto que el hiperinsulinismo estimula la actividad del sistema simpático, la retención de sodio además del aumento de endotelina I (44).



Los mecanismos por lo que se desarrolla HTA en el contexto del HGNA en pacientes sin SM no está esclarecido, si bien se ha sugerido que al igual que en el propio SM la RI tenga un papel en su patogénesis.(45).

Existen trabajos acerca de la prevalencia de la HTA en España, entre ellos el estudio Di@bet.es es un estudio de base poblacional que engloba toda la población adulta. La prevalencia de la HTA en este estudio fue del 42,6% (16,5 millones de personas), siendo significativamente mayor entre los varones que entre las mujeres (46).

2.2.3. Obesidad

La obesidad se define por un exceso de adiposidad corporal, superior a un 25-33% de la masa corporal total tanto en hombres como en mujeres. El indicador más útil y manejado es el índice de masa corporal, se define obesidad cuando el IMC es $\geq 30 \text{ kg/m}^2$.

En cuanto a la epidemiología actualmente, según la OMS existe una epidemia mundial de obesidad. la OMS calculó en 2005 a más de 1600 millones de personas con sobrepeso, 400 millones con obesidad y 20 millones de niños menores de 5 años con sobrepeso a nivel mundial.

En España, las características demográficas asociadas a la obesidad han ido cambiando a lo largo de los últimos años, observando un incremento creciente en su prevalencia. En el estudio **SEEDO 2007** se estimó una prevalencia global del 15,5% de obesidad en España, con una distribución por sexos de 13,2% en hombres y 17.5% en mujeres(47). En el **estudio ENRICA** publicado en 2012, se analizó un total de 11.991 personas en el periodo de junio de 2008 a octubre de 2010, estimándose una prevalencia del 39,4% sobrepeso y un 22,9% obesidad. Siendo mayor la prevalencia tanto el sobrepeso con obesidad en hombres (**Figura 1.3**) (48).



ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS Y GENOTÍPICAS EN PACIENTES CON HIGADO GRASO NO ALCOHOLICO CON SOBREPESO VS. OBESIDAD

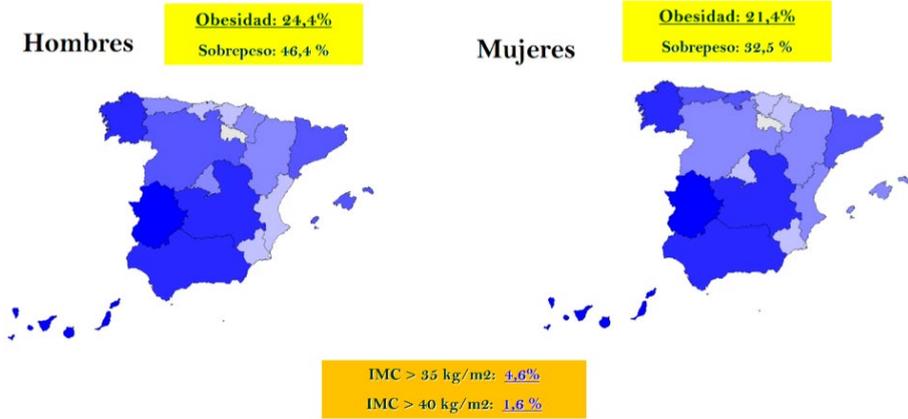


Figura 1.3. Prevalencia obesidad España: Estudio ENRICA 2012 (encuesta telefónica) (48).

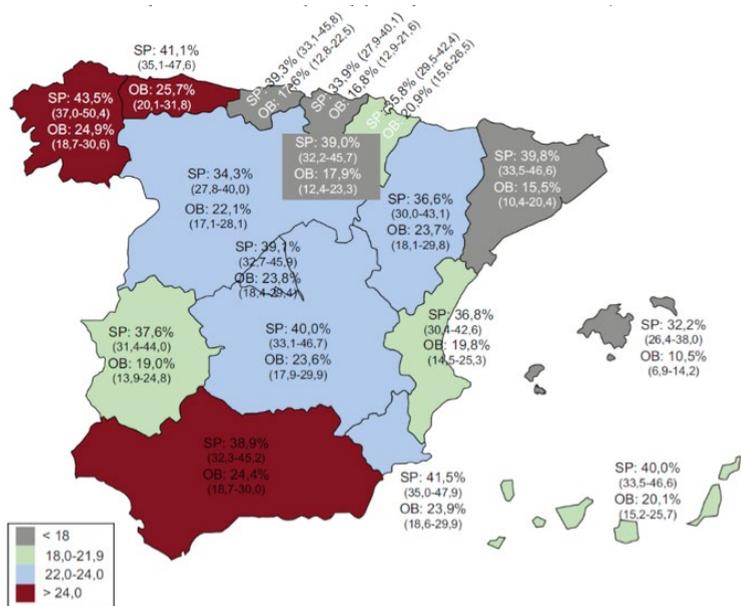


Figura 1.4. Estudio estudio ENPE, en población representativa española entre 25 y 64 años, ha estimado la prevalencia de sobrepeso en 39,3%; de obesidad en un 21,6%, siendo mayor entre los hombres (22,8%) que en las mujeres (20,5%) y han evidenciado que ésta aumenta con la edad.

Fuente: (49).



En cuanto a la obesidad en la infancia, la situación es alarmante, el estudio Aladino, realizado entre el 2010/2011 a 7659 niños entre 6 y 9 años, estimó una prevalencia del 24,6% de sobrepeso y del 18,4% de obesidad (50).

Las altas tasas de prevalencia de HGNA y EHNA entre la población obesa se han confirmado en un estudio de pacientes obesos intervenidos de cirugía bariátrica; la prevalencia de HGNA alcanzaba un 91% y de EHNA un 37% en estos pacientes (24).

Todos estos datos dan cuenta del importante impacto que tiene y tendrá el HGNA en los próximos años.

2.2.4. Síndrome metabólico

El SM es un conjunto complejo de alteraciones metabólicas, tales como obesidad, diabetes, hipertensión arterial y dislipemia) que se pueden presentar de manera secuencial o en un mismo tiempo en un individuo que cuenta con predisposición endógena, por carga genética y condicionada por factores ambientales. La base patogénica del SM es la RI y el hiperinsulinismo secundario compensador y que comprende alteraciones en el metabolismo de hidratos de carbono, presión arterial alta, alteraciones en el metabolismo lipídico (hipertrigliceridemia, colesterol- HDL disminuido, colesterol-LDL aumentado, elevación de ácidos grasos libres y lipemia postpandrial) y obesidad, con un aumento de la morbimortalidad secundaria de causa arterioesclerótica (51). La patogenia se explicará detalladamente más adelante.



En 1999 la OMS emitió la primera definición del SM unificada:

Tensión arterial: $\geq 140/90$ mmHg.
Dislipemia: definida por triglicéridos ≥ 150 mg/dL ($\geq 1,7$ mmol/L) y/o colesterol HDL < 35 mg/dL ($< 0,9$ mmol/L) en hombres o < 40 mg/dL ($< 1,0$ mmol/L) en mujeres.
Microalbuminuria: ≥ 20 μ g/min o ratio albumina / creatinina ≥ 30 mg/g.
Obesidad: IMC > 30 kg/m ² y / o relación cintura /cadera $> 0,9$ en hombres y $> 0,85$ en mujeres.

Tabla 1.1. Definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (1999).

En el 2001, en el Tercer Informe Del Programa Nacional De Educación En Colesterol (NCEP, del inglés *National Cholesterol Education Program*) en el Panel De Expertos En Detección, Evaluación Y Tratamiento De La Hipercolesterolemia En Adultos (Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults; Adult Treatment Panel III) (NCEP-ATP III, 2001), actualizados por la American Heart Association (52), se define SM ante la presencia de 3 o más de los siguientes criterios:

Obesidad: perímetro abdominal > 88 cm en mujeres y > 102 cm en hombres.
Triglicéridos ≥ 150 mg/dL ($\geq 1,7$ mmol/L).
Colesterol HDL < 40 mg/dL ($< 1,03$ mmol/L) en hombres y < 50 mg/dL ($< 1,29$ mmol/L) en mujeres.
Tensión arterial $\geq 130/85$ mmHg o diagnóstico previo.
Glucosa basal ≥ 110 mg/dL ($\geq 6,1$ mmol/L).

Tabla 1.2. Definición del Programa Nacional de Educación en Colesterol (NCEP-ATP III) (*National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III*) (2001).



El HGNA es considerado como la manifestación hepática del SM. El SM se ha asociado en numerosos estudios con el riesgo de EHNA y de progresión a fibrosis (13) (53).

En cuanto a la epidemiología, a pesar de estar infradiagnosticado, la prevalencia del SM es elevada y ésta varía en función de sexo, edad, raza y estilo de vida. Los datos de la encuesta nacional americana, NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*) de los años 1999-2006 informaron una prevalencia del SM del 34% (54). Estudios americanos posteriores, como el de Aguilar y col. informaron una prevalencia estable respecto a NHANES, un 35% de la población general estadounidense entre 2003-2012 presenta SM, viéndose aumentada hasta el 50% en los mayores de 60 años (**Figura 1.5**)(55).

La prevalencia de SM y HGNA aumenta con la obesidad. Otras causas para ambos trastornos incluyen la ingesta en exceso de azúcares y la inactividad física. Ambos trastornos predicen DM2, enfermedad cardiovascular, EHNA y carcinoma hepatocelular (56).

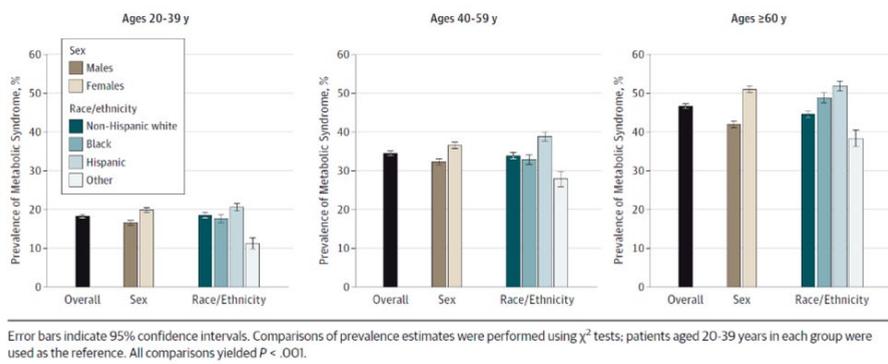


Figura 1.5. Prevalencia del SM en los Estados Unidos, 2003-2012. De 2003 a 2012, la prevalencia general del SM en los Estados Unidos fue del 33 % (IC del 95 %, 32,5 %-33,5 %), con una prevalencia significativamente mayor en mujeres que en hombres (35,6 % frente a 30,3 %, respectivamente, $P < .001$) (55).



3. Patogenia del HGNA

En el pasado, el mecanismo patogénico del HGNA se explicaba mediante la *teoría del “doble impacto”*. En el “primer impacto”, la RI y su hiperinsulinemia compensatoria secundaria, actuaba sobre la lipasa sensible a hormona (LSH) del tejido adiposo, desencadenando la lipólisis con la captación de ácidos grasos libres (AGL) a nivel hepático. Se produce un aumento de la transformación de los AGL en triglicéridos (TG), viéndose, a su vez, saturado el sistema de exportación de los mismos; esta alteración en el metabolismo de los lípidos es la base de la esteatosis hepática (57). El “segundo impacto” proviene del estrés oxidativo, la producción de citoquinas proinflamatorias y de la liberación de endotoxinas de la microbiota intestinal, conduciendo a una progresión de la enfermedad desde esteatosis a EHNA (58) (59).

Cada vez es más indudable que los diferentes patrones histológicos, esteatosis simple y EHNA, no solo tienen un riesgo diferente de progresión, sino que también pueden reflejar diferentes mecanismos patogénicos. En el momento actual la teoría del “doble impacto” ha sido remplazada por la *teoría de los “múltiples impactos”*, de acuerdo con esto y como se ha mencionado previamente en el apartado de historia natural, numerosos impactos paralelos y diferentes favorecen el desarrollo de esteatosis e inflamación hepática (RI, cambios en el metabolismo lipídico, estrés oxidativo, estrés en el retículo endoplásmico, disfunción mitocondrial, inflamación, liberación de endotoxinas de la microbiota intestinal...) (60).

Se expondrán a continuación los diferentes impactos patogénicos, en función del nivel en el que se desarrollan, distinguimos: nivel extrahepático y nivel hepático.



3.1. Nivel extrahepático

3.1.1. Obesidad e inflamación

3.1.1.1. Distribución de la grasa

El tejido adiposo se divide en dos tipos: tejido adiposo blanco (WAT) y el tejido adiposo pardo (BAT), ambos tejidos se diferencian según su morfología, distribución y función. El WAT es el principal reservorio de energía y además actúa como órgano endocrino secretando una amplia variedad de moléculas con función metabólica (hormonas y citoquinas). El BAT presenta función termogénica encargándose del gasto energético. Dichas funciones pueden verse alteradas en pacientes con obesidad, ya que se pierde el balance entre ambos tejidos.

El tejido adiposo blanco, a su vez, se diferencian otros dos tipos, el visceral y el subcutáneo. Ambos tejidos se diferencian en cuanto a la capacidad para la liberación de ácidos grasos, sensibilidad a la acción lipolítica de las catecolaminas y antilipolítica de la insulina, así como una diferente secreción de citoquinas proinflamatorias. El aumento de tejido adiposo subcutáneo, también denominado obesidad periférica o ginoide, más característico en mujeres, produce mayor secreción de adiponectina (adipocitoquina antiinflamatoria), mayor sensibilidad a la insulina y presenta propiedades antiateroescleróticas, por lo que el riesgo de DM2 y SM es menor. Por otro lado, el acúmulo de grasa a nivel visceral, característicos de la obesidad central o androide, produce mayor liberación de citoquinas y células inflamatorias, todo ello produciendo un aumento en la RI, HTA, y consecuentemente mayor riesgo cardiovascular y mortalidad. (61). El IMC y el perímetro de cintura, que mide el depósito visceral de grasa, muestra una asociación positiva con la presencia de HGNA (62), así mismo, existen pacientes no obesos, con $IMC < 30 \text{ kg/ m}^2$ (o incluso $< 25 \text{ kg/ m}^2$) pero con un aumento del depósito de grasa visceral o un tejido adiposo disfuncional que pueden presentar HGNA con o sin enzimas hepáticas alteradas (63) (64).



3.1.1.2. Estado proinflamatorio: citoquinas y adipocitoquinas

El tejido adiposo visceral también se ha asociado con inflamación a nivel hepático y la progresión a fibrosis en pacientes con EHNA, independientemente de que presentaran RI, probablemente como consecuencia de la acción de citoquinas proinflamatorias como la interleucina-6 (IL-6) liberadas por el tejido adiposo (65), si bien, en otros trabajos se ha demostrado que la sobreexpresión de IL-6 empeora la RI (66) (**Figura 1.6**).

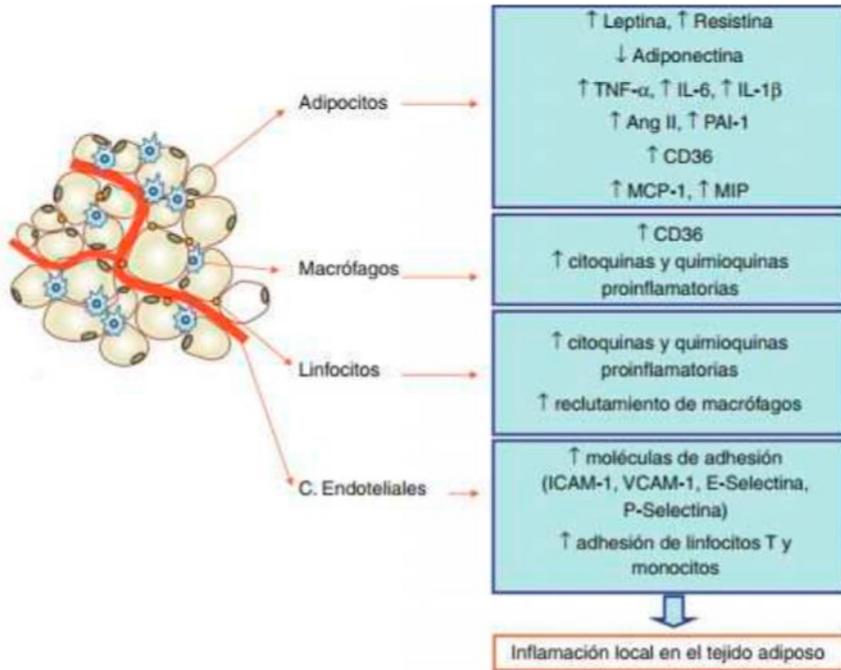


Figura 1.6 Contribución de los diferentes tipos celulares a la inflamación local a nivel del tejido adiposo.



La obesidad es un estado crónico de inflamación de baja intensidad, donde tanto los adipocitos como macrófagos, linfocitos infiltrados y células endoteliales próximos a los adipocitos están favoreciendo a esa inflamación local con la secreción de las diferentes citoquinas y adipocitoquinas proinflamatorias (67) (**Figura 1.7**).

Muchos de los mecanismos relacionados con el desarrollo de HGNA contribuyen a promover y mantener un estado de inflamación tanto a nivel sistémico como a nivel local en el hígado. En el HGNA la inflamación crónica hepática se relaciona con diferentes citoquinas, incluyendo tanto las liberadas por el hígado como por el tejido adiposo. (68) (69). El aumento de la adiposidad activa la respuesta inflamatoria no solo en el adipocito, sino también por medio de la circulación portal (70). Así mismo, el acúmulo lipídico en el hepatocito o esteatosis podría inducir una respuesta inflamatoria local, similar a la inflamación en el tejido adiposo producida por la acumulación lipídica en el adipocito.

La mayoría de estos procesos proinflamatorios convergen en la activación de proteínas quinasas liberadas por estrés, c-Jun NH₂- terminal kinasa (JNK)-1 y el inhibidor kappa kinasa (IKK)-beta. La sobreactivación de JNK-1 provoca la desactivación de la señalización de insulina, mientras que la activación de IKK-beta induce la translocación del factor **NF-kappaB** al núcleo del hepatocito, activando la expresión de genes que codifican citoquinas proinflamatorias como Factor de necrosis tumoral α (TNF- α), IL-6 o IL-1 beta causando un estado de inflamación crónica hepática y sistémica (71). Estas citoquinas activan a los macrófagos hepáticos, llamados células de Kupffer. En la obesidad, dado el aumento de la adiposidad, aumenta la activación de las células de Kupffer, no su número, participando en la patogénesis de la inflamación y fibrosis hepática (72).

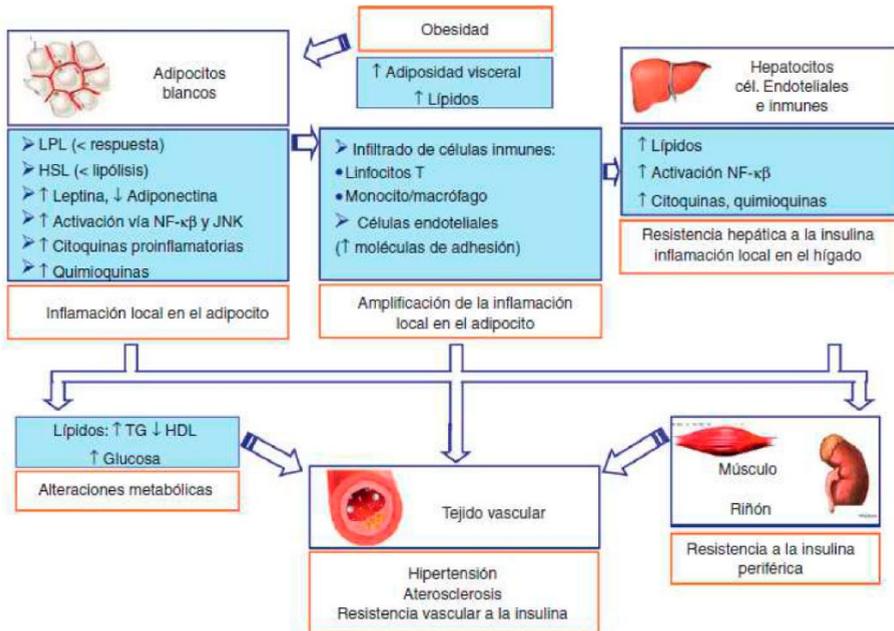


Figura 1.7. Contribución del tejido adiposo blanco (WAT) a la obesidad y sus complicaciones metabólicas y vasculares asociadas.

Papel de las citoquinas y adipocitoquinas

1. TNF- α

El gen TNF- α se localiza en el cromosoma 6p21.3 y codifica una citoquina proinflamatoria. Como biomarcador de inflamación sistémica, el TNF- α está involucrado en la fisiopatología del SM y cardiovascular, incluyendo el HGNA (73). El TNF- α regula diferentes efectos biológicos: efectos metabólicos, inflamatorios, viabilidad celular, así como efectos necróticos y expresión de otras citoquinas. TNF- α se describió en un primer lugar en macrófagos, pero posteriormente se ha demostrado que el tejido adiposo es una importante fuente, así como los hepatocitos, células de Kupffer y otras líneas celulares en respuesta a una inflamación crónica (66).

Crespo y cols. concluyeron en su estudio realizado a 52 pacientes obesos que la expresión intrahepática de ARNm de TNF- α también se ve



incrementada en pacientes con HGNA, y más aún entre pacientes con fibrosis hepática (74). Anteriores estudios han asociado la sobreexpresión de TNF- α con el desarrollo de HGNA, aterosclerosis y enfermedad coronaria al afectar el metabolismo de los lípidos y aumentar la RI (75). **Valenti y cols.** al mostraron la asociación entre la presencia del alelo A de TNF- α rs238 con mayores índices HOMA-IR en 99 pacientes diagnosticados de HGNA por ecografía y confirmados por biopsia (76).

2. Leptina

La leptina es una hormona peptídica secretada principalmente por el tejido adiposo blanco. Cuando aumenta el depósito de tejido graso aumenta la síntesis y secreción de leptina, regulando el consumo de energía y el apetito a nivel central. El papel que desempeña la leptina en la patogénesis del HGNA continúa siendo controvertido ya que existen varios estudios con resultados contradictorios.

Uygun y col. (77) elaboraron un estudio en humanos estudiando los niveles de leptina en pacientes con EHNA, demostraron que los niveles de leptina sérica en pacientes con esteatohepatitis era más elevado que en la población general y sugirieron que la leptina podría ser un factor independiente predictor de EHNA. Sin embargo, en posteriores análisis de los resultados se objetivó que éstos podrían estar influenciados por el hecho que los sujetos del grupo control presentaban un menor peso que los pacientes con EHNA, por lo que un subgrupo del estudio utilizó un grupo control homogéneo con el grupo de pacientes con EHNA, no encontrando correlación entre los niveles de leptina y la histología hepática, niveles séricos de transaminasas, niveles en ayunas de insulina o los niveles de RI. Similar a éste, otro estudio diseñado para investigar la posible asociación entre la leptina con la RI y los cambios histológicos en pacientes con HGNA no logró mostrar ninguna asociación entre el nivel sérico de leptina con el nivel de insulina en ayunas y la gravedad de los cambios histológicos hepáticos (78). Sin embargo, existen otros estudios que relacionan la leptina con la



resistencia del hígado a la insulina (79) o que sugieren que los niveles de leptina están directamente relacionados con la gravedad de la esteatosis y valores elevados pueden conducir a tasas más altas de esteatosis hepática y EHNA (28) (80), sin embargo, no se correlacionan con el grado de fibrosis, por todo esto, se ha llegado a exponer la teoría de la resistencia a la leptina, que se asocia a la obesidad, RI y niveles de glucosa elevados en pacientes con HGNA (81).

En estudios en animales, como el de **Asilmaz y cols.** evidenciaron que la administración de leptina en el sistema nervioso central de ratones con HGNA corrigió la RI y mejoró a nivel histológico el HGNA, mientras que la administración de leptina por vía periférica no lo hizo (82). Estos datos sugieren que la resistencia a la leptina a nivel central podría ser más relevante que la resistencia a nivel hepático en la patogénesis del HGNA.

Con todos estos datos, en el momento actual, el papel que juega la leptina en la patogenia del HGNA aún no es claro, por lo que se necesitan más estudios que puedan esclarecer su función.

3. Adiponectina

La adiponectina es una hormona derivada exclusivamente del tejido adiposo, con efectos beneficiosos ampliamente descritos antiinflamatorios, antilipogénicos, antiateroescleróticos e hipoglucemiantes, actuando sobre receptores identificados a nivel de adipocitos, células musculares y hepatocitos. En cuanto al metabolismo lipídico, aumenta el aclaramiento de lípidos del plasma y la beta-oxidación de las grasas en el músculo. Sobre sus efectos antiinflamatorios, actúa suprimiendo la síntesis de TNF- α a nivel hepático. (83). En numerosos estudios se ha identificado que el nivel sérico de adiponectina se encuentra disminuido en personas obesas y muestra unos niveles más bajos en pacientes con esteatosis y esteatohepatitis (84) (85) (86), siendo mayor en pacientes con grados más bajos de esteatosis (87). En otro estudio se ha demostrado que niveles bajos de adiponectina es un factor



predictivo de necroinflamación hepática y grados más severos de fibrosis, incluso tras la exclusión del efecto de variables como edad, IMC y el perímetro abdominal (88). Se ha demostrado que la administración de pioglitazona aumenta los niveles de adiponectina, que se asocia con mejoría de la esteatosis hepática, necroinflamación y fibrosis (89) (90). Existe un estudio en ratones obesos ob/ob (con deficiencia de leptina), en la que la expresión de adiponectina se encontraba disminuida en su tejido adiposo, demostró mejoría significativa en la esteatosis hepática, hepatomegalia y niveles de transaminasas tras la administración de adiponectina (91).

Además, la adiponectina parece jugar un papel fundamental en la modulación de la sensibilidad a la insulina, se ha evidenciado que los niveles de adiponectina en plasma se correlacionan significativamente con la sensibilidad a la insulina en el hígado (89), en otro trabajo, niveles bajos de adiponectina se asociaron a un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares y parece ser un factor clave en el SM (87). La expresión de ARNm de la adiponectina se encuentra disminuida en pacientes con HGNA, y su reposición en ratones con RI disminuye el contenido de triglicéridos a nivel muscular y hepático. Así mismo, se ha propuesto que el TNF- α puede disminuir la expresión de la adiponectina potenciando aún más la RI (92).

4. Resistina

La resistina es una proteína secretada por el tejido graso, que se caracteriza por tener propiedades proinflamatorias y se ha implicado en la modulación de la acción de la insulina, la glucosa y el metabolismo de los lípidos, relacionándose con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, DM2 y el SM. (93). La expresión de resistina en niveles suprafisiológicos en un modelo de ratones se relacionó con hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa e hipertrigliceridemia (94).

En otro estudio, la administración de oligonucleótidos contra ARNm de la resistina revirtió totalmente la hiper-resistinemia y la RI que se



desencadenó en ratones alimentados con dietas ricas en grasas (95). En un estudio de 214 pacientes obesos diagnosticados de HGNA por biopsia hepática, se observó una correlación positiva entre la expresión de resistina con el grado histológico (basado en NAS-score), niveles de transaminasas, IMC, glucosa, niveles de insulina, HOMA-IR, TG y hemoglobina glicosilada (HbA1c); la expresión de resistina fue mayor en los pacientes con DM2 y DL obesos respecto ---al grupo control.(96) La resistina probablemente juega un papel clave en la patogenia de la RI a nivel hepático y agrava el daño hepático en pacientes con HGNA.

5. Interleucina-6

Es una citoquina con múltiples funciones, principalmente proinflamatorias, está producida por diferentes tipos celulares, entre ellos los adipocitos, hepatocitos, células del sistema inmunitario y endoteliales. Se ha observado que mayores niveles séricos de IL-6 tienen una correlación con la RI, al igual que ocurre con TNF- α (97) (98). Los adipocitos del tejido adiposo visceral producen mayor nivel de citoquinas que los adipocitos subcutáneos, observándose que pacientes con HGNA obesos y delgados presentan un perfil similar de producción de IL-6. Por otro lado, en la obesidad se produce una endotoxemia secundaria a la proliferación de la microbiota intestinal, todo ello estimula macrófagos por medio de los receptores toll-like que induce a la síntesis de TNF- α y secundariamente producción de IL-6 por parte de adipocitos y macrófagos infiltrados en el tejido adiposo (66). Zamora-Valdés y cols. en 2007 evidenció que la hipoxia intermitente crónica secundaria a la apnea obstructiva del sueño aumentaba los niveles séricos de IL -6, jugando un papel como factor de riesgo para HGNA (99). Otro estudio, objetivó un aumento en el nivel sérico de TNF- α e IL-6, así como de sus receptores solubles en esteatohepatitis, en comparación con la esteatosis simple, pero no se encontró correlación entre los niveles circulantes de estas citoquinas y sus receptores con el grado de actividad de la enfermedad o etapa de fibrosis. Similar a



dicho estudio, existe otro en el que sí hallaron correlación entre los niveles de IL-6 y el grado de esteatosis hepática hasta que los pacientes con obesidad mórbida cumplían criterios de EHNA, si bien, los pacientes con EHNA redujeron la concentración de IL-6 en sangre (100). Sin embargo, otro estudio no encontró ningún aumento en la transcripción y expresión de ARNm hepático de IL-6 en pacientes con EHNA en comparación con pacientes con esteatosis simple (80).

Con todos estos datos, la relación de la IL-6 en la patogenia del HGNA se ha demostrado, pero los datos respecto a su correlación con las diferentes etapas de la evolución de la enfermedad aún son discordantes.

3.1.2. RI y desarrollo de esteatosis

La insulinoresistencia se define como la disminución de la capacidad de la insulina para producir una respuesta fisiológica en sus órganos diana (músculo esquelético, hígado y tejido adiposo) para el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa, y se define por unos niveles plasmáticos mayores a 20 $\mu\text{U}/\text{ml}$ de insulina; se encuentra asociada fuertemente con la obesidad y a otros componentes del SM. A nivel celular, esta resistencia puede deberse a una menor sensibilidad a la insulina, a una sensibilidad a la insulina conservada, pero con una disminución en la capacidad de respuesta máxima, o bien a una combinación de ambos fenómenos (101).

La RI es el elemento patogénico fundamental y reproducible en las etapas iniciales de la esteatosis hepática, ya que se asocia a un aumento de los depósitos de lípidos a nivel hepático, la consecuencia de esto es un aumento de los ácidos grasos libres (AGL) en el interior de los hepatocitos, esto causa lipotoxicidad y consecuentemente un aumento del estrés oxidativo, estrés en el retículo endoplásmico, disfunción mitocondrial y autofagia (102).

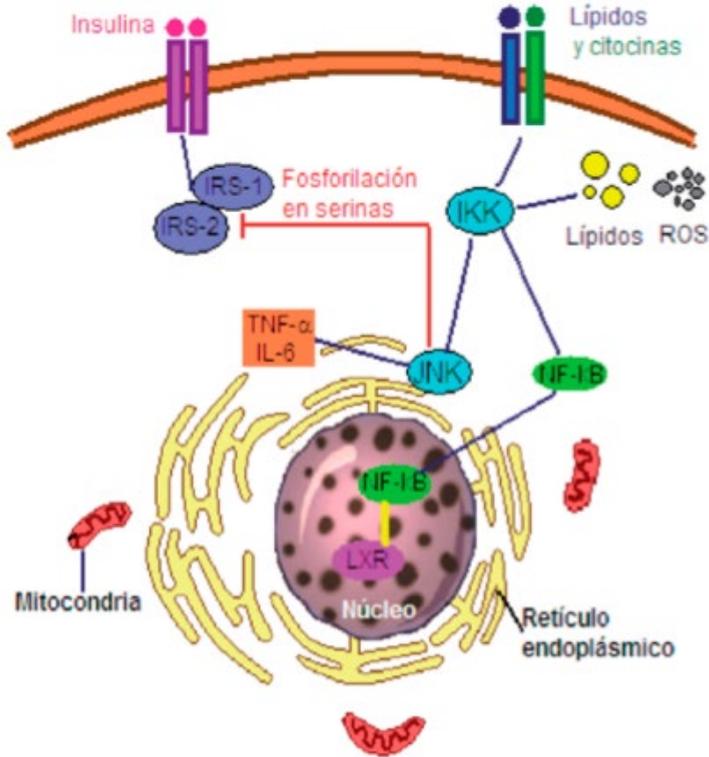


Figura 1.8. Rutas moleculares que componen el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria con la labor de la insulina. IRS-1 e IRS-2 son moléculas activadas por el receptor de insulina. Los pacientes obesos presentan altos niveles de TNF- α , IL-6, lípidos y ROS, que activan receptores y cinasas (IKK, PKC y JNK) que fosforilan residuos de serina en las IRS1 e IRS-2. Como resultado la señalización de la insulina se ve inhibida. IRS: Sustratos del Receptor de Insulina; JNK: JUN-amino terminal; ROS: especies reactivas de oxígeno; AP-1: proteína activada-1; IKK: cinasa beta del inhibidor del factor kappa B; NF-kB: Factor Nuclear kappa B; LXR: Receptor X del hígado.

Figura de Contreras E y cols. (103).

La insulina actúa sobre las células efectoras a través de su propio receptor de membrana. Cuando la insulina se une a su receptor éste se autofosforila y activa una proteína tirosina cinasa local, que, a su vez, fosforila a otras, entre ellas un subgrupo denominado sustratos del receptor de la insulina (IRS, de insulin-receptor substrates); existen varios en función de su localización, siendo el mejor estudiado



el IRS-1 (células adiposas y músculo esquelético), que activa al transportador de glucosa GLUT-4 que facilita la entrada de glucosa a las células, en ellas es utilizada como fuente de energía o bien se almacena en forma de glucógeno. Cuando existe una RI, la fosforilación del IRS-1 no se lleva a cabo, deteniéndose la entrada de glucosa en la célula lo que provoca hiperglucemia con el consecuente aumento de síntesis de insulina por parte de las células β del páncreas. La DM2 surgen cuando se agota la capacidad del páncreas para secretar insulina de forma compensatoria. La insulina sobre el hígado posee otros efectos algo diferentes a los del tejido adiposo y musculo esquelético, principalmente porque el receptor de insulina fosforila en tirosina a otro sustrato, el IRS-2, permitiendo que aumente la actividad de la glucógeno sintetasa al dejarla de inhibir. Por todo esto, la insulina en el hígado aumenta la síntesis de glucógeno. La RI a nivel hepático hace que la insulina sea incapaz de inhibir la gluconeogénesis, aumentando por tanto la síntesis hepática de glucosa que se libera al torrente sanguíneo, provocando la hiperinsulinemia compensatoria.

Otro de los mecanismos fundamentales que contribuye a la RI es el estímulo crónico de la enzima IKK- β , que activa al factor de transcripción nuclear NF-kappaB (NF- κ B), activando la expresión de genes que codifican citoquinas proinflamatorias, en especial el TNF- α , interfiriendo en la transmisión intracelular de la señal de la insulina, al producir fosforilación de la serina en lugar de la tirosina en el ISR-1. Como previamente se ha mencionado, los estados de inflamación crónica, provocados por la formación de radicales libres del oxígeno (RLO), tienen la capacidad de activar la IKK- β . Las propias citoquinas proinflamatorias, como el TNF- α , también activan IKK- β por lo que favorece de manera persistente la RI y contribuye a la patogenia del HGNA (57).

En recientes estudios se ha analizado la acción de la proteína timosina- β 4 (**T β 4**), por su capacidad de mejorar la sensibilidad a la insulina y la tolerancia a la glucosa en un modelo de ratón con DM2 (104). T β 4 es un péptido biológicamente activo que regula la polimerización de actina en las células, desempeña



un papel fundamental en la angiogénesis, migración celular, cicatrización y la fibrosis (105). **Jiang Y. y cols.** confirmaron que los niveles de T β 4 en suero eran significativamente más bajos en pacientes con EHNA en comparación con los controles de HGNA, y se correlacionó negativamente con el estado de oxidación y RI a nivel hepático; también han sugerido que T β 4 podría usarse para tratar ratones afectos de HGNA al inhibir la vía NF-kappaB y reducir así la expresión de TNF- α mejorando la RI (106).

La hiperinsulinemia, por mecanismos aún no del todo definidos, activa un aumento de la síntesis de ácidos grasos a nivel del hepatocito (síntesis de novo). Los mecanismos que se cree implicados son la activación de la ácido graso sintetasa y la inducción de SREBP (sterol regulatory element binding protein), este último es un factor de transcripción con un rol fundamental en la activación de genes participantes en la lipogénesis. Se ha demostrado que dicha lipogénesis de novo a nivel hepático se encuentra aumentada en pacientes con HGNA (107).

La RI está caracterizada por un aumento de los ácidos grasos libres como consecuencia del incremento de la lipólisis, así como la imposibilidad por parte del músculo periférico e hígado para oxidar ácidos grasos libres. Como consecuencia del aumento del depósito de ácidos grasos libres a nivel muscular y hepático se produce una alteración en el metabolismo de la glucosa, contribuyendo a ello la RI. Igualmente, el hiperinsulinismo asociado a la RI da lugar a una disminución en la síntesis de la apolipoproteína B-100, un componente fundamental de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lo cual restringe el transporte de TG fuera de la célula y contribuye a su acumulación en el hígado (17) (108).

3.2. Nivel hepático

A nivel hepático, la patogénesis del HGNA es un proceso complejo donde participan varios procesos diferentes y paralelos en la progresión de la enfermedad, que se explica en la actualidad con la hipótesis de los “múltiples impactos”



como se mencionó con anterioridad. De manera simplificada el acúmulo hepático en niveles tóxicos de ácidos grasos libres (AGL) y sus metabolitos desencadena estrés del retículo, producción de RLO, daño en rutas de señalización celular y disfunción mitocondrial, todo ello con la consiguiente activación de las respuestas proinflamatorias.

3.2.1. Cambios en el metabolismo lipídico y lipotoxicidad

El papel del hígado en la regulación del metabolismo de los lípidos se basa en: captación de AGL de sangre periférica y lipogénesis de novo, eliminación de AGL mediante su oxidación o transformación a TG y por último el envío de nuevo a la circulación en forma de TG por medio de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).

Según la antigua teoría del “doble impacto” el depósito de TG a nivel hepático, resultantes de la esterificación de glicerol y ácidos grasos libres (AGL), supone el **impacto inicial** para el desarrollo del HGNA en forma de esteatosis simple. Si bien, en últimos estudios se está observando que la acumulación de TG no produce daño hepático *per se*; en un estudio donde se impidió la incorporación de TG en nuevas VLDL mediante el bloqueo de MTP (del inglés *Microsomal Transference Protein*; proteína de transferencia microsomal) en hígado de ratones, provocando una exportación de TG imperfecta y acumulación de TG, no se evidenció daño hepático (109). En otro trabajo llevado a cabo en ratones que sobreexpresaban el gen de la DGAT2 (diacylglycerol acyltransferase 2), enzima implicada en la biosíntesis final de TG, dio como resultado el acúmulo de TG a nivel hepático sin llegar a producir RI; los ratones no presentaron alteración en los niveles plasmáticos de insulina ni de glucosa, aunque sí mostraron esteatosis simple hepática con acúmulo de TG (110). Todo esto hace pensar que existe una lipotoxicidad no asociada a TG como patogénesis de la EHNA. De acuerdo con la teoría de la lipotoxicidad, el depósito de TG no provoca automáticamente la progresión de HGNA a EHNA, incluso pueden jugar un papel protector, como se



ha visto en numerosos estudios, mientras que los metabolitos tóxicos derivados de los ACG sí que podrían participar en la progresión a esteatohepatitis al provocar estrés oxidativo y del retículo endoplásmico, inflamación, muerte celular y apoptosis (102) (111) (112). En un estudio se evidenció que la inhibición de la expresión de DGAT2 en modelos de ratones obesos con EHNA, dio como resultado una reducción de los TG intrahepáticos con el consiguiente aumento de la oxidación de AGL, inducía un empeoramiento de la esteatohepatitis. (113). Estudios in vitro han observado que el tratamiento con **ácidos grasos insaturados** implica un aumento significativo del depósito hepático de TG sin que se produzca un aumento de la muerte celular; por el contrario, la toma de ácidos grasos saturados conlleva un aumento significativo de la apoptosis sin observarse un aumento del acúmulo de TG (114) (115) (116) (117). Estos resultados sugieren que la patogenia y el tratamiento de la esteatosis y de la EHNA pueden ser diferentes.

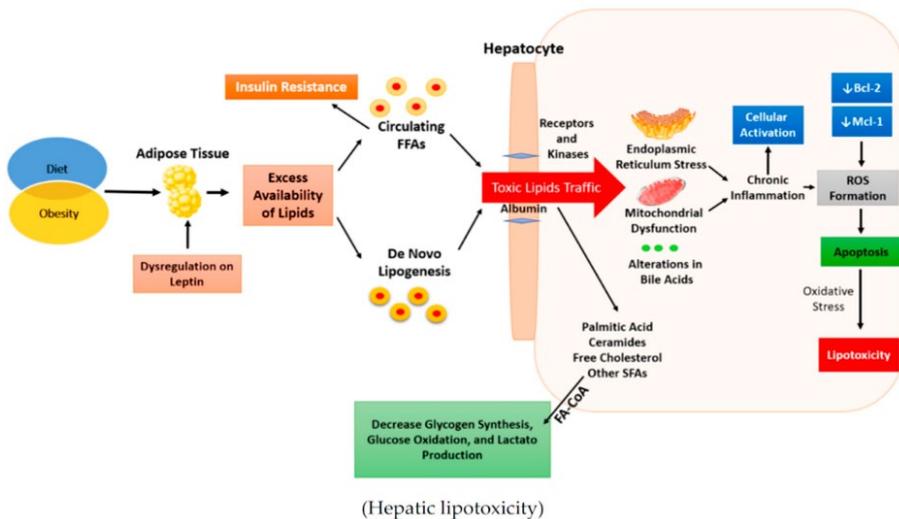


Figura 1.9. Modelo de metabolismo de lípidos hepáticos, inflamación y fibrosis. El contenido de lípidos hepáticos es un equilibrio entre la captación y la síntesis de lípidos y la eliminación/exportación de los mismos. (118, Esler) (118).



3.2.2. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo se produce por un desequilibrio entre la producción excesiva de sustancias oxidantes y los sistemas antioxidantes. En el HGNA existe un gran depósito de AGL en el hepatocito que deteriora la capacidad oxidativa de las mitocondrias, produciéndose un desequilibrio en los sistemas redox con el consiguiente aumento de producción de RLO (119).

3.2.2.1. Disfunción mitocondrial

Se ha evidenciado que las mitocondrias de pacientes con HGNA presentan alteraciones estructurales y funcionales (120), que ocasiona un fallo en la cadena respiratoria con aumento de producción de RLO. Con el exceso de flujo de AGL intrahepatocitarios se produce un colapso de la función mitocondrial, deteriorándose la homeostasis de las grasas, generando metabolitos tóxicos de los lípidos y la sobreproducción de RLO; todas estas moléculas activan vías proinflamatorias que contribuyen a la necrosis de los hepatocitos, pueden activar las células Kupffer y las células estrelladas hepáticas, provocando inflamación y fibrosis (121), así como al daño mitocondrial (17). Se ha demostrado que existe una correlación entre la RI, la obesidad, los niveles de TNF- α y la disfunción mitocondrial (122). La mitocondria participa tanto en la oxidación de los AGL como en la generación de RLO, por lo que el desbalance en la cadena respiratoria mitocondrial es la principal fuente de superóxido, peróxido de hidrógeno e hidroxilo (OH⁻). Los AGL son oxidados tanto por mitocondrias como por la vía del citocromo P450 2E1 (CYP2E1), y ambas vías producen RLO tóxicos para el hígado (123).

3.2.2.2. Estrés del retículo endoplásmico (RE)

Los AGL además de inducir estrés oxidativo, también desencadenan estrés del **RE (retículo endoplásmico)** que igualmente favorece la patogénesis de la EHGNA (124) (125). La disfunción del RE afecta a la síntesis y correcto ensamblaje de



proteínas secretoras y de membrana, lo que conduce a un cúmulo de proteínas mal plegadas en su interior; la acumulación de estas proteínas mal estructuradas activa la UPR (del inglés *Unfolded Protein Response*), el cual es un mecanismo adaptativo que activa señales intracelulares para aumentar la transcripción de chaperonas del RE. En el HGNA, los factores que inducen la UPR incluyen hiperglucemia, disfunción mitocondrial que agota el ATP, hipercolesterolemia, agotamiento de fosfatidilcolina y estrés oxidativo. En un estudio experimental se evidenció que la exposición crónica a concentraciones elevadas de ácidos grasos saturados (ácido palmítico y ácido esteárico) causaban estrés del RE y la muerte de células hepáticas H4IIE y hepatocitos primarios de rata debido a la redistribución del calcio del RE (126). Otra consecuencia de la UPR es la activación de las vías de transcripción SREBP-1c (del inglés *sterol regulatory element-binding protein 1 c*) de genes requeridos para la lipogénesis, y, por tanto, el mantenimiento de la acumulación de grasa hepática, con un mayor agravamiento del estrés del RE y de la UPR (127).

3.2.2.3. Peroxidación lipídica

Los RLO son moléculas muy inestables y reactivas, con avidez por ácidos grasos insaturados, pudiendo provocar peroxidación lipídica con daño secundario de las membranas ya que éstas se encuentran formadas principalmente por dichos ácidos grasos. Todo ello comporta alteraciones tanto en la estructura como en la función de las membranas. Además, los productos de la peroxidación lipídica (malondialdehído y el 4-hidroxinonenal) (128), con una vida media más larga que los RLO, consiguen bloquear parcialmente el flujo de electrones dentro de la cadena respiratoria, favoreciendo la disfunción mitocondrial existente en los pacientes con HGNA. Así mismo, estos metabolitos poseen un efecto tóxico directo al acoplarse covalentemente a las proteínas, desencadenando un aumento de TNF- α , aflujo de células inflamatorias, un déficit de antioxidantes naturales como el glutatión, promoviendo la formación de cuerpos de Mallory (por agrupación de citoqueratinas), y pueden activar las células estrelladas hepáticas (CEH) aumentando la síntesis de colágeno y favoreciendo la progresión de HGNA. La



peroxidación lipídica también puede provocar lisis proteica de las apolipoproteínas B a nivel del RE por lo que se reduce la exportación de VLDL, favoreciendo el depósito de TG en el hepatocito. (129).

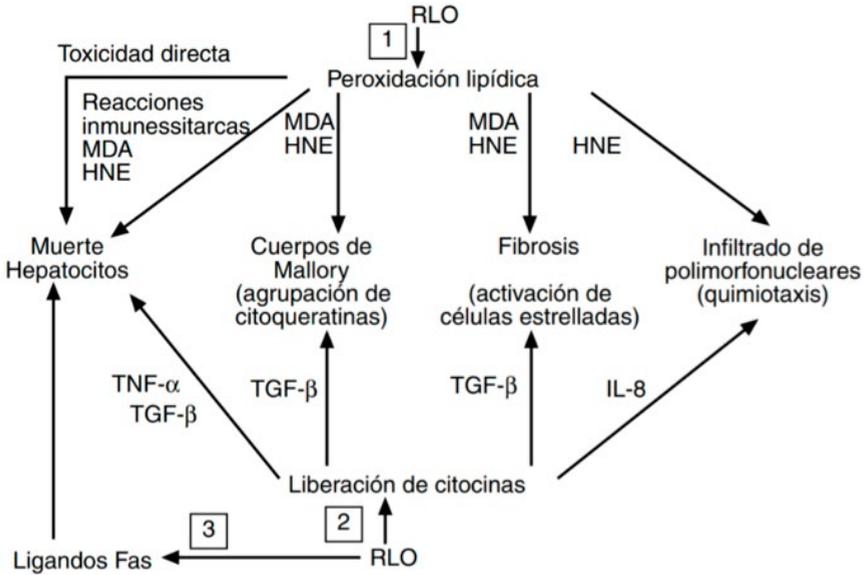


Figura 1.10. 1) Al desencadenar los radicales libres del oxígeno (RLO) la peroxidación lipídica, la liberación de malondialdehído (MDA) y de 4-hidroxinonenal (HNE) causa toxicidad directa. Tanto MDA y HNE producen reacciones inmunitarias al acoplarse covalentemente a las proteínas, también intervienen en la formación de los cuerpos de Mallory, formados por la agregación de monómeros de citoqueratinas, así como una mayor síntesis de colágeno por parte de las células estrelladas. 2) Los RLO estimulan la formación de citocinas por parte de las células de Kupffer y por los hepatocitos. El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y el factor de crecimiento tumoral beta (TGF- β) activan caspasas y la lisis de los hepatocitos. El TGF- β también impulsa la síntesis de colágeno por las células estrelladas. El HNA y la interleucina o (IL-8) favorecen la quimiotaxis de los neutrófilos. 3) Los RLO originan la expresión de ligandos Fas en los hepatocitos; los ligandos Fas de un hepatocito tienen la capacidad de interactuar con los ligandos de otros hepatocitos activando el programa de apoptosis entre ellos.

(Pérez Aguilar y col) (129).



3.2.2.4. Déficit de antioxidantes

La formación de RLO en exceso junto con una menor capacidad antioxidante en las últimas etapas de la disfunción mitocondrial induce la inflamación y muerte celular favoreciendo la progresión de L HGNA. (122) (130) (120). Los RLO también producen la peroxidación de cardiolipina y la inhibición de expresión de genes antioxidantes, afectando ambos mecanismos a la función de la cadena de electrones mitocondrial. (119). Por lo que la disminución de enzimas antioxidantes como el glutatión, vitamina E, beta-caroteno, vitamina C conlleva una mayor susceptibilidad para el daño oxidativo. Se ha evidenciado niveles más elevados de xantina oxidasa, un generador de especies reactivas del oxígeno, en pacientes con EHNA comparando con los controles, en cambio presentaban niveles más bajos de enzimas antioxidantes (131). En un trabajo estadounidense publicado en 2012 se ha estudiado las propiedades del óxido de cerio, un agente con capacidad antioxidante hepatoprotectoras a nivel experimental (132), en modelos de ratas con HGNA. El tratamiento con cerio en las ratas fue capaz de reducir el tamaño y contenido de las gotas de lípidos de los hepatocitos, la concentración hepática de triglicéridos y ésteres de colesterol y la expresión de varios genes implicados en las vías de señalización de citocinas, adipocinas y quimiocinas, con todo esto los autores sugieren que el tratamiento con dicho antioxidante podría tener un valor beneficioso en HGNA (133). Existe otro trabajo donde evidenciaron que la dieta mediterránea en 50 pacientes con sobrepeso y HGNA mejoró los parámetros antropométricos, el perfil lipídico y redujo la acumulación de grasa hepática y la rigidez hepática, si bien, el grupo al que se le añadió además un complejo antioxidante diario (*silymarin, chlorogenic acid, protopine, L-methionine, L-glutathione*) mostró, aparte de una mejora significativa en la sensibilidad a la insulina, también una reducción más consistente de los parámetros antropométricos en comparación con los pacientes sin antioxidantes (134).



3.2.2.5. Papel de la microbiota y disbiosis intestinal: eje intestino-hígado

La microbiota intestinal juega un papel fundamental como *órgano metabólico* interactuando el hospedador y la flora con el objetivo de mantener funciones esenciales: metabólicas, para el desarrollo del sistema inmune (inmunidad innata e inmunotolerancia), mantenimiento de la barrera intestinal y para facilitar la correcta respuesta inmune contra microorganismos patógenos. Desde la etapa fetal se forja una estrecha relación hígado-tracto gastrointestinal, lo que se conoce como el eje intestino-hígado, el cual posee un rol primordial en la patogénesis del HGNA (135).

El hígado es el primer órgano en recibir los antígenos que provienen del intestino, por lo que es uno de los más expuestos a numerosos factores tóxicos, como son bacterias o productos bacterianos como los lipopolisacáridos (LPS) y el etanol (136). Se ha observado en diferentes hepatopatías crónicas, incluyendo HGNA, sobrecrecimiento bacteriano con translocación bacteriana y aumento sérico de sus toxinas (como LPS) en la circulación sistémica y portal, con la consiguiente activación de varios receptores, incluidos Toll-like (TLR) como el TLR-4, que participan en la señalización de vías proinflamatorias (TNF- α e IL-6), activación del sistema inmune, RI, depósito graso en el hígado y en la fibrogénesis, por todo ello, desórdenes en la microbiota intestinal se relacionan tanto con la etiopatogenia como con la progresión del HGNA (137) (138).

4. Diagnóstico del HGNA

Es posible realizar un diagnóstico inicial de HGNA gracias a un conjunto de datos clínicos (esencial la exclusión de otras causas de hepatopatía), pruebas de laboratorio y de imagen, si bien, catalogar el estadio de la enfermedad únicamente se puede llevar a cabo, a día de hoy, por medio de la biopsia hepática. Sin



embargo, no es eficiente realizar a todos los pacientes con diagnóstico inicial de HGNA una biopsia hepática ya que la prevalencia de la enfermedad es muy elevada y se trata de una prueba invasiva; por lo que en los últimos tiempos se están desarrollando diferentes métodos no invasivos para diferenciar esteatosis, EHNA y fibrosis y así predecir la progresión de la enfermedad.

4.1. Pruebas de laboratorio

El principal hallazgo analítico en los pacientes con HGNA es una leve elevación de las transaminasas (ALT y AST). Con frecuencia elevan también de manera discreta enzimas de colestasis, en especial la GGT; existen estudios que relacionan dicha elevación con el espectro de alteraciones secundarias a la RI, principalmente pacientes obesos y con DM2. Ninguna de estas enzimas hepáticas diferencia el estadio de la enfermedad; en un estudio de 46 pacientes con obesidad mórbida con diagnóstico de HGNA por biopsia hepática se evidenció que el 54% contaban con niveles de transaminasas en rango a pesar de presentar esteatohepatitis en el estudio histológico (139). También es frecuente encontrar alteraciones en el metabolismo del hierro, un 21-40 % de los pacientes muestran un aumento moderado de ferritina y del índice de saturación de la transferrina sin que se demuestre a nivel hepático un aumento de los depósitos de hierro (140).

4.2. Pruebas de imagen

4.2.1. Ecografía abdominal

En cuanto a técnicas diagnósticas de imagen destaca la ecografía, es sencilla de realizar, accesible, segura y barata. Es la prueba de imagen que se realiza inicialmente en caso de sospecha diagnóstica de HGNA. Los criterios ecográficos para diagnóstico de esteatosis incluyen:



- Hiperecogenicidad del parénquima hepático, más evidente al contrastar con el parénquima renal, en la esteatosis el parénquima hepático es más ecogénico respecto al riñón.
- Atenuación de la transmisión del haz de ultrasonidos a los segmentos hepáticos posteriores.
- Borrosidad de las paredes del árbol vascular intrahepático y de la vesícula biliar.

La ecografía es una técnica sensible, alcanzando una sensibilidad de hasta el 94% para detectar esteatosis, sin embargo, en casos de esteatosis leve (< 20% de los hepatocitos) disminuye. Es posible realizar ecografía con contraste en caso de diagnóstico diferencial de lesiones focales vs. depósito focal de grasa.

4.2.2. Tomografía computerizada (TC)

La TC sin necesidad de utilizar contraste posee buen rendimiento para diagnosticar esteatosis > 30% (sensibilidad 73-100% y especificidad 95-100%) similar a la ecografía, pero es más costosa y con el inconveniente de la radiación.

4.2.3. RM: imagen y espectroscopia

El estudio de imagen con RM no requiere la utilización de contraste, además de no radiar al paciente, y tiene la capacidad de diagnosticar esteatosis > 15% con alta fiabilidad, si bien, es más cara y menos accesible que la ecografía y la TC.

La espectroscopia por RM del hidrógeno es una técnica que permite cuantificar la grasa del hígado gracias al análisis de espectros que miden la proporción de agua y grasa del tejido hepático. Es la prueba no invasiva más precisa para cuantificar la esteatosis hepática y puede ser una alternativa a la biopsia hepática, ya que se correlaciona estrechamente con el grado histológico de esteatosis y es capaz de identificar niveles de contenido hepático en TG > 5 %; también



es fiable para detectar los cambios ($\geq 0,5\%$) tras una pérdida ponderal. Como inconvenientes es necesario instalar un software específico para la lectura de las imágenes, es costosa y está poco disponible (140).

4.2.4. DeMILI® (*Detection of Metabolic-Induced Liver Injury*)

Se basa en el análisis de imágenes de RM con un software diagnóstico mediante la combinación de un análisis óptico con la arquitectura de redes neuronales artificiales, lo que permite cuantificar el grado y la distribución tanto de esteatohepatitis como de fibrosis en pacientes con HGNA según resultados preliminares (141) (142).

4.2.5. Métodos elastográficos

Los métodos elastográficos nos aportan información sobre el grado de rigidez de los tejidos, lo que nos permite cuantificar el grado de fibrosis a nivel hepático.

a) Elastografía de transición (FibroScan®)

Es una técnica que utiliza la tecnología de los ultrasonidos para cuantificar la consistencia del tejido hepático, calculando la velocidad de propagación de una onda mecánica expresada en kilo Pascales (kPa). Cuanto mayor es la velocidad de propagación mayor es la rigidez hepática, aportando una estimación del estadio de fibrosis. El FibroScan ha sido validado para su uso en el HGNA.

La elastografía es una prueba útil para descartar fibrosis (alto valor predictivo negativo) ya que posee una alta precisión diagnóstica para estadios avanzados (F3- F4), así como para monitorizar su progresión. Se ha evidenciado que el principal factor relacionado a fallos en la técnica es la obesidad. Wong y cols. identificaron hasta un 25% de fallos en pacientes



con $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$. La implementación de sondas XL mejora los resultados en pacientes obesos (143) (144).

b) ARFI (*Acoustic radiation force impulse imaging*)

Es una técnica basada en la sonoelastografía que permite acoplarse en un equipo de ecografía convencional. Según resultados preliminares es eficaz para cuantificar la fibrosis hepática, aunque sus puntos de corte no están aún validados (145).

c) CAP (*Controlled attenuation parameter*)

Es un nuevo parámetro que se basa en la medición del componente viscoelástico hepático, se encuentra disponible en los aparatos de FibroScan® de última generación, permitiendo valorar eficientemente la esteatosis.

Los resultados publicados revelan que el CAP es competente para identificar esteatosis en estadios leves ($> 11\%$), pudiendo diferenciar esteatosis leve y grave. Un $CAP > 248 \text{ db/m}$ es significativo de esteatosis hepática (146).

4.3. Diagnóstico histológico

La biopsia hepática es el *gold standard* para el diagnóstico de HGNA, y en particular para la identificación EHNA y los diferentes estadios de fibrosis. La biopsia nos permite catalogar a los pacientes en función de la intensidad de la esteatosis, grado de inflamación y estadio de fibrosis, así como establecer el pronóstico hacia cirrosis (147).

La esteatosis hepática se define histopatológicamente como la presencia de $> 5\%$ de hepatocitos esteatósicos; los criterios mínimos para el diagnóstico de esteatohepatitis, aparte de la presencia de esteatosis, se añade daño del hepatocito (degeneración balonzante, apoptosis o necrosis) o inflamación lobular. Es frecuente identificar grados de fibrosis leves en presencia de esteatohepatitis, aunque no es un requisito indispensable para el diagnóstico anatomopatológico.



La biopsia hepática no deja de tener sus limitaciones, tales como el error de muestreo, tamaño del espécimen, la morbilidad inherente a toda técnica invasiva, y la variabilidad dependiente del observador. Para disminuir la variabilidad interobservador se ha propuesto el uso de protocolos de diagnóstico aceptados a nivel internacional, como el “*NAFLD activity score*” (NAS score) de Kleiner (148), que comprende las tres características patológicas de la EHNA: esteatosis, inflamación lobular y la balonización (degeneración hidrópica). Otro de los protocolos aceptados es el SAF (*steatosis, activity and fibrosis*) score (149).

ITEM	PUNTUACIÓN	EXTENSIÓN
ESTEATOSIS	0	< 5%
	1	5 – 33%
	2	> 33 – 66%
	3	> 66%
BALONIZACIÓN	0	ninguna
	1	Pocas células
	2	Muchas células, balonización prominente
INFLAMACIÓN LOBULAR	0	Ningún foco
	1	< 2 focos/ 200x
	2	2 – 4 focos/200x
	3	> 4 focos/200x

Tabla 1.3. NAS- score

Como se ha mencionado anteriormente, la fibrosis no es considerada requisito para el diagnóstico de HGNA por la mayoría de patólogos. Se ha demostrado en diferentes estudios que la fibrosis supone un factor independiente para la mortalidad de causa hepática, además de ser el mejor predictor de progresión de la enfermedad, de fallo hepático y de CHC; por todo ello, la presencia de fibrosis es de especial importancia que se describa cuidadosamente en las muestras



histológicas. También se cuenta con una gradación en 4 estadios de fibrosis: 1. Pericelular, 2. Portal, 3. Presencia de puentes, 4. Cirrosis. (150) (151).

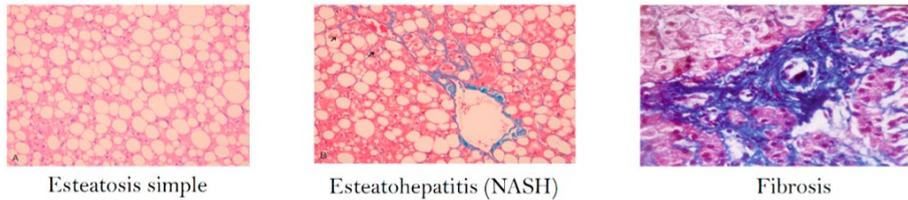


Figura 1.11. Imagen histológica de los diferentes estadios de HGNA.

4.4. Combinación de marcadores séricos y clínicos para la predicción de HGNA: Índices no invasivos

Predicción de esteatosis hepática

Se han desarrollado diferentes paneles de biomarcadores que están preparados para determinar la presencia de esteatosis con alta especificidad, si bien, no son capaces de determinar la gravedad de ésta. Destacan: *Hepatic Steatosis Index* (HSI) y el *Fatty Liver Index* (FLI) (152) (153).

	Variables	Fórmula
<i>Hepatic Steatosis Index</i> (HSI)	AST ALT IMC Sexo DM2	$8 \times (\text{ALT}/\text{AST ratio}) + \text{IMC (+2, si mujer; +2, si DM)}$
<i>Fatty Liver Index</i> (FLI)	Triglicéridos IMC GGT Cintura (cm)	$\text{FLI} = \frac{(e^{0,953 \cdot \log_e(\text{triglicéridos})} + 0,139 \cdot \text{IMC} + 0,718 \cdot \log_e(\text{GGT}) - 0,053 \cdot \text{circunferencia de cintura} - 15,745)}{(1 + e^{0,953 \cdot \log_e(\text{triglicéridos})} + 0,139 \cdot \text{IMC} + 0,718 \cdot \log_e(\text{GGT}) + 0,053 \cdot \text{circunferencia de cintura} - 15,745)} \times 100$

Figura 1.12. Métodos no invasivos de diagnóstico de esteatosis en el HGNA (8)



Estos índices pueden ser utilizados para el cribado de HGNA en poblaciones de riesgo, tales como pacientes obesos o con DM-2, aunque siempre de una manera individualizada.

Predicción de esteatohepatitis

A día de hoy, no se ha identificado ningún biomarcador capaz de determinar la presencia de EHNA, por lo que la biopsia hepática sigue siendo necesaria para su confirmación histológica.

Existen marcadores bioquímicos de apoptosis, que juega un rol fundamental en la patogenia de la EHNA, como es la citoqueratina-18 (CK-18). Los pacientes con EHNA presentan de manera significativa mayores niveles séricos de CK-18 en comparación con pacientes con esteatosis; un metaanálisis del año 2011 ha determinado una sensibilidad del 78% y una especificidad del 86% para los niveles de CK-18, con un AUROC de 0,82 para determinar EHNA. Sin embargo, no se encuentra comercializado y la Asociación Americana para el estudio del hígado no recomienda su uso generalizado (154).

Por todo ello, el estudio anatomopatológico sigue siendo necesario para valorar la presencia de EHNA y su gravedad.

Predicción de fibrosis hepática

Actualmente existen dos test validados para estadificar el grado de fibrosis en el HGNA, son paneles serológicos basados en marcadores bioquímicos, y son: *NAFLD Fibrosis Score (NFS)* y *el FIB-4*. Determinar el grado de fibrosis es primordial, ya que los pacientes con fibrosis avanzada tienen mayor riesgo de progresión y complicaciones. Estos test son capaces de predecir mortalidad global, mortalidad de causa hepática y mortalidad cardiovascular.



Estos métodos no invasivos podrían usarse en la práctica clínica como herramientas de primera línea para evaluar a los pacientes con HGNA y ayudar a determinar aquellos que puedan requerir una biopsia hepática.

El NFS es el panel más ampliamente estudiado, comprende seis variables: edad, IMC, plaquetas, glucemia, albúmina, relación AST/ALT) y es fácilmente obtenible por medio de la fórmula publicada en la web (<http://nafldscore.com>). Presenta una sensibilidad del 85% y especificidad del 90% (14).

Estos test para el diagnóstico no invasivo de fibrosis presentan un alto valor predictivo negativo por lo que son útiles para descartar enfermedad hepática avanzada, sin embargo, son menos rentables en fases iniciales de fibrosis (155) (156).



5. Tratamiento del HGNA

5.1. Efectos de la pérdida de peso

La pérdida de peso conlleva efectos beneficiosos a distintos niveles, mejora la sensibilidad a la insulina, el perfil lipídico, además de disminuir el estrés oxidativo (157). La Guía de la AASLD recoge que la disminución de peso comporta una mejora en la esteatosis hepática, en especial cuando se acompaña de una dieta hipocalórica o actividad física (grado de recomendación 1 A), por lo que debe indicarse como una de las primeras opciones terapéuticas. Además de mejorar la esteatosis, la pérdida de peso también mejora la inflamación e incluso la fibrosis hepática, y consecuentemente la evolución de la enfermedad (13).

La intensidad de disminución de peso se relaciona de manera directa y proporcionada con la mejoría del daño histológico, la pérdida de un 3-5% del peso mejora la esteatosis, para mejorar la EHNA es preciso reducir un 7-10% del peso, y si el objetivo es mejorar la presencia de fibrosis se ha de bajar al menos un 10%. Un estudio en el que se realizó un seguimiento de 7 años a 213 pacientes, 147 sin HGNA al inicio y 66 con HGNA diagnosticada desde el inicio, evidenciaron que la incidencia o remisión de HGNA se relacionó con la ganancia o pérdida de peso respectivamente (158); También existen otros estudios de pacientes con EHGNA que cuentan con biopsia hepática donde evidencian que una pérdida de 7-10% de peso mejora la inflamación, la balonización y la EHNA, e incluso la fibrosis disminuyó en al menos la mitad de los pacientes que perdieron al menos un 10% de su peso (159) (160) (161) (162).



5.2. Tratamiento dietético

La dieta es el pilar fundamental en el tratamiento de pacientes con HGNA, se recomienda una dieta hipocalórica, y todavía más importante la **composición** ha de ser baja en carbohidratos (50- 60%) y en grasas (20-25%) con predominio de grasas poli- o monoinsaturadas. Varios estudios han asociado dicha proporción en la composición de hidratos de carbono y lípidos con mejoría en el control glucémico y lipídico. La dieta mediterránea, rica en aceite de oliva, ácidos grasos monoinsaturados y fibra, cumple con las proporciones y composición propuesta para el control de la HGNA. En varios estudios se ha demostrado que la dieta mediterránea mejora la sensibilidad a la insulina y consigue una reducción de la esteatosis hepática, independientemente de la pérdida de peso asociada, por todo ello, la dieta mediterránea es la dieta recomendada para el paciente con HGNA (163) (164) (165).

Hay evidencia acerca del beneficio de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA, *del inglés polyunsaturated fatty acids*), especialmente omega 3 (n3 PUFA), ácidos grasos monoinsaturados (MUFA, *del inglés monounsaturated fatty acids*), como el aceite de oliva, pescado azul, frutos secos, verduras, junto con la disminución de la ingesta de colesterol en la mejora de la esteatosis hepática (166) (160). Aunque la dosis adecuada no se ha esclarecido, los suplementos con omega 3 mejoran el HGNA. Parker y col. en un metaanálisis evidenciaron que los suplementos con omega 3 redujeron la cantidad de grasa en el hígado medido por ecografía, RM y biopsia además de mejorar los niveles séricos de ALT y AST (167). En diferentes estudios se ha dilucidado los mecanismos por los que los ácidos grasos monoinsaturados son útiles para el HGNA, induciendo cambios epigenéticos tales como la regulación de genes que favorecen la sensibilidad a la insulina y produciendo un efecto inhibitorio sobre el NF-kappaB, reduciendo así el estrés oxidativo (168) (169) (170).



Respecto a la fructosa, hidrato de carbono de absorción rápida presente en una amplia variedad de alimentos y bebidas procesadas, se debe desaconsejar su consumo, ya que en varios estudios se ha relacionado con un aumento de la grasa visceral, RI e hipertrigliceridemia (171).

Se sabe que el café cuenta con propiedades antifibróticas en pacientes con HGNA, por lo que se debe aconsejar su consumo habitual, aunque tampoco aún está establecida su dosis recomendada (172).

En cuanto al consumo de alcohol, se debe recomendar el abandono de bebidas alcohólicas. En caso de pacientes con HGNA sin EHNA ni fibrosis se puede recomendar un consumo moderado, en especial de vino tinto (<21 UBE semana en varones, <14 UBE semana en mujeres).

5.3. Efectos del ejercicio físico

Se ha demostrado en múltiples estudios, que el ejercicio físico independientemente de si se asocia a pérdida de peso, es beneficioso para los pacientes con HGNA, ya que mejora la sensibilidad a la insulina y mejora el perfil histológico (173) (174) (175) . En un metaanálisis basado en 28 ensayos clínicos, el ejercicio físico se asoció con una reducción significativa de los niveles séricos de enzimas hepáticas y de la esteatosis hepática identificada tanto por métodos no invasivos como histológicos (176). En un estudio llevado a cabo **por Sung y col.** de 169347 pacientes con un seguimiento con ecografía durante 5 años, evidenciaron que 42536 que presentaban HGNA, ésta se resolvió en un 34% con al menos 5 días de ejercicio físico semanales (177).

Se debe recomendar, al igual que aboga la Asociación Americana del Corazón (*American Heart Association*) una actividad física aeróbica moderada-intensa de al menos 150 minutos a la semana. Se ha demostrado que el ejercicio de alta intensidad, pero de menor duración es igual de efectivo que aquel de menor



intensidad y mayor duración, por lo que es preferible una combinación de ejercicio aeróbico y anaeróbico (178) (179).

Los pacientes con HGNA que han comenzado un tratamiento inicial basado en dieta y ejercicio se debe reevaluar mediante métodos no invasivos la respuesta y así valorar la necesidad de otras intervenciones, tales como asociar un tratamiento farmacológico (180).

5.4. Tratamiento farmacológico

5.4.1. Fármacos para frenar progresión: EHNA y fibrosis

Dado que el daño histológico en forma de lesiones inflamatorias, balonización y fibrosis son los factores anatomopatológicos más determinantes de progresión de la enfermedad como empeoramiento del riesgo cardiovascular, el objetivo del tratamiento farmacológico debe ser la resolución de la EHNA y la regresión de la fibrosis. Por todo ello, el tratamiento farmacológico no está indicado en pacientes con esteatosis simple, sino en aquellos que presenten esteatohepatitis, fibrosis significativa o bien en caso de ausencia de respuesta a dieta y actividad física en 1 año. Actualmente no hay ningún tratamiento con indicación aprobada para el HGNA.

La vitamina E es un antioxidante ampliamente estudiado como tratamiento en el HGNA, a dosis de 800 mg/ día a lo largo de 96 semanas ha demostrado mejorar los niveles de transaminasas, la esteatosis y la inflamación portal, sin embargo, no se obtuvo beneficio en cuanto a la fibrosis hepática (181). Hay estudios sobre la seguridad de un tratamiento prolongado con vitamina E que han evidenciado un aumento de la mortalidad global, así como un aumento del riesgo en ictus hemorrágicos y cáncer de próstata. Por lo que las guías internacionales recomiendan el tratamiento con vitamina E en pacientes con EHNA



confirmada con biopsias, sin DM2 ni cirrosis hepática en periodos cortos de tiempo y con un control estrecho para evitar la aparición de efectos adversos (182) (183) (146).

En cuanto a la pioglitazona, un PPAR-g agonista que regulan la homeostasis de lípidos y glucosa, la inflamación y la diferenciación del adipocito , existen ensayos donde se ha utilizado como tratamiento para pacientes no DM2 con EHNA, evidenciando la disminución de los niveles de transaminasas, mejora de la esteatosis, balonización y actividad necroinflamaoria, pero sin mejoría para la fibrosis (181) (184). Sin embargo, en los estudios realizados con este fármaco se relacionó con un aumento significativo de peso en los pacientes de hasta 3-5 kg, además se asoció con riesgo de fallo cardiaco, fracturas óseas y cáncer de vejiga tras 2 años de tratamiento, por lo que la pioglitazona podría usarse en pacientes con EHNA confirmada por biopsia, pero en cortos periodos de tiempo (185) (186) (187).

La pentoxifilina es un fármaco que posee propiedades anti-TNF, disminuye el estrés oxidativo y la RI (188) y se ha ensayado como tratamiento en pacientes con HGNA, si bien los datos continúan siendo no concluyentes respecto a su eficacia, por lo que se necesitan más estudios con mayor número de pacientes que ayuden a esclarecer su ventaja.

En cuanto a los probióticos existen varios estudios y metaanálisis donde se demuestra que pueden reducir los niveles séricos de enzimas hepáticas, de colesterol total, TNF- α y mejorar la RI en pacientes con HGNA (189) (190) (**Figura 1.13**).

No existe evidencia suficiente para recomendar tipo de cepa y dosis por lo que son necesarios estudios adicionales.



Table 1 Methodological characteristics of the included studies in this meta-analysis							
Ref.	Sample size	Randomization	Blinding	Diagnostic method	Intervention	Duration	Follow-up
Aller <i>et al.</i> ^[22]	28 (14/14)	Table of numbers	Double-blind	Histological	Lactobacillus bulgaricus and Streptococcus thermophilus vs placebo	3 mo	Yes
Vajro <i>et al.</i> ^[23]	20 (10/10)	Yes	Double-blind	Radiological	Lactobacillus GG vs placebo	8 wk	Yes
Malaguarnera <i>et al.</i> ^[24]	66 (34/32)	Computer generated	Double-blind	Histological	Bifidobacterium longum + Fos vs placebo	24 wk	Yes
Wong <i>et al.</i> ^[25]	20 (10/10)	Computer generated	Double-blind	Histological	Lepicol probiotic and prebiotic formula vs nothing	6 mo	Yes

Figura 1.13. Características metodológicas de los estudios incluidos en el metaanálisis llevado a cabo por Yan-Yan Ma y col. (189)

Respecto al tratamiento con sales biliares, aunque el uso de ácido ursodeoxicólico es sabido su efecto hepatoprotector y antioxidante, no debe recomendarse como tratamiento del HGNA ya que los estudios no han llegado a mostrar resultados consistentes, sin demostrar eficacia en la mejora del perfil histológico de estos pacientes (13). En cuanto al ácido obeticólico, es un agonista del receptor X farnesoide (FXR), que posee diferentes efectos beneficiosos en el metabolismo de los ácidos biliares, energético, de la glucosa y lípidos, así como acción antiinflamatoria y antifibrótica en modelos animales (191). Neuschwander-Tetri y col. han elaborado un ensayo clínico (estudio FLINT) en el que incluyeron un total de 283 pacientes, aleatorizando 141 a tratamiento con ácido obeticólico y 142 a placebo, en el que demuestran que el ácido obeticólico a dosis de 25 mg /día durante 72 semanas disminuye la fibrosis en un 35% de los pacientes con EHNA, además de mejorar el resto de parámetros histológicos. Como efecto adverso evidenciaron un aumento del prurito, 33 (23%) de 141 pacientes tratados con ácido obeticólico desarrollaron prurito en comparación con nueve (6%) de 142 en el grupo placebo (192).

En la actualidad existen diferentes estudios con modelos animales y ensayos en fase II donde se estudian los efectos de diferentes moléculas prometedoras con efectos anti-fibróticos, tales como Simtuzumab y GM-MD-02 (193).



5.4.2. Fármacos para controlar factores de riesgo y comorbilidades

1. Mejorar la sensibilidad a la insulina y control DM2

La metformina se recomienda en pacientes obesos y DM2, ya que no solo mejora el perfil metabólico, sino que facilita la pérdida de peso al inicio del tratamiento, sin embargo, en diversos estudios no se ha demostrado beneficio en el perfil histopatológico de pacientes con HGNA, por lo que en el momento actual no se recomienda como tratamiento exclusivo del HGNA (194) (195).

Elafibranor es un agonista dual del PPAR α/δ que ha demostrado poseer efectos metabólicos, antiinflamatorios y antifibróticos; existe un estudio en fase 2b que compara 80 mg/día, 120 mg/día de elafibranor y placebo, en resultados preliminares las dosis 120 mg/día durante 1 año resolvió la EHNA sin empeoramiento de fibrosis (196).

Liraglutida, agonista GLP-1, es un fármaco ampliamente utilizado en el tratamiento de la DM2, especialmente en pacientes con sobrepeso ya que facilita la pérdida de peso. En un estudio en pacientes con HGNA, se ha asociado la liraglutida con una respuesta específica en la carga aterosclerótica medida en función del grosor de la íntima-media carotídea, observando una disminución del grosor en pacientes con HGNA, sin embargo, esta respuesta no se evidenció en pacientes sin HGNA (197).

Un ensayo en fase 4, ha demostrado que la empagliflozina, un inhibidor del cotransportador 2 de glucosa y sodio (SGLT2), a dosis de 25 mg/día durante 24 semanas en pacientes DM2 disminuye el contenido graso hepático, el ácido úrico y aumenta los niveles de adiponectina, por lo que sugieren que sea utilizada en fases tempranas de la enfermedad (198).



2. Mejora del perfil lipídico: dislipemia y estatinas

Las estatinas son fármacos muy eficaces para el control de los niveles de colesterol y con buen perfil de seguridad, por lo que se recomiendan en pacientes con HGNA y dislipemia, ya que se ha evidenciado en diferentes estudios su efecto beneficioso reduciendo el riesgo cardiovascular en especial en estos pacientes, incluyendo una disminución del riesgo de infarto agudo de miocardio, eventos cerebrovasculares y la mortalidad de causa cardiovascular (199).

3. Control HTA

El manejo de la HTA debe realizarse igual que en la población general. Los antagonistas de los receptores de angiotensina II por su efecto antiinflamatorio y antifibrótico son los fármacos de elección en pacientes con HGNA e HTA si no existe contraindicación.

5.5. Otros tratamientos

5.5.1. Cirugía bariátrica

Los pacientes con obesidad mórbida, definida como un IMC ≥ 40 kg/ m², o bien aquellos pacientes con un IMC ≥ 35 kg/ m² y que asocien comorbilidades cardiovasculares, son candidatos a cirugía bariátrica, ya que posee efectos beneficiosos en la pérdida de peso, con buenos resultados a largo plazo, mejorando el control metabólico con remisión de DM2 y disminuye la mortalidad de causa cardiovascular, así como la relacionada con cáncer. Tanto la eficacia como la seguridad va a depender de la técnica quirúrgica realizada. Actualmente las técnicas más frecuentemente utilizadas son el bypass gástrico, gastrectomía vertical y la colocación de banda gástrica, siendo más efectivas las dos primeras, pero con más riesgo de complicaciones (200) (201) (202).



En cuanto al efecto de la cirugía bariátrica y pacientes con HGNA, hay numerosos estudios que han demostrado la mejoría histológica del daño hepático, disminuyendo la esteatosis y la inflamación, resolviendo la EHNA y logrando la regresión de fibrosis. En caso de cirrosis hepática, se debe evaluar la gravedad mediante el estadio Child-Pugh y/o MELD y en base al riesgo valorar o no la cirugía. No debe indicarse cirugía bariátrica en pacientes con cirrosis descompensada ya que la mortalidad aumenta por 21 en este caso (203) (204) (205).

5.5.2. Endoscopia bariátrica y metabólica

Las técnicas endoscópicas bariátricas y metabólicas hay que valorarlas en pacientes con HGNA en los que falla el tratamiento dietético y en los que la cirugía está contraindicada o bien, el paciente la rechaza. El grupo de pacientes que optarían a dicho tratamiento serían aquellos con obesidad grado I-II (IMC 30-40 kg/m²) o bien mayor IMC con contraindicación para la cirugía. (206). La principal ventaja de la endoscopia bariátrica es su perfil de seguridad comparado con la técnica quirúrgica, además de no contar con el inconveniente técnico de la obesidad para la propia cirugía, siendo más sencillo llevarlo a cabo.

Existen varias técnicas endoscópicas:

- Balón intragástrico: el más empleado es el denominado Orbera, es un balón de silicona altamente resistente al ácido gástrico, manteniéndose en la cavidad gástrica durante 6 meses. Numerosos estudios demuestran que es efectivo para la pérdida ponderal, así como la mejora de las patologías relacionadas con la obesidad. La mayor pérdida de peso ocurre durante los primeros tres meses. Existen dos revisiones sistemáticas de más de 3.000 pacientes, donde se observó una bajada de 5-9 kg/m² del IMC a los 6 meses (207).



- Sistema de suturas:
 - Método POSE® (*Primary Obesity Surgery Endolumenal*): sistema de suturas transmurales a nivel de fundus y cuerpo gástrico distal de forma independientes, que consiguen disminuir el volumen de la cavidad gástrica, además de producir un enlentecimiento del vaciado. Algunos estudios han demostrado que la técnica consigue modificaciones hormonales, como la disminución de niveles de ghrelina (hormona orexígena) y aumento de niveles de péptido YY (hormona anorexígena) que disminuyen el apetito (208).
 - Gastroplastia vertical endoscópica (endosleeve) con sistema de sutura endoscópica OverStitch® (Apollo Endosurgery): similar al método POSE, consiste en realizar varias suturas transmurales continuas a lo largo de la curvatura mayor gástrica disminuyendo el volumen de la cavidad. Existen estudios donde se ha demostrado que mejora los niveles de glucemia en DM2, las cifras de tensión arterial y otras comorbilidades relacionadas con la obesidad (209).
- Técnicas malabsortivas como Endobarrier®, ValenTx, Duodenal mucosa resurfacing...

Por el momento son necesarios más estudios de calidad, que comparen las diferentes técnicas endoscópicas entre ellas y con la propia cirugía, además de esclarecer el papel y algoritmo en el tratamiento de la obesidad primaria, existiendo numerosos estudios con resultado prometedores (210).

5.5.3. Trasplante hepático

Los pacientes con HGNA en estadio de cirrosis se debe indicar el trasplante en base a los mismos criterios que pacientes con cirrosis hepática de otras etiologías.



La prevalencia del HGNA ha aumentado dramáticamente en paralelo con el aumento de la obesidad y la diabetes a nivel mundial. Su forma progresiva, la EHNA, es una indicación creciente para el trasplante de hígado en Europa, con buenos resultados generales en comparación con trasplantes por otra etiología. En Estado Unidos cada vez es más común la indicación de trasplante por EHNA, solo superada por la etiología alcohólica (211). Un reciente estudio basado en el registro europeo de trasplante hepático desde el 2002 al 2016, con un total de 68,950 pacientes incluidos ha evidenciado un aumento anual en la proporción de trasplantes en Europa por indicación de EHNA, de un 1,2% en el 2002, a un 8,4% en 2016, al igual ha aumentado la indicación en pacientes con EHNA y CHC concomitante (212). Las tendencias están en consonancia con las observadas en Estados Unidos, donde la EHNA representa más del 18% de los trasplantes. En este estudio tampoco hallaron diferencias significativas en las muertes post-trasplante debido a infección y eventos cardiovasculares / cerebrovasculares entre los receptores EHNA y no EHNA, sin HCC (213) (214) (215) (216).





2. JUSTIFICACIÓN



2. JUSTIFICACIÓN

El HGNA es la causa más común de patología hepática crónica en el mundo desarrollado y la progresión del hígado graso no alcohólico a esteatohepatitis y, por último, la cirrosis representa un problema emergente de salud pública. Como se ha descrito previamente, prevalencia de HGNA es creciente en el mundo occidental y varía entre un 20% -30% en la población adulta en general, y en particular en los países del área Mediterránea y entre un 15-20% en los países asiáticos.

El incremento de la prevalencia va asociado al incremento paralelo de la obesidad y la DM-2. Si bien la obesidad es un factor de riesgo reconocido para el desarrollo de HGNA, también se puede observar en pacientes con sobrepeso (IMC entre 25 y 30 kg/m²), e incluso con normopeso (IMC entre 18 y 25 Kg/m²).

Desconocemos las características de la HGNA en pacientes no obesos, así como los factores epidemiológicos, genéticos o de estilo de vida que pueden influir.

En este marco surge nuestro estudio con el fin de analizar los factores epidemiológicos, analíticos, genéticos, ambientales en pacientes con HGNA segregados en sobrepeso y obesidad.



3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPOTESIS

Los pacientes con HGNA y sobrepeso presentan características clínicas, antropométricas, histológicas, genéticas y dietéticas diferentes que los pacientes con HGNA y obesidad.

OBJETIVOS

El objetivo de este estudio es analizar las características clínicas, antropométricas, bioquímicas, histológicas, los hábitos dietéticos, adipocitoquinas y el efecto de dos polimorfismos de un único nucleótido (SNP): la variante genética I148M del Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) y el G308G de TNF- α en una muestra de pacientes con HGNA con sobrepeso y obesidad, comparando estos factores en ambos subgrupos de población.



4. MATERIAL Y MÉTODOS



4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Diseño del estudio

Se trata de un estudio observacional, de corte transversal y descriptivo sobre una base de datos prospectiva de 203 pacientes diagnosticados de HGNA mediante biopsia hepática.

4.2. Ámbito de realización

El grupo de pacientes incluidos en el estudio proceden del Hospital Clínico Universitario de Valladolid (HCUV), desde las consultas de Aparato Digestivo para estudio de hepatopatía crónica por sospecha de HGNA, derivados a su vez desde Atención Primaria del Área de Salud Este de Valladolid y de interconsultas interhospitalarias de otros servicios. A todos los pacientes se les realizó biopsia hepática para confirmar el diagnóstico de HGNA.

4.3. Población de estudio

Se estudiaron pacientes de entre 18 y 75 años procedentes de la Consulta de A. Digestivo del HCUV, derivados a la misma por presentar elevación de transaminasas no filiada tras estudio completo de hepatopatía (ver criterios de exclusión) y/o con un diagnóstico ecográfico de esteatosis hepática, que cumplieran los criterios de inclusión y ninguno de exclusión.



4.4. Criterios de inclusión y exclusión

- **Criterios de inclusión:**

Pacientes diagnosticados de HGNA mediante biopsia hepática, de entre 18 y 75 años de edad (muestreo no probabilístico consecutivo), que asistieron a la Consulta del Servicio de Digestivo del HCUV.

- **Criterios de exclusión:**

Se descartaron las siguientes condiciones:

- Consumo significativo de alcohol definido como (>30 g alcohol/día en hombres y >20 g alcohol/día en mujeres).
- Positividad al antígeno de superficie del virus B.
- Positividad al anticuerpo de la hepatitis C.
- Infección por Citomegalovirus.
- Infección por Virus de Epstein Barr.
- Saturación elevada de transferrina (>45% en varones y >40% en mujeres). Ferritina > 1000 ng/ml o diagnóstico de hemocromatosis hederitaria.
- Diabetes Mellitus tipo 1.
- Positividad de autoanticuerpos no-orgnaoespecíficos.
- Déficit de Alfa1 Antitripsina.
- Déficit de ceruloplasmina.



4.5. Variables estudiadas

4.5.1. Variables epidemiológicas

Se recogieron los siguientes datos: edad, sexo, consumo de tabaco o alcohol.

4.5.2. Variables clínicas

Se interrogó a los pacientes sobre antecedentes médicos y tratamientos crónicos, así como su estilo de vida. Se llevó a cabo una exploración física así como toma de tensión arterial sistólica (TAS) y diastólica (TAD).

4.5.3. Variables antropométricas

TIPO DE VARIABLE	UNIDAD	FORMA DE MEDICIÓN
Altura	m	Estadímetro
Peso	kg	Báscula manual
IMC	Kg / m ²	(Peso/altura ²)
Perímetro de cintura	cm	Cinta métrica
Perímetro de cadera	cm	Cinta métrica
ICC	-	Perímetro de cintura/Perímetro de cadera
Pliegue tricípital	mm	Cinta métrica

Tabla 4.1. Variables antropométricas realizadas. *m: metro, Kg: kilogramo, cm: centímetro, IMC: Índice de masa corporal, ICC: índice cintura-cadera, mm: milímetro, mm: milímetros.*

El **peso** se midió sin ropa con una precisión de $\pm 0,5$ kg, haciendo uso de báscula manual hasta el 0,1 kg más cercano. La **altura** se midió con el paciente en posición erguida hasta el centímetro más cercano, usando un estadímetro. El **índice de masa corporal (IMC)** se halló mediante la fórmula:



$$\text{IMC} = \frac{\text{Peso (kg)}}{\text{Talla}^2 \text{ (m}^2\text{)}}$$

El **perímetro de la cintura** se estableció con el paciente en bipedestación, sin ropa y relajado. Se limitó el borde superior de las crestas ilíacas y, por encima de ese punto, se rodeó la cintura con una cinta métrica. La determinación se realizó al finalizar una espiración. Se midió en centímetros. El **perímetro de la cadera** se determinó de igual forma, pero seleccionando como puntos anatómicos ambos trocánteres. El **índice cintura- cadera** (ICC) se determinó con la siguiente fórmula:

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

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

IMPEDANCIOMETRÍA MULTIFRECUENCIA TETRAPOLAR:

A todos los pacientes se les realizó la impedanciometría (figura 1) con las siguientes instrucciones:

- Deben hacerse las mediciones siempre a la misma hora y en condiciones ambientales lo más similares posibles.
- Los pacientes deben estar 4 horas en ayuno (como mínimo).
- La vejiga tiene que estar lo más vacía posible.
- No hacer ejercicio intenso en las 12 horas previas a la medición en la mañana.
- No tomar diuréticos y si los toman por preinscripción médica se anota.



- Deben estar de pie 5 minutos antes de la medición para equilibrar los líquidos corporales.
- 12 horas antes de la medición evitar tomar café, té, coca-cola y alcohol ya que son alimentos diuréticos.

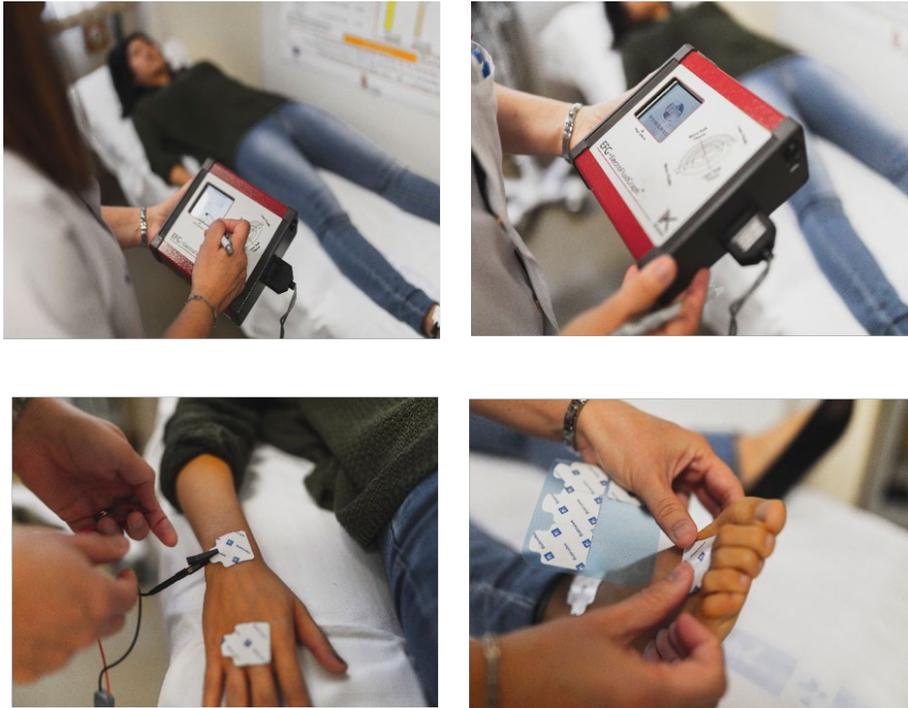


Figura 4.1. Realización de bioimpedanciometría.

Con el análisis de impedancia bioeléctrica (BIA) (figuras 1 y 2) se estima la resistencia, la reactancia, el ángulo de fase, el agua corporal total (ACT), agua intracelular (AIC), agua extracelular (AEC), la masa magra (MM) o masa libre de grasa (MLG) y la masa grasa (MG). Se determinó mediante un equipo tetrapolar monofrecuencia en decúbito. Se utilizó una corriente alterna de 0,8mA a 50kHz producida por un generador de señales calibrado (BIA 101[®], Akern, Italy) y se aplicó a la piel mediante electrodos adhesivos colocados sobre el dorso de mano



y pie derecho. Se valoraron directamente los parámetros eléctricos de resistencia (R) y reactancia (Xc) y se estimaron el ángulo de fase alfa y la impedancia (Z). Se estimó la composición corporal y se valoró la impedancia vectorial mediante el software Bodygram Plus[®].

El ángulo de fase es el formado entre los dos vectores de R y Z. Se calcula directamente a través de la siguiente fórmula:

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



Figura 4.2. Interpretación de bioimpedanciometría.



Esta técnica se fundamenta en que la aplicación de una corriente eléctrica alterna constante y de baja intensidad a través de las estructuras biológicas produce una oposición o impedancia (Z) al flujo de esta corriente que es dependiente de la frecuencia. La impedancia es la combinación de la reactancia (resistencia de las membranas celulares al paso de la corriente), y la resistencia (resistencia de los fluidos intra y extracelulares).

El agua corporal, debido a la presencia de electrolitos disueltos, transmite la corriente eléctrica mientras que la grasa y el tejido óseo son relativamente no conductores. De esta forma, la impedancia sería una medida del ACT. Asumiendo que el cuerpo es un solo cilindro de sección uniforme, la relación entre el ACT y la impedancia sería: $ACT = \rho H^2 / Z$ (ρ =coeficiente de resistividad, H =altura y Z =impedancia).

A frecuencias bajas (0 kHz) la corriente no penetra en las membranas celulares y sólo circularía por los fluidos extracelulares (AEC), con lo que la Z estará constituida exclusivamente por la resistencia del AEC; mientras que a frecuencias muy elevadas (o teóricamente a valor infinito), la corriente atravesaría también el interior celular, y el valor de la Z representaría la combinación de la resistencia de ambos compartimentos: AEC y AIC. A frecuencias intermedias de 50 kHz, la más utilizada en los estudios y el estándar de BIA monofrecuencia, existe cierta penetración intracelular de la corriente, con lo que la Z es una medida de la R sobre todo del AEC y sólo parte del AIC.

La BIA asume un modelo de composición corporal en el que el cuerpo humano está constituido por dos compartimentos principales, MG y MLG. A partir del valor estimado de ACT se obtiene la MLG asumiendo que, en el organismo sano y sin alteraciones de los compartimentos hídricos, el ACT supone una fracción constante del 73,2% de la MLG, por lo que $MLG = ACT / 0,732$ y $MG = \text{Peso corporal} - MLG$ (217).



Teniendo en cuenta estos conceptos, se han desarrollado distintas ecuaciones predictivas basadas en técnicas de referencia.

Los parámetros analizados en la BIA se recogen en la siguiente tabla 4.2:

Variable	Unidad	Forma de medición
Agua corporal total/porcentaje	L/%	
Masa magra o libre de grasa/porcentaje	Kg/%	BIA 101, Akern, Italy
Masa grasa/porcentaje	Kg/%	
Gasto energético basal	kcal/día	

Tabla 4.2. Resumen de las variables analizadas por BIA (análisis de impedancia bioeléctrica) *L: litros; Kg: kilogramos; %: porcentaje del total, Kcal: kilocalorías.

Parámetros analíticos

- **Perfil renal, hepático, lipídico y proteínas plasmáticas.**

Se tomaron muestras de sangre en tubos de Na-EDTA de pacientes después de 12 h de ayuno.

Todas las determinaciones se analizaron en la plataforma Cobas c701 (Roche Diagnostics).

- Colesterol total: método enzimático colorimétrico.
- HDL-colesterol: test colorimétrico enzimático homogéneo.
- LDL-colesterol: Fórmula de Friedewald:

$$LDL\text{-colesterol} = \text{colesterol total} - [\text{HDLcolesterol} + \text{triglicéridos} / 5 \text{ (en mg/L)}] \text{ si triglicéridos} < 250 \text{ mg/dl}$$

- Triglicéridos: test enzimático colorimétrico.
- Creatinina: prueba cinética colorimétrica basada en el método de Jaffé.



- AST: ensayo enzimático acoplado.
- ALT: ensayo enzimático acoplado.
- GGT: método enzimático, colorimétrico.
- Fosfatasa alcalina: test colorimétrico según un método estandarizado.
- Bilirrubina: método diazo-colorimétrico.
- Albúmina: test colorimétrico.
- Ferritina: test colorimétrico.

En la siguiente tabla se recogen los valores de referencia emitidos desde el Laboratorio de Análisis Clínicos:

PARÁMETRO	VALORES DE REFERENCIA	PARÁMETRO	VALORES DE REFERENCIA
Glucosa	75 – 110 mg/dL	Albumina	3,5-5 g/dL
LDL-colesterol	130 – 160 mg/dL	HDL-colesterol	35 – 70 mg/dL
Colesterol total	110 – 240 mg/dL	Triglicéridos	50 – 170 mg/dL
Bilirrubina total	0,3 – 1,4 mg/dL	AST	1 – 37 UI/L
ALT	1 - 40 UI/L	GGT	1 – 50 UI/L
Insulina	2 – 30 μ U/mL	Fosfatasa alcalina	98 – 279 UI/L
Plaquetas	150 – 400 x 10 ³ / μ l	Creatinina	0,7 a 1,3 mg/dL
Ferritina	15-150 ng/ml		

Tabla 4.3. Valores de referencia de las variables examinadas en el laboratorio. PCR: proteína C reactiva; g: gramos; mg: miligramos; μ g: microgramos; UI: unidades internacionales, ng: nanogramos, dL: decilitros, ml: mililitros.



Metabolismo de la glucosa

Los niveles de glucosa en plasma se determinaron mediante test por radiación ultravioleta (método enzimático de referencia empleando hexoquinasa) en el analizador Cobas c701 (Roche Diagnostics).

La insulina se evaluó mediante radioinmunoensayo (RIA Diagnostic Corporation, Los Ángeles, CA) con una sensibilidad de 0.5mUI / L (rango normal 0.5-30 mUI / L) y la evaluación del modelo de homeostasis para la RI (HOMA-IR) calculado usando la siguiente fórmula (insulina en ayunas x concentraciones de glucosa en ayunas / 22.5).

Para la interpretación del HOMA-IR se consideró un valor > 3 como indicador de RI.

Genotipado: POLIMORFISMOS DE UN UNICO NUCLEOTIDO (SNP)

Se extrajo una única muestra de sangre de cada paciente en tubos con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Las muestras de plasma se consiguieron tras una centrifugación apropiada. Las muestras se depositaron a -80°C hasta el análisis de los genotipos.

- **Determinación de la variante genética I148M (rs738409) de *Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3* (PNPLA3 o adiponutrina).**

Los cebadores y sondas de oligonucleótidos se diseñaron con Beacon Designer 4.0 (Premier Biosoft International, Los Angeles, California, EE. UU.). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se llevó a cabo con 250 ng de ADN genómico, 0,5 µl de cada cebador oligonucleotídico en un volumen final de 25 µl (Termociclador iCycler IQ, Bio-Rad, Hercules, CA, EE. UU.).

El genotipado del rs738409 se efectuó por medio de un análisis de alta resolución de la disociación de amplicones (HRM, high-resolution melting



analysis) conseguido a través de la amplificación de una zona genómica corta que contenía el polimorfismo en cuestión. El análisis HRM se ejecutó con un equipo Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Australia).

Con el fin de conseguir ampliaciones que inclúan el sitio del polimorfismo, se amplificaron dos μL de ADN genómico extraído para el genotipado estándar gracias a $2 \times$ SensiFastHRM master mix (Bioline, Reino Unido) y se usaron los cebadores GCCTTGGTATGTTCTGCTTC y GGATAAGGCCACTGTAGAAGG a una concentración final de 200 nM. El protocolo de temperatura utilizado fue la activación de la enzima durante tres minutos a 95°C , seguido de siete ciclos de 10 segundos a 95°C y 30 segundos a 67°C , y luego 40 ciclos de 10 segundos a 95°C y 25 segundos a 60°C . La longitud del proceso de amplificación fue de 46 pb. El análisis de las curvas de disociación se efectuó empleando el software del equipo (Rotor-Gene 6000 Series Software 1.7.87, Corbett Research, Australia). Con la finalidad de normalizar las curvas, escogimos una región de predisociación y otra de posdisociación, dentro de las cuales se estimó que la fluorescencia relativa de cada curva era del 100% y del 0%, respectivamente. La región de predisociación se determinó entre $68,5$ y $69,1^\circ\text{C}$, en tanto que la región de posdisociación se acotó entre $77,0$ y $78,6^\circ\text{C}$.

De forma paralela a las muestras de ADN genómico, se examinó lo siguiente en cada serie de reacciones:

- Tres estándares de genotipado (CC, CG, GG), constituidos por moléculas de ADN sintético con una secuencia que contiene la región genómica de 46 pb amplificada con el par de cebadores utilizados en la reacción;
- Tres controles de genotipado (rs738409 CC, CG, GG), constituidos por ADN genómico muestreado con un genotipo PNPLA3 conocido; un control de amplificación negativo, en el que no se insertó ADN.



- **Determinación de la variante genética rs180069 del polimorfismo G308A de del gen TNF α .**

Los cebadores de oligonucleótidos y las sondas fueron diseñados con el Beacon Designer 4.0 (Premier Biosoft International [®], LA, CA). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se efectuó con 50 ng de ADN genómico, 0,5 uL de cada cebador de oligonucleótidos (cebador forward: 5'-CTG TCT GGA AGT TAG AAG GAA AC-3'; cebador reverse: 5'-TGT GTG TAG GAC CCT GGA G-3'), y 0,25 uL de cada sonda (sonda natural: 5'-Fam-AAC CCC GTC CTC ATG CCC-Tamra-3') y (sonda alterada: 5'-Hex-ACC CCG TCT TCA TGC CCC- Tamra -3') en un volumen límite de 25 uL (Termociclador iCycler IQ (Bio-Rad[®]), Hercules, CA). El ADN se desnaturalizó a 95°C durante 3 minutos; a esto le continuaron 50 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 15 segundos, y de anillamiento a 59,3° durante 45 segundos). La PCR se efectuó en un volumen final de 25 uL que comprendía 12,5 uL de IQTM Supermix (Bio-Rad[®], Hercules, CA) con Taq ADN polimerasa de inicio en caliente.

- **Adipocitoquinas.**

Determinación mediante ELISA de proteínas relacionadas con el tejido adiposo: adiponectina, leptina y resistina.

- **ADIPONECTINA (R&D SYSTEMS[®]).**

Se midió por ELISA (R & D systems, Inc., Mineapolis, EE. UU.) Con una sensibilidad de 0,246 ng / ml y un intervalo normal de 8,65-21,43 ng / ml.

- **Preparación de reactivos:** Preparar a temperatura ambiente antes de su uso.

- **Calibración:**

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



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

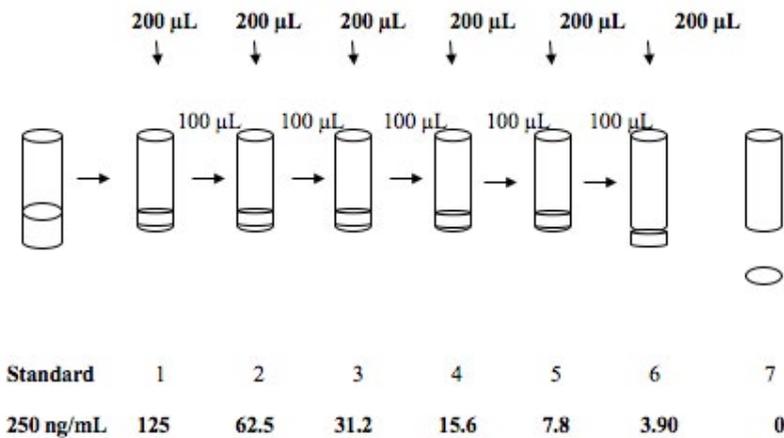


Figura 4.3. Procedimiento para la determinación del valor de adiponectina.

- **Procedimiento:**

100 μL Assay Diluent RD1W.

50 μL Standard, control o muestra.

Se necesita una dilución al 1/100 de la muestra: 1 μL muestra + 99 μL Calibrador Diluent RD6-39.

Tapar e incubar 2 horas a temperatura ambiente.

Lavar 4 veces. Retirar sobre papel secante el exceso de líquido de los pocillos. Wash Buffer: 20 mL + 480 mL agua destilada (500 mL). La solución refrigerada es estable un mes.



200 μ L de Adiponectin Conjugate.

Tapar e incubar 2 horas a temperatura ambiente.

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

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

200 μ L Substrate Solution, proteger de la luz.

Incubar 30 minutos a temperatura ambiente.

50 μ L Stop Solution.

Lectura a 450 nm (15 min, o color amarillo uniforme). No sobre-
pasar los 30 minutos.

- **Cálculo de los resultados:** Crear una curva standard lineal. Si las muestras han sido diluidas, multiplicar por el factor de dilución.
- **LEPTINA (DSL®).**

Se midió mediante ELISA (Diagnostic Systems Laboratories, Inc., Texas, EE. UU.) Con una sensibilidad de 0,05 ng / ml y un intervalo normal de 10-100 ng / ml.

- **Preparación de reactivos:** Acondicionar a temperatura ambiente antes de su uso.
- **Calibración:** Reconstituir el vial de calibración **A** con 2mL de agua destilada para obtener una concentración de 0 ng/mL. Reconstituir el resto de viales (**B-F**) con 0.5 mL de agua destilada para obtener las siguientes concentraciones:



CALIBRADOR	CONCENTRACIÓN (ng/ ml)
A	0
B	0.5
C	2.5
D	10.0
E	25.0
F	50.0

Tabla 4.4. Concentraciones del calibrador en base al vial.

Previo a su utilización se ha de mezclar y mantener a temperatura ambiente durante 15 minutos.

- **Procedimiento:**

25 μ L Standard, control o muestra.

100 μ L Assay Buffer E.

Incubar 2 horas a temperatura ambiente agitando la placa a 500-700 rpm.

Lavar 5 veces. Retirar sobre papel secante el exceso de líquido de los pocillos. Wash Buffer: 60 mL + 1500 mL agua destilada (30 mL + 750 mL). La solución es estable un mes a temperatura ambiente.

Preparar Antibody-Enzyme Conjugate Solution. Diluir al 1:50 con Assay Buffer E, del siguiente modo: 2,5 μ L de Antibody-Enzyme + 125 μ L de Assay Buffer por cada pocillo.

(240 μ L+12 mL para una placa de 96 pocillos). Añadir 100 μ L.

Incubar 1 hora a temperatura ambiente agitando la placa a 500-700 rpm.



Lavar 5 veces. Retirar sobre papel secante el exceso de líquido de los pocillos.

100 μ L de TMB Chromogen Solution.

Incubar 10 minutos a temperatura ambiente agitando la placa a 500-700 rpm. Proteger de la luz.

100 μ L de Stopping Solution.

Lectura a 450 nm (color amarillo uniforme). No sobrepasar los 30 minutos.

- **Cálculo de los resultados:**

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

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

- **RESISTINA (Biovendor®)**

- **Preparación de reactivos:** Acondicionar a temperatura ambiente antes de su uso.

- **Calibración:**

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

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

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

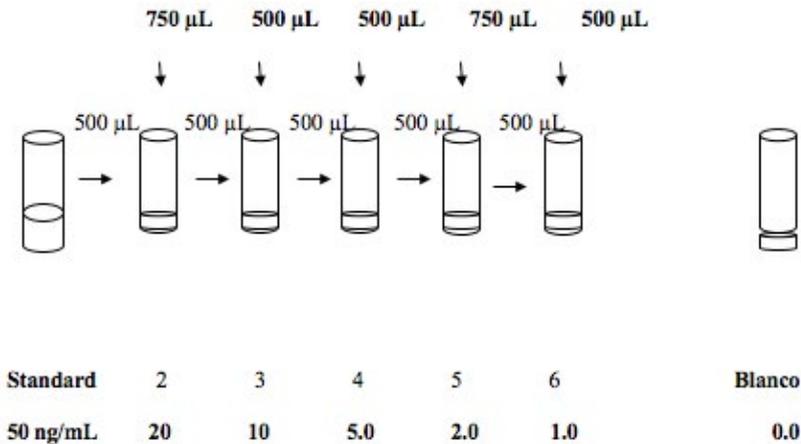


Figura 4.4. Procedimiento para la determinación del valor de resistina.

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

- **Muestras:** Diluir las muestras a 1:3 con Dilution Buffer (50 µL + 100 µL).

- **Controles:**

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

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

- **Procedimiento:**

100 µL Standard, control o muestra.

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



ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS Y GENOTÍPICAS
EN PACIENTES CON HIGADO GRASO NO ALCOHOLICO CON SOBREPESO VS. OBESIDAD

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

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

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

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

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

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

100 μ L de Steptetavidin-HRP Conjugate.

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

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

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

100 μ L de Stop Solution .

Lectura a 450 nm (color amarillo uniforme). No exceder de los 15 minutos.

- **Calculo de los resultados:**

Crear una curva standard oponiendo el logaritmo de la concentración (X) frente a la absorbancia (Y) mediante una función de cuatro parámetros. Si las muestras han sido diluidas, multiplicar por el factor de dilución.



Evaluación nutricional

Se le entregó al paciente un CUESTIONARIO DE ADHERENCIA A DIETA MEDITERRÁNEA (PREDIMED). *Adjunto archivo en Tabla 4.5.*

<p>Pregunta 1 ¿Usa usted el aceite de oliva como principal grasa para cocinar?</p> <p>A) <i>Si</i> B) <i>No</i></p>	<p>Pregunta 2 ¿Cuánto aceite de oliva consume en total al día (incluyendo el usado para freír, comidas fuera de casa, ensaladas, etc.)?</p> <p>A) <i>4 o más cucharadas</i> B) <i>2-3,9 cucharadas</i> C) <i>0-1,9 cucharadas</i></p>
<p>Pregunta 3 ¿Cuántas raciones de verdura u hortalizas consume al día? (las guarniciones o acompañamientos = ½ ración) 1 ración=200g</p> <p>A) <i>2 o más raciones</i> B) <i>1-1,9 raciones</i> C) <i>0-0,9 raciones</i></p>	<p>Pregunta 4 ¿Cuántas piezas de fruta (incluyendo zumo natural) consume al día?</p> <p>A) <i>3 o más raciones</i> B) <i>1-2,9 raciones</i> C) <i>0-0,9 raciones</i></p>
<p>Pregunta 5 ¿Cuántas raciones de carnes rojas, hamburguesas, salchichas o embutidos consume al día? (ración=100-150g)</p> <p>A) <i>1 ración o más</i> B) <i>0-0,9 raciones</i></p>	<p>Pregunta 6 ¿Cuántas raciones de mantequilla, margarina o nata consume al día? (porción individual: 12g)</p> <p>A) <i>1 ración o más</i> B) <i>0-0,9 raciones</i></p>
<p>Pregunta 7 ¿Cuántas bebidas carbonatadas y/o azucaradas (refrescos, colas, tónicas, bitter) consume al día?</p> <p>A) <i>1 ración o más</i> B) <i>0-0,9 raciones</i></p>	<p>Pregunta 8 ¿Bebe usted vino? ¿Cuánto consume a la semana? (1 copa=100ml)</p> <p>A) <i>7 o más vasos</i> B) <i>3-6,9 vasos</i> C) <i>0-2,9 vasos</i></p>



<p>Pregunta 9 ¿Cuántas raciones de legumbres consume a la semana? (1 plato o ración de 150g)</p> <p>A) 3 o más raciones B) 1-2,9 raciones C) 0-0,9 raciones</p>	<p>Pregunta 10 ¿Cuántas raciones de pescado-mariscos consume a la semana?(1 plato, pieza o ración: 100-150 de pescado; 4-5 piezas: 200g marisco)</p> <p>A) 3 o más raciones B) 1-2,9 raciones C) 0-0,9 raciones</p>
<p>Pregunta 11 ¿Cuántas veces consume repostería comercial (no casera) como galletas, flanes, dulce o pasteles a la semana?</p> <p>A) 2 raciones o más B) 0-1,9 raciones</p>	<p>Pregunta 12 ¿Cuántas veces consume frutos secos a la semana? (ración 30g)</p> <p>A) 3 o más raciones B) 1-2,9 raciones C) 0-0,9 raciones</p>
<p>Pregunta 13 ¿Consume usted preferentemente carne de pollo, pavo o conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas? (carne de pollo: 1 pieza o ración de 100-150g)</p> <p>A) Si B) No</p>	<p>Pregunta 14 ¿Cuántas veces a la semana consume los vegetales cocinados, la pasta, arroz u otros platos aderezados con salsa de tomate, ajo, cebolla o puerro elaborada a fuego lento con aceite de oliva (sofrito)?</p> <p>A) 2 o más raciones B) 1-1,9 raciones C) 0-0,9 raciones</p>

Tabla 4.5. Cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea (PREDIMED).

INTERPRETACIÓN DEL CUESTIONARIO.

- Si la puntuación total:
 - Es menor de 9 puntos, significa baja adherencia. Revise las preguntas con respuesta 0 e intente mejorar.
 - Es mayor de 9 puntos, significa buena adherencia. Mantenga este estilo de alimentación y procure que las raciones no sean muy grandes.



Composición de la dieta:

Mediante la encuesta nutricional con el *Programa Dietsource*® se analizaron los siguientes macro y micronutrientes:

Variable	Unidad
Proteínas	g/día
Lípidos	g/día
Carbohidratos	g/día
Vitamina E	mg/día

Tabla 4.6. Variables (micro y macronutrientes) analizadas respecto a la composición de la dieta, g:gramos, mg: miligramos.

Biopsia hepática percutánea

A todos los sujetos incluidos en el estudio se les realizó biopsia hepática percutánea, previa autorización escrita y preparación según las guías (218) :

- Historia clínica completa y exploración física.
- Hemograma.
- Coagulación: INR y TTPA.
- Tratamiento con anticoagulantes o antiagregantes: debe ser retirado con anterioridad en función de la familia de antiagregante o anticoagulante y organizar un plan de reintroducción tras la biopsia hepática en función del riesgo/beneficio de cada paciente.
- Todos los pacientes fueron ingresados en planta de hospitalización previa a la biopsia, con observación de 24h tras la misma.
- **Instrumental:** aguja de succión tipo Menghini, que utiliza la aspiración para introducir y retener el cilindro de tejido hepático en el interior de la aguja.



Figura 4.5. Realización de biopsia hepática percutánea con aguja de biopsia tipo Menghini

- **Técnica:**

Paciente en decúbito supino con su mano derecha colocada detrás de la cabeza, se localiza el punto de punción por percusión en hipocondrio derecho para determinar la matidez hepática, normalmente entre la línea axilar media y anterior y entre el 7º y 9º espacio intercostal.

En el punto elegido de entrada se insona con el ecógrafo para confirmar la existencia de tejido hepático sin interposición de otras estructuras. Se realiza una pequeña marca con un rotulador sobre la piel y se llevan a cabo las medidas de asepsia (el ecografista se coloca guantes estériles, coloca un paño estéril en el campo de trabajo y limpia la zona de la piel con solución de povidona yodada).



A continuación, se anestesia la piel, tejido celular subcutáneo y serosa peritoneal, inyectando 20 ml de solución de mepivacaína al 2% a nivel de borde superior de la costilla con el fin de sortear los vasos intercostales del borde inferior.

Consecutivamente, se realiza un pequeño corte con aguja de bisturí en la piel para hacer más fácil la entrada de la aguja de biopsia.

Se introduce la aguja de biopsia traspasando el tejido subcutáneo y el peritoneo parietal; se libera el seguro de la aguja y con el paciente en apnea, la aguja es rápidamente introducida en el parénquima hepático.

Posteriormente se extrae la aguja y con un mecanismo sencillo, se deposita en un anaclín con formol, remitiéndose a Anatomía Patológica.

- **Análisis de las muestras y clasificación histológica.**

Las biopsias se tiñeron con hematoxilina-eosina y tricoma de Manson. Fueron analizadas por el mismo patólogo.

Se utilizó **NAS-score**, un sistema de puntuación semicuantitativa de hígado graso no alcohólico. Se calcula con la suma ponderada de las puntuaciones de: **esteatosis** (<5% = 0, de 5 a 33% = 1, > 33 al 66% = 2, > 66% = 3).

Inflamación lobular (sin focos = 0, <2 focos de 200 por campo = 1; de 2 a 4 de 200 focos por campo = 2; > 4 focos de 200 por campo = 3). **Balonización o degeneración hidrópica** (ninguna célula = 0; pocas células balonizadas = 1, muchas células / balonización prominente = 2). En el NAS no se incluye la fibrosis; el cálculo máximo es de 8. El score concluyente de EHNA se delimitó como una puntuación $NAS > = 5$.



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

Tabla 4.7. NAS-score de Kleiner.

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

Tabla 4.8. Estadaje de fibrosis.

Para minimizar la variabilidad interobservador, el mismo patólogo leyó muestras de biopsia hepática utilizando la puntuación **SAF score** (219) (del inglés *Steatosis, Activity and Fibrosis*) que evalúa el grado de esteatosis (S, de S0 a S3), el grado de actividad (A, de A0 a A4, que es la suma de la puntuación de los grados de balonización e inflamación lobulillar, ambos de 0 a 2) y la etapa de fibrosis (F de F0 a F4) (220).



Índices no invasivos

En nuestro trabajo se han calculado índices no invasivos de esteatosis FLI (Fatty Liver Index), LAP (Liver Accumulation Product), así como índices no invasivos de fibrosis como NFS (NAFLD Fibrosis Score), FIB-4 (Fibrosis 4).

- **Fatty Liver Index (FLI)** (153) = $(e^{0.953 \times \ln(\text{triglicéridos}) + 0.139 \times \text{IMC} + 0.718 \times \ln(\text{GGT}) + 0.053 \times \text{CIN} - 15.745}) / (1 + e^{0.953 \times \ln(\text{triglicéridos}) + 0.139 \times \text{IMC} + 0.718 \times \ln(\text{GGT}) + 0.053 \times \text{CIN} - 15.745}) \times 100$

Interpretación	
< 30	No esteatosis
≥ 30, <60	Indeterminado
≥ 60	Esteatosis

- **Liver Accumulation Product (LAP)** (221):

Hombres: $\text{LAP} = (\text{CIN (cm)} - 65) \times \text{triglicéridos (mol/L)}$

Mujeres: $\text{LAP} = (\text{CIN (cm)} - 58) \times \text{triglicéridos (mol/L)}$

Interpretación			
Hombres		Mujeres	
<4	No esteatosis	<4.4	No esteatosis
≥4	Esteatosis	≥4.4	Esteatosis

- **NAFLD Fibrosis Score (NFS)** (14) = $-1.675 + 0.037 \times \text{Edad (años)} + 0.094 \times \text{IMC (Kg/m}^2) + 1.13 \times \text{DM2 (si 1, no 0)} + 0.99 \times (\text{AST/ALT}) - 0.013 \times \text{plaquetas (U/L)} - 0.66 \times \text{albúmina (g/dL)}$

Interpretación	
<-1.455	Fibrosis leve
≥-1.455, <0.675	Indeterminado
≥0.675	Fibrosis avanzada

- **Fibrosis-4 (FIB-4)** (222) = $(\text{Edad} \times \text{AST}) / (\text{plaquetas (U/mL)} \times \text{sqrt (ALT)})$

Interpretación	
<1.3	Fibrosis leve
≥1.3, <2.67	Indeterminado
≥2.67	Fibrosis avanzada



Elastografía hepática (Fibroscan®):

Consiste en una herramienta no invasiva de detección de esteatosis hepática y de fibrosis hepática en la HGNA. Se ha utilizado fibroscan Echosens sonda XL. Se ha evaluado la elasticidad hepática en Kpa, el IQR y el porcentaje de éxito.

SM y evaluación de los factores de riesgo cardiovascular

El SM se determinó en base a los criterios propuestos en el *Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III)*, (*NCEP- ATP III*) (59). Se define SM ante la presencia de tres o más de los siguientes factores de riesgo cardiovascular (FRCV) propuestos:

FRCV	LÍMITE
Obesidad central (definida por el perímetro de cintura ¹)	> 88 cm en mujeres > 102 cm en hombres
Tensión arterial¹	TAS ≥ 130 mmHg TAD ≥ 85 mmHg O bien diagnóstico previo
Glucosa basal¹	≥ 110 mg/dL
Triglicéridos¹	≥ 150 mg/dL
Colesterol HDL²	< 40 mg/dL en hombres < 50 mg/dL en mujeres

Tabla 4.9. Factores de riesgo cardiovascular presentados por la NCEP- ATP III, con sus pertinentes límites. FRCV: factores de riesgo cardiovascular; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; ¹: límite por encima del cual se considera patológico; ²: límite por debajo del cual se considera patológico.



Dentro de los factores que utiliza la OMS para determinar SM, se incluye la microalbuminuria, que se define como la excreción de albúmina en orina $\geq 20 \mu\text{g}/\text{min}$, o relación albúmina/creatinina en orina $\geq 30 \text{ mg}/\text{g}$. A los pacientes incluidos en la presente tesis no se les realizó análisis de orina, por tanto, en dicho trabajo nos ceñimos a la **clasificación NCEP- ATP III** para diagnosticar el SM.

Análisis de datos

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico SPSS versión 20.0. Se realizaron pruebas de normalidad y los datos se expresaron como media \pm desviación estándar o como frecuencias para las variables categóricas. Las variables categóricas se estudiaron mediante la prueba de Chi-cuadrado, y cuando requería se realizó la corrección de Yates y la prueba exacta de Fisher. Las variables continuas con distribución normal se analizaron mediante la t de Student de dos colas. Las variables con distribución no normal se analizaron mediante pruebas no paramétricas (Prueba U de Mann-Whitney).

El análisis estadístico se realizó para GC y GG combinados como grupo y el genotipo CC como segundo grupo (variante rs738409 del gen PNPLA3) y para GA y AA combinados como grupo y el genotipo GG como segundo grupo (variante rs180069 de el gen TNF α) con un modelo dominante.

Para evaluar el efecto de los diferentes factores de riesgo en la EHNA y fibrosis se utilizó un análisis de regresión logística (método atrás Wald; punto de corte de entrada: 0,05, punto de corte de eliminación: 0,10). Las variables que alcanzaron la significación estadística en el análisis univariante fueron introducidas en el análisis multivariante. Se consideró que una relación era estadísticamente significativa para $p < 0,05$ (prueba de 2 colas).



Tratamiento informático y control de calidad de los datos

Para el uso informático de los datos, convenientemente codificados, se ha utilizado un ordenador personal portátil Toshiba Aspire 1350 Series, con procesador AMD Athlon XP-M, sistema operativo Windows XP y herramientas de Microsoft Office 2000.

Para la búsqueda bibliográfica se hizo uso de Internet en Microsoft Internet Explorer XP. Los datos recogidos fueron introducidos en una base de datos (IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp).

Para cerciorarse de la calidad de los datos procesados, éstos fueron comprobados por dos investigadores y al menos en dos ocasiones.

La base de datos fue inscrita en la Agencia Nacional de Protección de Datos (ANPD), dentro del Sistema de Información del Grupo de Investigación Biomédica (SIGIB).

Revisión bibliográfica

Para la revisión bibliográfica se ha accedido al portal de internet **PubMed** (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), que es una prestación de acceso libre a la Base de datos Medline gestionado por la National Library of Medicine (NLM).

Como estrategia de búsqueda inicial se han utilizado conceptos libres: non alcoholic fatty liver disease; obesity; overweith; insuline resistance; cardiovascular disease; hypertension; diabetes mellitus; cholesterol; sedentarism; metabolic syndrome; nutrition; Mediterranean diet, anthropometry; body mass index; BMI, etc... Posteriormente se ha afinado con una búsqueda de lenguaje controlado (MeSH), limitándola a un concepto o bien extendiéndola a varios.



Los conceptos han sido relacionados mediante operadores lógicos e implementado mediante truncadores a los años 1980-2014, en todos los idiomas, estudios en humanos, así como artículos que contaran con resumen. De los artículos elegidos en un inicio, se han escogido los más relevantes bajo criterio personal.

También con acceso a internet se ha utilizado la **Biblioteca Cochrane Plus** (www.bibliotecacochrane.net), de acceso libre y gratuito en territorio español mediante suscripción del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad; también **UpToDate**[®], con acceso privado gratuito para profesionales sanitarios por medio de la Biblioteca Sanitaria online de Castilla y León; y la **revista Nutrición Hospitalaria**, con acceso completo a sus artículos por suscripción.

Además, se han utilizados tratados, libros de texto, monografías y manuales actualizados de interés.

Aspectos Éticos

Este trabajo se ha realizado siguiendo las recomendaciones de la Declaración de Helsinki de 1964 (última enmienda, 64^a Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013)(223).

Se obtuvo la aprobación por el Comité de Ética del Hospital Clínico de Valladolid para la realización del estudio.

No existe conflicto de intereses ni se dispone de financiación por organismos públicos o privados.



5. RESULTADOS



5. RESULTADOS

5.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO

5.1.1. Características basales

Se analizaron un total de 203 pacientes, la media de edad fue de $47,4 \pm 37,2$ años, y de éstos 115 (56,7%) eran hombres. En las siguientes **tablas** (Tablas 5.1 a 5.17) se resumen las principales características de los pacientes incluidos:

VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS

En la siguiente tabla se muestran las variables epidemiológicas y de hábitos de vida estudiadas.

N total= 203	Media	DS
Edad (años)	47,4	37,19
	N	%
Hombre	115	56,7%
Mujer	88	43,3%
Fumador	30	28,8%
Bebedor moderado (< 20 gr de alcohol/ día)	20	9,9%

Tabla 5.1. Variables epidemiológicas de nuestra muestra.



SM Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

En nuestra muestra, 90 pacientes (44,3%) muestran 3 o más criterios ATP III como factores que definen la presencia de SM.

	Nº de criterios	N total	%
SÍNDROME METÁBOLICO	0	34	16,7
	1	46	22,7
	2	33	16,3
	3	46	22,7
	4	29	14,3
	5	15	7,5

Tabla 5.2. Número de criterios según ATP III para la definición de SM.

DIABETES MELITUS TIPO 2

De nuestra muestra de pacientes únicamente un 19,2% presentaron DM-2.

N total= 203	N	%
NO	164	80,8
SI	39	19,2

Tabla 5.3. Pacientes con DM-2.

TENSIÓN ARTERIAL

	Media	DS
Tensión sistólica, mmHg	133,90	75,88
Tensión diastólica, mmHg	79,96	19,33

Tabla 5.4. Medidas de TA sistólica y diastólica.



De nuestra muestra de pacientes se observa que casi la mitad de los pacientes presentaban HTA (53,69%).

	N	%
NO	109	53,69
SI	94	46,31

Tabla 5.5. Pacientes con HTA.

VARIABLES ANALÍTICAS

A continuación, se resumen los resultados de las variables analíticas en nuestra muestra de pacientes.

	N total= 203	Media	DS
AST, UI/L		42,19	32,26
ALT, UI/L		66,53	45,90
GGT, UI/L		89,17	73,03
Fosfatasa alcalina, UI/L		78,24	29,72
Bilirrubina total, mg/dL		0,77	0,72
Creatinina, mg/dL		0,87	0,20
Albúmina, g/dL		4,40	0,46
Glucosa, mg/dL		109,94	34,18
HOMA-IR		4,33	3,66
Insulina, (mg/dL)		15,35	10,60
Colesterol total, mg/dL		187,77	49,28
Triglicéridos, mg/dL		153,45	79,59
LDL-colesterol, mg/dL		114,98	39,80
HDL-colesterol, mg/dL		44,63	16,94
Plaquetas, $10^3 / \mu\text{l}$		266,29	70,10
Ferritina, (ng/mL)		205,42	183,86

Tabla 5.6. Variables bioquímicas de nuestra muestra de pacientes.



VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS

En la **tabla 5.7** figuran las variables antropométricas de nuestra muestra de pacientes.

	N total	Media	DS
Peso, kg		102,00	29,66
IMC, kg/m²		36,77	10,01
Perímetro de cintura, cm		104,79	14,58
Perímetro de cadera, cm		109,32	10,98
ICC		0,95	0,07
Pliegue tricípital, mm		20,61	8,61
Masa grasa, %		26,61	9,62
Masa magra, %		71,83	9,29
Ángulo de fase		7,25	1,74

Tabla 5.7. Variables antropométricas incluidas en nuestro estudio. IMC: índice de masa corporal. ICC: índice cintura cadera.

CUESTIONARIO DE ADHERENCIA A DIETA MEDITERRÁNEA (PREDIMED) Y COMPOSICIÓN DE LA DIETA

Se llevó a cabo un cuestionario de adherencia a dieta mediterránea por medio de una entrevista a cada uno de los pacientes. Además, se calculó las calorías de la dieta, la proporción de proteínas, lípidos, hidratos de carbono y vitamina E consumidos tras analizar la encuesta nutricional mediante el programa Dietsource®.

	Mínimo	Máximo	Media	DS
Cuestionario MEDAS	2	12	8	2,81

Tabla 5.8. Evaluación nutricional con cuestionario de adherencia a dieta mediterránea (cuestionario MEDAS - *Mediterranean Diet Adherence Screener*- PREDIMED).



	Media	DS
Proteínas, g/día	18,56	3,93
Lípidos, g/día	37,2	7,93
Carbohidratos, g/día	44,11	7,88
Vitamina E, mg/día	8,95	5,47
Gasto energético basal, kcal/día	1773,26	279,38
Calorías de la dieta, kcal/día	2012,57	653,7

Tabla 5.9. Proporción de macronutrientes (proteínas, grasas e hidratos de carbono), vitamina E, calorías de la dieta y gasto energético basal.

ÍNDICES NO INVASIVOS

Se realizaron los índices no invasivos de esteatosis descritos en metodología como el Fatty Liver Index (FLI) y Liver Accumulation Product (LAP); así como índices no invasivos de fibrosis tales como el NAFLD Fibrosis Score (NFS) y Fibrosis 4 (FIB-4).

En las siguientes tablas reflejamos los valores de la media hallados en cada índice no invasivo en el total de pacientes de nuestra muestra:

N total	Media	DS
FLI	72,88	22,43
LAP	3,89	0,74
NFS	-1,64	1,78
FIB-4	0,94	0,72

Tabla 5.10. Medias de los valores de los índices no invasivos (FLI: Fat liver index, LAP: Lipid accumulation product, NAFLD FS: Non alcoholic fatty liver disease, FIB4: Fibrosis 4).



HISTOLOGÍA HEPÁTICA

En las siguientes tablas presentamos el número y porcentaje de pacientes que presentan esteatosis simple, balonización, inflamación lobular, esteatohepatitis y fibrosis en la biopsia hepática.

Observamos que más de la mitad de los pacientes presentan esteatohepatitis y fibrosis.

ESTEATOSIS HEPÁTICA

N total= 203	N	%
0	6	3,0
1	61	30,0
2	80	39,4
3	56	27,6

Tabla 5.11. Esteatosis (<5% = 0, de 5 a 33% = 1, > 33 al 66% = 2, > 66% = 3).

BALONIZACIÓN O DEGENERACIÓN HIDRÓPICA

Más de la mitad de nuestros pacientes presentaban degeneración hidrópica en la biopsia hepática.

N total= 203	N	%
0	76	37,4
1	107	52,7
2	20	9,9

Tabla 5.12. Balonización o degeneración hidrópica (ninguna célula = 0; pocas células balonizadas = 1, muchas células / balonización prominente = 2).



INFLAMACIÓN LOBULILLAR

Más de la mitad de nuestros pacientes presentaban algún grado de inflamación lobular en la biopsia hepática.

N total= 203	N	%
0	51	25,1
1	102	50,2
2	41	20,2
3	9	4,4

Tabla 5.13. Inflamación lobular (sin focos = 0, <2 focos de 200 por campo = 1; de 2 a 4 de 200 focos por campo = 2; > 4 focos de 200 por campo = 3).

ESTEATOHEPATITIS

Se identifica que más de la mitad de los pacientes de nuestra muestra presentan esteatohepatitis en la biopsia hepática, es decir balonización e inflamación.

N total= 203	N	%
NO	94	46,3
SI	109	53,7

Tabla 5.14. Esteatohepatitis (aquel paciente que presentara al menos un grado 1 de las tres siguientes características: esteatosis, balonización e inflamación lobular).



FIBROSIS HEPÁTICA

Se observa que la mayoría de los pacientes presentan estadios muy leves de fibrosis.

N total= 203	N	%
F0	98	48,3
F1	73	36
F2	11	5,4
F3	13	6,4
F4	8	3,9

Tabla 5.15- Fibrosis (sin fibrosis= 0, perisinusoidal o periportal= 1, perisinusoidal y portal/ periportal= 2, puentes de fibrosis= 3, cirrosis con o sin fibrosis perisinusoidal=4).

ADIPOCITOQUINAS

Se determinaron los niveles en plasma de adipocitoquinas: adiponectina, resistina y leptina.

	N	Media	DS
Adiponectina, ug/mL	121	15,09	20,16
Resistina, ng/mL	107	6,25	6,78
Leptina, ng/mL	120	44,32	41,53

Tabla 5.16. Niveles de adipocitoquinas en plasma.



POLIMORFISMOS DE LOS GENES PNPLA3 Y TNF α

Más de la mitad de los pacientes, con un total de 77 (53,84%), presentaron la mutación rs738409 del gen PNPLA3. La mutación del gen G308G TNF α se detectó en 31 pacientes (19,38%).

I148M PNPLA3 rs738409 N=177		
	N	%
CC n (%) - SALVAJE	75	36,9
CG or GG n (%) - MUTANTE	102	50,2
G308G TNF α rs180069 N=160		
	N	%
GG n (%) - SALVAJE	129	80,63
GA or AA n (%) - MUTANTE	31	19,38

Tabla 5.17. Genotipos: polimorfismos de los genes PNPLA3 y TNF α estudiados en nuestra muestra de pacientes.

5.2. ESTADÍSTICA INFERENCIAL

5.2.1. Características de la muestra en función del índice de masa corporal (sobrepeso vs obesidad)

Posteriormente, dichos pacientes fueron clasificados en dos grupos en función del IMC: 63 pacientes (31%) presentaron sobrepeso con un IMC >25 kg/m² y < 30 kg/m² y 140 pacientes (69%) presentaron obesidad con un IMC ≥ 30 Kg/m².



EDAD Y SEXO EN FUNCIÓN DEL IMC: SOBREPESO VS. OBESOS

La media de edad para el grupo de pacientes con sobrepeso fue de 44,9 años, mientras que la media de edad para el grupo de pacientes con obesidad fue de 48,6. Al comparar ambos grupos respecto a la edad no se obtuvieron diferencias significativas.

Se observaron diferencias significativas respecto al sexo, identificando en el grupo de pacientes con sobrepeso más varones con respecto a los obesos (76.2% vs. 47,9%; $p < 0,01$).

	Sobrepeso (N= 63)	Obesos (N= 140)	p-valor
Edad, años (media \pm DS)	44,9 \pm 12,8	48,6 \pm 44,3	ns
Sexo masculino, n (%)	48 (76,2)	67 (47,9)	<0,001

Tabla 5.18. Características epidemiológicas en función de IMC: sobrepeso vs. obesos. Edad y sexo.

PRESENCIA DE SM Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN FUNCIÓN DEL IMC: SOBREPESO VS. OBESOS

En el grupo de pacientes con obesidad se identificó mayor proporción de diabéticos comparado con el grupo de sobrepeso.

	Sobrepeso (N= 63)	Obesos (N= 140)	p- valor
DM-2, n (%)	7 (11,1)	32 (22,9)	p<0.05

Tabla 5.19. DM2 en función de obesos vs. sobrepeso diagnosticados de EHGNA



En cambio, no se observaron diferencias significativas entre ambos grupos en cuanto a la presencia de SM, ni en los niveles de tensión arterial sistólica y diastólica.

	Sobrepeso (N= 63)	Obesos (N= 140)	p- valor
SM, n (%)	25 (39,7)	78 (55,7)	Ns

Tabla 5.20. Presencia de SM en función de ambos grupos: pacientes con sobrepeso vs. obesidad diagnosticados de EHGNA.

	Sobrepeso (N= 63)	Obesos (N= 140)	p- valor
Tensión sistólica, mmHg	124,3 ± 23,4	138,6 ± 90,8	ns
Tensión diastólica, mmHg	75,7 ± 17	82 ± 20,1	ns

Tabla 5.21. Tensión arterial sistólica y diastólica según IMC: obesos vs. sobrepeso con EHGNA.



PARÁMETROS ANALÍTICOS EN FUNCIÓN DEL IMC: SOBREPESO VS. OBESOS

Respecto a las variables bioquímicas y el IMC, en el grupo de pacientes con sobrepeso, observamos que los niveles de AST, ALT, bilirrubina total, creatinina y colesterol total eran mayores de forma significativa comparado con el grupo de obesos, así como los niveles de colesterol HDL.

	Sobrepeso (N= 63)	Obesos (N= 140)	p- valor
AST, UI/L	49,74 ± 32,41	38,79 ± 31,72	p<0.05
ALT, UI/L	87,12 ± 54,41	57,26 ± 38,26	p<0.05
GGT, UI/L	95,16 ± 64,50	86,47 ± 76,62	Ns
Fosfatasa alcalina, UI/L	78,66 ± 28,20	78,05 ± 30,48	Ns
Bilirrubina total, mg/dL	0,93 ± 0,82	0,70 ± 0,65	p<0.05
Creatinina, mg/dL	0,91 ± 0,17	0,85 ± 0,21	p<0.05
Albúmina, g/dL	4,4 ± 0,5	4,4 ± 0,4	Ns
Glucosa, mg/dL	103,4 ± 24,3	113,1 ± 37,6	Ns
HOMA-IR	3,6 ± 2,3	4,7 ± 4,1	Ns
Insulina, (mg/dL)	13,27 ± 6,8	15,26 ± 8,7	Ns
Colesterol total, mg/dL	201,68 ± 52,02	181,41 ± 46,82	p<0.05
Triglicéridos, mg/dL	153,07 ± 85,16	153,65 ± 76,94	Ns
LDL-colesterol, mg/dL	122,35 ± 38,27	111,45 ± 40,19	Ns
HDL-colesterol, mg/dL	50,61 ± 15,03	41,82 ± 17,12	p<0.05
Plaquetas, 10 ³ / μl	271,65 ± 64,89	263,87 ± 72,37	Ns
Ferritina, (ng/mL)	209,35 ± 146,25	203,63 ± 199,13	Ns

Tabla 5.22. Niveles de los diferentes parámetros bioquímicos analizados según pacientes con sobrepeso vs. obesos con EHGNA. Valores expresados como media±DS.



PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS EN FUNCIÓN DEL IMC: SOBREPESO VS. OBESOS

En cuanto a las variables antropométricas estudiadas en relación con el IMC, se observó cómo es esperable, que los pacientes obesos cuentan con mayor perímetro de cintura, de cadera, ICC y pliegue tricípital, respecto al grupo de sobrepeso de forma significativa. Sin embargo, no hubo diferencias entre los dos grupos respecto al porcentaje de masa grasa y el ángulo de fase.

	Sobrepeso (N= 63)	Obesos (N= 140)	p- valor
Perímetro de cintura, cm	93,67 ± 8,14	112,08 ± 13,20	p<0.05
Perímetro de cadera, cm	101,23 ± 4,78	114,69 ± 10,68	p<0.05
ICC	0,93 ± 0,06	0,97 ± 0,06	p<0.05
Pliegue tricípital, mm	17,01 ± 6,82	24,48 ± 8,72	p<0.05
Masa grasa, %	27,36 ± 10,15	33,38 ± 7,57	ns
Ángulo de fase	7,47 ± 1,77	7,15 ± 1,72	ns

Tabla 5.23. Parámetros antropométricos en función de pacientes con sobrepeso vs. obesos con EHGNA. ICC: índice cintura-cadera.



ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA Y COMPOSICIÓN DE LA DIETA EN FUNCIÓN DEL IMC: SOBREPESO VS. OBESOS

Se observa que el grupo de pacientes con sobrepeso presentan una mayor adherencia a la dieta Mediterránea respecto al grupo de pacientes obesos.

	Sobrepeso (N= 63)	Obesos (N= 140)	p- valor
Cuestionario MEDAS, mediana	9	7	0,04

Tabla 5.24. Evaluación nutricional con cuestionario de adherencia a dieta mediterránea (cuestionario MEDAS - *Mediterranean Diet Adherence Screener*-) en función de pacientes con sobrepeso vs. obesos con EHGNA.

No se identificaron diferencias significativas respecto a la proporción de proteínas, lípidos, hidratos de carbono, vitamina E en la dieta entre obesos y pacientes con sobrepeso. Sin embargo, se observa una mayor ingesta de calorías en la dieta en el grupo de pacientes con sobrepeso respecto a los obesos de forma significativa. Sin embargo, no se observaron diferencias entre ambos grupos en cuanto al gasto energético basal.

	Sobrepeso (N= 63)	Obesos (N= 140)	p- valor
Proteínas, g/día	18,22± 3,57	18,89 ± 4,25	ns
Lípidos, g/día	38,30 ± 6,88	36,14 ± 8,74	ns
Carbohidratos, g/día	43,24± 7,29	44,95± 8,38	ns
Vitamina E, mg/día	8,51± 4,43	9,36 ± 6,32	ns
Calorías de la dieta, kcal/día	2153,7± 660,27	1878,49 ± 623,58	p<0.05
Gasto energético basal, kcal/día	1714,62 ± 229,73	1874,93 ± 333,65	ns

Tabla 5.25. Proporción de macronutrientes (proteínas, grasas e hidratos de carbono), vitamina E, calorías de la dieta y gasto energético basal en función de pacientes con sobrepeso vs. obesos con EHGNA. (g= gramos, kcal= kilocalorías).



ÍNDICES NO INVASIVOS EN FUNCIÓN DEL IMC: SOBREPESO VS. OBESOS

Se observa que las medidas de los valores de índices no invasivos de FLI, LAP y NFS en pacientes con sobrepeso son menores de forma significativa comparando con el grupo de pacientes con obesidad. No se identifican diferencias en los valores de FIB-4 entre ambos grupos.

	Sobrepeso (N= 63)	Obesos (N= 140)	p- valor
FLI	62,91± 22,67	82,87 ± 17,31	p<0.05
LAP	3,72 ± 0,75	4,07 ± 0,68	p<0.05
NFS	-3,13± 1,40	-1,37± 2,17	p<0.05
FIB-4	1,05± 0,89	1,01 ± 1,11	ns

Tabla 5.26. Índices no invasivos en función de pacientes con sobrepeso vs. obesos con EHGNA (FLI: Fat liver index, LAP: Lipid acumulation product, NAFLD FS: Non alcoholic fatty liver disease, FIB4: Fibrosis 4).



PARÁMETROS HISTOLÓGICOS EN FUNCIÓN DEL IMC: SOBREPESO VS. OBESOS

La proporción de pacientes con **esteatohepatitis** fue mayor en el grupo de pacientes obesos de manera estadísticamente significativa. No hubo diferencias estadísticamente significativas en los otros patrones histológicos analizados entre ambos grupos de pacientes.

Tampoco hubo diferencias en cuanto a presencia de fibrosis y fibrosis avanzada.

	Sobrepeso (N= 63)	Obesos (N= 140)	p- valor
Esteatosis simple, n (%)	16 (25,4)	25 (17,9)	ns
Balonización, n (%)	35 (55,6)	92 (65,7)	ns
Inflamación lobular, n (%)	42 (66,7)	110 (71,4)	ns
Esteatohepatitis, n (%)	26 (41,3)	83 (59,3)	0,017
Fibrosis (F ≥ 1), n (%)	26 (41,3)	71 (50,7)	ns
Fibrosis avanzada (F ≥ 2), n (%)	5 (7,9)	6 (4,3)	ns

Tabla 5.27. Parámetros histológicos en pacientes con sobrepeso vs. obesos diagnosticados de EHGNA.



ADIPOCITOQUINAS EN FUNCIÓN DEL IMC: SOBREPESO VS. OBESOS

Respecto a las adipocitoquinas, al estratificar por índice de masa corporal en los grupos de sobrepeso vs. obesos, se observan las siguientes diferencias:

En los pacientes con sobrepeso, encontramos niveles de adiponectina mayores y, los de resistina y leptina menores, de manera estadísticamente significativa comparados con el grupo de pacientes obesos.

	Sobrepeso (N= 63)	Obesos (N= 140)	p- valor
Adiponectina, ng/mL	22,50± 21,91	11,16 ± 18,11	0,03
Resistina, ng/mL	3,30 ± 1,71	8,09 ± 8,02	0,001
Leptina, ng/mL	22,94 ± 21,91	55,83 ± 45,02	0,001

Tabla 5.28. Adipocitoquinas según grupo de pacientes obesos vs. sobrepeso diagnosticados de EHGNA. Valores expresados como media ±DS.



POLIMORFISMOS DE LOS GENES PNPAL3 Y TNF α EN FUNCIÓN DEL IMC: SOBREPESO VS. OBESOS

Entre pacientes con sobrepeso y obesidad, no hubo diferencias significativas en la proporción de pacientes portadores del **alelo G** del gen PNPLA3, ni en la presencia del **alelo A** del gen del TNF α .

	Sobrepeso (N= 63)	Obesos (N= 140)	p- valor
PNPLA3 rs 738409			
CC n (%)	30 (16,95)	45 (25,42)	ns
CG o GG n (%)	25 (14,12)	77 (43,50)	
TNFα			
GG rs180069 n (%)	46 (26,44)	77 (44,25)	ns
GA o AA n (%)	9 (5,17)	42 (24,14)	

Tabla 5.29. Polimorfismos de los genes PNPLA3 y TNF α según pacientes con sobrepeso vs. obesos con EHGNA.



5.2.2. Factores asociados a la presencia de ESTEATOHEPATITIS en la biopsia hepática en pacientes con sobrepeso y Enfermedad por hígado graso no alcohólico

5.2.2.1. Análisis univariante

PARÁMETROS EPIDEMIOLÓGICOS

En el análisis univariante mayor edad y sexo masculino fueron factores de riesgo para el desarrollo de esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso con EHGNA.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
Edad (años)	1.067	1.019-1.117	0,005
Sexo masculino	4	1,169-13,683	0,027

Tabla 5.30. Análisis univariante de factores epidemiólogos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.



SM Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

En el análisis univariante tanto la hipertensión arterial sistólica como la diastólica y la DM-2 fueron factores de riesgo para el desarrollo de esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso con EHGNA. Así mismo, la presencia de SM también resultó ser un factor de riesgo para EHNA en este grupo de pacientes.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
Tensión arterial sistólica, mmHg	1.073	(1.032-1.116)	0.001
Tensión arterial diastólica, mmHg	1.073	(1.032-1.115)	0.001
Hipertensión	8.156	(2.601- 25.577)	0.001
DM-2	8.571	(0.937-78.405)	0.028
SM	4,978	(1,673-14,806)	0.004

Tabla 5.31. Análisis univariante de los factores de riesgo cardiovascular y metabólicos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.



PARÁMETROS ANALÍTICOS

En el análisis univariante, tanto la glucemia como el nivel de mayor de insulina y el HOMA-IR fueron factores de riesgo para el desarrollo de esteatohepatitis en pacientes no obesos con EHGNA.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
AST, UI/L	1.008	0.998-1.019	ns
ALT, UI/L	1.016	0.998-1.035	ns
GGT, UI/L	0.994	0.986-1.003	ns
Fosfatasa alcalina, UI/L	0.996	0.977-1.015	ns
Bilirrubina total, mg/dL	1.684	0.776-3.654	ns
Creatinina, mg/dL	1.165	0.055-24.805	ns
Albúmina, g/dL	0.477	0.163-1.399	ns
Glucosa, mg/dL	1.038	1.004-1.074	0.030
HOMA-IR	2.036	1.305-3.176	0.002
Insulina, mg/dL	1.224	1.087-1.378	0.001
Colesterol total, mg/dL	0.997	0.987-1.007	ns
Triglicéridos, mg/dL	1.005	0.999-1.012	ns
LDL-colesterol, mg/dL	1.001	0.987-1.015	ns
HDL-colesterol, mg/dL	0.975	0.939-1.013	ns
Plaquetas, $10^3 / \mu\text{l}$	0.992	0.984-1.001	ns
Ferritina, ng/mL	1.001	0.997-1.004	ns

Tabla 5.32. Análisis univariante de factores bioquímicos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.



PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS

En el análisis univariante ni el índice de masa corporal ni el perímetro de cintura, ni la masa grasa ni el ángulo de fase fueron factores de riesgo para el desarrollo de esteatohepatitis en pacientes no obesos con EHGNA. **Sin embargo, el pliegue tricípital sí mostró asociación significativa.**

Variable	OR	IC 95%	p-valor
IMC, kg/m ²	1.184	0.942-1.488	ns
Perímetro de cintura, cm	1.018	0.955-1.084	ns
Pliegue tricípital, mm	1.092	1.004-1.188	0.04
Masa grasa, %	1.028	0.947-1.116	ns
Ángulo de fase	0.665	0.419-1.055	ns

Tabla 5.33. Análisis univariante de los factores antropométricos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.

ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA

Se observa que el seguimiento de la dieta mediterránea es factor protector para el desarrollo de esteatohepatitis en el grupo de pacientes con sobrepeso.

Variable	Análisis univariante		
	OR	IC 95%	p-valor
Cuestionario MEDAS	0,667	0,501-0,890	0,006

Tabla 5.34. Análisis univariante de los factores nutricionales medidos mediante el cuestionario MEDAS asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.



COMPOSICIÓN DE LA DIETA

En el análisis univariante, se observa que las **calorías de la dieta** es un **factor de riesgo** para el desarrollo de EHNA en el grupo de sobrepeso. El resto de variables no alcanzaron la significación.

Variable	Análisis univariante		
	OR	IC 95%	p-valor
Proteínas, g/día	0.983	0.960-1.006	ns
Lípidos, g/día	0.983	0.965-1.002	ns
Carbohidratos, g/día	1	0.998-1.003	ns
Vitamina E, mg/día	1.029	0.912-1.161	ns
Calorías de la dieta, kcal/día	0.999	0.998-1	0.028
Gasto energético basal, kcal/día	0.999	0.995-1.002	ns

Tabla 5.35. Análisis univariante de las proporciones de los diferentes macronutrientes analizados, vitamina E, calorías de la dieta y gasto energético basal asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.

ÍNDICES NO INVASIVOS

En el análisis univariante, se observa una asociación entre los valores de los índices de NFS y FIB-4 y el desarrollo de EHNA en el grupo de paciente con sobrepeso. En el resto de índices no invasivos no se observaron diferencias significativas.

Variable	Análisis univariante		
	OR	IC 95%	p-valor
FLI	0.999	0.973-1.026	ns
LAP	2	0.748-5.344	ns
NFS	1.977	1.238-3.158	0.004
FIB-4	5.644	1.647-19.336	0.006

Tabla 5.36. Análisis univariante de las medidas de los índices no invasivos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA. (FLI: Fat liver index, LAP: Lipid accumulation product, NFS: Non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score, FIB4: Fibrosis 4).



ADIPOCITOQUINAS

En el análisis univariante se observa que los niveles de **leptina** son un factor de riesgo para el desarrollo de EHNA en el grupo de pacientes con sobrepeso. La adiponectina y la resistina no mostraron asociación significativa.

Análisis univariante			
Variable	OR	IC 95%	p-valor
Adiponectina, ng/mL	0.756	0.454-1.258	ns
Resistina, ng/mL	0.756	0.454-1.258	ns
Leptina, ng/mL	1.048	1.011-1.086	0.01

Tabla 5.37. Análisis univariante de las adipocitoquinas analizadas asociadas a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.

POLIMORFISMOS DE LOS GENES PNPLA3 Y TNF α

En el análisis univariante ser portador del alelo G del gen PNPLA3 y el alelo A del gen del TNF α no fue un factor de riesgo para el desarrollo de esteatohepatitis en pacientes no obesos con EHGNA.

Análisis univariante			
Variable	OR	IC 95%	p-valor
PNPLA3, portadores del alelo G	1.810	0.511-6.403	ns
TNFα, portadores del alelo A	0.483	0.105-2.220	ns

Tabla 5.38. Análisis univariante de los polimorfismos de riesgo de PNPLA3 y TNF α asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.



5.2.2.2. Análisis multivariante. Factores asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso

Tras realizar el análisis univariante donde identificamos que la edad, el sexo masculino, la hipertensión arterial sistólica y diastólica, DM-2, la presencia de SM, los niveles en plasma de glucosa, de insulina, el índice HOMA, el pliegue tricípital, las calorías de la dieta, los índices no invasivos NFS, FIB-4, mayores niveles de leptina y la adherencia a la dieta mediterránea muestran una asociación significativa con la presencia de esteatohepatitis en la biopsia hepática del grupo de pacientes con sobrepeso, realizamos el **análisis multivariante**. En este último análisis se identificó únicamente el **índice HOMA** como **factor de riesgo independiente para la EHNA** en el grupo de pacientes con sobrepeso.

Variable	Análisis multivariante		
	OR	IC 95%	p-valor
HOMA-IR	2,029	1,119-3,682	0,02

Tabla 5.39. Análisis multivariante del HOMA-IR asociado a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.

En el análisis multivariante observamos que solo el **cumplimiento de la dieta mediterránea es un factor protector independiente** ajustado al resto de variables para el desarrollo de esteatohepatitis en el grupo de pacientes con sobrepeso.

Variable	Análisis multivariante		
	OR	IC 95%	p-valor
Cuestionario MEDAS	0,7	0,5-0,8	0,002

Tabla 5.40. Análisis multivariante de los factores nutricionales medidos mediante el cuestionario MEDAS asociados a la esteatohepatitis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.



5.2.3. Factores asociados a la presencia de FIBROSIS hepática en pacientes con sobrepeso y Enfermedad por hígado graso no alcohólico

5.2.3.1. Análisis univariante

PARÁMETROS EPIDEMIOLÓGICOS

El análisis univariante se observó que en los pacientes con sobrepeso la presencia de fibrosis se asocia con mayor edad y al sexo masculino.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
Edad (años)	1.049	1.005- 1.094	0.028
Sexo masculino	4	1.169- 13.683	0.027

Tabla 5.41. Análisis univariante de factores epidemiólogos asociados a la fibrosis hepática en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.

SM Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

En el análisis univariante la hipertensión arterial se asocia de forma significativa con presencia de fibrosis en el grupo de pacientes con sobrepeso.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
Tensión sistólica, mmHg	1.029	(0.999- 1.060)	ns
Tensión diastólica, mmHg	1.018	(0.988- 1.049)	ns
Diagnóstico de hipertensión	3.223	(1.128- 9.21)	0.029
Diagnóstico de diabetes	8.571	(0.937- 78.405)	ns
SM	0.632	(0.227- 1.761)	ns

Tabla 5.42. Análisis univariante de los factores de riesgo cardiovascular y metabólicos asociados a la fibrosis hepática en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.



PARÁMETROS ANALÍTICOS

En el análisis univariante observamos que los niveles elevados de transaminasas, de insulina y el **HOMA-IR** son factores de riesgo para el desarrollo de fibrosis hepática en pacientes con EHGNA y sobrepeso. Sin embargo, los niveles más elevados de albúmina son un factor protector.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
AST, UI/L	1.016	(1.003- 1.030)	0.019
ALT, UI/L	1.031	(1.004- 1.059)	0.022
GGT, UI/L	1.002	(0.994- 1.010)	ns
Fosfatasa alcalina, UI/L	1.004	0.987-1.023	ns
Bilirrubina total, mg/dL	1.229	(0.657- 2.297)	ns
Creatinina, mg/dL	0.157	(0.006- 3.874)	ns
Albúmina, g/dL	0.276	0.087-0.878	0.029
Glucosa, mg/dL	1.022	(0.994- 1.049)	ns
HOMA-IR	1.423	(1.057- 1.916)	0.020
Insulina, mg/dL	1.111	1.017-1.214	0.020
Colesterol total, mg/dL	0.992	(0.981- 1.002)	ns
Triglicéridos, mg/dL	1.001	(0.995- 1.007)	ns
LDL-colesterol, mg/dL	0.996	(0.982- 1.010)	ns
HDL-colesterol, mg/dL	0.978	(0.942- 1.015)	ns
Plaquetas, $10^3 / \mu\text{l}$	0.996	(0.988- 1.004)	ns
Ferritina, ng/mL	1.001	0.997-1.005	ns

Tabla 5.43. Análisis univariante de factores bioquímicos asociados a la fibrosis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.



PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS

En el análisis univariante ni el índice de masa corporal ni el perímetro de cintura fueron factores de riesgo para el desarrollo de fibrosis hepática en pacientes con sobrepeso con EHGNA: Tampoco se observó asociación con pliegue tricípital, masa grasa ni el ángulo de fase.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
IMC, kg/m ²	0.951	(0.767- 1.179)	ns
Perímetro de cintura, cm	0.97	(0.91- 1.035)	ns
Pliegue tricípital, mm	1.078	0.994-1.171	ns
Masa grasa, %	1.125	0.992-1.275	ns
Ángulo de fase	0.855	0.607-1.205	ns

Tabla 5.44. Análisis univariante de los factores antropométricos asociados a la fibrosis hepática en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.

ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA

Se observa que el seguimiento de la dieta mediterránea es factor protector para el desarrollo de fibrosis hepática en el grupo de pacientes con EHGNA y sobrepeso.

Variable	Análisis univariante		
	OR	IC 95%	p-valor
Cuestionario MEDAS	0,667	0,501-0,890	0,006

Tabla 5.45. Análisis univariante de los factores nutricionales medidos mediante el cuestionario MEDAS asociados a la fibrosis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.



COMPOSICIÓN DE LA DIETA

En el análisis univariante no observamos asociación significativa entre la composición de la dieta y la presencia de fibrosis.

Variable	Análisis univariante		
	OR	IC 95%	p-valor
Proteínas, g/día	0.990	0.968-1.012	ns
Lípidos, g/día	0.978	0.959-1	ns
Carbohidratos, g/día	0.994	0.987-1.001	ns
Vitamina E, mg/día	0.944	0.829-1.076	ns
Calorías de la dieta, kcal/día	0.999	0.998-1	ns
Gasto energético basal, kcal/día	0.997	0.993-1.001	ns

Tabla 5.46. Análisis univariante de las proporciones de los diferentes macronutrientes analizados, vitamina E, calorías de la dieta y gasto energético basal asociados a la fibrosis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.

ÍNDICES NO INVASIVOS

En el análisis univariante observamos que valores más altos en los índices de fibrosis como NFS y en FIB-4 se asocian con a la presencia de fibrosis en pacientes con sobrepeso.

Variable	Análisis univariante		
	OR	IC 95%	p-valor
FLI	0.986	0.959-1.012	ns
LAP	0.717	0.322-1.595	ns
NFS	1.556	1.040-2.329	0.032
FIB-4	3.052	1.125-8.280	0.028

Tabla 5.47. Análisis univariante de las medidas de los índices no invasivos asociados a la fibrosis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA. (FLI: Fat liver index, LAP: Lipid accumulation product, NFS: Non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score, FIB4: Fibrosis 4).



ADIPOCITOQUINAS

Al igual que los pacientes con EHNA, en el análisis univariante se observa que mayores niveles de leptina son un factor de riesgo para el desarrollo de fibrosis en el grupo de pacientes con sobrepeso. La adiponectina y la resistina no alcanzaron la significación.

Variable	Análisis univariante		
	OR	IC 95%	p-valor
Adiponectina, ng/mL	0.996	0.968-1.025	ns
Resistina, ng/mL	0.912	0.620-1.342	ns
Leptina, ng/mL	1.045	1.007-1.084	0.019

Tabla 5.48. Análisis univariante de las adipocitoquinas analizadas asociados a la fibrosis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHNA.

POLIMORFISMOS DE LOS GENES PNPLA3 Y TNF α

En el análisis univariante el alelo A del gen TNF α demostró ser un factor protector de fibrosis en este grupo de pacientes.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
PNPLA3, portadores del alelo G	0.857	(0.263- 2.792)	ns
TNF α , portadores del alelo A	0.179	(0.032- 0.996)	0.049

Tabla 5.49. Análisis univariante de los polimorfismos de riesgo de PNPLA3 y TNF α asociados a la fibrosis hepática en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHNA.



5.2.3.2. Análisis multivariante

El **análisis multivariante** demuestra que la HOMA-IR es un factor predictor independiente para fibrosis en el grupo de pacientes con sobrepeso mientras que la adherencia a la dieta mediterránea es un factor protector.

Variable	Análisis multivariante		
	OR	IC 95%	p-valor
HOMA-IR	1,8	1,1- 2,8	0,007
Cuestionario MEDAS	0,095	0,017-0,548	0,008

Tabla 5.50. Análisis multivariante del factor bioquímico HOMA-IR como factor asociado a fibrosis hepática en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA y de los factores nutricionales medidos mediante el cuestionario MEDAS asociados a la fibrosis en pacientes con sobrepeso diagnosticados de EHGNA.

5.2.4. Factores asociados a la presencia de ESTEATOHEPATITIS en la biopsia hepática en pacientes con OBESIDAD y Enfermedad por hígado graso no alcohólico

5.2.4.1. Análisis univariante

PARÁMETROS EPIDEMIOLÓGICOS

En el análisis univariante ni la edad ni el sexo fueron factores con asociación significativa con la esteatohepatitis en pacientes obesos.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
Edad (años)	0,983	0,955-1,012	ns
Sexo masculino	0,968	0,493-1,012	ns

Tabla 5.51. Análisis univariante de factores epidemiológicos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.



SM Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

En el análisis univariante tanto cifras elevadas de tensión arterial sistólica y diastólica como la presencia de hipertensión o diabetes fueron factores de riesgo para el desarrollo de esteatohepatitis en pacientes obesos con EHGNA. Sin embargo, la presencia de SM no resultó ser un factor de riesgo para EHNA en este grupo de pacientes.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
Tensión arterial sistólica, mmHg	1.015	(1-1.029)	0.045
Tensión arterial diastólica, mmHg	1.031	(1.012-1.050)	0.001
Hipertensión	2,107	(1,047 – 4,242)	0.037
DM-2	3,149	(1,514 -6,549)	0.002
SM	0.758	(0.382-1,505)	ns

Tabla 5.52. Análisis univariante de los factores de riesgo cardiovascular y metabólicos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.



PARÁMETROS ANALÍTICOS

En el análisis univariante observamos de nuevo que la HOMA-IR es un factor de riesgo para el desarrollo de esteatohepatitis en pacientes obesos con HGNA. Los niveles de albúmina fueron factor protector en este grupo de pacientes.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
AST, UI/L	1.002	0.991-1.013	ns
ALT, UI/L	1.003	0.994-1.012	ns
GGT, UI/L	0.999	0.994-1.003	ns
Fosfatasa alcalina, UI/L	1.006	0.994-1.018	ns
Bilirrubina total, mg/dL	1.145	0.655-2.004	ns
Creatinina, mg/dL	0.473	0.087-2.589	ns
Albúmina, g/dL	0.436	0.197-0.965	0.041
Glucosa, mg/dL	1.07	0.997-1.018	ns
HOMA-IR	1,372	1.159- 1,624	0.0001
Insulina, mg/dL	1.027	0.985-1.071	ns
Colesterol total, mg/dL	0.999	0.992-1.006	ns
Triglicéridos, mg/dL	1.000	0.995-1.005	ns
LDL-colesterol, mg/dL	1.002	0.992-1.011	ns
HDL-colesterol, mg/dL	1,002	0.981-1.024	ns
Plaquetas, $10^3 / \mu\text{l}$	0.998	0.993-1.002	ns
Ferritina, ng/mL	1	0.998-1.002	ns

Tabla 5.53. Análisis univariante de factores bioquímicos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.



PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS

Las variables antropométricas estudiadas no obtuvieron la significación.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
IMC, kg/m ²	1.037	0.995-1.081	ns
Perímetro de cintura, cm	1.018	0.955-1.084	ns
Pliegue tricípital, mm	1.064	0.993-1.139	ns
Masa grasa, %	0.983	0.840-1.150	ns
Ángulo de fase	1.142	0.921-1.415	ns

Tabla 5.54. Análisis univariante de los factores antropométricos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA. IMC: índice de masa corporal.

ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA

Se observa que el seguimiento de la dieta mediterránea es factor protector para el desarrollo de esteatohepatitis en el grupo de pacientes obesos.

Variable	Análisis univariante		
	OR	IC 95%	p-valor
Cuestionario MEDAS	0,087	0,015-0,498	0,006

Tabla 5.55. Análisis univariante de los factores nutricionales medidos mediante el cuestionario MEDAS asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.



COMPOSICIÓN DE LA DIETA

En el análisis univariante, no se obtuvo significación para las variables de la dieta en los pacientes obesos con HGNA para el desarrollo de EHNA.

Variable	Análisis univariante		
	OR	IC 95%	p-valor
Proteínas, g/día	0.986	0.966-1.006	ns
Lípidos, g/día	1.002	0.990-1.019	ns
Carbohidratos, g/día	0.999	0.992-1.006	ns
Vitamina E, mg/día	0.969	0.890-1.055	ns
Calorías de la dieta, kcal/día	1	0.999-1.001	ns
Gasto energético basal, kcal/día	1	0.999-1.003	ns

Tabla 5.56. Análisis univariante de las proporciones de los diferentes macronutrientes analizados, vitamina E, calorías de la dieta y gasto energético basal asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.

ÍNDICES NO INVASIVOS

A diferencia de los pacientes con sobrepeso, en pacientes con obesidad y EHNA no se observó asociación entre ésta y los valores de los índices no invasivos.

Variable	Análisis univariante		
	OR	IC 95%	p-valor
FLI	1.012	0.977-1.047	ns
LAP	0.897	0.375-2.145	ns
NFS	1.063	0.893-1.266	ns
FIB-4	0.924	0.679-1.258	ns

Tabla 5.57. Análisis univariante de las medidas de los índices no invasivos asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA. (FLI: Fat liver index, LAP: Lipid accumulation product, NFS Non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score, FIB4: Fibrosis 4).



ADIPOCITOQUINAS

A diferencia de los pacientes con sobrepeso, en pacientes con obesidad y EHNA no se obtuvo significación en cuanto a los niveles de adiponectina, resistina y leptina.

Análisis univariante			
Variable	OR	IC 95%	p-valor
Adiponectina, ng/mL	1.009	0.978-1.041	ns
Resistina, ng/mL	1.009	0.944-1.079	ns
Leptina, ng/mL	1	0,990-1,011	ns

Tabla 5.58. Análisis univariante de las adipocitoquinas analizadas asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.

POLIMORFISMOS DE LOS GENES PNPLA3 Y TNF α

En el análisis univariante ser portador del alelo A del gen del TNF α fue un factor de riesgo para el desarrollo de esteatohepatitis en pacientes obesos con EHGNA. Sin embargo, ser portador del alelo G del gen PNPLA3 no alcanzó la significación estadística.

Análisis univariante			
Variable	OR	IC 95%	p-valor
PNPLA3, portadores del alelo G	0,709	0.338-1,491	ns
TNF α , portadores del alelo A	2,227	1,018-4,868	0,045

Tabla 5.59. Análisis univariante de los polimorfismos de riesgo de PNPLA3 y TNF α asociados a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.



5.2.4.2. Análisis multivariante

En el análisis multivariante observamos que nuevamente la RI medida por el **índice HOMA** fue **factor de riesgo independiente para la EHNA** en el grupo de pacientes con OBESIDAD.

Variable	Análisis multivariante		
	OR	IC 95%	p-valor
HOMA-IR	1,955	1,056-3,618	0,033

Tabla 5.60. Análisis multivariante del HOMA-IR asociado a la esteatohepatitis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.

5.2.5. Factores asociados a la presencia de FIBROSIS hepática en pacientes con OBESIDAD y Enfermedad por hígado graso no alcohólico

5.2.5.1. Análisis univariante

PARÁMETROS EPIDEMIOLÓGICOS

El análisis univariante mostró que el sexo masculino se asocia de forma significativa con la presencia de fibrosis en el grupo de pacientes obesos.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
Edad (años)	0,996	0,987- 1.006	ns
Sexo masculino	2,087	1.056- 4,124	0.034

Tabla 5.61. Análisis univariante de factores epidemiólogos asociados a la fibrosis hepática en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.



SM Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

En el análisis univariante la presencia de SM se asocia de forma significativa con la presencia de fibrosis en el grupo de pacientes con obesidad y EHGNA.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
Tensión sistólica, mmHg	1.005	(0.993-1.017)	ns
Tensión diastólica, mmHg	1.011	(0.994- 1.028)	ns
Hipertensión	1,762	(0,891- 3,485)	ns
DM-2	1,438	(0,713- 2,900)	ns
SM	2,283	(1,143- 4,559)	0,019

Tabla 5.62. Análisis univariante de los factores de riesgo cardiovascular y metabólicos asociados a la fibrosis hepática en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA



PARÁMETROS ANALÍTICOS

En el análisis univariante niveles elevados de fosfatasa alcalina, de glucosa en plasma y de HOMA-IR fueron factores de riesgo para el desarrollo de fibrosis hepática en pacientes obesos con EHGNA. Sin embargo, los niveles de albúmina y plaquetas presentan asociación inversa.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
AST, UI/L	1.001	0.990-1.011	ns
ALT, UI/L	1.002	0.993-1.011	ns
GGT, UI/L	1	0.996-1.005	ns
Fosfatasa alcalina, UI/L	1.013	1-1.026	0.043
Bilirrubina total, mg/dL	0.761	0.428-1.351	ns
Creatinina, mg/dL	0.251	0.045-1.318	ns
Albúmina, g/dL	0.148	0.061-0.361	0.000
Glucosa, mg/dL	1,013	1,002-1,024	0,022
HOMA-IR	1.170	1.032-1.328	0.014
Insulina, mg/dL	1.036	0.994-1.080	ns
Colesterol total, mg/dL	1	0.993- 1.008	ns
Triglicéridos, mg/dL	1.003	0.998- 1.008	ns
LDL-colesterol, mg/dL	1,005	0.995- 1.014	ns
HDL-colesterol, mg/dL	1,009	0.986- 1.033	ns
Plaquetas, $10^3 / \mu\text{l}$	0.995	0.990- 1	0,049
Ferritina, mg/dL	1	0.998-1.001	ns

Tabla 5.63. Análisis univariante de factores bioquímicos asociados a la fibrosis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.



PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS

En el análisis univariante tanto el índice de masa corporal como el pliegue tricípital se identificaron como factores de riesgo para fibrosis hepática en pacientes obesos con EHGNA.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
IMC, kg/m ²	1,050	1.008- 1.093	0,020
Perímetro de cintura, cm	1,021	0.989- 1.054	ns
Pliegue tricípital , mm	1.081	1.007-1.160	0.031
Masa grasa, %	1.088	0.928-1.275	ns
Ángulo de fase	0.926	0.757-1.132	ns

Tabla 5.64. Análisis univariante de los factores antropométricos asociados a la fibrosis hepática en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.

ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA

Se observa que el seguimiento de la dieta mediterránea es factor protector para el desarrollo de fibrosis hepática en el grupo de pacientes obesos.

Variable	Análisis univariante		
	OR	IC 95%	p-valor
Cuestionario MEDAS	0,640	0,478-0,858	0,003

Tabla 5.65. Análisis univariante de los factores nutricionales medidos mediante el cuestionario MEDAS asociados a la fibrosis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.



COMPOSICIÓN DE LA DIETA

Al igual que en el análisis univariante para EHNA, no se halló la significación estadística para las variables de la composición de la dieta en pacientes obesos para el riesgo de fibrosis.

Análisis univariante			
Variable	OR	IC 95%	p-valor
Proteínas, g/día	1.011	0.991-1.031	ns
Lípidos, g/día	1.003	0.988-1.017	ns
Carbohidratos, g/día	1.004	0.997-1.012	ns
Vitamina E, mg/día	0.979	0.897-1.069	ns
Calorías de la dieta, kcal/día	1	1-1.001	ns
Gasto energético basal, kcal/día	0.999	0.996-1.003	ns

Tabla 5.66. Análisis univariante de las proporciones de los diferentes macronutrientes analizados, vitamina E, calorías de la dieta y gasto energético basal asociados a la fibrosis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.



ÍNDICES NO INVASIVOS

En el análisis univariante mayores puntuaciones en el índice NFS supone factor de riesgo para la presencia de fibrosis en pacientes con obesidad diagnosticados de HGNA. El resto de índices no invasivos (FLI, LAP, FIB-4) no alcanzaron la significación.

Variable	Análisis univariante		
	OR	IC 95%	p-valor
FLI	1.009	0.973-1.047	ns
LAP	1.585	0.629-3.992	ns
NFS	1.424	1.116-1.1816	0.004
FIB-4	1.048	0.769-1.427	ns

Tabla 5.67. Análisis univariante de las medidas de los índices no invasivos asociados a la fibrosis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA. (FLI: Fat liver index, LAP: Lipid acumulation product, NFS Non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score, FIB4: Fibrosis 4).

ADIPOCITOQUINAS

En el análisis univariante los niveles de adiponectina, resistina y leptina no fueron estadísticamente significativos al relacionarlos con la presencia de fibrosis en el grupo de pacientes obesos.

Variable	Análisis univariante		
	OR	IC 95%	p-valor
Adiponectina, ng/mL	1,013	0,989-1,047	ns
Resistina, ng/mL	1,036	0,960-1,118	ns
Leptina, ng/mL	1	0,990-1,011	ns

Tabla 5.68. Análisis univariante de las adipocitoquinas analizadas asociados a la fibrosis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.



POLIMORFISMOS DE LOS GENES PNPLA3 Y TNF α

En el análisis univariante, ser portador del alelo A del gen del TNF α fue un factor de riesgo para el desarrollo de fibrosis en pacientes obesos con EHGNA. Sin embargo, ser portador del alelo G del gen PNPLA3 no alcanzó la significación estadística.

Variable	OR	IC 95%	p-valor
PNPLA3, portadores del alelo G	0,867	(0,369- 2,2,034)	ns
TNF α , portadores del alelo A	3,333	(1,519- 7,314)	0,003

Tabla 5.69. Análisis univariante de los polimorfismos de riesgo de PNPLA3 y TNF α asociados a la fibrosis hepática en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.

5.2.5.2. Análisis multivariante

En el análisis multivariante ajustado, observamos que la edad es un **factor de riesgo independiente de fibrosis** en el grupo de pacientes con OBESIDAD mientras que la adherencia a la DM nuevamente fue un **factor protector** tras ajustar por otras variables.

Variable	Análisis multivariante		
	OR	IC 95%	p-valor
Edad, años	1,118	1,025-1,219	0,012
Cuestionario MEDAS	0,132	0,031-0,565	0,006

Tabla 5.70. Análisis multivariante para la edad asociado a la fibrosis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA, y de los factores nutricionales medidos mediante el cuestionario MEDAS asociados a la fibrosis en pacientes con obesidad diagnosticados de EHGNA.



6. DISCUSIÓN



6. DISCUSIÓN

6.1 Aspectos generales

El HGNA representa un problema emergente de salud pública mundial y es la causa más frecuente de hepatopatía crónica en nuestro medio con una prevalencia del 20-30 % (23). El HGNA puede evolucionar desde la esteatosis simple a la esteatohepatitis con diferentes grados de fibrosis hasta la cirrosis, con el riesgo que ello conlleva de desarrollar un hepatocarcinoma(5). Además, el HGNA se relaciona con una creciente morbilidad de origen extrahepático, asociándose a la presencia de SM, neoplasias y complicaciones de la DM.

Numerosos estudios epidemiológicos han demostrado la estrecha asociación existente entre obesidad y el desarrollo de HGNA (224). Sin embargo, en los últimos años dado el incremento de la prevalencia del HGNA asociada al incremento de la prevalencia de la DM y la obesidad, disponemos de más datos en poblaciones como pacientes no obesos con sobrepeso, $IMC >25 \text{ kg/m}^2$ y $< 30 \text{ kg/m}^2$, diagnosticados de HGNA, encontrando un escaso número de estudios que analicen los factores favorecedores del avance de dicha entidad y menos aún en individuos con $IMC <25 \text{ Kg/m}^2$. En esta población de paciente con normopeso también puede existir HGNA hasta en un 6-10% según las series. Se ha publicado recientemente una revisión de la Asociación Americana de Gastroenterología sobre la práctica clínica del HGNA en el paciente con normopeso ($IMC <25 \text{ Kg/m}^2$), con el objetivo de brindar una evaluación clínica adecuada en este tipo de pacientes, sugiriendo un cribado tanto de la DM, dislipemia o HTA, además de descartar correctamente otro tipo de causas de esteatosis hepática, como VIH, o de origen farmacológico, entre otras, además de considerar la biopsia hepática si existen dudas diagnósticas es insistir en el consumo concomitante de alcohol como causa de la hepatopatía (225).



En estas guías de práctica clínica citadas (225), no se aconseja realizar cribado de HGNA en personas con normopeso, pero en aquellos pacientes mayores de 40 años con DM sugieren descartar la presencia de HGNA. También se aconseja, al igual que en pacientes con sobrepeso u obesidad, que en pacientes con HGNA con normopeso. La pérdida de un 3-5% de su peso realizando una intervención en el estilo de vida, tanto en su dieta, como realización de ejercicio físico.

En nuestro trabajo se han incluido un total de 203 pacientes diagnosticados de HGNA por medio de biopsia hepática, de éstos:

- 140 eran **obesos** ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$)
 - Obesidad tipo I ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$ y $< 34,9 \text{ kg/m}^2$): 45 pacientes
 - Obesidad tipo II ($IMC > 35 \text{ kg/m}^2$ y $< 39,9 \text{ kg/m}^2$): 23 pacientes
 - Obesidad tipo III ($IMC > 40 \text{ kg/m}^2$): 72 pacientes
- 63 tenían **sobrepeso** ($IMC > 25 \text{ kg/m}^2$ y $< 30 \text{ kg/m}^2$).

En nuestro análisis de la muestra, fue significativamente mayor la presencia de esteatohepatitis en los pacientes obesos, pero no encontrando diferencias significativas en grados más avanzados de fibrosis en la histología hepática.

En adelante, describiremos los factores que hemos observado se asocian a la presencia de HGNA y sus diferentes estadios de la enfermedad en ambas cohortes.

6.2. Hallazgos histológicos en relación con el IMC en nuestra muestra de pacientes con HGNA

En cuanto a los hallazgos histológicos, hemos observado que en el grupo de obesos fue significativamente más prevalente la EHNA en comparación con el grupo de pacientes con sobrepeso, con una tendencia a un menor grado de



inflamación y balonización en pacientes con sobrepeso, aunque estas diferencias no fueron significativas. Por otro lado, como se ha mencionado anteriormente, no hubo diferencias en cuanto a la presencia de fibrosis o fibrosis avanzada entre ambos grupos.

Existen pocas series que evalúen las diferencias histológicas de pacientes no obesos con HGNA y, además, con resultados poco concluyentes.

El estudio prospectivo publicado por Leung y cols. (226) que contaba con una cohorte de 307 pacientes de los cuales 72 no eran obesos, mostró que estos pacientes tenían menos EHNA, un menor grado de esteatosis y balonización; sin embargo, no encontraron diferencias significativas en cuanto a la presencia de EHNA entre ambos grupos, a diferencia de nuestro estudio. Por otro lado, en dicho estudio, determinaron un menor grado de fibrosis en el grupo de no obesos, pero no hubo diferencias en cuanto a la presencia de fibrosis avanzada entre ambos grupos. Así mismo, en este estudio observaron que la hipertrigliceridemia y niveles más altos de creatinina se asociaban a enfermedad hepática avanzada en no obesos, sin embargo, la presencia de hepatocarcinoma se documentó únicamente en el grupo de pacientes obesos; en nuestra serie no se identificó ningún caso de hepatocarcinoma ni en el grupo de obesidad ni en el de sobrepeso.

En un estudio de cohortes retrospectivo italiano publicado por Fracanzani, y cols. (227) con una cohorte de 669 pacientes, con 142 pacientes con normopeso ($\text{IMC} < 25 \text{ kg/m}^2$), y 526 con obesidad y sobrepeso, identificaron menor presencia de EHNA y fibrosis significativa en el grupo de pacientes sin sobrepeso/obesidad. No obstante, aquellos pacientes con normopeso, pero con **obesidad visceral o abdominal**, definida como un perímetro de cintura $>102 \text{ cm}$ y $>88 \text{ cm}$ en hombres y en mujeres respectivamente, presentaban mayor prevalencia de EHNA, fibrosis significativa y SM, comparados con aquellos pacientes con perímetro de cintura normal.



En 2018 Hagström y cols. (228) publicaron un estudio de cohortes, que incluía un total de 646 pacientes con HGNA, tras un seguimiento medio de 19,9 años, identificaron que los pacientes que desarrollaron una enfermedad hepática grave relacionada con el HGNA eran de mayor edad y tenían estadios más avanzados de fibrosis al inicio del estudio, pero no se observaron diferencias significativas entre los pacientes con HGNA con normopeso ($IMC < 25 \text{ kg/m}^2$) comparados con los pacientes con sobrepeso.

6.3. Presencia de SM y factores de riesgo cardiovascular: relación con el IMC en nuestra muestra de pacientes con HGNA

En nuestro estudio no hubo diferencias entre el grupo de obesos y no obesos respecto a la proporción de pacientes con diagnóstico de SM. En el grupo de pacientes con obesidad se identificó mayor proporción de DM-2 comparado con el grupo con sobrepeso, en cuanto a la TA no hubo diferencias entre ambos grupos.

En el *análisis univariante* del grupo de pacientes con **sobrepeso**, el antecedente de HTA se asoció de forma significativa con la presencia de **fibrosis hepática**, no se obtuvo dicha asociación para la presencia de EHNA en este grupo; en el *análisis multivariante* la HTA no resultó ser un factor independiente asociado ni a **fibrosis** ni a **EHNA** en este grupo de pacientes. En este mismo grupo ni la TAS, TAD, ni la presencia de DM-2 ni de SM se identificaron como factores de riesgo ni para EHNA, ni para fibrosis.

En el *análisis univariante* del grupo de pacientes **obesos**, tanto cifras elevadas de TAS y TAD, como la presencia de HTA o DM-2 fueron factores de riesgo para el desarrollo de EHNA, aunque no se obtuvo la significación en el *análisis multivariante*. La presencia de SM no resultó ser un factor de riesgo para el desarrollo de EHNA en el grupo de pacientes con obesidad y HGNA. Curiosamente, en el *análisis univariante* la presencia de SM se asoció de forma significativa con



la presencia de **fibrosis en el grupo de pacientes obesos con HGNA**, peso a ello no se halló la significación estadística en el *análisis multivariante*. En este grupo de pacientes no se identificó ni los niveles elevados de TAS, TAD ni la presencia de HTA o DM-2 como factores de riesgo de fibrosis hepática.

Numerosos estudios epidemiológicos han informado de la estrecha relación entre la obesidad y el HGNA (224). Sin embargo, aún pocos estudios han abordado los factores asociados con el HGNA en pacientes no obesos (IMC < 30 kg/m²), donde se cree que el *estatus metabólico* juega un papel importante.

Ampuero y cols. (229) diseñaron en un estudio multicéntrico incluyendo a 1058 pacientes del registro español Hepamet con diagnóstico de HGNA mediante biopsia hepática, con el objetivo de estudiar el impacto del estatus metabólico tanto en pacientes obesos como con sobrepeso en dicha entidad. Entre los factores de riesgo metabólico estaba incluida la HTA, además de DM, bajos niveles de HDL e hipertrigliceridemia. Se definieron cuatro grupos: pacientes obesos metabólicamente sanos, obesos metabólicamente enfermos, no obesos metabólicamente sanos y no obesos metabólicamente enfermos. En este estudio los pacientes con sobrepeso que contaban con al menos uno de estos factores de riesgo metabólico (*grupo no obeso metabólicamente enfermo*), sin especificar cuales, se asoció de manera independiente a la presencia de EHNA. Estos hallazgos apuntan a un mayor impacto de los trastornos metabólicos en la gravedad de la enfermedad hepática que la propia obesidad.

En nuestra muestra de pacientes, había 38 (60.3%) pacientes metabólicamente sanos en el grupo de pacientes con sobrepeso, y un total de 62 (44.3%) pacientes en el grupo de obesidad.



ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS Y GENOTÍPICAS
EN PACIENTES CON HIGADO GRASO NO ALCOHOLICO CON SOBREPESO VS. OBESIDAD

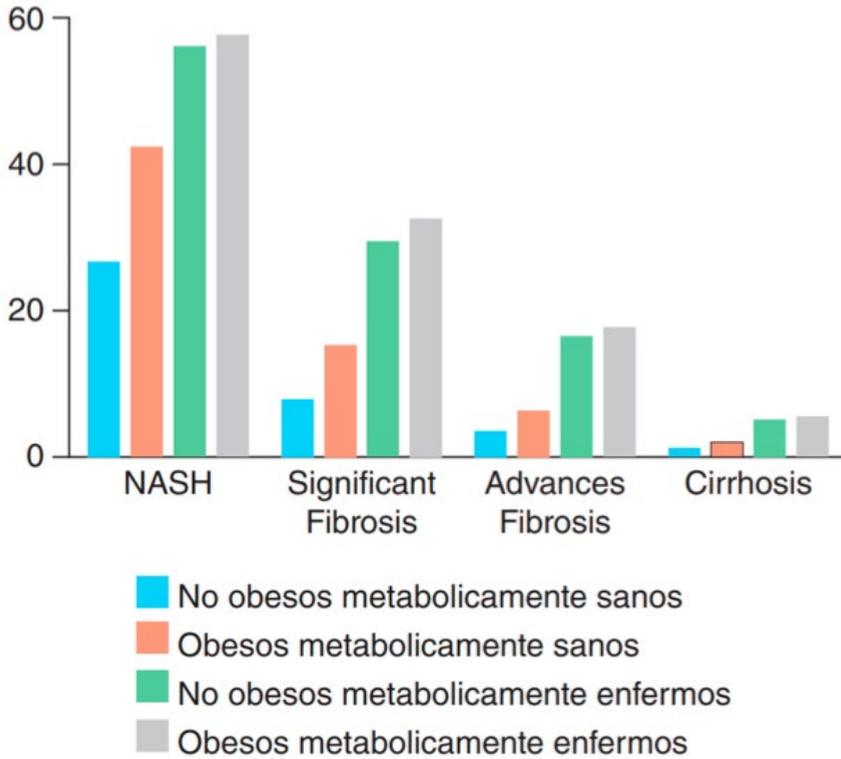


Figura 6.1. El estado metabólico impacta en el riesgo de lesión hepática en pacientes EGHNA más allá de la obesidad.

Fuente: Ampuero J. y cols 43.º Congreso Anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado

Como hemos mencionado anteriormente, el estudio griego **ATTICA** (47), el cual tenía como objetivo examinar los efectos de la dieta mediterránea y el HGNA en el riesgo de desarrollo de enfermedades cardiovasculares en una población sana durante 10 años de seguimiento, observaron que la presencia de HGNA al inicio del estudio se asoció con una mayor incidencia de eventos cardiovasculares a 10 años. Por tanto, apuntan a que la adherencia a la dieta mediterránea se asocia con menor probabilidad de presentar a su vez HGNA, pudiendo contener los efectos negativos del propio HGNA en el riesgo de enfermedades cardiovasculares.



6.4. Relación entre las variables analíticas estudiadas y el índice de masa corporal en nuestra muestra de pacientes con HGNA

Respecto a las variables bioquímicas que hemos estudiado, en el análisis *univariante* se observa que los niveles más altos de glucemia en ayunas y mayor HOMA-IR son factores de riesgo para el desarrollo de **EHNA** en pacientes con **sobrepeso** diagnosticados de HGNA. En cuanto a los pacientes **obesos**, se ha observado HOMA-IR como factor de riesgo para el desarrollo de **EHNA**, y mayores niveles de albúmina fueron factor protector para el desarrollo de **EHNA** en este último grupo de pacientes.

En el *análisis multivariante* se observó que el **HOMA-IR** fue el único factor de riesgo para desarrollo de **EHNA** tanto en el grupo de pacientes con **sobrepeso** como en el grupo de **obesos**.

En relación al riesgo de **fibrosis** hepática en el grupo de pacientes con sobrepeso no obesos con HGNA se observa en el análisis *univariante* que los niveles más altos de transaminasas γ , de nuevo, mayor HOMA-IR suponen un factor de riesgo. Respecto al grupo de pacientes con obesidad, el análisis univariante reveló que niveles elevados de fosfatasa alcalina, de glucosa en plasma y nuevamente mayor HOMA-IR fueron factores de riesgo para desarrollar fibrosis hepática en este grupo de pacientes.

En el *análisis multivariante*, **HOMA-IR** fue el único factor independiente asociado a la presencia de **fibrosis hepática** tanto en el grupo de pacientes con **sobrepeso** como en el grupo de **obesos**.

La RI juega un papel fundamental en la patogénesis del HGNA, como se demuestra también en el estudio de **Hashiba y cols.** en el que observan un incremento progresivo del HOMA-IR en función de la fibrosis hepática



(230). **Angulo y cols.** incluyeron en su estudio 88 pacientes con diagnóstico de HGNA mediante biopsia hepática, de los cuales 61 (69,3%) eran obesos, de estos 69 (78,4%) con fibrosis no avanzada (F 0-2) y 19 (21,6%) con fibrosis avanzada (F 3-4). El índice HOMA-IR se asoció significativamente con la presencia de fibrosis avanzada (231).

Kessoku y cols. evaluaron 1365 pacientes con diagnóstico de HGNA comprobados por biopsia registrados en la base de datos *JSG-NAFLD (Japan Study Group of NAFLD)* y observaron que el HOMA-IR se asoció significativamente al grado de fibrosis hepática (232).

García-Monzón y cols. observaron solo dos factores asociados de forma independiente a la EHNA comprobado por biopsia, un valor elevado de HOMA y esteatosis hepática en la ecografía. Sin embargo, no se realizó un análisis de subgrupos de solo pacientes no obesos o con diferente IMC para confirmar esta asociación (233).

En un estudio italiano publicado en 2016 que incluía a 118 pacientes con diagnóstico histológico de HGNA (25% con DM, excluidos aquellos en tratamiento con insulina) observó que HOMA-IR predijo de forma independiente la presencia de fibrosis hepática avanzada. En dicho estudio también identificaron como factores predictores independientes de fibrosis hepática significativa los niveles de ALT, así como el perímetro de cintura y el SM (234).

Como hemos mencionado anteriormente, dichos datos están en concordancia con nuestros resultados, ya que en el análisis univariante también identificamos los niveles de transaminasas como factor de riesgo para **fibrosis** hepática en el grupo de no obesos con HGNA, relación que no se identificó en el análisis univariante en el grupo de obesos con HGNA.

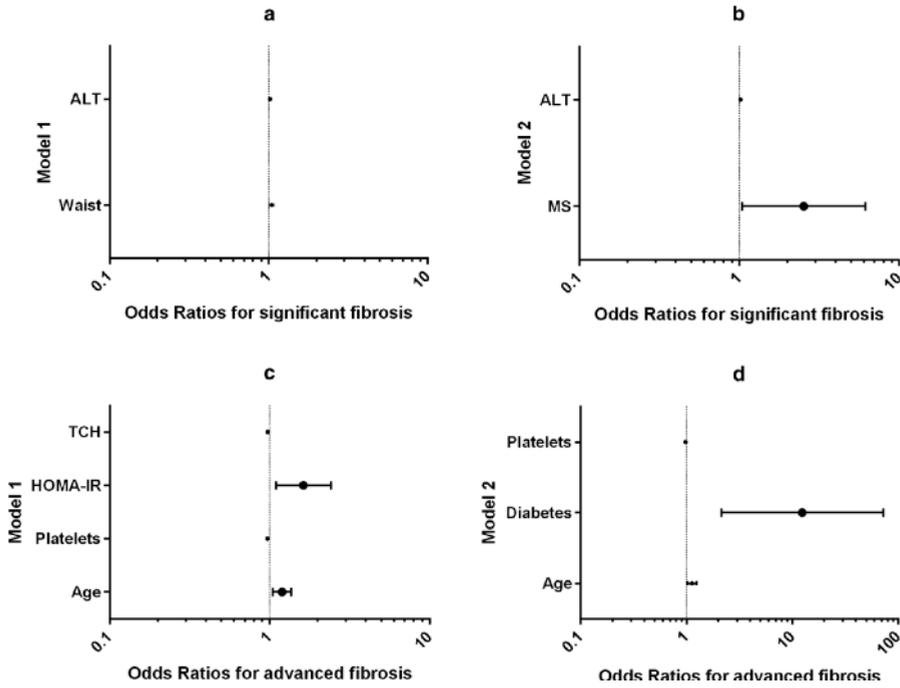


Figura 6.2. Predictores independientes de fibrosis hepática. La figura muestra el odds ratio con un intervalo de confianza del 95 % de los predictores independientes en el análisis multivariante para (a,b) fibrosis significativa y (c,d) fibrosis avanzada. (a,b) El modelo 1 no incluye SM y el modelo 2 lo incluye. (c,d) El modelo 1 no incluye la diabetes y el modelo 2 la incluye. ALT, alanina aminotransferasa; IC: intervalo de confianza; HOMA-IR, modelo de homeostasis para la RI; MS, SM; EHNA, esteatohepatitis no alcohólica; TCH, colesterol total.

Fuente: Ballestri S, *The independent predictors of non-alcoholic steatohepatitis and its individual histological features: Insulin resistance, serum uric acid, metabolic syndrome, alanine aminotransferase and serum total cholesterol are a clue to pathogenesis and candidate targets for treatment.* *Hepatol. Res.* 2016;46:1074–1087.

Es interesante mencionar un estudio de cohortes retrospectivo y multicéntrico japonés de **Fujii y cols.** publicado en 2019, con un total de 361 pacientes con diagnóstico histológico de HGNA donde fueron excluidos los pacientes con DM tipo 2 y también identificaron el **HOMA-IR** como un factor predictor independiente de fibrosis hepática avanzada en pacientes con HGNA no diabéticos, lo que una vez más demuestra que la RI se exhibe como un factor patogénico clave del HGNA (235).



6.5. Antropometría y su relación con el IMC en nuestra muestra de pacientes con HGNA

Como hemos referido previamente, en nuestro trabajo se observó, cómo es previsible, que los pacientes con obesidad presentan de forma significativa mayor perímetro de cintura, de cadera, ICC y pliegue tricípital, respecto al grupo de sobrepeso. Sin embargo, no identificamos diferencias entre los dos grupos respecto al porcentaje de masa grasa y el ángulo de fase.

Respecto al desarrollo de EHNA en el grupo de individuos con **sobrepeso**, en el *análisis univariante* ni el IMC ni el perímetro de cintura, ni la masa grasa ni el ángulo de fase resultaron factores de riesgo para el desarrollo de EHNA en pacientes con sobrepeso con HGNA, sin embargo, el pliegue tricípital si mostró asociación de forma significativa, no obstante, en el *estudio multivariante* no se halló dicha significación. En cuanto al grupo de pacientes **obesos**, en el *análisis univariante* el ICC se identificó como factor de riesgo para desarrollo de EHNA, aunque no se observó dicha relación en el *multivariante*.

En el *análisis univariante* de nuestro estudio ni el IMC ni el perímetro de cintura resultaron factores de riesgo para el desarrollo de **fibrosis hepática** en pacientes con **sobrepeso** con HGNA, tampoco se observó asociación con el ICC, pliegue tricípital, masa grasa ni el ángulo de fase. En el *análisis univariante* del grupo de pacientes **obesos**, tanto el IMC como el pliegue tricípital se determinaron como factores de riesgo para desarrollo de fibrosis en este grupo, pese a ello, en el *análisis multivariante* no se obtuvo significación.

A pesar de dichos resultados, existen varios trabajos en los que relacionan tanto el IMC como la grasa visceral, utilizando como medida indirecta el perímetro de la cintura, con la presencia HGNA y su severidad.

Gómez de La Cuesta y cols. en su estudio publicado en 2018, donde incluyeron 76 pacientes diagnosticados de HGNA mediante biopsia hepática,



observando que los pacientes con fibrosis hepática leve respecto aquellos sin fibrosis presentaban un IMC mayor de forma significativa (236).

Respecto al perímetro de cintura existen datos más controvertidos. Petta y cols. evalúan el *índice de adiposidad visceral (VAI)*, que utiliza parámetros antropométricos, como el perímetro de cintura y el IMC, y analíticos como triglicéridos y HDL-colesterol, ajustado por sexo. Observan que un valor más alto del índice VAI se correlaciona con fibrosis hepática significativa (237).

Similares resultados han obtenido recientemente Vural Keskinler y cols. donde se demuestra que valor del el VAI es más alto en pacientes con HGNA, siendo este aumento más notable en los casos de EHNA (238). Sin embargo, Vongsuvan y cols. no encontraron asociación entre el VAI y la esteatosis, inflamación o fibrosis hepática (239).

6.6. Adherencia a la dieta Mediterránea y su relación con el IMC en nuestra muestra de pacientes con HGNA

En nuestro trabajo se identificó que la adherencia a la dieta mediterránea ejerce un efecto protector contra el desarrollo tanto de **EHNA** como de **fibrosis** en nuestra cohorte de pacientes con **sobrepeso** (OR 0.7 IC95% 0.5-0.8; $p < 0.005$ para EHNA, OR 0.095 IC95% 0.017-0.548; $p < 0.005$ para fibrosis). Respecto a los pacientes con **obesidad**, en el análisis *univariante*, la adherencia a la dieta mediterránea se identificó como factor protector para el desarrollo de **EHNA** de forma significativa, pero en el *análisis multivariante* no se alcanzó la significación estadística. En este mismo grupo de pacientes **obesos** con HGNA, sí que se identificó la adherencia a la dieta mediterránea como factor protector para el desarrollo de **fibrosis hepática** (OR 0.132, IC95% 0.031-0.565; $p < 0.005$).

Numerosos autores justifican el impacto beneficioso de la dieta mediterránea en el HGNA.



Aller y cols. analizaron la adherencia a la dieta mediterránea en 82 pacientes diagnosticados de HGNA mediante el cuestionario validado *Mediterranean Diet Assessment Tool (Predimed)* de 14 ítems. Su estudio demostró que una mayor adherencia a la dieta mediterránea se asoció con una menor prevalencia de esteatosis y esteatohepatitis en la biopsia hepática (240).

Una revisión publicada por Sofi y cols. muestra la eficacia de la dieta Mediterránea, más allá de la simple restricción calórica, para facilitar la pérdida de peso, todo ello gracias a su composición nutricional, siendo el aceite de oliva la principal fuente de grasa (241).

El estudio de **Ryan y cols.** donde aleatorizaron a pacientes obesos con HGNA a recibir dos dietas hipocalóricas que contenían diferentes proporciones de carbohidratos, una dieta baja en carbohidratos (compuesta por 40% de carbohidratos y 45% de grasa) y la segunda dieta alta en hidratos de carbono y baja en grasa (60 % de carbohidratos y 25% grasa), demostró que tras 16 semanas, los pacientes que recibieron un menor porcentaje de carbohidratos (40 %) mostraron niveles más bajos de enzimas hepáticas en comparación con los que recibieron una dieta alta en carbohidratos y baja en grasas, a pesar de la pérdida de una peso equivalente, lo que pone de manifiesto una vez más la importancia de la composición calórica más allá de la restricción calórica (242).

El efecto beneficioso de la dieta mediterránea sobre el perfil de enzimas hepáticos ha sido también demostrado en el estudio griego **ATTICA** (243), que evaluó la prevalencia del SM, así como la adherencia a la dieta mediterránea entre más de 3000 personas. En el estudio incluyeron un total de 1514 hombres (18-87 años) y a 1528 mujeres (18-89 años) del área metropolitana de Atenas, evaluaron la adherencia a la dieta mediterránea a través de Med-DietScore (**Tabla 1**), y les clasificaron en función de la presencia o no de SM (de acuerdo a los criterios del NCEP- ATP III). Identificaron que las mujeres



con SM presentaban niveles más altos de GGT y niveles más bajos de la ratio AST/ALT comparada con las que no tenían criterios de SM. Respecto a los hombres con SM tenían una relación AST/ALT más baja en comparación con aquellos sin SM. La relación AST/ALT se correlacionó positivamente con el puntaje de *MedDietScore*, mientras que un *MedDietScore* más alto se asoció con una menor probabilidad de tener SM.

En nuestro trabajo, también identificamos que el grupo de pacientes no obesos realizaban un mejor cumplimiento de la dieta mediterránea comparada con los pacientes obesos (9 ítems vs 7; $p < 0.05$). Estos datos concuerdan con la mayoría de estudios publicados.

En 2009 se publica un estudio europeo de corte transversal, realizado en base a participantes del proyecto “*European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition–Physical Activity, Nutrition, Alcohol, Cessation of Smoking, Eating Out of Home and Obesity*” (EPIC-PANACEA) donde participaron 23 centros de 10 países europeos (Dinamarca, Francia, Alemania, Grecia, Italia, Países Bajos, Noruega, España, Suecia y Reino Unido). Analizó una cohorte de un total de 497.308 personas (145.578 hombres y 351.730 mujeres), y observó que una mayor adherencia a la dieta mediterránea se asoció con un IMC y una circunferencia de la cintura significativamente más bajos tras 3 años de cumplimiento de la dieta (245).



ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS Y GENOTÍPICAS
EN PACIENTES CON HIGADO GRASO NO ALCOHOLICO CON SOBREPESO VS. OBESIDAD

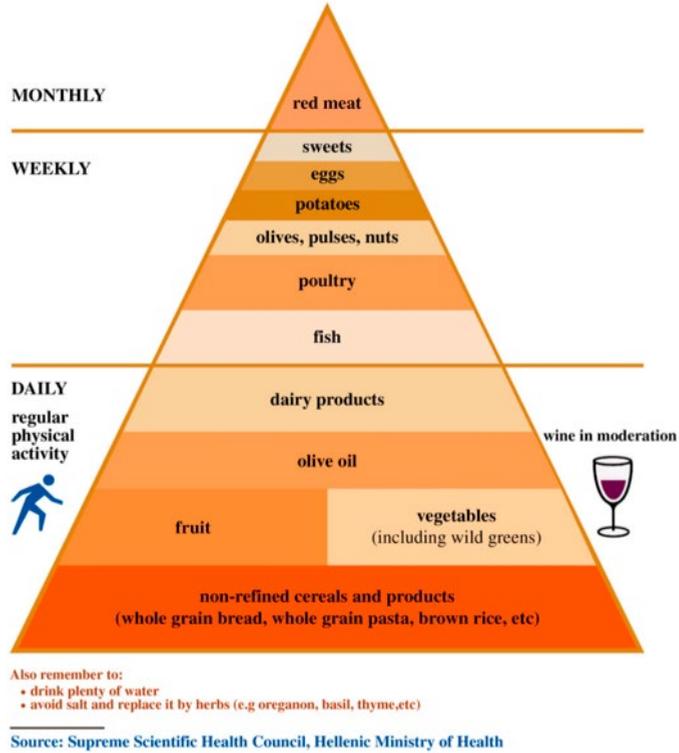


Figura 6.3. Pirámide de la dieta mediterránea (244).

Fuente: Panagiotakos, D. By cols.(2006). *Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases.*

Un estudio catalán que incluyó 3.162 personas, identificó una relación inversa entre el seguimiento de dieta mediterránea y la obesidad (246). Igualmente, el **estudio SUN** (247) demostró que los sujetos con una baja adherencia a la dieta mediterránea tuvieron un mayor aumento de peso durante el seguimiento comparado con aquellos con mayor adherencia.



Table 1 The Mediterranean diet score

How often do you consume	Frequency of consumption (servings/month)					
	Never	1–4	5–8	9–12	13–18	>18
Non-refined cereals (whole grain bread, pasta, rice, etc.)	0	1	2	3	4	5
Potatoes	0	1	2	3	4	5
Fruits	0	1	2	3	4	5
Vegetables	0	1	2	3	4	5
Legumes	0	1	2	3	4	5
Fish	0	1	2	3	4	5
Red meat and products	5	4	3	2	1	0
Poultry	5	4	3	2	1	0
Full fat dairy products (cheese, yoghurt, and milk)	5	4	3	2	1	0
Use of olive oil in cooking (times/week)	Never	Rare	<1	1–3	3–5	Daily
	0	1	2	3	4	5
Alcoholic beverages (ml/day, 100 ml = 12 g ethanol)	<300	300	400	500	600	>700 or 0
	5	4	3	2	1	0

Tabla 6.1. *MedDietScore*, cuestionario utilizado para evaluar la adherencia a la dieta mediterránea en el estudio griego ATTICA (243). El rango de la puntuación de la dieta está entre 0 y 55. Los valores más altos de la puntuación de la dieta sugerida indican una mayor adherencia a la dieta mediterránea.

Fuente: Panagiotakos, D. By cols.(2006). *Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases* (244).

Además, cabe destacar el estudio PREDIMED (248) en el que se incluyó más de 4000 pacientes con alto riesgo cardiovascular, aunque sin enfermedad cardiovascular a la hora de la inscripción, a una de tres dietas: una dieta mediterránea complementada con aceite de oliva virgen extra, una dieta mediterránea complementada con frutos secos o una dieta de control (consejos para reducir las grasas en la dieta). Se observó que la incidencia de eventos cardiovasculares mayores fue menor en los pacientes designados a una dieta mediterránea suplementada con aceite de oliva virgen extra o frutos secos que entre los asignados a una dieta baja en grasas.



6.7. Índices no invasivos

En nuestro estudio hemos calculado índices no invasivos de **esteatosis** FLI, LAP, así como índices no invasivos de **fibrosis** como NFS, FIB-4.

Observamos que los valores de FLI y LAP respecto a esteatosis fueron significativamente menores en pacientes con sobrepeso comparado con el grupo de obesidad. NFS también fue significativamente menor en el grupo de pacientes con sobrepeso. No encontramos diferencias respecto a los niveles de FIB-4 entre ambos grupos.

En el *análisis univariante* observamos una asociación entre los valores de NFS Y FIB-4 y el desarrollo de **esteatohepatitis** en el grupo de pacientes con **sobrepeso**, no alcanzando la significación en el *multivariante*, sin embargo, en el grupo de pacientes con **obesidad** no se identificó esta asociación para el desarrollo de esteatohepatitis.

Respecto a la **fibrosis hepática**, en el *análisis univariante* del grupo de pacientes con **sobrepeso** observamos que valores más altos en los índices de fibrosis (NFS y FIB-4) se asocian con la presencia de fibrosis. En el *análisis univariante* del grupo de pacientes **obesos**, mayores puntuaciones en el índice NFS suponen un factor de riesgo para la presencia de **fibrosis**, el resto de índices no invasivos (FLI, LAP, FIB-4) no alcanzaron la significación.

Respecto a los índices no invasivos de fibrosis, **FIB-4** y **NFS** son los más estudiados y validados en poblaciones con HGNA, son índices fáciles de calcular, utilizando variables sencillas de obtener en la consulta, tales como la edad, IMC, presencia de DM2, AST, ALT, plaquetas y albúmina. En los estudios han evidenciado una elevada precisión diagnóstica al comparar con la biopsia hepática (AUROC alrededor de 0,80) (249), además existen calculadoras online gratuitas donde poder obtener el resultado de forma práctica (<https://www.rccc.eu/calculadoras/Fib4.html> y <https://www.rccc.eu/calculadoras/NFS.html>).



Eren F y cols. en su trabajo publicado en 2022 quisieron estudiar el efecto del IMC sobre los valores de NFS y FIB-4, para ello evaluaron la utilidad de FIB-4 y NFS en pacientes delgados, con sobrepeso, obesos, tanto tipo I, II y III diagnosticados todos ellos de HGNA por biopsia. Se incluyeron un total de 560 pacientes (28 delgados, 174 con sobrepeso, 229 obesos tipo I, 89 con obesidad tipo II, 40 con obesidad tipo III). Observaron que en pacientes delgados y con obesidad tipo III con HGNA, tanto FIB-4 como NFS no lograron discriminar fibrosis avanzada. Además, FIB-4 pudo excluir la fibrosis avanzada con mayor precisión diagnóstica en el grupo de pacientes con sobrepeso (AURC: 0,829, IC 95%: 0,738-0,919). Por todo ello concluyeron que FIB-4 y NFS se pueden utilizar con confianza para excluir fibrosis avanzada en pacientes con sobrepeso, obesidad y obesidad tipo II. Sin embargo, no parecen clínicamente útiles en pacientes delgados y con obesidad mórbida o tipo III (250).

6.8. Papel de las adipocitoquinas en relación con el IMC en el HGNA

En nuestro estudio hemos determinado las siguientes adipocitoquinas en sangre periférica: la adiponectina, la leptina y la resistina.

6.8.1. Adiponectina

La adiponectina es una proteína que protege de la acumulación excesiva de grasa en el hígado, la inflamación y la fibrosis. Sus niveles suelen estar disminuidos en pacientes obesos, con esteatosis y EHNA(80) (251). Esto es concordante con los resultados obtenidos en nuestro estudio, cuyos niveles están disminuidos de manera significativa en el grupo de pacientes obesos en comparación con los pacientes con sobrepeso, en los cuales, también hay una mayor proporción de pacientes con EHNA.



En un estudio publicado por **Feldman y cols.** (252), donde incluyeron 187 pacientes con HGNA, de los cuales 71 tenían normopeso ($18 \text{ Kg/m}^2 < \text{IMC} < 25 \text{ kg/m}^2$) y 89 eran obesos ($\text{IMC} \geq 30 \text{ Kg/m}^2$), observaron que las concentraciones de adiponectina sérica se encontraban disminuidas tanto en pacientes con normopeso con HGNA como en obesos con HGNA, en comparación con los controles sin HGNA ($p < 0,001$ para ambos grupos). Estos datos demuestran el importante papel de la adiponectina en pacientes con HGNA y su relación con la **distribución** de la grasa más allá del IMC como dato aislado.

En un estudio nórdico publicado en 2004, **Westerbacka y cols.** (253), diseñado para medir la grasa intrahepática, la grasa intraabdominal y la grasa subcutánea, junto con los índices de RI y la adiponectina, mostró que la adiponectina sérica tenía una relación inversa con el contenido intrahepático de grasa.

6.8.2. Leptina

La leptina es una hormona peptídica fabricada principalmente por el tejido adiposo blanco. Cuando aumenta el depósito de tejido graso aumenta su síntesis y secreción, regulando el consumo de energía y actuando como mediador químico del apetito a nivel central.

Diferentes estudios han mostrado resultados discordantes en cuanto al papel de la leptina en la patogénesis del HGNA. En nuestro estudio, los niveles de leptina fueron más elevados de forma significativa en el grupo de pacientes obesos con respecto a los pacientes con sobrepeso.

Estos datos pueden ir en concordancia con los resultados obtenidos en otros estudios que indican que los niveles de leptina están directamente asociados con la severidad de la esteatosis hepática y que niveles aumentados podrían conducir a una mayor severidad del HGNA (80) (28).



Mantovani y cols. (254) en un estudio publicado en 2016, que incluyó a 104 pacientes pediátricos divididos en obesos, sobrepeso y normopeso, identificaron que los niveles de leptina, adiponectina y resistina no difirieron cuando se compararon sujetos con sobrepeso y obesos. Sin embargo, todas las adipocitoquinas difirieron significativamente cuando se compararon pacientes con normopeso con individuos obesos y con sobrepeso. Los niveles plasmáticos de adiponectina se correlacionaron negativamente con el índice de masa corporal (IMC), mientras que las concentraciones de leptina y resistina se correlacionaron positivamente con el IMC como se observa en la siguiente figura.

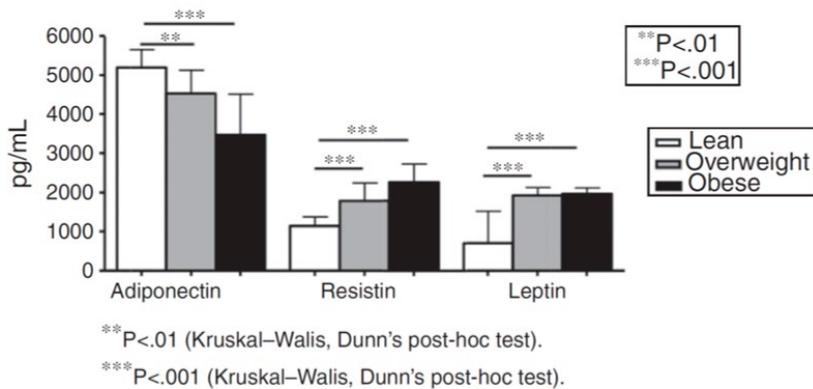


Figura 6.4. Niveles plasmáticos de adiponectina, resistina y leptina (pg/ml) en sujetos delgados (n = 24), con sobrepeso (n = 30) y obesos (n = 50).

Fuente: Mantovani RM, Rocha NP, Magalhães DM, Barbosa IG, Teixeira AL, Simões E Silva AC. Early changes in adipokines from overweight to obesity in children and adolescents. *J Pediatr (Rio J)*. 2016 Nov-Dec;92(6):624-630.



6.8.3. Resistina

La resistina es una proteína producida por el tejido graso, con propiedades proinflamatorias y se ha relacionado en la modulación de la acción de la insulina, la glucosa y el metabolismo de los lípidos, vinculándose con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, DM2 y el SM. (93). La expresión de resistina en niveles supra fisiológicos en un modelo de ratones se relacionó con hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa e hipertrigliceridemia (94), además existen datos sobre la influencia de la resistina a nivel intrahepático, favoreciendo la inflamación y la fibrosis (255).

En nuestro estudio la resistina mostró niveles significativamente más elevados en el grupo de pacientes obesos con respecto a los pacientes con sobrepeso.

El papel de la resistina en la patogénesis del HGNA no está aún lo suficientemente esclarecido. **Aller y cols.** (87), en su estudio publicado en 2008 encontraron una correlación positiva entre los niveles de resistina sérica y el grado de esteatosis hepática en la biopsia hepática. En consonancia a estos datos, **Shen y cols.** (256), observaron que los niveles de resistina en el tejido hepático de pacientes con EHNA fueron significativamente más altos que en los pacientes con esteatosis simple. No obstante, en otros estudios se ha observado que la resistina sérica no muestra diferencias entre la esteatosis hepática simple y la EHNA (257) (258).

Por tanto, son necesarios más estudios, ya que los datos que disponemos arrojan datos discordantes (259).



6.9. Polimorfismos de los genes PNPLA3 y TNF α : relación con nuestra muestra de pacientes con HGNA obesos vs sobrepeso y los hallazgos histológicos

Recientes estudios genómicos y observacionales han identificado polimorfismos de los genes PNPLA3 y TNF α como factores asociados tanto a la presencia de HGNA como a su severidad (260) (261).

En nuestro trabajo no identificamos diferencias significativas entre pacientes no obesos y obesos respecto a la proporción de portadores del alelo G del gen PNPLA3 ni el alelo A de TNF α .

Respecto a la **EHNA**, en el *análisis univariante* del grupo de pacientes con **sobrepeso** no se observaron como factores relacionados el ser portador del alelo A del gen TNF α ni el del alelo G del gen PNPLA3. En cuanto al grupo de pacientes con **obesidad**, sí se identificó en el *análisis univariante* el ser portador del alelo A del gen TNF α como factor de riesgo para el desarrollo de **EHNA**, no obstante, el *análisis multivariante* no se confirmó dicha relación en este último grupo.

En cuanto a la **fibrosis hepática**, en el *análisis univariante* ser portador del alelo A del gen TNF α demostró ser un factor protector para el desarrollo de fibrosis en el grupo de pacientes con **sobrepeso**. Sin embargo, en los pacientes **obesos**, fue un factor de riesgo. Sin embargo, en el *análisis multivariante* ser portador del alelo A del gen TNF α no se identificó como factor independiente asociado a fibrosis hepática ni en el grupo de pacientes con sobrepeso ni en el grupo con obesidad.

Ser portador del alelo G del gen PNPLA3 no se identificó como factor de riesgo o protector para el desarrollo de EHNA o fibrosis en nuestra muestra de pacientes, tanto obesos como con sobrepeso.



6.9.1. PNPLA3

El gen PNPLA3, localizado en el brazo largo del cromosoma 22, sintetiza la adiponutrina, una proteína con actividad lipasa específica del tejido adiposo y de hepatocitos. La variante mutada del gen PNPLA3 pierde la actividad lipasa y promueve la acumulación de lípidos.

Speliotes y cols. en su estudio publicado en 2010 observaron que el alelo G de la variante rs738409 en PNPLA3 confiere mayor riesgo de esteatosis hepática, así como estadios más avanzados con EHNA, fibrosis y cirrosis confirmadas histológicamente (262).

En nuestro trabajo no identificamos diferencias estadísticamente significativas entre obesos y sobrepeso en la proporción de pacientes portadores del alelo G del gen PNPLA3 rs738409, hallazgo similar al del realizado por **Chen y cols.** en el cual se incluyeron 538 pacientes diagnosticados de HGNA por biopsia y de estos, 99 (18%) con normopeso, y no observaron diferencias significativas en la proporción de pacientes con genotipo PNPLA3 rs738409 GG comparando obesos con normopeso (263).

En el 2011 fue publicado un metaanálisis donde incluyeron un total de 16 estudios, donde evaluaron la relación de este polimorfismo del gen PNPLA3 con el HGNA en diferentes poblaciones, así como la gravedad de la enfermedad, e identificaron mayor susceptibilidad para esteatosis hepática, así como mayor probabilidad de desarrollo de lesiones histológicas más avanzadas y más riesgo de fibrosis (19).

Numerosos estudios posteriores tanto in vivo como in vitro, identificaron también dicha asociación (264) (265) (266) (267) (268) (269).



En el 2015, DiStefano, J. K y cols. quisieron identificar los determinantes genéticos de la acumulación de lípidos a nivel intrahepático a través del análisis de asociación usando fenotipos histológicos en individuos **obesos**, para ello genotipificaron a 2300 pacientes que contaban con biopsia hepática. Identificaron además nuevos loci (rs4823173, rs2896019 y rs2281135, todos ubicados en PNPLA3 y rs10401969 en SUGP1) que pueden desempeñar un papel en la fisiopatología del depósito lipídico a nivel hepático (270).

En el 2015, fue publicado un metaanálisis donde evaluaron el riesgo de cirrosis (independientemente de la causa), en base a la presencia de la mutación rs738409 del gen PNPLA3, se incluyeron siete estudios con 2023 pacientes con cirrosis, identificaron que el alelo G se asociaba con un riesgo significativamente mayor de cirrosis en comparación con el alelo C. Tanto el genotipo GC como el GG se asociaron con un riesgo significativamente mayor de cirrosis frente al genotipo CC (salvaje), sugiriendo que los pacientes con riesgo de cirrosis hepática pueden beneficiarse del genotipado de PNPLA3 y, por lo tanto, de un control más intensivo si se identifica la variante mutante (CG o GG) (271).

Como hemos mencionado previamente, en nuestro trabajo ser portador del alelo G del gen PNPLA3 no se identificó como factor de riesgo para el desarrollo de EHNA o fibrosis hepática en nuestra muestra de pacientes, tanto en individuos obesos como con sobrepeso.

6.9.2. TNF alfa

El gen TNF α se localiza en el cromosoma 6p21.3 y codifica una citokina proinflamatoria, como biomarcador de inflamación sistémica está involucrado en la fisiopatología del SM y cardiovascular, incluyendo el HGNA (73) .

Crespo y cols. llevaron a cabo un estudio compuesto por 52 pacientes con diagnóstico de obesidad mórbida (IMC medio de 47 kg/m²), con diagnóstico



histológico de EHNA en 36 pacientes (69,2%), lo 16 pacientes restantes del grupo control contaban con histología hepática normal o esteatosis hepática simple sin ningún grado de inflamación o fibrosis. El objetivo principal de este estudio fue analizar el papel patogénico del sistema del TNF α en el desarrollo de la EHNA, para ello se calculó la expresión de ARNm de TNF α y sus receptores p55 y p75 mediante la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa cuantitativa (RT-PCR) en tejido hepático y adiposo periférico, así como la relación entre TNF α , p55 y p75 y la gravedad de EHNA. Concluyeron que la expresión intrahepática de ARNm de TNF α también se ve incrementada en pacientes con HGNA, y más aún entre pacientes con fibrosis hepática (74).

Anteriores estudios han asociado la sobreexpresión de TNF α con el desarrollo de HGNA, aterosclerosis y enfermedad coronaria al afectar el metabolismo lipídico y aumentar la RI (75).

Valenti y cols. mostraron la asociación entre la presencia del alelo A del gen TNF- α -238 con mayores índices HOMA-IR en 99 pacientes diagnosticados de HGNA por ecografía y confirmados por biopsia (76)

En el 2010 Aller y cols. identificaron que ser portador de la variante mutante del gen TNF- α (-308 GA), se asocia con mayor RI, así como a daño histológico más grave y mayor riesgo de fibrosis comparado con los pacientes con genotipo salvaje (-308 GG). (272)

Como se ha señalado previamente, en el análisis univariante de nuestro estudio, realizado en el grupo de pacientes con **obesidad** sí se identificó ser portador del alelo A del gen TNF α como factor de riesgo para el desarrollo de **EHNA**, no obstante, *el análisis multivariante* no se confirmó dicha relación en este grupo. Respecto a la fibrosis **hepática**, en el *análisis univariante* ser portador del alelo A del gen TNF α se identificó como factor protector para el desarrollo de fibrosis en el grupo de pacientes con **sobrepeso**. Sin embargo, en los pacientes



obesos, fue un factor de riesgo. En el *análisis multivariante* ser portador del alelo A del gen TNF α no se identificó como factor independiente, ni de riesgo ni protector, asociado a fibrosis hepática ni en el grupo de pacientes con sobrepeso ni en el grupo con obesidad.



7. LIMITACIONES



7. LIMITACIONES

En el presente trabajo existen una serie de limitaciones que se deben mencionar:

- En primer lugar, otros factores no genéticos no controlados podrían influir en la relación de nuestro diseño como son el ejercicio y las hormonas, entre otros.
- En segundo lugar, no se calcularon otras citocinas relacionadas con el control de la glucosa y los lípidos como el TNF- α o la IL-6; estas citocinas podrían ayudar a explicar nuestros hallazgos y habrían enriquecido los resultados obtenidos.
- En tercer lugar, solo analizamos un SNP de los genes TNF α y PNPLA3 y, en este sentido, otras variantes genéticas podrían estar relacionadas con parámetros metabólicos.
- Por último, la falta de un grupo control sin dieta Mediterránea podría constituir una fuente de sesgo.



8. CONCLUSIONES



8. CONCLUSIONES

1. La esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) fue significativamente mayor en el grupo de pacientes obesos respecto aquellos con sobrepeso.
2. El HOMA-IR fue factor independiente asociado tanto a la EHNA como a la fibrosis hepática en el grupo de pacientes con sobrepeso.
3. En el grupo de pacientes obesos el HOMA-IR fue un factor independiente asociado al desarrollo de EHNA, pero no se identificó para el desarrollo de fibrosis hepática.
4. La edad fue un factor independiente asociado a la fibrosis hepática en los pacientes obesos.
5. La adherencia a la dieta mediterránea fue factor protector independiente tanto para EHNA como para fibrosis hepática en pacientes con sobrepeso y en pacientes con obesidad.
6. La presencia de los polimorfismos genéticos del PNPLA3 y TNF α no mostró asociación significativa independiente con EHNA ni fibrosis hepática en ambas cohortes de pacientes.



9. BIBLIOGRAFÍA



9. BIBLIOGRAFÍA

1. Caldwell SH, Oelsner DH, Iezzoni JC, Hespenheide EE, Battle EH, Driscoll CJ. Cryptogenic cirrhosis: Clinical characterization and risk factors for underlying disease. *Hepatology*. marzo de 1999;29(3):664-9.
2. Browning JD, Kumar KS, Saboorian MH, Thiele DL. Ethnic Differences in the Prevalence of Cryptogenic Cirrhosis. *Am J Gastroenterol*. febrero de 2004;99(2):292-8.
3. Poonawala A. Prevalence of Obesity and Diabetes in Patients With Cryptogenic Cirrhosis: A Case-Control Study. *Hepatology*. octubre de 2000;32(4):689-92.
4. Caldwell SH, Crespo DM. The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of non-alcoholic fatty liver disease Powell EE, Cooksley WGE, 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]. *J Hepatol*. abril de 2004;40(4):578-84.
5. Caldwell S, Argo C. The Natural History of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis*. 2010;28(1):162-8.
6. 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 Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. abril de 2015;13(4):643-654.e1-9; quiz e39-40.
7. McPherson S, Hardy T, Henderson E, Burt AD, Day CP, Anstee QM. Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: Implications for prognosis and clinical management. *J Hepatol*. mayo de 2015;62(5):1148-55.
8. Aller R, Fernández-Rodríguez C, lo Iacono O, Bañares R, Abad J, Carrión JA, et al. Documento de consenso. Manejo de la enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA). Guía de práctica clínica. *Gastroenterol Hepatol*. mayo de 2018;41(5):328-49.
9. Rafiq N, Bai C, Fang Y, Srishord M, McCullough A, Gramlich T, et al. Long-Term Follow-Up of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver. *Clin Gastroenterol Hepatol*. febrero de 2009;7(2):234-8.
10. Singal AK, Guturu P, Hmoud B, Kuo YF, Salameh H, Wiesner RH. Evolving Frequency and Outcomes of Liver Transplantation Based on Etiology of Liver Disease. *Transplantation*. 15 de marzo de 2013;95(5):755-60.
11. Agopian VG, Kaldas FM, Hong JC, Whittaker M, Holt C, Rana A, et al. Liver Transplantation for Nonalcoholic Steatohepatitis: The New Epidemic. *Ann Surg*. octubre de 2012;256(4):624-33.



12. Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology*. octubre de 2006;44(4):865-73.
13. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology*. junio de 2012;55(6):2005-23.
14. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, et al. The NAFLD fibrosis score: A noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*. abril de 2007;45(4):846-54.
15. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. diciembre de 1999;30(6):1356-62.
16. Takaki A, Kawai D, Yamamoto K. Molecular mechanisms and new treatment strategies for non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Int J Mol Sci*. 29 de abril de 2014;15(5):7352-79.
17. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*. agosto de 2016;65(8):1038-48.
18. Sookoian S, Pirola CJ. Genetic predisposition in nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Mol Hepatol*. 25 de marzo de 2017;23(1):1-12.
19. Sookoian S, Pirola CJ. Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (*PNPLA3*) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. junio de 2011;53(6):1883-94.
20. Liu YL, Reeves HL, Burt AD, Tiniakos D, McPherson S, Leathart JBS, et al. TM6SF2 rs58542926 influences hepatic fibrosis progression in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nat Commun*. 30 de junio de 2014;5(1):4309.
21. Shen J, Wong GLH, Chan HLY, Chan RSM, Chan HY, Chu WCW, et al. *PNPLA3* gene polymorphism and response to lifestyle modification in patients with nonalcoholic fatty liver disease: *PNPLA3* and lifestyle modification. *J Gastroenterol Hepatol*. enero de 2015;30(1):139-46.
22. Pelusi S, Cespiati A, Rametta R, Pennisi G, Mannisto V, Rosso C, et al. Prevalence and Risk Factors of Significant Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Without Steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. octubre de 2019;17(11):2310-2319.e6.



23. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. julio de 2016;64(1):73-84.
24. Machado M, Marques-Vidal P, Cortez-Pinto H. Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery. *J Hepatol*. octubre de 2006;45(4):600-6.
25. Singh SP, Nayak S, Swain M, Rout N, Mallik RN, Agrawal O, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in coastal eastern India: a preliminary ultrasonographic survey. *Trop Gastroenterol Off J Dig Dis Found*. 2004;25(2):76-9.
26. EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. junio de 2016;64(6):1388-402.
27. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: Impact of ethnicity. *Hepatology*. diciembre de 2004;40(6):1387-95.
28. Chitturi S, Farrell G, Frost L, Kriketos A, Lin R, Liddle C, et al. Serum leptin in NASH correlates with hepatic steatosis but not fibrosis: A manifestation of lipotoxicity?: Serum leptin in NASH correlates with hepatic steatosis but not fibrosis: A manifestation of lipotoxicity? *Hepatology*. agosto de 2002;36(2):403-9.
29. Seyda Seydel G, Kucukoglu O, Altinbasv A, Demir OO, Yilmaz S, Akkiz H, et al. Economic growth leads to increase of obesity and associated hepatocellular carcinoma in developing countries. *Ann Hepatol*. 2016;15(5):662-72.
30. Williams CD, Stengel J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, et al. Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis Among a Largely Middle-Aged Population Utilizing Ultrasound and Liver Biopsy: A Prospective Study. *Gastroenterology*. enero de 2011;140(1):124-31.
31. Lazo M, Clark J. The Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Global Perspective. *Semin Liver Dis*. noviembre de 2008;28(04):339-50.
32. Hashimoto E, Yatsuji S, Tobari M, Taniai M, Torii N, Tokushige K, et al. Hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol*. 2009;44 Suppl 19:89-95.
33. Crespo M, Lappe S, Feldstein AE, Alkhouri N. Similarities and differences between pediatric and adult nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. agosto de 2016;65(8):1161-71.
34. Maheshwari A, Thuluvath PJ. Cryptogenic cirrhosis and NAFLD: are they related? *Am J Gastroenterol*. marzo de 2006;101(3):664-8.
35. Nobili V, Alisi A, Raponi M. Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: preventive and therapeutic value of lifestyle intervention. *World J Gastroenterol*. 28 de diciembre de 2009;15(48):6017-22.



36. Grander C, Grabherr F, Moschen AR, Tilg H. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Cause or Effect of Metabolic Syndrome. *Visc Med.* octubre de 2016;32(5):329-34.
37. Borstnar CR, Cardellach F, Farreras Rozman. *Medicina Interna.* XVII. Vol. II. Elsevier España; 2016. 7081 p.
38. 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.* septiembre de 2012;56(3):943-51.
39. National Guideline Centre (UK). Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Assessment and Management [Internet]. London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 2016 [citado 8 de abril de 2023]. (National Institute for Health and Care Excellence: Guidelines). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK374135/>
40. 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.* 1 de abril de 2012;35(4):717-22.
41. Zoppini G, Fedeli U, Gennaro N, Saugo M, Targher G, Bonora E. Mortality from chronic liver diseases in diabetes. *Am J Gastroenterol.* julio de 2014;109(7):1020-5.
42. Younossi ZM, Golabi P, de Avila L, Paik JM, Srishord M, Fukui N, et al. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol.* octubre de 2019;71(4):793-801.
43. International Diabetes Federation. Diabetes: the policy puzzle: towards benchmarking in the EU 25. Available at <http://www.idf.org/webdata/docs/idf-europe/DiabetesReport2005.pdf>.
44. Sarafidis PA, Bakris GL. Insulin and Endothelin: An Interplay Contributing to Hypertension Development? *J Clin Endocrinol Metab.* 1 de febrero de 2007;92(2):379-85.
45. Fotbolcu H, Zorlu E. Nonalcoholic fatty liver disease as a multi-systemic disease. *World J Gastroenterol.* 28 de abril de 2016;22(16):4079-90.
46. Menéndez E, Delgado E, Fernández-Vega F, Prieto MA, Bordiú E, Calle A, et al. Prevalence, Diagnosis, Treatment, and Control of Hypertension in Spain. Results of the Di@bet.es Study. *Rev Esp Cardiol Engl Ed.* junio de 2016;69(6):572-8.
47. Salas-Salvadó J, Rubio MA, Barbany M, Moreno B, Grupo Colaborativo de la SEEDO. [SEEDO 2007 Consensus for the evaluation of overweight and obesity and the establishment of therapeutic intervention criteria]. *Med Clin (Barc).* 10 de febrero de 2007;128(5):184-96; quiz 1 p following 200.



48. Gutiérrez-Fisac JL, Guallar-Castillón P, León-Muñoz LM, Graciani A, Banegas JR, Rodríguez-Artalejo F. Prevalence of general and abdominal obesity in the adult population of Spain, 2008-2010: the ENRICA study. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes.* abril de 2012;13(4):388-92.
49. Aranceta-Bartrina J, Pérez-Rodrigo C, Alberdi-Aresti G, Ramos-Carrera N, Lázaro-Masedo S. Prevalence of General Obesity and Abdominal Obesity in the Spanish Adult Population (Aged 25-64 Years) 2014-2015: The ENPE Study. *Rev Esp Cardiol Engl Ed.* junio de 2016;69(6):579-87.
50. Pérez-Farinós N, López-Sobaler AM, Dal Re MÁ, Villar C, Labrado E, Robledo T, et al. The ALADINO study: a national study of prevalence of overweight and obesity in Spanish children in 2011. *BioMed Res Int.* 2013;2013:163687.
51. De Luis DA, Lopez Mongil R, Gonzalez Sagrado M, Lopez Trigo JA, Mora PF, Castrodeza Sanz J, et al. Prevalence of metabolic syndrome with International Diabetes Federation Criteria and ATP III Program in patients 65 years of age or older. *J Nutr Health Aging.* mayo de 2010;14(5):400-4.
52. Grundy SM, Brewer HB, Cleeman JI, Smith SC, Lenfant C, American Heart Association, et al. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation.* 27 de enero de 2004;109(3):433-8.
53. Dietrich P, Hellerbrand C. Non-alcoholic fatty liver disease, obesity and the metabolic syndrome. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* agosto de 2014;28(4):637-53.
54. Mozumdar A, Liguori G. Persistent increase of prevalence of metabolic syndrome among U.S. adults: NHANES III to NHANES 1999-2006. *Diabetes Care.* enero de 2011;34(1):216-9.
55. Aguilar M, Bhuket T, Torres S, Liu B, Wong RJ. Prevalence of the metabolic syndrome in the United States, 2003-2012. *JAMA.* 19 de mayo de 2015;313(19):1973-4.
56. Yki-Järvinen H. Non-alcoholic fatty liver disease as a cause and a consequence of metabolic syndrome. *Lancet Diabetes Endocrinol.* noviembre de 2014;2(11):901-10.
57. Solís Herruzo JA, García Ruiz I, Pérez Carreras M, Muñoz Yagüe MT. Non-alcoholic fatty liver disease. From insulin resistance to mitochondrial dysfunction. *Rev Esp Enferm Dig.* noviembre de 2006;98(11):844-74.
58. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Non-alcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology.* junio de 1999;116(6):1413-9.
59. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation.* 25 de octubre de 2005;112(17):2735-52.



60. Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology* Baltim Md. noviembre de 2010;52(5):1836-46.
61. Murphy EA, Velazquez KT, Herbert KM. Influence of high-fat diet on gut microbiota: a driving force for chronic disease risk. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. septiembre de 2015;18(5):515-20.
62. Maciejko JJ. Managing Cardiovascular Risk in Lysosomal Acid Lipase Deficiency. *Am J Cardiovasc Drugs* Drugs Devices Interv. junio de 2017;17(3):217-31.
63. Diehl AM. Nonalcoholic steatohepatitis pathogenesis. En: Arroyo V, Forns X, García-Pagán JC, editores. *Progress in the Treatment of Liver Diseases*. Barcelona: Ars Medica; 2003. p. 227---32.
64. Brun P, Castagliuolo I, Di Leo V, Buda A, Pinzani M, Palù G, et al. Increased intestinal permeability in obese mice: new evidence in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. febrero de 2007;292(2):G518-525.
65. van der Poorten D, Milner KL, Hui J, Hodge A, Trenell MI, Kench JG, et al. Visceral fat: a key mediator of steatohepatitis in metabolic liver disease. *Hepatology* Baltim Md. agosto de 2008;48(2):449-57.
66. Stojšavljević S, Gomerčić Palčić M, Virović Jukić L, Smirčić Duvnjak L, Duvnjak M. Adipokines and proinflammatory cytokines, the key mediators in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 28 de diciembre de 2014;20(48):18070-91.
67. Gómez-Hernández A, Perdomo L, Escribano Ó, Benito M. [Role of white adipose tissue in vascular complications due to obesity]. *Clin E Investig En Arterioscler Publicacion Of Soc Espanola Arterioscler*. 2013;25(1):27-35.
68. Facchini FS, Hua NW, Stoohs RA. Effect of iron depletion in carbohydrate-intolerant patients with clinical evidence of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. abril de 2002;122(4):931-9.
69. Kelley DE, McKolanis TM, Hegazi RAF, Kuller LH, Kalhan SC. Fatty liver in type 2 diabetes mellitus: relation to regional adiposity, fatty acids, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. octubre de 2003;285(4):E906-916.
70. Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet Lond Engl*. 13 de abril de 1963;1(7285):785-9.
71. Czaja MJ. JNK regulation of hepatic manifestations of the metabolic syndrome. *Trends Endocrinol Metab* TEM. diciembre de 2010;21(12):707-13.



72. Cha JY, Kim DH, Chun KH. The role of hepatic macrophages in nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Lab Anim Res.* diciembre de 2018;34(4):133-9.
73. Shin KC, Chung JH, Lee KH. Effects of TNF- α and Leptin on Weight Loss in Patients with Stable Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Korean J Intern Med.* 2007;22(4):249.
74. Crespo J, Cayón A, Fernández-Gil P, Hernández-Guerra M, Mayorga M, Domínguez-Díez A, et al. Gene expression of tumor necrosis factor alpha and TNF-receptors, p55 and p75, in nonalcoholic steatohepatitis patients. *Hepatol Baltim Md.* diciembre de 2001;34(6):1158-63.
75. Morin CL, Schlaepfer IR, Eckel RH. Tumor necrosis factor-alpha eliminates binding of NF-Y and an octamer-binding protein to the lipoprotein lipase promoter in 3T3-L1 adipocytes. *J Clin Invest.* abril de 1995;95(4):1684-9.
76. Valenti L, Fracanzani AL, Dongiovanni P, Santorelli G, Branchi A, Taioli E, et al. Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphisms and insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* febrero de 2002;122(2):274-80.
77. Uygun A, Kadayifci A, Yesilova Z, Erdil A, Yaman H, Saka M, et al. Serum leptin levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol.* diciembre de 2000;95(12):3584-9.
78. Canbakan B, Tahan V, Balci H, Hatemi I, Erer B, Ozbay G, et al. Leptin in nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol.* 2008;7(3):249-54.
79. Mantzoros CS, Moschos S, Avramopoulos I, Kaklamani V, Liolios A, Doulgerakis DE, et al. Leptin concentrations in relation to body mass index and the tumor necrosis factor-alpha system in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* octubre de 1997;82(10):3408-13.
80. Hadizadeh F, Faghihimani E, Adibi P. Nonalcoholic fatty liver disease: Diagnostic biomarkers. *World J Gastrointest Pathophysiol.* 15 de mayo de 2017;8(2):11-26.
81. Aller R, De Luis DA, Izaola O, González Sagrado M, Conde R, Pacheco D, et al. Lys656Asn polymorphism of leptin receptor, leptin levels and insulin resistance in patients with non alcoholic fatty liver disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* marzo de 2012;16(3):335-41.
82. Asilmaz E, Cohen P, Miyazaki M, Dobrzyn P, Ueki K, Fayzikhodjaeva G, et al. Site and mechanism of leptin action in a rodent form of congenital lipodystrophy. *J Clin Invest.* febrero de 2004;113(3):414-24.
83. Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KSL, Cooper GJS. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest.* julio de 2003;112(1):91-100.



84. Chitturi S, Farrell GC, Hashimoto E, Saibara T, Lau GKK, Sollano JD, et al. Non-alcoholic fatty liver disease in the Asia-Pacific region: definitions and overview of proposed guidelines. *J Gastroenterol Hepatol.* junio de 2007;22(6):778-87.
85. Kashyap SR, Diab DL, Baker AR, Yerian L, Bajaj H, Gray-McGuire C, et al. Triglyceride levels and not adipokine concentrations are closely related to severity of nonalcoholic fatty liver disease in an obesity surgery cohort. *Obes Silver Spring Md.* septiembre de 2009;17(9):1696-701.
86. Buechler C, Wanninger J, Neumeier M. Adiponectin, a key adipokine in obesity related liver diseases. *World J Gastroenterol.* 21 de junio de 2011;17(23):2801-11.
87. Aller R, de Luis DA, Fernandez L, Calle F, Velayos B, Olcoz JL, et al. Influence of insulin resistance and adipokines in the grade of steatosis of nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci.* abril de 2008;53(4):1088-92.
88. Musso G, Gambino R, Durazzo M, Biroli G, Carello M, Fagà E, et al. Adipokines in NASH: postprandial lipid metabolism as a link between adiponectin and liver disease. *Hepatology Baltim Md.* noviembre de 2005;42(5):1175-83.
89. Gastaldelli A, Harrison S, Belfort-Aguiar R, Hardies J, Balas B, Schenker S, et al. Pioglitazone in the treatment of NASH: the role of adiponectin. *Aliment Pharmacol Ther.* septiembre de 2010;32(6):769-75.
90. Leclercq IA, Lebrun VA, Stärkel P, Horsmans YJ. Intrahepatic insulin resistance in a murine model of steatohepatitis: effect of PPARgamma agonist pioglitazone. *Lab Invest J Tech Methods Pathol.* enero de 2007;87(1):56-65.
91. Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KSL, Cooper GJS. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest.* julio de 2003;112(1):91-100.
92. Hug C, Lodish HF. Diabetes, obesity, and Acrp30/adiponectin. *BioTechniques.* septiembre de 2002;33(3):654, 656, 658 passim.
93. Abate N, Sallam H, Rizzo M, Nikolic D, Obradovic M, Bjelogrljic P, et al. Resistin: An Inflammatory Cytokine. Role in Cardiovascular Diseases, Diabetes and the Metabolic Syndrome. *Curr Pharm Des.* 31 de agosto de 2014;20(31):4961-9.
94. Satoh H, Nguyen MTA, Miles PDG, Imamura T, Usui I, Olefsky JM. Adenovirus-mediated chronic «hyper-resistinemia» leads to in vivo insulin resistance in normal rats. *J Clin Invest.* julio de 2004;114(2):224-31.
95. Muse ED, Obici S, Bhanot S, Monia BP, McKay RA, Rajala MW, et al. Role of resistin in diet-induced hepatic insulin resistance. *J Clin Invest.* julio de 2004;114(2):232-9.
96. Gieriej P, Gieriej B, Kalinowski P, Wróblewski T, Paluszkiwicz R, Kobryń K, et al. Expression of resistin in the liver of patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Pol J Pathol.* 2017;68(3):225-33.



97. Tilg H. The role of cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Basel Switz.* 2010;28(1):179-85.
98. Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J. Beyond insulin resistance in NASH: TNF-alpha or adiponectin? *Hepatology* Baltim Md. julio de 2004;40(1):46-54.
99. Zamora-Valdés D, Méndez-Sánchez N. Experimental evidence of obstructive sleep apnea syndrome as a second hit accomplice in nonalcoholic steatohepatitis pathogenesis. *Ann Hepatol.* 2007;6(4):281-3.
100. García-Galiano D, Sánchez-Garrido MA, Espejo I, Montero JL, Costán G, Marchal T, et al. IL-6 and IGF-1 are independent prognostic factors of liver steatosis and non-alcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients. *Obes Surg.* abril de 2007;17(4):493-503.
101. Reaven GM. Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiol Rev.* julio de 1995;75(3):473-86.
102. Neuschwander-Tetri BA. Nontriglyceride hepatic lipotoxicity: the new paradigm for the pathogenesis of NASH. *Curr Gastroenterol Rep.* febrero de 2010;12(1):49-56.
103. Contreras E, Santiago-García J. Obesidad, SM y su impacto en las enfermedades cardiovasculares. *Rev biomédica.* 2011; 22:103-15.
104. Zhu J, Su LP, Ye L, Lee KO, Ma JH. Thymosin beta 4 ameliorates hyperglycemia and improves insulin resistance of KK Cg-Ay/J mouse. *Diabetes Res Clin Pract.* abril de 2012;96(1):53-9.
105. Ballweber E, Hannappel E, Huff T, Stephan H, Haener M, Taschner N, et al. Polymerisation of chemically cross-linked actin:thymosin beta(4) complex to filamentous actin: alteration in helical parameters and visualisation of thymosin beta(4) binding on F-actin. *J Mol Biol.* 25 de enero de 2002;315(4):613-25.
106. Jiang Y, Zhang Y, Ma CH, Zhang ZG, Li M, Ji YL, et al. Association between thymosin beta4 and non-alcoholic fatty liver disease. *Rev Esp Enfermedades Dig [Internet].* 2019 [citado 8 de abril de 2023];111. Disponible en: <https://online.reed.es/fichaArticulo.aspx?iarf=685760743238-414272193161>
107. Jiang SY, Yang X, Yang Z, Li JW, Xu MQ, Qu YX, et al. Discovery of an insulin-induced gene binding compound that ameliorates nonalcoholic steatohepatitis by inhibiting sterol regulatory element-binding protein-mediated lipogenesis. *Hepatology* Baltim Md. noviembre de 2022;76(5):1466-81.
108. Charlton M, Sreekumar R, Rasmussen D, Lindor K, Nair KS. Apolipoprotein synthesis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* Baltim Md. abril de 2002;35(4):898-904.



109. Liao W, Hui TY, Young SG, Davis RA. Blocking microsomal triglyceride transfer protein interferes with apoB secretion without causing retention or stress in the ER. *J Lipid Res.* mayo de 2003;44(5):978-85.
110. Monetti M, Levin MC, Watt MJ, Sajan MP, Marmor S, Hubbard BK, et al. Dissociation of hepatic steatosis and insulin resistance in mice overexpressing DGAT in the liver. *Cell Metab.* julio de 2007;6(1):69-78.
111. Malhi H, Gores GJ. Molecular mechanisms of lipotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis.* noviembre de 2008;28(4):360-9.
112. Alkhoury N, Dixon LJ, Feldstein AE. Lipotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease: not all lipids are created equal. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* agosto de 2009;3(4):445-51.
113. Yamaguchi K, Yang L, McCall S, Huang J, Yu XX, Pandey SK, et al. Inhibiting triglyceride synthesis improves hepatic steatosis but exacerbates liver damage and fibrosis in obese mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatol Baltim Md.* junio de 2007;45(6):1366-74.
114. Lee Y, Hirose H, Ohneda M, Johnson JH, McGarry JD, Unger RH. Beta-cell lipotoxicity in the pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes mellitus of obese rats: impairment in adipocyte-beta-cell relationships. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 8 de noviembre de 1994;91(23):10878-82.
115. Pardo V, González-Rodríguez Á, Muntané J, Kozma SC, Valverde ÁM. Role of hepatocyte S6K1 in palmitic acid-induced endoplasmic reticulum stress, lipotoxicity, insulin resistance and in oleic acid-induced protection. *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc.* junio de 2015;80:298-309.
116. Listenberger LL, Han X, Lewis SE, Cases S, Farese RV, Ory DS, et al. Triglyceride accumulation protects against fatty acid-induced lipotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 18 de marzo de 2003;100(6):3077-82.
117. Mendez-Sanchez N, Cruz-Ramon V, Ramirez-Perez O, Hwang J, Barranco-Fragoso B, Cordova-Gallardo J. New Aspects of Lipotoxicity in Nonalcoholic Steatohepatitis. *Int J Mol Sci.* 13 de julio de 2018;19(7):2034.
118. Esler WP, Bence KK. Metabolic Targets in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 18 de abril de 2019;8(2):247-67.
119. Rolo AP, Teodoro JS, Palmeira CM. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Free Radic Biol Med.* 1 de enero de 2012;52(1):59-69.
120. Begriche K, Igoudjil A, Pessayre D, Fromenty B. Mitochondrial dysfunction in NASH: causes, consequences and possible means to prevent it. *Mitochondrion.* febrero de 2006;6(1):1-28.



121. Cusi K. Nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes mellitus. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* abril de 2009;16(2):141-9.
122. Paradies G, Paradies V, Ruggiero FM, Petrosillo G. Oxidative stress, cardiolipin and mitochondrial dysfunction in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 21 de octubre de 2014;20(39):14205-18.
123. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med.* 18 de abril de 2002;346(16):1221-31.
124. Wei Y, Wang D, Topczewski F, Pagliassotti MJ. Saturated fatty acids induce endoplasmic reticulum stress and apoptosis independently of ceramide in liver cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* agosto de 2006;291(2):E275-281.
125. Kammoun HL, Hainault I, Ferré P, Foufelle F. Nutritional related liver disease: targeting the endoplasmic reticulum stress. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* noviembre de 2009;12(6):575-82.
126. Wei Y, Wang D, Gentile CL, Pagliassotti MJ. Reduced endoplasmic reticulum luminal calcium links saturated fatty acid-mediated endoplasmic reticulum stress and cell death in liver cells. *Mol Cell Biochem.* noviembre de 2009;331(1-2):31-40.
127. Kapoor A, Sanyal AJ. Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response. *Clin Liver Dis.* noviembre de 2009;13(4):581-90.
128. Chen J, Schenker S, Frosto TA, Henderson GI. Inhibition of cytochrome c oxidase activity by 4-hydroxynonenal (HNE). Role of HNE adduct formation with the enzyme subunits. *Biochim Biophys Acta.* 8 de mayo de 1998;1380(3):336-44.
129. Pérez-Aguilar F. [Etiopathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis]. *Gastroenterol Hepatol.* 2005;28(7):396-406.
130. Einer C, Leitzinger C, Lichtmanegger J, Eberhagen C, Rieder T, Borchard S, et al. A High-Calorie Diet Aggravates Mitochondrial Dysfunction and Triggers Severe Liver Damage in Wilson Disease Rats. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2019;7(3):571-96.
131. Baskol G, Baskol M, Kocer D. Oxidative stress and antioxidant defenses in serum of patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Biochem.* julio de 2007;40(11):776-80.
132. Dowding JM, Dosani T, Kumar A, Seal S, Self WT. Cerium oxide nanoparticles scavenge nitric oxide radical (\cdot NO). *Chem Commun Camb Engl.* 18 de mayo de 2012;48(40):4896-8.
133. Carvajal S, Perramón M, Oró D, Casals E, Fernández-Varo G, Casals G, et al. Cerium oxide nanoparticles display antilipogenic effect in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Sci Rep.* 6 de septiembre de 2019;9(1):12848.



134. Abenavoli L, Greco M, Milic N, Accattato F, Foti D, Gulletta E, et al. Effect of Mediterranean Diet and Antioxidant Formulation in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized Study. *Nutrients*. 12 de agosto de 2017;9(8):870.
135. Bieghs V, Trautwein C. Innate immune signaling and gut-liver interactions in non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatobiliary Surg Nutr*. diciembre de 2014;3(6):377-85.
136. Aron-Wisnewsky J, Gaborit B, Dutour A, Clement K. Gut microbiota and non-alcoholic fatty liver disease: new insights. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. abril de 2013;19(4):338-48.
137. Ilan Y. Leaky gut and the liver: a role for bacterial translocation in nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol*. 7 de junio de 2012;18(21):2609-18.
138. Duarte SMB, Stefano JT, Oliveira CP. Microbiota and nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis (NAFLD/NASH). *Ann Hepatol*. 2019;18(3):416-21.
139. García-Monzón C, Martín-Pérez E, Iacono OL, Fernández-Bermejo M, Majano PL, Apolinario A, et al. Characterization of pathogenic and prognostic factors of nonalcoholic steatohepatitis associated with obesity. *J Hepatol*. noviembre de 2000;33(5):716-24.
140. Caballería L, Saló J, Berzigotti A, Planas R, Vila C, Huertas C, et al. [Non-alcoholic fatty liver: position document of the Catalan Society of Gastroenterology]. *Gastroenterol Hepatol*. 2014;37(6):372-83.
141. Gallego-Durán R, Ampuero J, Funuyet J, Romero-Gómez M. [Alcoholic and non-alcoholic steatohepatitis: who is affected and what can we do for them?]. *Gastroenterol Hepatol*. noviembre de 2013;36(9):587-96.
142. Gallego-Durán R, Cerro-Salido P, Gomez-Gonzalez E, Pareja MJ, Ampuero J, Rico MC, et al. Imaging biomarkers for steatohepatitis and fibrosis detection in non-alcoholic fatty liver disease. *Sci Rep*. 12 de agosto de 2016;6:31421.
143. Foucher J, Castéra L, Bernard PH, Adhoute X, Laharie D, Bertet J, et al. Prevalence and factors associated with failure of liver stiffness measurement using FibroScan in a prospective study of 2114 examinations. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. abril de 2006;18(4):411-2.
144. Wong VWS, Vergniol J, Wong GLH, Foucher J, Chan HLY, Le Bail B, et al. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Baltim Md*. febrero de 2010;51(2):454-62.
145. Friedrich-Rust M, Romen D, Vermehren J, Kriener S, Sadet D, Herrmann E, et al. Acoustic radiation force impulse-imaging and transient elastography for non-invasive assessment of liver fibrosis and steatosis in NAFLD. *Eur J Radiol*. marzo de 2012;81(3):e325-331.



146. Caballería L, Saló J, Berzigotti A, Planas R, Vila C, Huertas C, et al. [Non-alcoholic fatty liver: position document of the Catalan Society of Gastroenterology]. *Gastroenterol Hepatol*. 2014;37(6):372-83.
147. Romero FP. Will non-invasive testing replace liver biopsy in the diagnosis and follow-up of non-alcoholic steatohepatitis (NASH)? *Rev Esp Enferm Dig*. agosto de 2009;101(8):521-7.
148. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. junio de 2005;41(6):1313-21.
149. Bedossa P, FLIP Pathology Consortium. Utility and appropriateness of the fatty liver inhibition of progression (FLIP) algorithm and steatosis, activity, and fibrosis (SAF) score in the evaluation of biopsies of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. agosto de 2014;60(2):565-75.
150. Younossi ZM, Stepanova M, Rafiq N, Makhlof H, Younoszai Z, Agrawal R, et al. Pathologic criteria for nonalcoholic steatohepatitis: interprotocol agreement and ability to predict liver-related mortality. *Hepatology*. junio de 2011;53(6):1874-82.
151. Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, Fredrikson M, Stål P, Kechagias S, et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology*. mayo de 2015;61(5):1547-54.
152. Meffert PJ, Baumeister SE, Lerch MM, Mayerle J, Kratzer W, Völzke H. Development, external validation, and comparative assessment of a new diagnostic score for hepatic steatosis. *Am J Gastroenterol*. septiembre de 2014;109(9):1404-14.
153. Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, et al. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol*. 2 de noviembre de 2006;6:33.
154. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med*. diciembre de 2011;43(8):617-49.
155. Lombardi R, Buzzetti E, Roccarina D, Tsochatzis EA. Non-invasive assessment of liver fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol*. 21 de octubre de 2015;21(39):11044-52.
156. Machado MV, Cortez-Pinto H. Non-invasive diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease. A critical appraisal. *J Hepatol*. mayo de 2013;58(5):1007-19.
157. Lassailly G, Caiazzo R, Pattou F, Mathurin P. Perspectives on Treatment for Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. junio de 2016;150(8):1835-48.



158. Zelber-Sagi S, Lotan R, Shlomain A, Webb M, Harrari G, Buch A, et al. Predictors for incidence and remission of NAFLD in the general population during a seven-year prospective follow-up. *J Hepatol.* mayo de 2012;56(5):1145-51.
159. Harrison SA, Fecht W, Brunt EM, Neuschwander-Tetri BA. Orlistat for overweight subjects with nonalcoholic steatohepatitis: A randomized, prospective trial. *Hepatology Baltim Md.* enero de 2009;49(1):80-6.
160. Promrat K, Kleiner DE, Niemeier HM, Jackvony E, Kearns M, Wands JR, et al. Randomized controlled trial testing the effects of weight loss on nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology Baltim Md.* enero de 2010;51(1):121-9.
161. Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Oramas B, Gonzalez-Fabian L, et al. Weight Loss Through Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology.* agosto de 2015;149(2):367-378.e5; quiz e14-15.
162. Glass LM, Dickson RC, Anderson JC, Suriawinata AA, Putra J, Berk BS, et al. Total body weight loss of $\geq 10\%$ is associated with improved hepatic fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Dig Dis Sci.* abril de 2015;60(4):1024-30.
163. Kirk E, Reeds DN, Finck BN, Mayurranjan SM, Patterson BW, Klein S. Dietary fat and carbohydrates differentially alter insulin sensitivity during caloric restriction. *Gastroenterology.* mayo de 2009;136(5):1552-60.
164. Ryan MC, Itsiopoulos C, Thodis T, Ward G, Trost N, Hofferberth S, et al. The Mediterranean diet improves hepatic steatosis and insulin sensitivity in individuals with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* julio de 2013;59(1):138-43.
165. Shai I, Schwarzfuchs D, Henkin Y, Shahar DR, Witkow S, Greenberg I, et al. Weight loss with a low-carbohydrate, Mediterranean, or low-fat diet. *N Engl J Med.* 17 de julio de 2008;359(3):229-41.
166. Conlon BA, Beasley JM, Aebersold K, Jhangiani SS, Wylie-Rosett J. Nutritional management of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Nutrients.* 11 de octubre de 2013;5(10):4093-114.
167. Parker HM, Johnson NA, Burdon CA, Cohn JS, O'Connor HT, George J. Omega-3 supplementation and non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *J Hepatol.* abril de 2012;56(4):944-51.
168. Clark SJ, Shojaee-Moradie F, Croos P, Seed PT, Umpleby AM, Wendon JA, et al. Temporal changes in insulin sensitivity following the development of acute liver failure secondary to acetaminophen. *Hepatology Baltim Md.* julio de 2001;34(1):109-15.
169. Serrano-Martinez M, Palacios M, Martinez-Losa E, Lezaun R, Maravi C, Prado M, et al. A Mediterranean dietary style influences TNF-alpha and VCAM-1 coronary blood levels in unstable angina patients. *Eur J Nutr.* septiembre de 2005;44(6):348-54.



170. Madigan C, Ryan M, Owens D, Collins P, Tomkin GH. Dietary unsaturated fatty acids in type 2 diabetes: higher levels of postprandial lipoprotein on a linoleic acid-rich sunflower oil diet compared with an oleic acid-rich olive oil diet. *Diabetes Care*. octubre de 2000;23(10):1472-7.
171. Plaza FJ, Goñi JLO. Fatty liver disease : a reality with many questions. Eolas Ediciones; 2018. 319-334 p.
172. Shen H, Rodriguez AC, Shiani A, Lipka S, Shahzad G, Kumar A, et al. Association between caffeine consumption and nonalcoholic fatty liver disease: a systemic review and meta-analysis. *Ther Adv Gastroenterol*. enero de 2016;9(1):113-20.
173. Perseghin G, Price TB, Petersen KF, Roden M, Cline GW, Gerow K, et al. Increased glucose transport-phosphorylation and muscle glycogen synthesis after exercise training in insulin-resistant subjects. *N Engl J Med*. 31 de octubre de 1996;335(18):1357-62.
174. Ross R, Dagnone D, Jones PJ, Smith H, Paddags A, Hudson R, et al. Reduction in obesity and related comorbid conditions after diet-induced weight loss or exercise-induced weight loss in men. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med*. 18 de julio de 2000;133(2):92-103.
175. Pan XR, Li GW, Hu YH, Wang JX, Yang WY, An ZX, et al. Effects of diet and exercise in preventing NIDDM in people with impaired glucose tolerance. The Da Qing IGT and Diabetes Study. *Diabetes Care*. abril de 1997;20(4):537-44.
176. Orzi LA, Gariani K, Oldani G, Delaune V, Morel P, Toso C. Exercise-based Interventions for Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Meta-analysis and Meta-regression. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. octubre de 2016;14(10):1398-411.
177. Sung KC, Ryu S, Lee JY, Kim JY, Wild SH, Byrne CD. Effect of exercise on the development of new fatty liver and the resolution of existing fatty liver. *J Hepatol*. octubre de 2016;65(4):791-7.
178. Keating SE, Hackett DA, Parker HM, O'Connor HT, Gerofi JA, Sainsbury A, et al. Effect of aerobic exercise training dose on liver fat and visceral adiposity. *J Hepatol*. julio de 2015;63(1):174-82.
179. Bacchi E, Negri C, Targher G, Faccioli N, Lanza M, Zoppini G, et al. Both resistance training and aerobic training reduce hepatic fat content in type 2 diabetic subjects with nonalcoholic fatty liver disease (the RAED2 Randomized Trial). *Hepatol Baltim Md*. octubre de 2013;58(4):1287-95.
180. Vilar-Gomez E, Yasells-Garcia A, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Oramas B, et al. Development and validation of a noninvasive prediction model for nonalcoholic steatohepatitis resolution after lifestyle intervention. *Hepatol Baltim Md*. junio de 2016;63(6):1875-87.



181. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM, et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med.* 6 de mayo de 2010;362(18):1675-85.
182. Miller ER, Pastor-Barriuso R, Dalal D, Riemersma RA, Appel LJ, Guallar E. Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med.* 4 de enero de 2005;142(1):37-46.
183. Klein EA, Thompson IM, Tangen CM, Crowley JJ, Lucia MS, Goodman PJ, et al. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA.* 12 de octubre de 2011;306(14):1549-56.
184. Sharma BC, Kumar A, Garg V, Reddy RS, Sakhuja P, Sarin SK. A Randomized Controlled Trial Comparing Efficacy of Pentoxifylline and Pioglitazone on Metabolic Factors and Liver Histology in Patients with Non-alcoholic Steatohepatitis. *J Clin Exp Hepatol.* diciembre de 2012;2(4):333-7.
185. Lincoff AM, Wolski K, Nicholls SJ, Nissen SE. Pioglitazone and risk of cardiovascular events in patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of randomized trials. *JAMA.* 12 de septiembre de 2007;298(10):1180-8.
186. Colhoun HM, Livingstone SJ, Looker HC, Morris AD, Wild SH, Lindsay RS, et al. Hospitalised hip fracture risk with rosiglitazone and pioglitazone use compared with other glucose-lowering drugs. *Diabetologia.* noviembre de 2012;55(11):2929-37.
187. Lewis JD, Ferrara A, Peng T, Hedderson M, Bilker WB, Quesenberry CP, et al. Risk of bladder cancer among diabetic patients treated with pioglitazone: interim report of a longitudinal cohort study. *Diabetes Care.* abril de 2011;34(4):916-22.
188. Zein CO, Lopez R, Fu X, Kirwan JP, Yerian LM, McCullough AJ, et al. Pentoxifylline decreases oxidized lipid products in nonalcoholic steatohepatitis: new evidence on the potential therapeutic mechanism. *Hepatol Baltim Md.* octubre de 2012;56(4):1291-9.
189. Ma YY, Li L, Yu CH, Shen Z, Chen LH, Li YM. Effects of probiotics on nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *World J Gastroenterol.* 28 de octubre de 2013;19(40):6911-8.
190. Aller R, De Luis DA, Izaola O, Conde R, Gonzalez Sagrado M, Primo D, et al. Effect of a probiotic on liver aminotransferases in nonalcoholic fatty liver disease patients: a double blind randomized clinical trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* septiembre de 2011;15(9):1090-5.
191. Adorini L, Pruzanski M, Shapiro D. Farnesoid X receptor targeting to treat nonalcoholic steatohepatitis. *Drug Discov Today.* septiembre de 2012;17(17-18):988-97.



192. Neuschwander-Tetri BA, Loomba R, Sanyal AJ, Lavine JE, Van Natta ML, Abdelmalek MF, et al. Farnesoid X nuclear receptor ligand obeticholic acid for non-cirrhotic, non-alcoholic steatohepatitis (FLINT): a multicentre, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 14 de marzo de 2015;385(9972):956-65.
193. Meissner EG, McLaughlin M, Matthews L, Gharib AM, Wood BJ, Levy E, et al. Simtuzumab treatment of advanced liver fibrosis in HIV and HCV-infected adults: results of a 6-month open-label safety trial. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver*. diciembre de 2016;36(12):1783-92.
194. Shields WW, Thompson KE, Grice GA, Harrison SA, Coyle WJ. The Effect of Metformin and Standard Therapy versus Standard Therapy alone in Nondiabetic Patients with Insulin Resistance and Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH): A Pilot Trial. *Ther Adv Gastroenterol*. mayo de 2009;2(3):157-63.
195. Li Y, Liu L, Wang B, Wang J, Chen D. Metformin in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Biomed Rep*. enero de 2013;1(1):57-64.
196. Ratziu V, Harrison SA, Francque S, Bedossa P, Leheret P, Serfaty L, et al. Elafibranor, an Agonist of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α and $-\delta$, Induces Resolution of Nonalcoholic Steatohepatitis Without Fibrosis Worsening. *Gastroenterology*. mayo de 2016;150(5):1147-1159.e5.
197. Rizvi AA, Patti AM, Giglio RV, Nikolic D, Amato A, Al-Busaidi N, et al. Liraglutide improves carotid intima-media thickness in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease: an 8-month prospective pilot study. *Expert Opin Biol Ther*. 2015;15(10):1391-7.
198. Kahl S, Gancheva S, Straßburger K, Herder C, Machann J, Katsuyama H, et al. Empagliflozin Effectively Lowers Liver Fat Content in Well-Controlled Type 2 Diabetes: A Randomized, Double-Blind, Phase 4, Placebo-Controlled Trial. *Diabetes Care*. febrero de 2020;43(2):298-305.
199. Tikkanen MJ, Fayyad R, Faergeman O, Olsson AG, Wun CC, Laskey R, et al. Effect of intensive lipid lowering with atorvastatin on cardiovascular outcomes in coronary heart disease patients with mild-to-moderate baseline elevations in alanine aminotransferase levels. *Int J Cardiol*. 9 de octubre de 2013;168(4):3846-52.
200. Chang SH, Stoll CRT, Song J, Varela JE, Eagon CJ, Colditz GA. The effectiveness and risks of bariatric surgery: an updated systematic review and meta-analysis, 2003-2012. *JAMA Surg*. marzo de 2014;149(3):275-87.
201. Schauer PR, Bhatt DL, Kirwan JP, Wolski K, Aminian A, Brethauer SA, et al. Bariatric Surgery versus Intensive Medical Therapy for Diabetes - 5-Year Outcomes. *N Engl J Med*. 16 de febrero de 2017;376(7):641-51.



202. Sjöström L, Narbro K, Sjöström CD, Karason K, Larsson B, Wedel H, et al. Effects of bariatric surgery on mortality in Swedish obese subjects. *N Engl J Med.* 23 de agosto de 2007;357(8):741-52.
203. Lassailly G, Caiazzo R, Buob D, Pigeyre M, Verkindt H, Labreuche J, et al. Bariatric Surgery Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis in Morbidly Obese Patients. *Gastroenterology.* agosto de 2015;149(2):379-88; quiz e15-16.
204. Bower G, Toma T, Harling L, Jiao LR, Efthimiou E, Darzi A, et al. Bariatric Surgery and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: a Systematic Review of Liver Biochemistry and Histology. *Obes Surg.* diciembre de 2015;25(12):2280-9.
205. Mosko JD, Nguyen GC. Increased perioperative mortality following bariatric surgery among patients with cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* octubre de 2011;9(10):897-901.
206. Espinet Coll E, Vila Lolo C, Díaz Galán P, Gómez Valero JA, Bacchiddu S, Quintana Tomás C, et al. Bariatric and metabolic endoscopy in the handling of fatty liver disease. A new emerging approach? *Rev Esp Enferm Dig.* abril de 2019;111(4):283-93.
207. Kumar N, Bazerbachi F, Rustagi T, McCarty TR, Thompson CC, Galvao Neto MP, et al. The Influence of the Orbera Intra-gastric Balloon Filling Volumes on Weight Loss, Tolerability, and Adverse Events: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Obes Surg.* septiembre de 2017;27(9):2272-8.
208. Espinós JC, Turró R, Moragas G, Bronstone A, Buchwald JN, Mearin F, et al. Gastrointestinal Physiological Changes and Their Relationship to Weight Loss Following the POSE Procedure. *Obes Surg.* mayo de 2016;26(5):1081-9.
209. Sharaiha RZ, Kumta NA, Saumoy M, Desai AP, Sarkisian AM, Benevenuto A, et al. Endoscopic Sleeve Gastroplasty Significantly Reduces Body Mass Index and Metabolic Complications in Obese Patients. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* abril de 2017;15(4):504-10.
210. Abu Dayyeh BK, Bazerbachi F, Graupera I, Cardenas A. Endoscopic bariatric and metabolic therapies for non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* diciembre de 2019;71(6):1246-8.
211. Cholankeril G, Ahmed A. Alcoholic Liver Disease Replaces Hepatitis C Virus Infection as the Leading Indication for Liver Transplantation in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* agosto de 2018;16(8):1356-8.
212. Haldar D, Kern B, Hodson J, Armstrong MJ, Adam R, Berlakovich G, et al. Outcomes of liver transplantation for non-alcoholic steatohepatitis: A European Liver Transplant Registry study. *J Hepatol.* agosto de 2019;71(2):313-22.



213. Cholanckeril G, Wong RJ, Hu M, Perumpail RB, Yoo ER, Puri P, et al. Liver Transplantation for Nonalcoholic Steatohepatitis in the US: Temporal Trends and Outcomes. *Dig Dis Sci.* octubre de 2017;62(10):2915-22.
214. Charlton MR, Burns JM, Pedersen RA, Watt KD, Heimbach JK, Dierkhising RA. Frequency and outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis in the United States. *Gastroenterology.* octubre de 2011;141(4):1249-53.
215. Wang X, Li J, Riaz DR, Shi G, Liu C, Dai Y. Outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* marzo de 2014;12(3):394-402.e1.
216. Goldberg D, Ditah IC, Saeian K, Lalehzari M, Aronsohn A, Gorospe EC, et al. Changes in the Prevalence of Hepatitis C Virus Infection, Nonalcoholic Steatohepatitis, and Alcoholic Liver Disease Among Patients With Cirrhosis or Liver Failure on the Waitlist for Liver Transplantation. *Gastroenterology.* abril de 2017;152(5):1090-1099.e1.
217. Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Gómez JM, et al. Bioelectrical impedance analysis--part I: review of principles and methods. *Clin Nutr Edinb Scotl.* octubre de 2004;23(5):1226-43.
218. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD, American Association for the Study of Liver Diseases. Liver biopsy. *Hepatol Baltim Md.* marzo de 2009;49(3):1017-44.
219. Hagström H, Nasr P, Ekstedt M, Kechagias S, Stål P, Bedossa P, et al. SAF score and mortality in NAFLD after up to 41 years of follow-up. *Scand J Gastroenterol.* enero de 2017;52(1):87-91.
220. Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol.* agosto de 2010;53(2):372-84.
221. Kahn HS. The «lipid accumulation product» performs better than the body mass index for recognizing cardiovascular risk: a population-based comparison. *BMC Cardiovasc Disord.* 8 de septiembre de 2005;5:26.
222. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatol Baltim Md.* junio de 2006;43(6):1317-25.
223. WMA - The World Medical Association-Declaración de Helsinki de la AMM Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos [Internet]. [citado 6 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://www.wma.net/es/policias-post-declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>



224. Zhang S, Du T, Li M, Jia J, Lu H, Lin X, et al. Triglyceride glucose-body mass index is effective in identifying nonalcoholic fatty liver disease in nonobese subjects. *Medicine (Baltimore)*. junio de 2017;96(22):e7041.
225. Long MT, Nouredin M, Lim JK. AGA Clinical Practice Update: Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Lean Individuals: Expert Review. *Gastroenterology*. septiembre de 2022;163(3):764-774.e1.
226. Leung JC, Loong TC, Wei JL, Wong GL, Chan AW, Choi PC, et al. Histological severity and clinical outcomes of nonalcoholic fatty liver disease in nonobese patients. *Hepatology*. enero de 2017;65(1):54-64.
227. Fracanzani AL, Petta S, Lombardi R, Pisano G, Russello M, Consonni D, et al. Liver and Cardiovascular Damage in Patients With Lean Nonalcoholic Fatty Liver Disease, and Association With Visceral Obesity. *Clin Gastroenterol Hepatol*. octubre de 2017;15(10):1604-1611.e1.
228. Hagström H, Nasr P, Ekstedt M, Hammar U, Stål P, Hultcrantz R, et al. Risk for development of severe liver disease in lean patients with nonalcoholic fatty liver disease: A long-term follow-up study. *Hepatology*. enero de 2018;66(1):48-57.
229. Ampuero J, Aller R, Gallego-Durán R, Banales JM, Crespo J, García-Monzón C, et al. The effects of metabolic status on non-alcoholic fatty liver disease-related outcomes, beyond the presence of obesity. *Aliment Pharmacol Ther*. diciembre de 2018;48(11-12):1260-70.
230. Hashiba M, Ono M, Hyogo H, Ikeda Y, Masuda K, Yoshioka R, et al. Glycemic Variability Is an Independent Predictive Factor for Development of Hepatic Fibrosis in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *PLoS ONE*. 6 de noviembre de 2013;8(11):e76161.
231. Angulo P, Alba LM, Petrovic LM, Adams LA, Lindor KD, Jensen MD. Leptin, insulin resistance, and liver fibrosis in human nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. diciembre de 2004;41(6):943-9.
232. Kessoku T, Yoneda M, Sumida Y, Eguchi Y, Fujii H, Hyogo H, et al. Insulin resistance correlated with the severity of liver histology in Japanese NAFLD patients: a multicenter retrospective study. *J Clin Gastroenterol*. febrero de 2015;49(2):169-70.
233. García-Monzón C, Vargas-Castrillón J, Porrero JL, Alonso MT, Bonachía O, Castiello MJ, et al. Prevalence and risk factors for biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in a prospective cohort of adult patients with gallstones. *Liver Int*. agosto de 2015;35(8):1983-91.
234. Ballestri S, Nascimbeni F, Romagnoli D, Lonardo A. The independent predictors of non-alcoholic steatohepatitis and its individual histological features.: Insulin resistance, serum uric acid, metabolic syndrome, alanine aminotransferase and serum



- total cholesterol are a clue to pathogenesis and candidate targets for treatment. *Hepatol Res Off J Jpn Soc Hepatol.* octubre de 2016;46(11):1074-87.
235. Fujii H, Imajo K, Yoneda M, Nakahara T, Hyogo H, Takahashi H, et al. HOMA-IR: An independent predictor of advanced liver fibrosis in nondiabetic non-alcoholic fatty liver disease: Insulin resistance and liver fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol.* agosto de 2019;34(8):1390-5.
236. Gómez de la Cuesta S, Aller de la Fuente R, Tafur Sánchez C, Izaola O, García Sánchez C, Mora N, et al. Analytical, anthropometric and dietary factors associated with the development of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Rev Esp Enferm Dig.* mayo de 2018;110(5):292-8.
237. Petta S, Amato MC, Di Marco V, Cammà C, Pizzolanti G, Barcellona MR, et al. Visceral adiposity index is associated with significant fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* enero de 2012;35(2):238-47.
238. Vural Keskinler M, Mutlu HH, Sirin A, Erkalma Senates B, Colak Y, Tuncer I, et al. Visceral Adiposity Index As a Practical Tool in Patients with Biopsy-Proven Non-alcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis. *Metab Syndr Relat Disord.* febrero de 2021;19(1):26-31.
239. Vongsuvan R, George J, McLeod D, van der Poorten D. Visceral adiposity index is not a predictor of liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* agosto de 2012;57(2):392-8.
240. Aller R, Izaola O, de la Fuente B, De Luis Román DA. MEDITERRANEAN DIET IS ASSOCIATED WITH LIVER HISTOLOGY IN PATIENTS WITH NON ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE. *Nutr Hosp.* 1 de diciembre de 2015;32(6):2518-24.
241. Sofi F, Casini A. Mediterranean diet and non-alcoholic fatty liver disease: new therapeutic option around the corner? *World J Gastroenterol.* 21 de junio de 2014;20(23):7339-46.
242. 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.* mayo de 2007;30(5):1075-80.
243. Tzima N, Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysohoou C, Polychronopoulos E, Skoumas J, et al. Adherence to the Mediterranean diet moderates the association of aminotransferases with the prevalence of the metabolic syndrome; the ATTICA study. *Nutr Metab.* 30 de julio de 2009;6:30.
244. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C. Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis NMCD.* diciembre de 2006;16(8):559-68.



245. Romaguera D, Norat T, Mouw T, May AM, Bamia C, Slimani N, et al. Adherence to the Mediterranean diet is associated with lower abdominal adiposity in European men and women. *J Nutr.* septiembre de 2009;139(9):1728-37.
246. Schröder H, Marrugat J, Vila J, Covas MI, Elosua R. Adherence to the traditional mediterranean diet is inversely associated with body mass index and obesity in a spanish population. *J Nutr.* diciembre de 2004;134(12):3355-61.
247. Beunza JJ, Toledo E, Hu FB, Bes-Rastrollo M, Serrano-Martínez M, Sánchez-Villegas A, et al. Adherence to the Mediterranean diet, long-term weight change, and incident overweight or obesity: the Seguimiento Universidad de Navarra (SUN) cohort. *Am J Clin Nutr.* diciembre de 2010;92(6):1484-93.
248. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, et al. Retraction and Republication: Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet. *N Engl J Med* 2013;368:1279-90. *N Engl J Med.* 21 de junio de 2018;378(25):2441-2.
249. Xiao G, Zhu S, Xiao X, Yan L, Yang J, Wu G. Comparison of laboratory tests, ultrasound, or magnetic resonance elastography to detect fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Hepatology* Baltim Md. noviembre de 2017;66(5):1486-501.
250. F E, E K, Y Y. Accuracy of Fibrosis-4 index and non-alcoholic fatty liver disease fibrosis scores in metabolic (dysfunction) associated fatty liver disease according to body mass index: failure in the prediction of advanced fibrosis in lean and morbidly obese individuals. *Eur J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 1 de enero de 2022 [citado 31 de mayo de 2023];34(1). Disponible en: <https://pubmed.publicaciones.saludcastillayleon.es/32976186/>
251. Gatselis NK, Ntaios G, Makaritsis K, Dalekos GN. Adiponectin: a key player adipocytokine in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Exp Med.* mayo de 2014;14(2):121-31.
252. Feldman A, Eder SK, Felder TK, Kedenko L, Paulweber B, Stadlmayr A, et al. Clinical and Metabolic Characterization of Lean Caucasian Subjects With Non-alcoholic Fatty Liver. *Am J Gastroenterol.* enero de 2017;112(1):102-10.
253. Westerbacka J, Cornér A, Tiikkainen M, Tamminen M, Vehkavaara S, Häkkinen AM, et al. Women and men have similar amounts of liver and intra-abdominal fat, despite more subcutaneous fat in women: implications for sex differences in markers of cardiovascular risk. *Diabetologia.* agosto de 2004;47(8):1360-9.
254. Mantovani RM, Rocha NP, Magalhães DM, Barbosa IG, Teixeira AL, Simões E Silva AC. Early changes in adipokines from overweight to obesity in children and adolescents. *J Pediatr (Rio J).* 2016;92(6):624-30.



255. Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Adipokines in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. agosto de 2016;65(8):1062-79.
256. Shen C, Zhao CY, Wang W, Wang YD, Sun H, Cao W, et al. The relationship between hepatic resistin overexpression and inflammation in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *BMC Gastroenterol*. diciembre de 2014;14(1):39.
257. Wong VW, Hui AY, Tsang SW, Chan JL, Tse AM, Chan K, et al. Metabolic and Adipokine Profile of Chinese Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. septiembre de 2006;4(9):1154-61.
258. Jarrar MH, Baranova A, Collantes R, Ranard B, Stepanova M, Bennett C, et al. Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease: ADIPOKINES AND CYTOKINES IN NAFLD. *Aliment Pharmacol Ther*. 10 de diciembre de 2007;27(5):412-21.
259. Acquarone E, Monacelli F, Borghi R, Nencioni A, Odetti P. Resistin: A reappraisal. *Mech Ageing Dev*. marzo de 2019;178:46-63.
260. Anstee Q, Day C. The Genetics of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Spotlight on PNPLA3 and TM6SF2. *Semin Liver Dis*. 17 de septiembre de 2015;35(03):270-90.
261. De Luis DA, Aller R, Izaola O, Romero E. [Not Available]. *Nutr Hosp*. 30 de junio de 2016;33(3):267.
262. Speliotes EK, Butler JL, Palmer CD, Voight BF, GIANT Consortium, MIGen Consortium, et al. PNPLA3 variants specifically confer increased risk for histologic nonalcoholic fatty liver disease but not metabolic disease. *Hepatol Baltim Md*. septiembre de 2010;52(3):904-12.
263. Chen F, Esmaili S, Rogers GB, Bugianesi E, Petta S, Marchesini G, et al. Lean NAFLD: A Distinct Entity Shaped by Differential Metabolic Adaptation. *Hepatol Baltim Md*. abril de 2020;71(4):1213-27.
264. Chambers JC, Zhang W, Sehmi J, Li X, Wass MN, Van der Harst P, et al. Genome-wide association study identifies loci influencing concentrations of liver enzymes in plasma. *Nat Genet*. 16 de octubre de 2011;43(11):1131-8.
265. Kawaguchi T, Sumida Y, Umemura A, Matsuo K, Takahashi M, Takamura T, et al. Genetic polymorphisms of the human PNPLA3 gene are strongly associated with severity of non-alcoholic fatty liver disease in Japanese. *PloS One*. 2012;7(6):e38322.
266. Anstee QM, Darlay R, Leathart JB, Clement J, Clement K, Aithal GP, Valenti L, Van Gaal L, Stickel F, Allison ME, Romero-Gomez M, Andrade RJ, Reeves H, Pihlajamaki J, Bedossa P, Kotronen A, Yki-Jarvinen H, Chalasani NP, Kleiner DE, Rotter J, Burt AD, Ratziu V, Cordell HJ, Daly AK, Day CP. Genome-Wide Association Analysis Confirms Importance of PNPLA3 and Identifies Novel Variants Associated With Histologically Progressive Steatohepatitis in NAFLD. *AASLD Abstracts*. *Hepatology*. octubre de 2012;56(S1):191A-1144A.



267. Kitamoto T, Kitamoto A, Yoneda M, Hyogo H, Ochi H, Nakamura T, et al. Genome-wide scan revealed that polymorphisms in the PNPLA3, SAMM50, and PARVB genes are associated with development and progression of nonalcoholic fatty liver disease in Japan. *Hum Genet.* julio de 2013;132(7):783-92.
268. Feitosa MF, Wojczynski MK, North KE, Zhang Q, Province MA, Carr JJ, et al. The ERLIN1-CHUK-CWF19L1 gene cluster influences liver fat deposition and hepatic inflammation in the NHLBI Family Heart Study. *Atherosclerosis.* mayo de 2013;228(1):175-80.
269. Kozlitina J, Smagris E, Stender S, Nordestgaard BG, Zhou HH, Tybjærg-Hansen A, et al. Exome-wide association study identifies a TM6SF2 variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet.* abril de 2014;46(4):352-6.
270. DiStefano JK, Kingsley C, Craig Wood G, Chu X, Argyropoulos G, Still CD, et al. Genome-wide analysis of hepatic lipid content in extreme obesity. *Acta Diabetol.* abril de 2015;52(2):373-82.
271. Shen JH, Li YL, Li D, Wang NN, Jing L, Huang YH. The rs738409 (I148M) variant of the PNPLA3 gene and cirrhosis: a meta-analysis. *J Lipid Res.* enero de 2015;56(1):167-75.
272. Aller R, de Luis DA, Izaola O, González Sagrado M, Conde R, Alvarez Gago T, et al. G308A polymorphism of TNF-alpha gene is associated with insulin resistance and histological changes in non alcoholic fatty liver disease patients. *Ann Hepatol.* 2010;9(4):439-44.

