



Universidad de Valladolid



PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA  
SALUD

TESIS DOCTORAL:

**PREVALENCIA, SEVERIDAD Y COSTES  
ASOCIADOS AL DIAGNÓSTICO DE PACIENTES  
CON ESTEATOSIS HEPÁTICA METABÓLICA  
(EHmet)**

Presentada por

**Natalia Mora Cuadrado**

Para optar al grado de  
Doctora por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:

Dra. Rocío Aller de la Fuente

Valladolid 2022





*A mi familia*



*“La ciencia no conoce país, porque el conocimiento pertenece a la humanidad, y es la antorcha que ilumina el mundo”*

*Louis Pasteur*



# AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría expresar mi agradecimiento a mi directora, la doctora Rocío Aller, por sus consejos, conocimientos, motivación y paciencia, sin los cuales no hubiera sido posible la realización de esta tesis. Gracias por confiar en mí y guiarme durante todo este tiempo.

A mis compañeros del Hospital Clínico de Valladolid por los ánimos y momentos compartidos. A mis compañeras y amigas de residencia, por alegrarme los días de trabajo, por tantas experiencias vividas y las que nos quedan por vivir.

A mis amigos de toda la vida, que me han acompañado en los buenos y malos momentos.

A toda mi maravillosa familia, por su amor incondicional y a quienes debo lo que soy. A mi hermana Beatriz, mi mejor maestra en la aventura del doctorado, y a Eva por su ayuda y grandes consejos. A mis padres, mis mayores referentes, por estar siempre a mi lado y animarme a conseguir todos mis propósitos.

Y gracias a ti Cristian, por ser mi motor, por confiar más en mí que a veces yo misma. Por tu apoyo constante y por transmitirme tu alegría, que hacen que cada día sea un poquito mejor.

## Índice

---

# ÍNDICE

## Índice

---

<b>1. RESUMEN.....</b>	<b>31</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>35</b>
<b>2.1. Concepto.....</b>	<b>37</b>
<b>2.2. Epidemiología .....</b>	<b>38</b>
2.2.1. Prevalencia.....	38
2.2.2. Factores de riesgo .....	40
<b>2.3. Historia natural .....</b>	<b>48</b>
<b>2.4. Patogenia .....</b>	<b>52</b>
2.4.1. Metabolismo graso y resistencia a la insulina .....	53
2.4.2. Disfunción mitocondrial.....	54
2.4.3. Estrés del retículo endoplasmático.....	55
2.4.4. Inflamasoma .....	55
2.4.5. Adipoquinas .....	57
2.4.6. Microbiota intestinal.....	58
<b>2.5. Diagnóstico.....</b>	<b>60</b>
2.5.1. Diagnóstico no invasivo.....	61
2.5.2. Biopsia hepática.....	73
<b>2.6. Tratamiento .....</b>	<b>76</b>
2.6.1. Intervención en el estilo de vida y pérdida de peso.....	76
2.6.2. Tratamiento endoscópico .....	79
2.6.3. Tratamiento farmacológico .....	80
2.6.4. Trasplante hepático.....	84
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>85</b>
<b>4. JUSTIFICACION.....</b>	<b>89</b>
<b>5. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>93</b>

<b>5.1. Diseño del estudio .....</b>	<b>95</b>
<b>5.2. Ámbito de realización .....</b>	<b>95</b>
<b>5.3. Población de estudio.....</b>	<b>95</b>
5.3.1. Selección de pacientes: definición de casos .....	95
5.3.2. Diseño de la ejecución del estudio .....	96
<b>5.4. Variables estudiadas.....</b>	<b>98</b>
5.4.1. Variables clínico-metabólicas .....	99
5.4.2. Variables analíticas .....	104
5.4.3. Valoración de los factores de riesgo cardiovascular.....	106
5.4.4. Genotipado de los polimorfismos de un único nucleótido .....	108
5.4.5. Valoración ecográfica.....	112
5.4.6. Elastografía de transición .....	114
5.4.7. Biopsia hepática percutánea.....	116
5.4.8. Diagnóstico de fibrosis mediante índice no invasivos .....	120
<b>5.5. Cálculo de los costes directos asociados al diagnóstico.....</b>	<b>123</b>
<b>5.6. Análisis estadístico.....</b>	<b>123</b>
<b>5.7. Tratamiento informático y control de calidad de los datos .....</b>	<b>124</b>
<b>5.8. Revisión bibliográfica.....</b>	<b>125</b>
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>127</b>
<b>6.1. Análisis descriptivo.....</b>	<b>129</b>
6.1.1. Características basales de la muestra.....	129
6.1.2. Factores epidemiológicos .....	130
6.1.3. Factores de riesgo cardiovascular.....	131
6.1.4. Síndrome Metabólico .....	131
6.1.5. Variables antropométricas.....	132

6.1.6. Variables analíticas.....	133
6.1.7. Pruebas de imagen.....	135
6.1.8. Índices no invasivos .....	137
6.1.9. Biopsia hepática.....	140
6.1.10. Cálculo de los costes sanitarios asociados al diagnóstico de EHmet.....	143
<b>6.2. Características de la muestra en función de la edad y sexo .....</b>	<b>144</b>
6.2.1. Estudio de los hábitos de vida en función de la edad y sexo.....	144
6.2.2. Estudio de la dieta mediterránea en función de la edad y sexo.....	145
6.2.3. Estudio de los factores de riesgo cardiovascular en función de la edad y sexo.....	145
6.2.4. Estudio de las variables antropométricas en función de edad y sexo .....	147
6.2.5. Estudio de las variables analíticas en función de edad y sexo .....	148
6.2.6. Estudio de los métodos no invasivos de diagnóstico de EHmet en función de edad y sexo.....	152
6.2.7. Estudio de los parámetros histológicos en función de edad y sexo.....	156
<b>6.3. Análisis de las diferentes variables estudiadas en función de los factores de riesgo cardiovascular.....</b>	<b>157</b>
6.3.1. Hipertensión arterial .....	157
6.3.2. Diabetes Mellitus tipo 2 .....	165
6.3.3. Dislipemia aterogénica .....	172
6.3.4. Síndrome metabólico.....	178
6.3.5. Obesidad.....	186
<b>6.4. Análisis de las variables estudiadas en función de la histología hepática.....</b>	<b>194</b>
6.4.1. Esteatosis.....	194
6.4.2. EHNA.....	196
6.4.3. Fibrosis .....	197

<b>6.5. Análisis comparativo de los métodos no invasivos de diagnóstico.....</b>	<b>201</b>
6.5.1. Comparación de los resultados del Fibroscan® con el resto de las pruebas no invasivas de diagnóstico .....	201
6.5.2. Comparación de los resultados del ARFI con el resto de las pruebas no invasivas de diagnóstico.....	204
<b>6.6. Polimorfismos genéticos.....</b>	<b>205</b>
6.6.1. Polimorfismo -308 G/A del TNF- $\alpha$ .....	205
6.6.2. Polimorfismo rs738409 C/G del gen PNPLA3.....	211
6.6.3. Cannabinoid Receptor Gene .....	215
<b>6.7. Factores asociados a la presencia de fibrosis avanzada.....</b>	<b>219</b>
<b>7. DISCUSIÓN.....</b>	<b>221</b>
<b>7.1. Prevalencia de EHmet en el mundo, en Europa y en nuestro hospital.....</b>	<b>223</b>
<b>7.2. Estudio de EHmet según factores de riesgo.....</b>	<b>224</b>
7.2.1. Edad y sexo.....	224
7.2.2. Predisposición genética en la EHmet.....	225
7.2.3. Obesidad.....	228
7.2.4. HTA .....	230
7.2.5. DM-2 y resistencia a la insulina.....	231
7.2.6. Dislipemia.....	233
7.2.7. Síndrome metabólico.....	234
7.2.8. Papel de la dieta .....	236
<b>7.3. Relación de las pruebas no invasivas de fibrosis hepática con la presencia y severidad de la fibrosis obtenida en la biopsia hepática de nuestra muestra de pacientes con EHmet.....</b>	<b>238</b>

7.4.	Relación entre las pruebas no invasivos de fibrosis hepática.....	243
7.5.	Costes asociados al diagnóstico de EHmet.....	245
7.6.	Propuesta de optimización coste eficaz del diagnóstico de la EHmet.....	247
8.	<i>CONCLUSIONES</i> .....	251
9.	<i>ANEXOS</i> .....	255
10.	<i>BIBLIOGRAFÍA</i> .....	259

---

---

**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Prevalencia de la EHmet a nivel mundial .....	40
Figura 2. Esquema de la historia natural de la EHmet .....	52
Figura 3. Teoría de los múltiples impactos .....	59
Figura 4. Fibroscan.....	70
Figura 5. Imágenes de ERM en un paciente con un hígado sano y de un paciente con un hígado cirrótico.....	73
Figura 6. Cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea.....	103
Figura 7. Aguja de biopsia precargada.....	117
Figura 8. Instrumental .....	118
Figura 9. Anestésico local .....	118
Figura 10. Realización de la biopsia .....	119
Figura 11. Etiologías de hepatopatía.....	129
Figura 12. Distribución de pacientes con síndrome metabólico.....	132
Figura 13. Estudio de esteatosis en la histología hepática .....	140
Figura 14. Estudio de inflamación lobulillar en la histología hepática .....	141
Figura 15. Estudio de balonización en la histología hepática .....	141
Figura 16. Estudio de EHNA en la histología hepática.....	142
Figura 17. Estudio de fibrosis en la histología hepática.....	143
Figura 18. Estudio de costes.....	144
Figura 19. Algoritmo de derivación desde atención primaria a especializada.....	249

---

---

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y de la Sociedad Española para Estudio de la Obesidad (SEEDO), para bajo peso, sobrepeso y obesidad de acuerdo con el IMC.....	44
Tabla 2. Índice NAS-score.....	75
Tabla 3. Índice SAF de clasificación histológica de la biopsia hepática.....	76
Tabla 4. Resumen de variables analizadas en este estudio.....	98
Tabla 5. Resumen de las variables antropométricas analizadas.....	101
Tabla 6 . Resumen de los valores de referencia de las diferentes variables analizadas en el laboratorio.....	105
Tabla 7. Criterios de factores de riesgo cardiovascular propuestos por la NCEP- ATP III, con sus respectivos límites.....	107
Tabla 8. Índice FLI.....	120
Tabla 9. Índice LAP.....	121
Tabla 10. Índice HSI.....	121
Tabla 11. Índice NAFLD-FS.....	121
Tabla 12. Índice FIB-4.....	122
Tabla 13. Índice HFS.....	122
Tabla 14. Combinación de tres índices de fibrosis.....	122
Tabla 15. Estudio de hábitos de vida.....	130
Tabla 16. Estudio de factores de riesgo cardiovascular.....	131

## Índice

---

Tabla 17. Estudio de variables antropométricas.....	133
Tabla 18. Estudio de variables analíticas .....	134
Tabla 19. Estudio de ecografía abdominal.....	135
Tabla 20. Estudio de fibrosis mediante Fibroscan®. ....	136
Tabla 21. Estudio de fibrosis mediante ARFI. ....	136
Tabla 22. Estudio de esteatosis mediante el índice fatty liver index.....	137
Tabla 23. Estudio de esteatosis mediante el índice Hepatic Steatosis Index.....	138
Tabla 24. Estudio de esteatosis mediante el índice Liver Accumulation Product.....	138
Tabla 25. Estudio de fibrosis mediante el índice NAFLD Fibrosis Score .....	139
Tabla 26. Estudio de fibrosis mediante el índice de Fibrosis 4.....	139
Tabla 27 Estudio de fibrosis mediante el índice Hepamet Fibrosis Score .....	139
Tabla 28. Consumo de alcohol en función del sexo.....	145
Tabla 29. Estudio de la hipertensión arterial en función de la edad.....	146
Tabla 30. Estudio de la dislipemia en función de la edad .....	147
Tabla 31. Estudio del índice cintura cadera en función del sexo .....	148
Tabla 32. Estudio de las variables analíticas en función de la edad (I).....	148
Tabla 33. Estudio de las variables analíticas en función de la edad (II) .....	149
Tabla 34. Estudio de las variables analíticas en función del sexo (I).....	150
Tabla 35. Estudio de las variables analíticas en función del sexo (II) .....	151
Tabla 36. Estudio del índice HSI de esteatosis en función de la edad .....	153
Tabla 37. Estudio del índice LAP en función del sexo .....	153
Tabla 38. Estudio del índice HFS en función de la edad .....	154

## Índice

---

Tabla 39. Estudio del índice NAFLD-FS en función del sexo.....	155
Tabla 40. Estudio del índice FIB-4 en función del sexo .....	155
Tabla 41. Estudio del índice FIB-4 en función de la edad .....	156
Tabla 42. Estudio de del consumo de alcohol en el grupo de pacientes con HTA.....	157
Tabla 43. Asociación entre la HTA y DM-2.....	158
Tabla 44. Asociación entre la HTA y el síndrome metabólico .....	159
Tabla 45. Estudio del ICC en funión de la HTA.....	160
Tabla 46. Estudio de las variables analíticas en función de la HTA (I) .....	160
Tabla 47. Estudio de las variables analíticas en función de la HTA (II).....	161
Tabla 48. Estudio del índice LAP en función de la HTA.....	162
Tabla 49. Estudio del índice HFS en función de la HTA.....	163
Tabla 50. Estudio del índice NAFLD-FS en función de la HTA .....	164
Tabla 51. Estudio de asociación de Síndrome metabólico con DM-2 .....	166
Tabla 52. Estudio de variables analíticas en función de la presencia de DM-2 (I) .....	167
Tabla 53. Estudio de variables analíticas en función de la presencia de DM-2 (II).....	168
Tabla 54. Estudio del Fibroscan® en relación con la presencia de DM-2 .....	169
Tabla 55. Estudio del índice LAP de fibrosis en función de la presencia de DM-2.....	169
Tabla 56. Estudio del índice HFS en función de la presencia de DM-2 .....	170
Tabla 57. Estudio del índice NAFLD-FS en función de la presencia de DM-2.....	171
Tabla 58. Estudio de la presencia de Fibrosis en la biopsia hepática en función de la presencia de DM-2.....	172
Tabla 59. Estudio del hábito tabáquico en función de la presencia de DL aterogénica .....	173

## Índice

---

Tabla 60. Estudio de la asociación de la DL aterogénica y el síndrome metabólico .....	174
Tabla 61. Estudio de las variables analíticas en función de la presencia de DL aterogénica (I).....	175
Tabla 62. Estudio de las variables analíticas en función de la presencia de DL aterogénica (II).....	176
Tabla 63. Estudio del índice LAP en función de la DL aterogénica .....	177
Tabla 64. Estudio de asociación de SM con la presencia de obesidad.....	179
Tabla 65. Estudio de las variables analíticas en función de la presencia de síndrome metabólico (I).....	180
Tabla 66. Estudio de las variables analíticas en función de la presencia de síndrome metabólico (II).....	181
Tabla 67. Estudio del Fibroscan® en relación con la presencia de síndrome metabólico. ....	182
Tabla 68. Estudio del índice LAP en función de la presencia de síndrome metabólico .....	183
Tabla 69. Estudio del índice FLI en función de la presencia de síndrome metabólico .....	183
Tabla 70. Estudio del índice HFS en función de la presencia de síndrome metabólico.....	184
Tabla 71. Estudio de la esteatosis en la biopsia hepática en función de la presencia de síndrome metabólico.....	185
Tabla 72. Estudio de la fibrosis en la histología hepática en función de la presencia de síndrome metabólico.....	186
Tabla 73. Estudio de la fibrosis en la histología hepática en función de la presencia de síndrome metabólico.....	186
Tabla 74. Estudio de del ICC en función de la presencia de obesidad.....	188
Tabla 75. Estudio de las variables analíticas en función de la presencia de obesidad (I) .....	189

## Índice

---

Tabla 76. Estudio de las variables analíticas en función de la presencia de obesidad (II) .....	190
Tabla 77. Estudio del índice LAP en función de la presencia de obesidad.....	191
Tabla 78. Estudio del índice FLI en función de la presencia de obesidad .....	191
Tabla 79. Estudio del índice FLI en función de la presencia de obesidad .....	192
Tabla 80 Estudio del índice HFS en función de la presencia de obesidad.....	192
Tabla 81. Estudio del índice NAFLD-FS en función de la presencia de obesidad .....	193
Tabla 82. Relación entre los niveles de glucosa y la presencia de esteatosis significativa en la biopsia hepática.....	195
Tabla 83. Estudio de la presencia de fibrosis en relación a la adherencia a la dieta mediterránea.....	198
Tabla 84. Relación entre los valores del Fibroscan® y la presencia de fibrosis en la biopsia hepática.....	199
Tabla 85. Exactitud diagnóstica de los índices de fibrosis con respecto a la biopsia hepática	200
Tabla 86. Exactitud diagnóstica del Fibroscan® con respecto a la biopsia hepática .....	200
Tabla 87. Estudio comparativo de resultados de ARFI y Fibroscan® .....	202
Tabla 88. Estudio comparativo de Fibroscan® con el índice NAFLD-FS.....	202
Tabla 89. Estudio comparativo de Fibroscan® con el índice HFS .....	203
Tabla 90. Estudio comparativo de Fibroscan® con el índice FIB-4 .....	203
Tabla 91. Estudio comparativo del Fibroscan® con la combinación de los 3 índices no invasivos de fibrosis.....	204
Tabla 92. Estudio comparativo del ARFI con el índice NAFLD-FS .....	205
Tabla 93. Asociación del polimorfismo TNF- $\alpha$ con la presencia de HTA .....	206

## Índice

---

Tabla 94. Asociación del polimorfismo del gen TNF- $\alpha$ con la DM-2 .....	207
Tabla 95. Relación entre la presencia del polimorfismo del gen TNF- $\alpha$ y los resultados del ARFI.....	208
Tabla 96. Relación entre la presencia del polimorfismo del gen TNF- $\alpha$ con los resultados del índice LAP.....	208
Tabla 97. Relación entre la presencia del polimorfismo del gen TNF- $\alpha$ y los resultados en el índice NAFLD-FS.....	209
Tabla 98. Relación entre la presencia del polimorfismo del gen TNF- $\alpha$ y los resultados en el índice FIB-4.....	209
Tabla 99. Relación entre el polimorfismo TNF- $\alpha$ y la presencia de balonización en la biopsia hepática.....	210
Tabla 100. Relación entre el polimorfismo TNF- $\alpha$ y la presencia de EHNA en la biopsia hepática.....	210
Tabla 101. Asociación del polimorfismo del gen PNPLA3 con la edad de los pacientes.....	211
Tabla 102. Asociación del polimorfismo del gen PNPLA3 con el sexo de los pacientes.....	212
Tabla 103. Asociación entre la presencia del polimorfismo del gen PNPLA3 y la DM-2 .....	212
Tabla 104. Relación entre el polimorfismo del gen PNPLA3 y los resultados del índice NAFLD-FS.....	214
Tabla 105. Relación entre el polimorfismo del gen PNPLA3 y los resultados del índice FIB-4.....	214
Tabla 106. Relación entre el polimorfismo del gen PNPLA3 y la presencia de fibrosis en la biopsia hepática.....	215
Tabla 107. Asociación entre el polimorfismo del gen CNR1 y la presencia de HTA.....	216

## Índice

---

Tabla 108. Relación entre el polimorfismo del gen CNR1 y los resultados del ARFI .....	217
Tabla 109. Relación entre el polimorfismo del gen CNR1 y la presencia de balonización en la biopsia hepática.....	218
Tabla 110. Relación entre el polimorfismo del gen CNR1 y la presencia de EHNA en la biopsia hepática.....	218
Tabla 111. Factores asociados a la presencia de fibrosis avanzada .....	220

**LISTADO DE ABREVIATURAS**

- 2D-SWE: Bidimensional shear wave elastography
- ADN: Ácido desoxirribonucleico
- AINEs: Antiinflamatorios no esteroideos
- ALT: Alanino aminotransferasa
- ANPD: Agencia Nacional de Protección de Datos
- AP: Atención Primaria
- ARFI: Acoustic Radiation Force Impulse
- AST: Aspartato aminotransferasa
- AUROC: Area under the receiver operator characteristic curve
- CAP: Control Attenuation Parameter
- CBP: Colangitis biliar primaria
- CHOP: C/EBP-Homologous Protein
- ChREBP: Carbohydrate-responsive element-binding protein
- CK-18: Cytokeratin 18
- CM: centímetros
- CNR: cannabinoid receptor gene
- CREBH: Cyclic-AMP responsive element-binding protein H
- DILI: Drug Induced Liver Injury
- DL: dislipemia
- DM-2: Diabetes mellitus tipo 2
- DS: Desviación estándar
- EDTA: Ácido etilendiaminatetraacético

- EHmet: Esteatosis hepática metabólica
- EHNA: Esteatohepatitis no alcohólica
- EII: Enfermedad inflamatoria intestinal
- ELF: Enhanced Liver Fibrosis
- ERM: Elastografía por Resonancia Magnética
- ESG: Endoscopic Sleeve Gastroplasty
- ET: Elastografía de Transición
- FA: Fosfatasa Alcalina
- FIB-4: Fibrosis-4
- FLI: Fatty Liver Index
- FRCV: Factores de riesgo cardiovascular
- FXR: Farnesoid X Receptor
- GGT: Gamma-Glutamil Transferasa
- GLP-1: Péptido similar al glucagón 1
- HB: Hemoglobina
- HCC: Hepatocarcinoma celular
- HCUV: Hospital clínico universitario Valladolid
- HDL: High Density Protein
- HDL: Lipoproteínas de alta densidad
- HFS: Hepamet Fibrosis Score
- HOMA: Homeostatic model assessment
- HR: Hazard Ratio
- HRM: High-resolution melting analysis
- HS: Hidrosadenitis supurativa

- HSI: Hepatic Steatosis Index
- HTA: hipertensión arterial
- IC: Intervalo de Confianza
- ICC: Índice Cadera Cintura
- IMC: Índice de masa corporal
- INR: International Normalized Ratio
- IQR: Reflejo de variabilidad de las medidas
- IRS-2: Insulin Receptor Substrate 2
- JNK: c-Jun N-terminal kinase
- kPa: Kilopascales
- LAP: Liver Accumulation Product-
- LDL: Low Density Protein
- LDN: Lipogénesis De Novo
- MetS: Síndrome metabólico
- MI: Microbiota Intestinal
- MRI-PDFF: Magnetic Resonance Imaging Proton Density Fat Fraction
- MRS: Magnetic Resonance Spectroscopy
- MTX: Metastasis
- NAFLD-FS: Non-alcoholic fatty liver disease fibrosis score
- NF- $\kappa$ B: Nuclear factor- $\kappa$ B
- NLM: National library of medicine
- Nrf2: Nuclear factor-erythroid-derived 2-related factor 2
- OCA: Obeticholic Acid
- OH: Alcohol

OMS: Organización Mundial de la Salud

OR: Odds Ratio

PACS: Picture Archiving and Communication System

PCR: proteína C reactiva.

PNPLA3: Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3

PPAR: Peroxisomal proliferator activated receptors

PREDIMED: Prevención con Dieta Mediterránea

pSWE: Point Shear Wave Elastography

PUFA: Ácidos grasos poliinsaturados

RDI: Región De Interés

RE: Retículo Endoplasmático

RH: Rigidez Hepática

RMN: Resonancia Magnética Nuclear

SAF: Esteatosis, actividad y fibrosis

SAHS: Síndrome de apnea hipopnea del sueño

SEEDO: Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad

SIGIB: Sistema de Información del Grupo de Investigación Biomédica

SM: Síndrome Metabólico

SNP: Polimorfismo de un único nucleótido

SOP: Síndrome de ovario poliquístico

SREBP-1: Sterol regulatory element-binding protein 1

SWV: Shear Wave Velocity

TAD: Tensión Arterial Diastólica

TAS: Tensión Arterial Sistólica

TG: Triglicéridos

TLPs: Toll-like receptors

TNF: Tumor Necrosis Factor

Vc: Velocidad de corte

VHA: Virus de la hepatitis A

VHB: Virus de la hepatitis B

VHC: Virus de la hepatitis C

VLDL: Very Low Density Lipoprotein

VPN: Valor Predictivo Negativo

VPP: Valor Predictivo Positivo

## **1. RESUMEN**

## Resumen

---

La esteatosis hepática metabólica (EHmet) supone un problema importante de salud pública y es en la actualidad la causa más frecuente de hepatopatía crónica en nuestro medio, asociada al incremento paralelo de la epidemia mundial de obesidad y de la diabetes tipo 2 (DM-2). Apenas existen datos sobre la prevalencia real en nuestro medio, la carga de trabajo en las consultas de hepatología, severidad de la enfermedad, y los gastos derivados de la atención de estos pacientes.

Los objetivos del estudio son determinar la prevalencia de la EHmet en las consultas externas del hospital Clínico Universitario de Valladolid (HCUV), analizar los factores de riesgo asociados a la presencia y severidad de la misma, así como describir los recursos médicos empleados y costes derivados.

Diseño: estudio de cohortes prospectivo de pacientes con sospecha de enfermedad hepática crónica derivados a las consultas de Hepatología del HCUV. Se analizaron variables epidemiológicas, analíticas, polimorfismos genéticos, así como los métodos diagnósticos empleados y los costes derivados del diagnóstico de estos pacientes.

La prevalencia de EHmet como causa de hepatopatía crónica en nuestras consultas fue del 42,7%, siendo la causa más frecuente de hepatopatía crónica en nuestro medio. Los factores de riesgo asociados a la EHmet en nuestro estudio son la obesidad, dislipemia, hipertensión arterial, DM-2 y síndrome metabólico, así como los polimorfismos genéticos del PNPLA3, TNF-alfa y CNR1, que además se asocian a formas más severas de la enfermedad. Los métodos no invasivos permiten el diagnóstico en la mayoría de los pacientes. Aunque la biopsia hepática sigue siendo necesaria en algunos casos, la realización de ésta duplica el coste asociado a la atención de estos pacientes.



## **2. INTRODUCCIÓN**



## 2.1. Concepto

La enfermedad por hígado graso no alcohólico constituye la causa más frecuente de hepatopatía crónica en los países desarrollados, asociada con la epidemia mundial de obesidad, diabetes tipo 2 y síndrome metabólico, y se ha convertido en un importante problema de salud pública debido a su alta prevalencia (1).

Recientemente se ha llevado a cabo una actualización en la nomenclatura de la enfermedad, y se ha propuesto la denominación de *esteatosis hepática metabólica* (EHmet) como un término más apropiado para describir la enfermedad hepática asociada con la disfunción metabólica conocida (2).

En 1980 Ludwig y cols. acuñaron por primera vez el término “esteatohepatitis no alcohólica” para definir la enfermedad hepática con hallazgos histológicos indistinguibles de las lesiones hepáticas producidas por el alcohol que aparecía en pacientes sin historial de abuso de éste (3).

Se trata de una enfermedad que incluye varios estadios evolutivos que van desde la esteatosis simple hasta la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), que puede progresar a fibrosis, cirrosis, y finalmente hepatocarcinoma.

La esteatosis hepática se define como la presencia de infiltración grasa en al menos el 5% de los hepatocitos (4).

Para el diagnóstico de EHmet se requiere la demostración de esteatosis hepática por pruebas de imagen o histología, con exclusión tanto de causas secundarias de exceso de depósito de grasa en el hígado, como de un consumo excesivo de alcohol (mayor de 30 gr de etanol al día en varones y 20 g en mujeres) (5).

## **2.2. Epidemiología**

### **2.2.1. Prevalencia**

Los datos respecto a la prevalencia de EHmet varían en función de la población estudiada (edad, sexo, raza, comorbilidades), de las diferencias geográficas y de los métodos diagnósticos utilizados.

En un estudio basado en la elevación de las enzimas hepáticas se estimó una prevalencia de EHmet del 24% en los Estados Unidos (6). Sin embargo, es conocido que un porcentaje de pacientes con EHmet presentan valores normales de enzimas hepáticas, incluso en presencia de fibrosis avanzada.

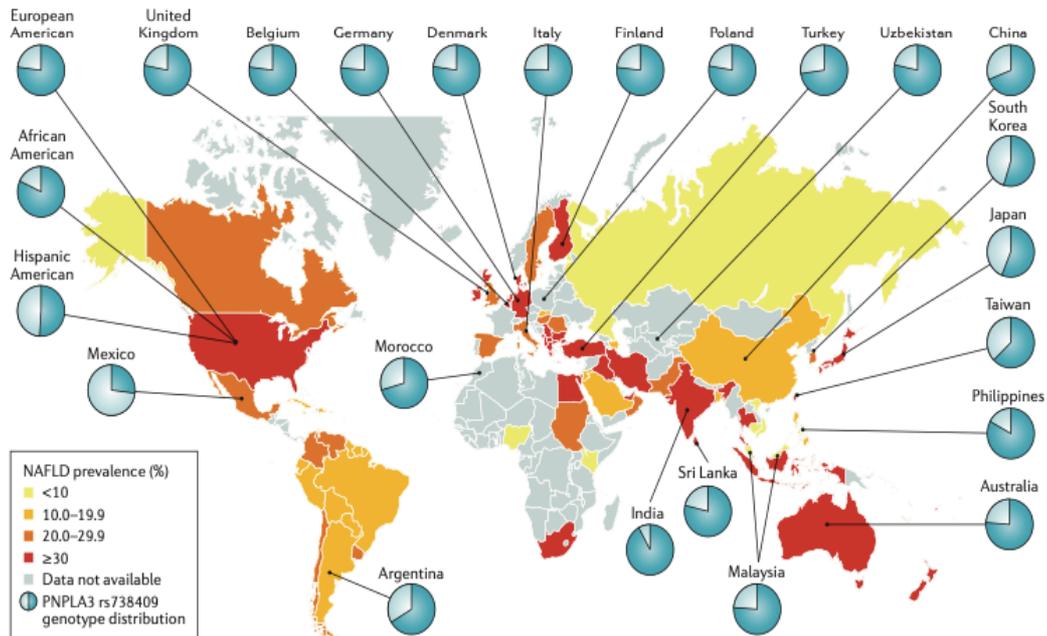
La prevalencia de EHmet en estudios que lo han evaluado únicamente mediante ecografía varía entre el 17 y el 46% (7). En España, en un estudio multicéntrico poblacional, la prevalencia de EHmet detectada por ecografía fue del 25,8%, sin embargo, una limitación importante de la mayoría de los estudios ecográficos sigue

siendo la escasa precisión cuando la esteatosis hepática es inferior al 30%, por lo que los ultrasonidos tienden a subestimar la prevalencia real de EHmet (8).

Un metaanálisis reciente que evalúa la EHmet diagnosticada por pruebas de imagen (ecografía, tomografía computarizada y resonancia magnética) estimó una prevalencia global de la EHmet del 25,2%. Por regiones, del 23,7 % en Europa, mientras que en Estados Unidos fue del 24,1% (9).

La biopsia hepática es el “gold standard” para el diagnóstico de EHNA. Sin embargo, se trata de un procedimiento invasivo que no está exento de riesgos, por lo que no se realiza de forma rutinaria a la población general. En este mismo metaanálisis se evaluó la prevalencia de EHNA y se estimó que en aquellos pacientes con EHmet con indicación clínica de biopsia hepática, la prevalencia de EHNA era del 59,10%.

Los datos sobre la incidencia de la EHmet son limitados. Se han informado tasas de incidencia entre 20-86 casos cada 1000 personas al año basados en elevación de enzimas hepáticas y/ o ecografía; y 34 cada 1000 personas al año por espectroscopia por resonancia magnética (10).



*Figura 1. Prevalencia de la EHmet a nivel mundial (1).*

## 2.2.2. Factores de riesgo

### 2.2.2.1. Edad

La prevalencia de EHmet aumenta con la edad, afectando a menos del 20% en personas menores de 20 años hasta más del 40% en los mayores de 60 años (11). Sin embargo, la EHmet también se ha descrito en la población pediátrica con una prevalencia del 2.6-9.6%, alcanzando hasta un 12-80% en niños con obesidad asociada (12).

Además, se ha demostrado una mayor probabilidad de fibrosis y de enfermedad avanzada con la edad, aunque puede ser difícil discernir si la edad es realmente un factor

de riesgo independiente, ya que los pacientes mayores a menudo también tienen una mayor incidencia de otros factores de riesgo como síndrome metabólico, diabetes y obesidad.

#### **2.2.2.2. Sexo**

Hay datos contradictorios respecto a la asociación del sexo con la prevalencia de EHmet. Aunque estudios iniciales sugirieron que era más frecuente en mujeres, estudios más recientes han demostrado que puede presentarse de manera uniforme en ambos sexos, o incluso puede tener mayor prevalencia en hombres (13).

#### **2.2.2.3. Raza y etnia**

Se han observado diferencias respecto a la etnia, con una prevalencia mayor en el grupo de población con ascendencia hispana.

En un estudio americano que incluyó a 2287 participantes (14), en el que el diagnóstico de EHmet se basó en la cuantificación de triglicéridos hepáticos mediante espectroscopia por resonancia magnética, encontró que la población hispana tenía una prevalencia significativamente mayor (45%), seguido de los caucásicos (33%) y en tercer lugar de los afroamericanos (24%). Se considera que las diferencias existentes en los diferentes grupos estudiados pueden ser debidas tanto a factores ambientales como a factores genéticos.

#### **2.2.2.4. Predisposición genética**

La agrupación familiar y las diferencias étnicas sugieren que los factores genéticos pueden contribuir al desarrollo de la EHmet. Recientemente se han identificado distintos polimorfismos genéticos que pueden jugar un papel en la prevalencia, severidad y progresión de la enfermedad. Hasta la fecha, los más estudiados han sido los polimorfismos de un único nucleótido (SNPs) localizados en los genes PNPLA3 y TM6SF2.

La variante rs738409 del gen PNPLA3 que codifica la adiponutrina, enzima implicada en la hidrólisis de triacilglicerol en los hepatocitos, se ha convertido en un importante determinante genético de EHmet, asociándose a un incremento de riesgo de desarrollar esteatosis hepática, así como esteatohepatitis, progresión a fibrosis e incluso de hepatocarcinoma celular (15,16). Este alelo es más prevalente en la población hispana, el grupo más susceptible a EHmet (17,18). En cambio, los portadores de la mutación rs6006460, más frecuente en la población afroamericana, presentaban niveles inferiores de grasa en el hígado, independientemente del IMC (17).

El polimorfismo en el gen TM6SF2, regulador de la grasa en el hígado, también se ha asociado con la EHmet y con el riesgo de desarrollo de fibrosis avanzada y cirrosis (19). Esta variante genética, más frecuente en los individuos de ascendencia europea, confiere una disminución del riesgo cardiovascular debido a que la inhibición de la secreción de lípidos a la sangre daría como resultado un mayor acúmulo de grasa en el hígado con una disminución de los triglicéridos séricos (20).

#### **2.2.2.5. Diabetes Mellitus tipo 2 (DM-2)**

La prevalencia de la EHmet en los pacientes con DM-2 se sitúa entre el 40-70%, mientras que la prevalencia de EHNA en este grupo de pacientes es de 37% (21,22).

La DM-2 se ha asociado con una progresión más rápida de EHmet, incluyendo EHNA y fibrosis. Además, existe evidencia que sugiere que la EHmet puede preceder al desarrollo de DM-2 (23).

Los pacientes con EHNA y DM-2 presentan mayor mortalidad tanto dependiente como no de complicaciones hepáticas y se ha observado que a menudo se encuentran clínicamente asintomáticos e incluso con normalidad de las enzimas hepáticas en presencia de EHNA o fibrosis avanzada.

#### **2.2.2.6. Obesidad**

La EHmet se encuentra estrechamente relacionada con la obesidad, y es considerada como uno de los principales factores de riesgo para su desarrollo. La obesidad es una enfermedad crónica que viene definida por la existencia de un índice de masa corporal (IMC) > 30 kg/m<sup>2</sup>, y la obesidad mórbida, se define como un IMC > 40 kg/m<sup>2</sup> (tabla 1). Su prevalencia está aumentando en adultos y niños, y ha sido descrita por la Organización Mundial de la Salud como una epidemia mundial con aproximadamente 500 millones de adultos obesos y 1.500 millones de personas con sobrepeso u obesas en todo el mundo (24).

Numerosos estudios provienen de población sometida a cirugía bariátrica, sobre los resultados de las biopsias hepáticas intraoperatorias. Mariana y cols. realizaron una revisión de 12 estudios observacionales, prospectivos, incluyendo 1620 pacientes obesos sometidos a cirugía bariátrica y observaron que prevalencia de EHmet fue del 91%, EHNA del 37% y cirrosis del 1,7% (25).

OMS	SEEDO
Bajo peso <18,5	Peso insuficiente <18,5
Normopeso 18,5-24,9	Normopeso 18,5-24,9
Sobrepeso 25-29,9	Sobrepeso I 25-26,9
	Sobrepeso II 27-29,9
Obesidad I 30-34,9	Obesidad I 30-34,9
Obesidad II 35-39,9	Obesidad II 35-39,9
Obesidad III >40	Obesidad III (mórbida) 40-49,9
	Obesidad IV (extrema) >50

**Tabla 1.** Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y de la Sociedad Española para Estudio de la Obesidad (SEEDO), para bajo peso, sobrepeso y obesidad de acuerdo con el IMC.

### 2.2.2.7. Síndrome metabólico (SM)

SM es una entidad clínica que se define como la presencia de al menos 3 de los siguientes criterios: nivel de triglicéridos (TG) séricos de 150 mg/dL o más, lipoproteína de alta densidad sérica (HDL) de menos de 40 mg/dL en hombres o menos de 50 mg/dL

en mujeres, tensión arterial de 130/85 mm Hg o superior, nivel de glucosa plasmática en ayunas de 100 mg/dL o más, y un aumento en la circunferencia de la cintura de 102 cm en hombres y mayor de 88 cm en mujeres.

Actualmente se sabe que la EHmet es la "manifestación hepática" del síndrome metabólico y, recientemente, la evidencia creciente ha destacado la posibilidad de que la EHmet pueda ser un factor clave en el desarrollo de SM y viceversa; de hecho, la afectación hepática podría ser sólo un componente de un síndrome multiorgánico que afecta a los sistemas cardiovascular, renal y endocrino (26).

#### **2.2.2.8. Síndrome de ovario poliquístico (SOP)**

El SOP es el trastorno endocrinológico más frecuente en mujeres en edad reproductiva y ha surgido como un factor de riesgo para el desarrollo de EHmet en mujeres jóvenes. Actualmente, se estima que la prevalencia de EHmet en la población con SOP oscila entre 15% y 55% (27). Cerda y cols (28) realizaron un estudio prospectivo en el que incluyeron controles y observaron que la prevalencia de EHmet diagnosticado por ecografía fue mayor en las mujeres con SOP, comparada con los controles (41.5% vs 19.4%). En cuanto a su patogenia, se ha postulado que la combinación de hiperandrogenismo y resistencia a la insulina que aparecen en el SOP pueden contribuir al desarrollo de EHmet.

#### **2.2.2.9. Síndrome de apnea-hipoapnea del sueño (SAHS)**

Los pacientes con SAHS tienen una cantidad significativamente mayor de grasa visceral y resistencia a la insulina en comparación con los pacientes obesos sin SAHS (29). Además, se sabe que la hipoxia, común en este grupo de pacientes, conduce a una disminución del número y función de las mitocondrias, que conlleva a un aumento de la resistencia a la insulina y consecuentemente al desarrollo de EHmet (30).

#### **2.2.2.10. Medicación antipsicótica**

La toma de medicación antipsicótica se asocia con mayor riesgo de desarrollar EHmet. El aumento de peso y los efectos secundarios metabólicos se asocian con frecuencia con los medicamentos antipsicóticos, especialmente en los jóvenes durante las primeras fases de la enfermedad. En un estudio prospectivo que incluyó a 139 pacientes con esquizofrenia a los que se inició tratamiento antipsicótico, se realizó un índice no invasivo de esteatosis (índice FLI *Fatty Liver Index*) al inicio del estudio, a los 3 meses y posteriormente anualmente hasta los 3 años. En este estudio se evidenció que, a los 3 años del seguimiento, el 25,1% de estos pacientes presentaban EHmet según criterios de Fatty Liver Index (FLI  $\geq 60$ ) (31).

#### **2.2.2.11. Psoriasis**

La psoriasis es un trastorno inflamatorio cutáneo crónico de predisposición genética con una prevalencia que oscila entre el 0,1% y el 11,8%. Numerosas evidencias

han demostrado que el proceso inflamatorio en la psoriasis no se limita exclusivamente a la piel, sino que también involucra una respuesta sistémica. Se han asociado varias enfermedades con la psoriasis que incluyen, entre otras, la EHmet.

Dos metanálisis recientes estimaron un riesgo dos veces mayor de EHmet en pacientes con psoriasis que en los controles y este riesgo pareció ser mayor en pacientes con psoriasis más grave o con artritis psoriásica (32,33).

Los factores que se asocian con EHmet son el índice de actividad y gravedad de psoriasis (PASI), alteración de transaminasas, HTA y perímetro abdominal (34).

El mecanismo fisiopatológico exacto que relaciona la psoriasis con la EHmet aún no está claro, pero se cree que los mecanismos subyacentes a la asociación entre la gravedad de la psoriasis y la EHmet implican una inflamación sistémica leve crónica y resistencia a la insulina. La secreción de citocinas proinflamatorias en las lesiones psoriásicas cutáneas produce efectos sistémicos que inducen resistencia a la insulina y cambios metabólicos posteriores y desarrollo de esteatosis hepática (26).

### **2.2.2.12. Hidrosadenitis supurativa (HS)**

La hidrosadenitis supurativa es una enfermedad cutánea crónica, inflamatoria y recurrente que se caracteriza por la aparición de nódulos, abscesos y fístulas que aparecen en áreas del cuerpo que albergan glándulas apocrinas. En estudios recientes se ha demostrado que los pacientes con HS tienen una alta prevalencia de EHmet, que es

independiente de los factores de riesgo metabólico clásicos y, que al parecer no se relacionan con la gravedad de la enfermedad. Se cree que el papel crucial de la carga inflamatoria en la etiopatogenia de EHmet podría explicar su asociación con la HS (35).

### **2.2.2.13. Enfermedad inflamatoria intestinal (EII)**

Distintos estudios han evidenciado una asociación entre la EII y la EHmet, siendo la complicación hepática más frecuente en pacientes con EII (36).

En un metanálisis reciente de 27 estudios y 7640 pacientes estimaron una prevalencia de EHmet en pacientes con EII del 32 % (37).

Además de la presencia de factores de riesgo cardiovascular, otros mecanismos patogénicos como la inflamación crónica, la disbiosis intestinal y el uso de medicaciones, parecen favorecer el desarrollo de EHmet en este grupo de pacientes (38).

## **2.3. Historia natural**

La EHmet incluye dos trastornos anatomopatológicos diferentes, con pronósticos distintos: la esteatosis hepática simple y la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).

En la esteatosis hepática simple está presente un acúmulo de grasa >5% pero sin evidencia de inflamación, y tiende a presentar un curso más indolente. Por el contrario,

la EHNA se caracteriza por la presencia de esteatosis, asociada a inflamación lobulillar y balonización de los hepatocitos, asociada o no a la existencia de fibrosis.

La EHNA es una afección dinámica, que puede regresar a esteatosis simple, permanecer en una fase de actividad estable, o causar fibrosis progresiva que puede conducir al desarrollo de cirrosis. La gravedad de la fibrosis hepática es la variable histológica que más impacta en el pronóstico ya que predice de forma independiente la enfermedad relacionada con el hígado, el trasplante hepático y la muerte relacionada con el hígado en pacientes con EHmet (39).

Una revisión sistemática y un metanálisis de biopsias emparejadas de 11 estudios de cohortes que incluyeron 411 pacientes con EHmet confirmada histológicamente (150 con esteatosis simple EHmet y 261 con EHNA) proporcionó información de gran interés sobre la naturaleza dinámica de la enfermedad. La fibrosis progresó en el 33,6% de los pacientes, mientras que se mantuvo estable en el 43,1% y mejoró en el 22,3% de los pacientes. La tasa media de progresión de la fibrosis en pacientes con esteatosis simple fue de 0,07 etapas por año en comparación con 0,14 etapas por año en pacientes con EHNA. Esto corresponde a la progresión de la fibrosis en 1 etapa en aproximadamente 14 años en esteatosis simple y 7 años en EHNA (40).

Se han identificado otros factores de riesgo que se asocian a un riesgo incrementado de progresión de fibrosis.

La asociación entre el riesgo de fibrosis y el sexo es un aspecto controvertido. Estudios recientes han evidenciado que el riesgo de fibrosis no solo afecta al sexo masculino, sino también las mujeres postmenopáusicas. Además, las mujeres con menopausia precoz presentan un incremento en el riesgo de desarrollar fibrosis (41).

Los polimorfismos genéticos también se han visto relacionados con el riesgo de progresión a fibrosis, de tal manera que el polimorfismo del gen PNLPA 3 y del TM6SF2 no solo se han asociado a mayor riesgo de EHmet, sino también con formas más avanzadas de enfermedad (19,42).

Además, se han observado tasas más altas de fibrosis en pacientes con varios componentes del SM, en particular la DM-2 y la obesidad. De hecho, un buen control glucémico, así como la pérdida de peso, se consideran factores protectores ya que tienden a disminuir la progresión de la fibrosis (43,44).

La edad avanzada también parece asociarse a mayor gravedad de fibrosis. Este aspecto también es controvertido, dado que se considera que es probable que esté relacionado con la acumulación de alteraciones metabólicas que se producen en los pacientes ancianos con una enfermedad hepática de larga duración (45).

El desarrollo de hepatocarcinoma (HCC) se encuentra dentro de las complicaciones de la EHmet.

La incidencia anual de HCC en controles de pacientes con EHmet en EE. UU. y Europa se sitúa entre el 0,7-2,6% (46).

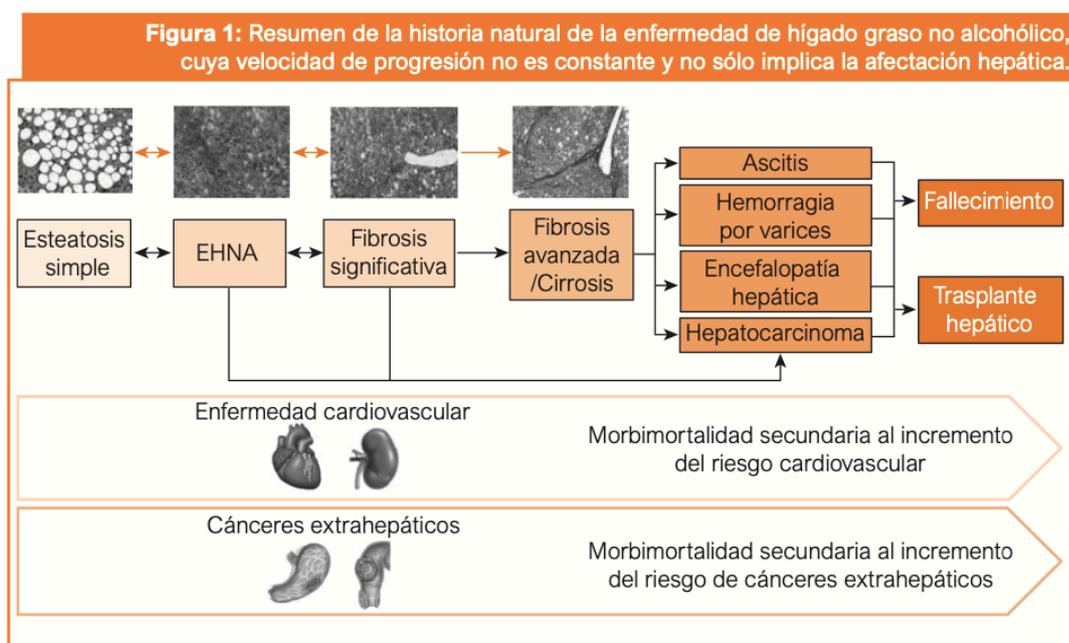
La incidencia de HCC en esta etiología es mayor en el sexo masculino, pacientes con antecedente de DM-2 y obesidad. Además, se ha observado que tiende a aparecer con mayor frecuencia en personas mayores (media de edad de 73 años versus 66 años en pacientes con enfermedad hepática secundaria a infección por hepatitis crónica por virus de la hepatitis C o B (47).

También se sabe que el HCC asociado a EHmet, se puede desarrollar en ausencia de cirrosis. Una revisión sistemática con un metaanálisis de 19 estudios y 168.571 pacientes con EHNA mostró que la prevalencia de HCC relacionada con EHmet en pacientes con EHNA sin cirrosis fue del 38% en comparación con el 14% en pacientes con enfermedad hepática de otras etiologías sin cirrosis (consumo de alcohol o hepatitis virales, etc..) (48).

En los últimos años numerosos estudios han mostrado que la morbimortalidad asociada a la EHmet no se limita únicamente al hígado, sino que también se asocia con manifestaciones sistémicas que afectan a diferentes órganos.

La enfermedad cardiovascular representa la primera causa de muerte en pacientes con EHmet, seguidos de neoplasias malignas no hepáticas y, en tercer lugar, la muerte relacionada con el hígado (49).

Se ha observado que la asociación de la EHmet con la enfermedad cardiovascular es independiente del riesgo conferido por los factores de riesgo tradicionales y los componentes del SM. Estas observaciones plantean la posibilidad de que la EHmet, especialmente la EHNA, no solo sea un marcador de enfermedad cardiovascular, sino que también pueda estar involucrada en su patogenia (50).



**Figura 2. Esquema de la historia natural de la EHmet (51)**

## 2.4. Patogenia

En el pasado la explicación de la patogenia de la EHmet se basaba en la teoría del doble impacto, propuesta por primera vez por Day and James en 1998 (52). Según esta teoría, el “primer impacto” se produce como consecuencia de la resistencia a la insulina, que desencadena la acumulación de lípidos en el hígado en forma de

triglicéridos. El "segundo impacto" proviene de diversos factores que conducen a la liberación de endotoxinas en el intestino, estrés oxidativo, producción de citocinas proinflamatorias, desencadenando la progresión de esteatosis a EHNA (53).

Posteriormente, la teoría del doble impacto fue reemplazada por la teoría de los múltiples impactos, en la que varios factores, actuando de forma paralela, estaban implicados en el desarrollo y progresión de la enfermedad. Esta teoría sugiere que los mediadores inflamatorios derivados de varios tejidos, especialmente el intestino y el tejido adiposo, podrían desencadenar un papel central en la cascada de inflamación y fibrosis. El aumento de almacenamiento de lípidos, lipogénesis y la síntesis de citocinas dentro del tejido adiposo y hepático ocasionan estrés para el retículo endoplasmático contribuyendo a la progresión de la enfermedad (54).

### **2.4.1. Metabolismo graso y resistencia a la insulina**

La grasa se acumula en el hígado principalmente en forma de triglicéridos (TG). Los TG derivan de la esterificación del glicerol y los ácidos grasos libres. Los ácidos grasos libres derivan de la dieta o del tejido adiposo a través de la lipólisis o la lipogénesis de novo hepática (LDN).

La LDN hepática puede incrementarse mediante la activación de factores de transcripción como la proteína de unión al elemento regulador de esterol 1c (SREBP-1c), la proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos (ChREBP) y el receptor activado por proliferador de peroxisoma (PPAR)  $\gamma$ .

Entre los receptores de insulina, los receptores de insulina sustrato 2 (IRS-2) pueden funcionar, cuando se activan, como un regulador de SREBP-1c, influyendo en la LDN. En estados de resistencia a la insulina, el IRS-2 está regulado a la baja, por lo tanto, SREBP-1c está sobre expresado, con aumento de la LDN.

La  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos libres se inhibe en los estados de resistencia a la insulina, lo que lo que promueve aún más la acumulación de lípidos hepáticos. Además, la insulina tiene una acción potente para suprimir la lipólisis del tejido adiposo: en los estados de resistencia a la insulina, esta supresión se ve afectada, lo que resulta en un aumento de ácidos grasos libres al hígado (55).

#### **2.4.2. Disfunción mitocondrial.**

La alteración estructural y funcional de la mitocondria contribuye a la patogenia de la EHmet. La remodelación de la energía mitocondrial que incluye varias vías como la beta oxidación, el ciclo del ácido tricarboxílico hepático y la actividad de la cadena respiratoria está asociada con el desarrollo de EHmet.

Estas vías juegan un papel clave en la adaptación mitocondrial a la sobrecarga de ácidos grasos libres que ocurre durante el desarrollo de la EHmet.

La producción de Acetil CoA a través de los procesos oxidativos debido al flujo sostenido de ácidos grasos libres puede alterar la actividad de la cadena respiratoria con aumento de especies reactivas de oxígeno (reactive oxygen species -ROS-). Las ROS se

comportan como un agente oxidante muy potente, generando un daño indiscriminado a nivel de diversas estructuras celulares, incluyendo el ADN, membranas lipídicas y proteínas. Además, la beta oxidación incompleta, asociada al exceso de ácidos grasos libres puede promover la lipotoxicidad a través de la síntesis y acumulación de intermediarios lipídicos tóxicos como las ceramidas (56).

### **2.4.3. Estrés del retículo endoplasmático.**

El estrés crónico del retículo endoplasmático (RE) induce numerosas vías intracelulares que pueden conducir al desarrollo y progresión de la EHmet, incluida la esteatosis hepática, la inflamación sistémica y la apoptosis de los hepatocitos.

El estrés del RE también actúa sobre la acumulación de triglicéridos en el hígado al promover la resistencia a la insulina tanto en el hígado como en el tejido adiposo. Además, promueve la activación de Nrf2 (nuclear factor-erythroid-derived 2-related factor 2), JNK (c-Jun N-terminal kinase), NF- $\kappa$ B (Nuclear factor- $\kappa$ B), CREBH (Cyclic-AMP responsive element-binding protein H) y CHOP (C/EBP-homologous protein), que participan activamente en el proceso inflamatorio y la muerte celular y provocan la progresión de la enfermedad (57).

### **2.4.4. Inflamasoma**

Los inflamasomas son complejos citoplasmáticos multiproteicos que actúan como mediadores del desarrollo de la inflamación, mediante la liberación de citocinas

proinflamatorias como la IL-1 $\beta$  e IL-18 a través de la activación de la vía de las caspasas, con efectos proinflamatorios y profibróticos (58).

Pueden ser activados por patrones moleculares asociados a patógenos endógenos o exógenos, o patrones moleculares asociados a daños.

Regulan las citocinas inflamatorias mediante la activación de familias de reconocimientos de patrones (PRRs) como los receptores tipo Toll (TLPs), receptores tipo NOD (NLPs), y receptores de lecitina tipo C. La liberación de patrones moleculares asociados a daños puede ser inducida por varios mecanismos como la necrosis celular, las células apoptóticas que no son eliminadas por los fagocitos y el estrés oxidativo.

La activación de inflamasomas en respuesta a los ácidos grasos libres, estrés oxidativo y otros metabolitos proinflamatorios observados en la EHmet con la consecuente producción de IL-1 $\beta$  podría tener un papel importante en el desarrollo de EHNA, al inducir la supresión del receptor activado por proliferador de peroxisoma- $\alpha$  (PPAR- $\alpha$ ) y promover el efecto indirecto de la muerte celular inducida por TNF- $\alpha$  (51).

Además, los inflamasomas también pueden promover la fibrosis a través de un efecto directo sobre las células estrelladas hepáticas (59).

### **2.4.5. Adipoquinas**

El tejido adiposo tiene función endocrina y libera una serie de moléculas denominadas adipoquinas. La hipertrofia de los adipocitos relacionada con la obesidad y/o la resistencia a la insulina dan como resultado un desequilibrio de las adipoquinas que puede afectar no solo al tejido adiposo, sino también al hígado. Entre las adipoquinas, cabe destacar la leptina y la adiponectina.

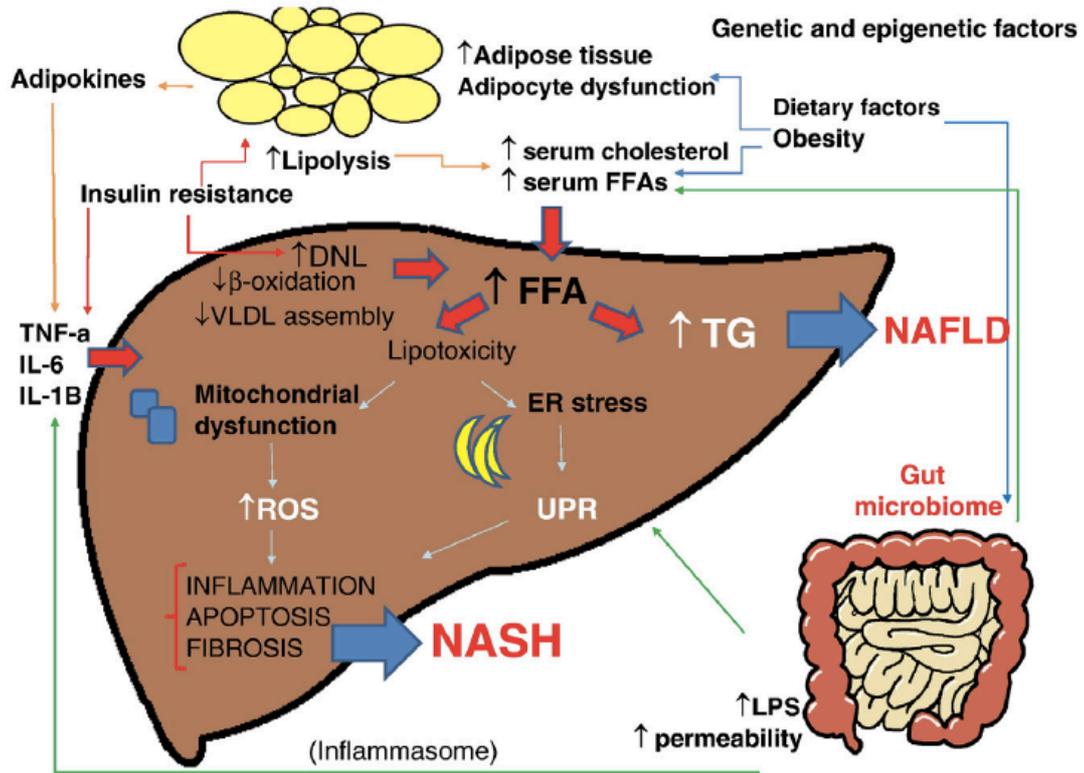
La leptina contribuye al desarrollo de resistencia a la insulina y posteriormente al desarrollo de esteatosis. Además, la leptina tiene un papel proinflamatorio y se considera un mediador de la fibrosis hepática (60). Aunque hay resultados contradictorios, en un estudio reciente se evidenció que los niveles de leptina eran significativamente más altos en los pacientes con EHNA que en los pacientes con hepatitis viral crónica y se correlacionó con una fibrosis más avanzada (61).

La adiponectina se considera una adipoquina antiinflamatoria. Reduce la grasa corporal y mejora la sensibilidad a la insulina hepática y periférica. En el hígado, previene la acumulación de lípidos aumentando la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos libres y disminuyendo los ácidos grasos libres de novo dentro de los hepatocitos (60). Los niveles bajos de adiponectina podrían predecir la gravedad de la fibrosis hepática en pacientes con EHNA porque sus niveles séricos se correlacionan negativamente con la necroinflamación y fibrosis (62).

#### **2.4.6. Microbiota intestinal (MI)**

El vínculo entre dieta y la MI se ha demostrado en modelos animales en los que cambiaron de dietas bajas en grasas y ricas en fibra a dietas altas en grasas/azúcares y mostraron cambios significativos con aumento de phylum Firmicutes que se asociaron con una disminución significativa en la abundancia de miembros del phylum Bacteroidetes (63).

La MI también puede contribuir al desarrollo de EHmet. El aumento de la permeabilidad intestinal estimula la absorción de monosacáridos desde la luz intestinal, lo que conduce a la translocación bacteriana. Las endotoxinas producidas por estas bacterias penetran en la vena porta y aumentan la actividad de lipoproteinlipasa, promoviendo la síntesis de novo de ácidos grasos y la producción de triglicéridos y activando TLPs en los hepatocitos. El aumento de permeabilidad de la barrera intestinal induce daño hepático al aumentar la producción de lipopolisacáridos derivados de bacterias Gram-negativas en el intestino, que activa la producción del factor nuclear kappa beta (NF- $\kappa$  $\beta$ ) y TNF- $\alpha$ . Esto sugiere que la MI aumenta la exposición del hígado a las endotoxinas, que juegan un papel importante en la progresión de la EHmet (64).



**Figura 3.** Teoría de los múltiples impactos (55). Los factores dietéticos y ambientales, junto con la obesidad, conducen a niveles séricos elevados de ácidos grasos libres y colesterol, desarrollo de resistencia a la insulina, proliferación y disfunción de los hepatocitos y cambios en la microbiota intestinal. La resistencia a la insulina actúa sobre el tejido adiposo induciendo la lipólisis y liberación de adipocinas y citoquinas inflamatorias que también contribuyen a mantener el estado de resistencia a la insulina. En el hígado la resistencia a la insulina estimula la lipogénesis de novo. El incremento del flujo de ácidos grasos libres conduce a la acumulación de triglicéridos y niveles tóxicos de ácidos grasos, colesterol libre y otros metabolitos lipídicos.

## 2.5. Diagnóstico

El diagnóstico de EHmet requiere la demostración de esteatosis hepática por imagen o histología, que no haya un consumo significativo de alcohol, la exclusión de causas secundarias de esteatosis y ausencia de otras causas de enfermedad hepática crónica (65).

Es importante recoger en la historia clínica la presencia de comorbilidades asociadas con la enfermedad, como la hipertensión arterial, dislipemia, DM-2, obesidad, SM, SOP, SAHS, o enfermedades inmunomediadas.

Aunque en un porcentaje importante de los pacientes con EHmet la bioquímica hepática puede no mostrar alteraciones, el patrón típico de laboratorio se caracteriza por una elevación moderada de aspartato aminotransferasa (AST) y alanino aminotransferasa (ALT), generalmente entre 2 y 4 veces el límite superior de la normalidad, siendo habitual que la ALT sea más alta que la AST, al contrario que la enfermedad hepática por alcohol. El grado de elevación de las transaminasas no predice el grado de inflamación o fibrosis, y el hecho de que no se encuentren elevadas no excluye la presencia de fibrosis avanzada.

También es común objetivar una elevación moderada de la gamma-glutamyl transferasa (GGT) y fosfatasa alcalina (FA), habitualmente entre 1,5 y 3 veces el límite superior de la normalidad.

La bilirrubina y la albúmina suelen permanecer normales, excepto en fases avanzadas de enfermedad.

Los pacientes con EHmet pueden presentar elevación de los niveles de ferritina, como reactante de fase aguda (66).

La biopsia hepática constituye el "patrón oro" para el diagnóstico de la enfermedad. Sin embargo, se trata de una prueba invasiva, con variabilidad de la muestra y alto coste. Por ello se ha impulsado en los últimos años el desarrollo de estrategias alternativas no invasivas.

## **2.5.1. Diagnóstico no invasivo**

### **2.5.1.1. Esteatosis**

#### **Índices séricos de esteatosis hepática**

Se han propuesto varios índices de esteatosis entre los que destacan el Fatty liver Index (FLI), Hepatic Steatosis Index (HSI) o Lipid Accumulation Product (LAP). Los rendimientos diagnósticos entre estos índices son difíciles de comparar dado que han sido validados con diferentes estándares como la biopsia hepática, ecografía abdominal o espectroscopia por resonancia magnética. Sin embargo, en un estudio retrospectivo de 324 pacientes con EHmet en la que se compararon el índice FLI y HSI con la biopsia

hepática, el área bajo la curva para el diagnóstico de esteatosis no difirió (0,83 y 0,81 respectivamente) (67,68).

### **Técnicas de imagen para el diagnóstico de esteatosis hepática**

#### **Ecografía abdominal**

La ecografía abdominal es un método ampliamente utilizado para el diagnóstico de esteatosis hepática por su gran disponibilidad, bajo coste y buena tolerancia. Además, la ecografía nos permite una visualización directa del hígado con la posibilidad de descartar patologías adicionales y signos indirectos de enfermedad hepática avanzada.

Las características típicas de la ecografía son hiperecogenicidad del hígado en comparación con el parénquima renal derecho, atenuación distal y presencia de áreas de preservación focal (69).

En un metaanálisis reciente que comparó la ecografía abdominal con la histología hepática para el diagnóstico de esteatosis, la ecografía mostró una sensibilidad del 85% y una especificidad del 94% para la esteatosis de moderada a grave (70). Sin embargo, la ecografía puede no detectar esteatosis cuando está presente en menos del 20% de los hepatocitos. La precisión de la ecografía también puede verse disminuida en pacientes con mala ventana acústica debido a la presencia de obesidad.

### **Parámetro de atenuación controlada (CAP)**

El CAP es un método no invasivo basado en la medición del componente viscoelástico del hígado, que permite la evaluación simultánea de la rigidez hepática y la presencia de esteatosis.

Evalúa el grado de atenuación de ultrasonidos de la grasa hepática, medido en decibelios por metro (dB/m), en un rango de 100 a 400 dB/m.

Un metaanálisis reciente (71) mostró una buena concordancia entre diferentes grados de esteatosis, determinada por el porcentaje de hepatocitos con infiltración grasa, con un área bajo la curva de 0.83 y 0.87 para detectar esteatosis de grado 0 y 1, respectivamente. Los autores sugirieron los límites óptimos de 248 dB/m, 268 dB/m y 280 dB/m para detectar esteatosis > 11%, > 33% y > 66% respectivamente.

### **Resonancia magnética nuclear (RMN)**

Se considera que la RMN es más precisa que la ecografía para cuantificar la grasa hepática utilizando la histología como estándar de referencia.

Además, las técnicas basadas en RMN muestran la distribución de la grasa dentro del parénquima hepático con alta precisión y una buena correlación con las características histológicas correspondientes.

Las dos principales técnicas no invasivas basadas en RMN que se utilizan para evaluar la esteatosis hepática son la espectroscopia de resonancia magnética (MRS) técnica de imagen de densidad protónica de fracción de grasa de resonancia magnética (MRI-PDFF por sus siglas en inglés de *proton density fat fraction*) (72).

Boudinaud C y cols. (73) realizaron técnicas de RMN (imagen y espectroscopia) el mismo día de la biopsia hepática en pacientes con EHmet, evidenciando que el grado de correlación entre la esteatosis hepática evaluada histológicamente y con técnicas de RM fue alto ( $r > 0,8$ ).

La MRS evalúa la diferencia de frecuencias entre el agua y las señales de protones de grasa. Es una técnica precisa y reproducible para cuantificar la fracción de grasa hepática. Sin embargo, su uso generalizado se ve afectado por varias limitaciones: requiere equipo radiológico adicional y experiencia, consume mucho tiempo (72).

Recientemente se ha desarrollado el *proton density fat fraction* (PDFF) basado en la RMN, que permite cuantificar el porcentaje de grasa hepática en la totalidad del hígado. Mide la fracción de protones visibles en RMN unidos a la grasa dividida por todos los protones en el hígado (unidos a la grasa y al agua). La medición del PDFF tiene una buena precisión diagnóstica para cuantificar la esteatosis en comparación con los resultados de la biopsia hepática (74). A pesar del buen rendimiento del PDFF para detectar y clasificar la esteatosis, el coste y la disponibilidad limitada restringen su uso en la práctica clínica.

### **2.5.1.2. Esteatohepatitis**

#### **Marcadores séricos de esteatohepatitis**

Hasta la fecha ningún marcador bioquímico ha conseguido sustituir a la biopsia hepática como patrón oro para el diagnóstico de esteatohepatitis.

La citoqueratina 18 (CK-18) es el biomarcador para el diagnóstico de EHNA que más ampliamente se ha investigado, mostrando resultados modestos en cuanto a precisión de esteatohepatitis (75).

Sin embargo, existen varios problemas con CK-18: falta de una prueba clínica disponible comercialmente, sensibilidad limitada a nivel individual y una variabilidad considerable en los puntos de corte sugeridos y su respectiva precisión diagnóstica entre los estudios. Estas limitaciones han hecho que la CK-18 haya tenido hasta ahora una utilidad clínica limitada en la práctica clínica.

Los métodos basados en la metabolómica como Owl-Liver(®), han permitido identificar una serie de biomarcadores relacionados con la enfermedad que permiten determinar la presencia de esteatosis hepática y si el paciente ha desarrollado esteatohepatitis. Aunque presentan resultados prometedores (76), requieren todavía estudios de validación externa que los avalen como herramientas diagnósticas estandarizadas. Por tanto, la biopsia hepática sigue siendo actualmente el estándar de referencia para el diagnóstico de EHNA en pacientes con EHmet.

### **Técnicas de imagen para el diagnóstico de esteatohepatitis**

En la actualidad, se están desarrollando nuevos sistemas definidos por métodos de procesamiento óptico aplicados a imágenes convencionales de resonancia magnética como el DeMILI test, que se trata de una herramienta basada en el análisis óptico de imágenes de RMN que permite obtener biomarcadores radiológicos para la detección de esteatohepatitis (NASH-MRI) así como de fibrosis (Fibro-MRI). Los resultados indicaron que la precisión diagnóstica para detección de EHNA fue de 0,83 (IC del 95%: 0,73-0,93) (77).

#### **2.5.1.3. Fibrosis**

##### **Índices séricos de fibrosis**

Numerosos índices no invasivos se han desarrollado para detectar individuos con EHmet en riesgo de presentar fibrosis avanzada. Los más validados son el índice non alcoholic fatty liver disease fibrosis score (NAFLD-FS) y el índice de fibrosis 4 (FIB-4).

El índice NAFLD-FS se basa en la combinación de 6 variables (edad, IMC, relación AST/ALT, recuento de plaquetas, hiperglucemia y albúmina) mientras que FIB-4 se basa únicamente en la combinación de edad, AST, ALT y recuento de plaquetas. Ambos índices muestran buena precisión diagnóstica como se ha informado en un metaanálisis reciente (n = 36 estudios en 9.074 pacientes), con AUROC de 0,80 para

FIB-4 y 0,78 para NAFLD-FS y permiten excluir la presencia de fibrosis avanzada con un VPN (>90%) (78).

Las desventajas que presentan estos índices es que pueden presentar falsos positivos (VPP <70%), un tercio de los pacientes puede obtener un resultado indeterminado y se ha sugerido que la edad avanzada puede afectar a su precisión diagnóstica, y en el caso del NAFLD-FS su rendimiento puede disminuir en pacientes obesos y diabéticos (68,78).

Recientemente se ha desarrollado y validado un nuevo índice no invasivo de fibrosis para la EHmet denominado Hepamet Fibrosis Score (HFS) que incluye las variables de edad, sexo, diabetes, HOMA, AST, albúmina y plaquetas. En un estudio que incluyó una cohorte internacional de 2.452 pacientes con EHmet diagnosticados mediante biopsia hepática. El HFS discriminó entre pacientes con y sin fibrosis avanzada con un área bajo la curva (AUROC) de 0,85, mientras que NAFLD-FS o FIB-4 lo hicieron con valores de AUROC de 0,80, y menor número de pacientes con resultados indeterminados (20% frente a 30%).

Entre las ventajas que ofrece el HFS se encuentra por un lado que los pacientes asignados a la "zona gris" o resultado indeterminado, son significativamente más bajos para el HFS que FIB-4 y NAFLD-FS. Además, tanto el NAFLD-FS como FIB-4 requieren límites ajustados por edad para mejorar la precisión diagnóstica para la fibrosis avanzada en pacientes mayores de 65 años. Por el contrario, el HFS no requiere un ajuste

por edad y tampoco se ve afectado por el índice de masa corporal ni la presencia de DM-2 (79).

Es importante destacar que los valores predictivos negativos (VPN) de los índices no invasivos de fibrosis para descartar una fibrosis avanzada son superiores a los correspondientes valores predictivos positivos (VPP), por lo que las pruebas no invasivas pueden usarse de manera fiable para una estratificación de primera línea del riesgo, con objeto de descartar la presencia de una enfermedad hepática grave (5).

También están disponibles paneles comerciales de biomarcadores como la prueba Enhanced Liver Fibrosis (ELF), FibroTest® o FibroMeter®, aunque son más costosos y están menos disponibles (70).

### **Técnicas de imagen para el diagnóstico de fibrosis**

#### **Elastografía de Transición (*Fibroscan*®)**

La elastografía de transición (ET) es el método más ampliamente disponible y validado para la medición de la rigidez hepática, con buena precisión para el diagnóstico de fibrosis avanzada.

Un metaanálisis reciente que incluyó un total de 1.047 pacientes con EHmet, informó de una sensibilidad del 85% y 92% y especificidad del 82% y 92% para el diagnóstico de fibrosis avanzada y cirrosis, respectivamente (80).

Se ha informado que un IMC mayor  $> 30 \text{ kg/m}^2$  es un predictor independiente de valoración incorrecta de la rigidez hepática hasta en un 25% de los intentos de exploración con la sonda M convencional. Para superar este problema, se ha implementado el dispositivo con una sonda XL para pacientes obesos. La sonda XL opera a una frecuencia más baja que permite una mayor profundidad, disminuyendo la interposición del tejido adiposo subcutáneo.

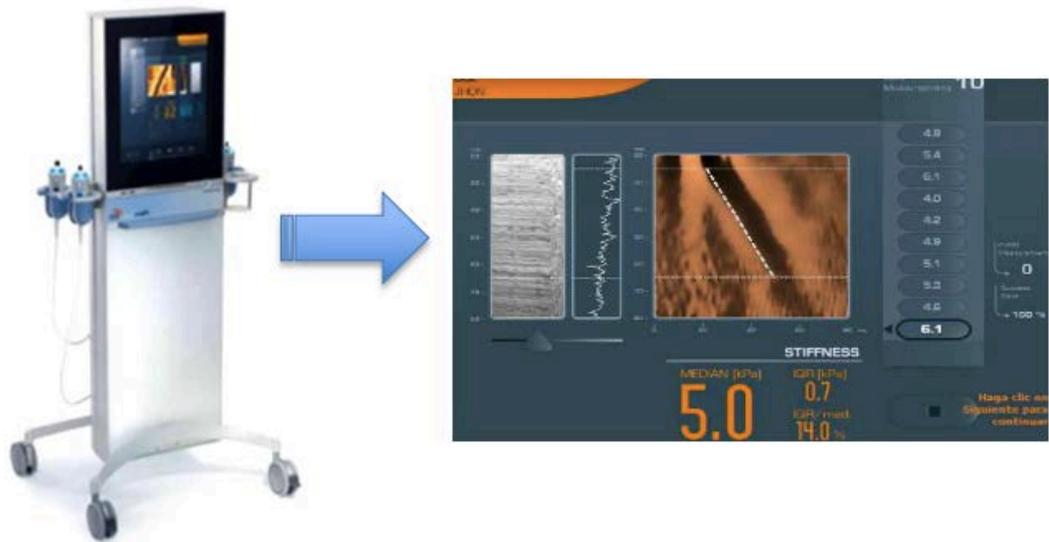
La ET tiene un VPN alto (por encima del 90%) para descartar fibrosis avanzada, pero un VPP moderado en la EHmet en comparación con hepatitis viral y conduce con más frecuencia a resultados falsos positivos.

Un hecho a tener en cuenta es que la medición de la rigidez hepática puede verse alterada por cualquier proceso que influya en las propiedades viscoelásticas del hígado. Entre ellos, se ha evidenciado que la esteatosis y la necroinflamación hepatocelular pueden causar valores de rigidez hepática falsamente elevados (70).

No hay acuerdo en la práctica clínica sobre el punto de corte óptimo de la (ET) para descartar fibrosis avanzada, siendo 8 kPa es el umbral más validado, con un VPN superior al 90% (70).

El riesgo de presentar un evento hepático a los 5 años con Fibroscan®  $< 12 \text{ kPa}$  es 0.3% (81).

Algunos de los datos existentes sugieren estrategias que combinan la ET con índices bioquímicos como el NAFLD-FS, HFS o FIB-4, y proporciona mejores resultados que cualquiera de los dos métodos por sí solos, y podría evitar la realización de cierto número de biopsias hepáticas (82).



**Figura 4.** Fibroscan (83)

### **ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse)**

La elastografía hepática tipo ARFI, también conocida como pSWE (*point shear wave elastography*), es una técnica ultrasonográfica, desarrollada en los últimos años, que estima la rigidez del parénquima hepático mediante la medición de la velocidad de la onda de cizallamiento inducida tras la aplicación de un impulso acústico.

En los estudios que compararon ARFI y ET, los resultados diagnósticos de ARFI fueron similares a los de ET. Sin embargo, la viabilidad de ARFI en pacientes obesos fue mejor que la de ET con la sonda M y similar a la de ET con la sonda XL. Los valores de ARFI, en contraste con los valores de ET, tienen un rango estrecho (0.5-4.4 m/s) y esto puede limitar las definiciones de los valores de corte para las decisiones de manejo del paciente (84).

Por lo tanto, se necesitan ensayos prospectivos más grandes para desarrollar valores de corte para la estadificación de la fibrosis hepática utilizando estos nuevos métodos.

### **Elastografía de ondas de corte 2D (2D-SWE)**

La elastografía de ondas de corte 2D (2D-SWE) se basa en la combinación de una fuerza de radiación inducida en los tejidos por haces ultrasónicos enfocados y una secuencia de imágenes de ultrasonografía de muy alta velocidad de fotogramas capaz de capturar en tiempo real la propagación transitoria de las ondas de corte resultantes (85).

En un metanálisis retrospectivo que evaluó 2D-SWE en pacientes con enfermedad hepática crónica de 13 centros de todo el mundo, la precisión diagnóstica en el subgrupo de pacientes con EHmet fue del 93% para fibrosis avanzada y cirrosis con puntos de corte óptimos de 9,2. y 13,5 kPa, respectivamente (86).

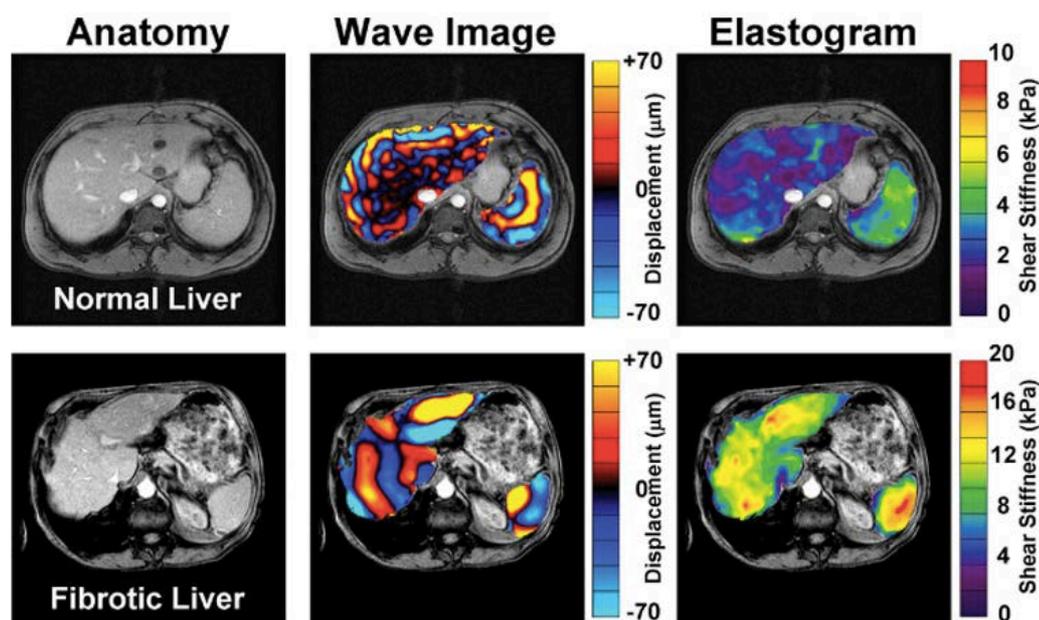
Solo unos pocos estudios han evaluado la efectividad de esta técnica recientemente introducida, específicamente para pacientes con EHmet. Por lo tanto, el umbral de rigidez para la evaluación de la fibrosis en pacientes con EHmet aún está en desarrollo (87).

### **Elastografía por resonancia magnética (ERM)**

La ERM puede considerarse el método no invasivo más preciso para detectar fibrosis avanzada.

En un metaanálisis reciente de datos de pacientes individuales, basado en 3 estudios en 230 pacientes, que compararon la ERM con la ET, la primera superó a la ET para la detección de fibrosis avanzada (AUC 0,94 frente a 0,83, respectivamente) (88).

Sin embargo, dado su coste y disponibilidad limitada, la ERM no se puede recomendar en la práctica clínica y puede ser muy útil en el contexto de ensayos clínicos.



*Figura 5. Imágenes de ERM en un paciente con un hígado sano (imágenes fila superior) y de un paciente con un hígado cirrótico (imágenes fila inferior) (89)*

### 2.5.2. Biopsia hepática

La biopsia hepática sigue siendo el estándar de oro para confirmar el diagnóstico de EHmet y evaluar la presencia de esteatohepatitis y fibrosis.

Sin embargo, tiene algunas desventajas como el coste, el error de muestreo, la variabilidad inter/intraobservador y el riesgo relacionado con el procedimiento, por lo que sólo está indicada en casos seleccionados.

Por lo tanto, está reservada para pacientes con EHmet con riesgo de fibrosis avanzada identificado mediante las puntuaciones/ métodos de imagen no invasivos o

cuando se obtienen resultados discordantes, en los casos en los que se pueden excluir otras enfermedades hepáticas crónicas o en el contexto de ensayos clínicos (90).

La evaluación histopatológica de la biopsia hepática en un paciente con sospecha de EHmet incluye confirmar o excluir el diagnóstico, evaluar el grado de actividad inflamatoria y proporcionar información sobre la gravedad de la enfermedad.

El diagnóstico de la EHNA requiere la presencia conjunta de esteatosis, degeneración balonzante e inflamación lobulillar.

Otras características histológicas que se pueden observar en la EHNA, pero que no son necesarias para el diagnóstico son: inflamación portal, infiltrados de polimorfonucleares, cuerpos de Mallory-Denk, núcleos vacuolados claros, cuerpos apoptóticos, esteatosis microvacuolar y megamitocondrias.

Brunt y cols. introdujeron un sistema de clasificación y estadificación de las lesiones histopatológicas de EHmet basado en el grado de esteatosis, balonzación e inflamación lobulillar (sistema de puntuación NAFLD Activity Score (NAS score)) (91).

Aunque la puntuación NAS score ha ayudado a caracterizar sistemáticamente las lesiones de la EHmet, se ha debatido su valor pronóstico a pesar de la fuerte correlación con los niveles de aminotransferasas y la evaluación del modelo de homeostasis de la resistencia a la insulina (HOMA) (92).

En la última década, la puntuación SAF (esteatosis, actividad y fibrosis) ha logrado distinguir la esteatosis de la fibrosis y la inflamación y, por lo tanto, se ha propuesto como una alternativa para simplificar la descripción de la histopatología hepática, caracterizada por una buena reproducibilidad y precisión, proporcionando una descripción más exacta y completa (93).

La evaluación de la calidad de la biopsia incluye la evaluación de la longitud y el diámetro del núcleo de la biopsia. La longitud óptima de la muestra se establece en 25 mm, mientras que el diámetro del núcleo debe ser superior a 0,5-1 mm, que corresponde al diámetro de un lóbulo hepático, utilizando una aguja de calibre 16 y deben evaluarse al menos 11 espacios porta.

<b>ESTEATOSIS</b>	<b>BALONIZACIÓN</b>	<b>INFLAMACIÓN LOBULAR</b>
0: <5%	0: ninguna	0: Ningún foco
1: 5-33%	1: pocas células	1: < 2 focos/200x
2: 33-66%	2: Muchas células, balonización prominente	2: 2-4 focos/200x
3: >66%		3: > 4 focos/200x

*Tabla 2. Índice NAS-score*

ESTEATOSIS	ACTIVIDAD		FIBROSIS
	Balonización	Inflam. lobular	
0: <5%	0: hepatocitos normales	0: ausencia de focos inflamatorios	0: ausencia de fibrosis
1: 5-33%	1: pocos hepatocitos balonizados	1: ≤ 2 focos por 20/campo	1: fibrosis perisinusoidal/pericelular leve
2: 33-66%	2: muchos hepatocitos balonizados	2: 2-4 focos por 20/campo	2: fibrosis perisinusoidal/pericelular con fibrosis periportal
3: >66%		3: ≥ 4 focos por 20/campo	3: fibrosis perisinusoidal/pericelular, fibrosis portal y puentes fibrosos
			4: cirrosis

*Tabla 3. Índice SAF de clasificación histológica de la biopsia hepática*

## 2.6. Tratamiento

### 2.6.1. Intervención en el estilo de vida y pérdida de peso

Los cambios en el estilo de vida constituyen la primera línea de tratamiento en la EHmet, basado en la implementación de una dieta saludable, en la realización de ejercicio físico y pérdida de peso.

La pérdida de peso se asocia con la mejoría de las lesiones histológicas de los pacientes con EHmet. De tal manera que una pérdida de un 5% de peso induce la mejoría

de la esteatosis, una pérdida del 7% de peso de la esteatohepatitis y una reducción del 10% de peso se asocia con una mejoría de todas las características histopatológicas de la enfermedad, incluida la fibrosis (65).

#### **2.6.1.1. Dieta**

La composición de la dieta es un factor determinante para el tratamiento de la EHmet, siendo la dieta mediterránea la opción más recomendada.

La dieta mediterránea se caracteriza por un alto consumo de alimentos de origen vegetal, como verduras, frutas, legumbres, frutos secos y aceite de oliva, un consumo moderado de alimentos de origen proteico como pescado y aves, y baja ingesta de carnes rojas, carnes procesadas y dulces.

La dieta mediterránea se distingue por ser baja en grasas saturadas y rica en grasas monoinsaturadas y poliinsaturadas, con efectos beneficiosos probados en la prevención de enfermedades cardiovasculares, hipertensión, hipercolesterolemia y obesidad (94). Además, se ha evidenciado que una mayor adhesión a la dieta mediterránea se asocia a menor probabilidad de presentar esteatosis y esteatohepatitis (95).

El aceite de oliva es la principal fuente de grasa en la dieta mediterránea. Está compuesto fundamentalmente de ácidos grasos monoinsaturados, y se ha evidenciado que reduce la acumulación de triglicéridos en el hígado, disminuye la activación del factor nuclear kappaB, reduce la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad y mejora

de la resistencia a la insulina mediante la disminución de la producción de citoquinas inflamatorias (96).

En cuanto a otros componentes de la dieta, en un metaanálisis reciente se demostró que un consumo habitual de café puede reducir significativamente la fibrosis hepática en los pacientes con EHmet, aunque la dosis recomendada aún no está bien establecida (97).

#### **2.6.1.2. Ejercicio físico**

La realización de ejercicio físico se considera uno de los pilares de tratamiento de la EHmet, independientemente de la pérdida de peso. Mejora los niveles séricos de enzimas hepáticas, el contenido de grasa intrahepática e incluso la histología hepática en pacientes con EHmet (98).

Tanto el ejercicio aeróbico como el de resistencia mejoran la esteatosis hepática, con una frecuencia, duración y período de ejercicio similares, sin diferencias entre ambos en cuanto al cambio de IMC, descenso de lípidos intrahepáticos o descenso de los niveles de transaminasas.

El ejercicio de resistencia puede ser más factible que el ejercicio aeróbico para los pacientes con EHmet con mala aptitud cardiorrespiratoria o para aquellos que no toleran el ejercicio aeróbico o presentan sarcopenia (99).

### **2.6.1.3. Tratamiento quirúrgico**

La cirugía bariátrica mejora significativamente las manifestaciones histológicas y bioquímicas de la EHmet. Además, detiene la progresión o resuelve la fibrosis hepática en el 30% de los pacientes (100).

La cirugía bariátrica debe ser considerada en pacientes con un IMC >40 kg/m<sup>2</sup> o >35 kg/m<sup>2</sup> e importantes comorbilidades y que hayan realizado intentos fallidos de cambios en el estilo de vida (101).

Sin embargo, la presencia de cirrosis establecida se asocia con un aumento de morbimortalidad perioperatoria, aumentando significativamente en el caso de los pacientes con cirrosis descompensada.

A día de hoy no se dispone de datos sólidos sobre los efectos comparativos de diferentes procedimientos bariátricos (97).

### **2.6.2. Tratamiento endoscópico**

Existe un subgrupo de pacientes con EHmet en los que el tratamiento exclusivamente dietético puede resultar insuficiente y que no son candidatos o presentan alguna negativa para el tratamiento quirúrgico. Son pacientes con obesidad grado I y II (IMC 30-40 kg/m<sup>2</sup>) o IMC superiores no quirúrgicas. En estas situaciones, las

denominadas terapias endoscópicas bariátricas y metabólicas podrían ofrecer una alternativa terapéutica complementaria a la cirugía (102).

Estas terapias endoscópicas incluyen nuevas tecnologías menos invasivas como los balones intragástricos, la gastroplastia endoscópica "en manga" (ESG, endosleeve de Apollo®), o técnicas malabsortivas como Endobarrier®, entre otras, con resultados prometedores (103). Aún no disponemos de ensayos clínicos bien diseñados que establezcan correctamente la posición de las diferentes técnicas endoscópicas bariátricas en el algoritmo de tratamiento para pacientes obesos con EHmet (104).

### **2.6.3. Tratamiento farmacológico**

El tratamiento farmacológico debe tener como objetivo la resolución de la esteatohepatitis y la regresión de la fibrosis con un buen perfil de seguridad (101). Por ello, el tratamiento farmacológico estaría indicado en pacientes con esteatohepatitis y fibrosis significativa o avanzada (es decir >F2 o >F3 en fibroscan, respectivamente).

#### **2.6.3.1. Vitamina E**

La vitamina E ha mostrado eficacia respecto a la mejora de las características histológicas en pacientes diagnosticados de EHNA (105). No se recomienda en pacientes cirróticos ni con diabetes. Sin embargo, su uso se ha visto limitado por los efectos adversos a largo plazo, principalmente por un aumento de la mortalidad global, el ictus hemorrágico y el cáncer de próstata en los varones de edad superior a 50 años.

### **2.6.3.2. Pioglitazona**

La pioglitazona mejora la histología hepática en pacientes con y sin diabetes, con EHmet comprobada por biopsia (106). Sin embargo, su uso también se ha limitado debido a la asociación con efectos adversos como aumento de peso, fracturas óseas y, excepcionalmente, insuficiencia cardíaca congestiva.

### **2.6.3.3. Nuevos fármacos**

En la actualidad existen numerosos fármacos en investigación para el tratamiento de la EHmet, que están siendo evaluados dentro de ensayos clínicos. A continuación, se expondrán los resultados preliminares de algunos de ellos.

#### **Ácido obeticólico (OCA)**

El OCA deriva del ácido biliar humano primario, el ácido quenodeoxicólico, que es un agonista natural del receptor FXR. El receptor FXR regula tanto el metabolismo del colesterol, mediante la síntesis de ácidos biliares, como el metabolismo glucídico y lipídico.

En el estudio FLINT de fase II, aleatorizado, multicéntrico, doble ciego, controlado con placebo, se inscribieron 283 pacientes con EHNA no cirrótica comprobada por biopsia hepática y recibieron OCA o placebo durante un período de 72 semanas. Los resultados generales del estudio FLINT fueron muy positivos, ya que todas

las características histopatológicas de la EHmet mejoraron incluida la fibrosis mejoraron en el grupo OCA frente a placebo (107). Actualmente se está llevando a cabo el estudio REGENERATE y el estudio REVERSE, ensayos clínicos en fase III, con el fin de estudiar la seguridad y la eficacia del OCA en pacientes con esteatohepatitis no alcohólica a largo plazo con fibrosis y cirrosis hepática compensada, respectivamente

### **Elafibranor**

Elafibranor es un fármaco bien tolerado que actúa como agonista dual de los receptores PPAR  $\alpha$  y  $\delta$  y regula el metabolismo de lípidos e insulina.

En un ensayo clínico de fase II los pacientes con EHmet sin cirrosis fueron aleatorizados para recibir elafibranor 80 mg, elafibranor 120 mg o placebo diariamente durante 52 semanas. La dosis de 120 mg de elafibranor resolvió la EHNA en una mayor proporción de pacientes que el placebo. Además, los pacientes en los que se resolvió la EHNA después de recibir 120 mg de elafibranor presentaron una reducción de la fibrosis hepática en comparación con aquellos sin resolución de la EHNA. Los niveles de enzimas hepáticas, lípidos y marcadores de inflamación sistémica, así como el perfil de glucosa, se redujeron significativamente en el grupo de elafibranor 120 mg frente al grupo de placebo. Fue bien tolerado, aunque produjo un aumento leve y reversible del nivel de creatinina sérica (108). En la actualidad se está llevando a cabo un ensayo clínico fase III, pendiente de la publicación de los resultados del mismo.

**Agonistas del receptor de GLP-1 (Glucagon-like peptide-1 receptor agonist)**

Los agonistas del receptor de GLP-1 son un grupo de fármacos que inducen la pérdida de peso y la sensibilidad a la insulina (109). Se está estudiando su uso en los pacientes con EHNA con resultados prometedores.

Liraglutida es un análogo GLP-1 aprobado en pacientes con DM- 2, con gran eficacia en el control glucémico y en la pérdida de peso

En un ensayo clínico de fase II, se encontró que el liraglutida era seguro y logró la resolución de la EHNA en el 39% de los pacientes en comparación con el 9% en el grupo de placebo. La mayoría de los eventos adversos fueron leves y la proporción de pacientes que tuvieron eventos adversos no difirió entre los dos grupos (110).

La semaglutida es otro análogo del receptor GLP-1 que también puede ser eficaz para tratar la EHNA. En un ensayo clínico de fase II de 72 semanas que incluyó 320 pacientes, se evaluó la eficacia y seguridad de semaglutida en la EHNA. Se mostró que el tratamiento con semaglutida resultó en un porcentaje significativamente mayor de pacientes con resolución de la EHNA. que el placebo. Sin embargo, el ensayo no mostró una diferencia significativa en la mejoría en el estadio de fibrosis (111).

#### **2.6.4. Trasplante hepático**

El trasplante hepático está indicado en los estadios finales de la enfermedad, al igual que en pacientes con cirrosis hepática de otras etiologías.

Los pacientes con EHmet suelen tener una edad más avanzada y son más frecuentemente mujeres con un índice de masa corporal más alto y complicaciones metabólicas previas al trasplante (112).

En comparación con otros receptores de trasplante, los pacientes con EHmet tienen mayor probabilidad de presentar SM e insuficiencia renal postrasplante (113).

A pesar de todo esto, la supervivencia global es comparable a otras indicaciones, sin embargo, los pacientes con EHmet presentan mayor riesgo de mortalidad por complicaciones cardiovasculares o sepsis. Por ello, es fundamental que la evaluación pretrasplante incluya una evaluación cardiológica exhaustiva (114).

## **3. OBJETIVOS**

## Objetivos

---

**Objetivos primarios:**

1. Estudiar la prevalencia de la EHmet en las consultas externas hospitalarias del hospital Clínico universitario de Valladolid, en comparación con otros motivos de consulta por hepatopatía crónica.
2. Analizar los factores de riesgo asociados a la EHmet y su severidad.
3. Describir la utilización de los recursos médicos empleados (consultas, analítica, técnicas diagnósticas) para la atención de los pacientes con EHmet y analizar la concordancia de resultados entre los mismos.
4. Estudiar el papel del polimorfismo de los genes PNPLA3, TNF- $\alpha$  y CNR1 en la EHmet en nuestro medio.

**Objetivos secundarios:**

5. Identificar y describir las prácticas médicas o flujos de trabajo empleados en la atención del paciente con EHmet.
6. Evaluar la severidad de la enfermedad hepática de los pacientes atendidos por EHmet mediante las diferentes técnicas diagnósticas.
7. Analizar los costes derivados de la atención a estos pacientes

## Justificación

---

## **4. JUSTIFICACION**

## Justificación

---

La EHmet afecta al 25 % de la población en nuestro medio y la prevalencia va en aumento debido al incremento paralelo de la diabetes, la obesidad y el síndrome metabólico, entidades a las que se asocia, y debido al estilo de vida actual en nuestra sociedad basado en el sedentarismo, y dieta poco saludable, rica en alimentos procesados.

Todo ello condiciona que la EHmet sea una carga importante de trabajo en nuestras consultas ya que es una entidad muy común en la práctica clínica diaria de las consultas externas de hepatología de los hospitales. Sin embargo, no existen datos sobre su prevalencia real en nuestro medio, la carga de trabajo que genera en la Unidades de Hepatología, la severidad de la enfermedad, valorada mediante la presencia de fibrosis ya que es el principal factor que impacta en la supervivencia, ni los gastos médicos que se derivan de su atención.



## **5. MATERIAL Y MÉTODOS**



## **5.1. Diseño del estudio**

Considerando los objetivos señalados previamente, se eligió un diseño de estudio prospectivo de prevalencia con dos puntos de corte de 4 semanas cada uno separados 6 meses.

## **5.2. Ámbito de realización**

El estudio ha sido realizado en pacientes que acuden a las consultas de Aparato Digestivo del Hospital Clínico Universitario de Valladolid (tres consultas diarias repartidas entre el área de Consultas Externas de Aparato Digestivo y en el Centro de Especialidades de Pilarica) para estudio de hepatopatía crónica por elevación de transaminasas o sospecha de EHmet, derivados desde Atención Primaria del Área Este de Valladolid y de interconsultas interhospitalarias.

## **5.3. Población de estudio**

### **5.3.1. Selección de pacientes: definición de casos**

#### Criterios de inclusión:

- Sospecha de EHmet (esteatosis o factores de riesgo metabólicos).
- Pruebas de función hepática alteradas (ALT/AST o GGT).

- Niveles elevados de ferritina.
- Cirrosis criptogénica.

Criterios de exclusión (pacientes valorados en consulta por alguna de las siguientes razones):

- Hepatopatía crónica alcohólica.
- Dependencia del consumo de alcohol.
- Ingesta diaria de alcohol >30 g/día en varones y >20 g/día en mujeres.
- Hepatitis virales.
- Enfermedad hepática autoinmune.
- Tumores hepáticos.
- Sospecha de DILI (se excluyen estatinas en pacientes con factores de riesgo metabólicos).
- Otras: hepatitis aguda, causas vasculares, colangiopatía, trasplante de órganos.
- Pacientes atendidos bajo la supervisión de un ensayo clínico.

### **5.3.2. Diseño de la ejecución del estudio**

VARIABLES ANALIZADAS EN LAS CONSULTAS:

- Motivo de la consulta inicial.

- Todas las investigaciones o procedimientos realizados entre los 6-9 meses posteriores a la primera visita y sus resultados.
- Costes asociados a cada proceder.
- Diagnóstico final y vía/s por el cual se obtuvo.

#### Manejo de los datos:

La información se recogió en cuadernos electrónicos que serán anonimizados para la identificación del paciente y solo el investigador principal y el doctorando tendrán acceso.

Los datos que se recogieron fueron: edad, género, cantidad de alcohol que se consume diariamente, diagnóstico final, severidad del daño hepático (actividad y fibrosis) y exámenes complementarios.

#### Duración del estudio

El estudio cubrió 2 períodos de 4 semanas cada uno separados por un intervalo de 6 meses entre los dos períodos. Cada período de 4 semanas tuvo una **fase de inclusión o screening** y otra de **recolección de datos**.

##### - **Fase de inclusión o screening**

Durante el período de 4 semanas se incluyeron a todos los pacientes con diagnóstico de EHmet que acudan a la consulta externa. Los pacientes que cumplieron los criterios de inclusión fueron seleccionados.

##### - **Fase de recolección de datos**

Se realizaron analíticas, medidas antropométricas, encuesta nutricional y se solicitaron ecografía abdominal, Fibroscan® y biopsia hepática según práctica clínica habitual.

- Fase de explotación estadística

#### 5.4. Variables estudiadas

Características generales	Antropometría	Encuesta nutricional	Bioquímica
Edad		PREDIMED	
Sexo	Peso, talla e IMC		Glucosa
Comorbilidades	Cintura, cadera e ICC		Insulina
Tratamiento farmacológico habitual			Albúmina
TAS y TAD			Plaquetas
Ejercicio (hora a la semana)			Perfil hepático
Hábitos tóxicos (alcohol, tabaco)			Lipidemia

**Tabla 4.** Resumen de variables analizadas en este estudio. TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; IMC: índice de masa corporal; ICC: índice cintura-cadera

## **5.4.1. Variables clínico-metabólicas**

### **5.4.1.1. Características epidemiológicas**

Se registró la edad y sexo de cada paciente.

También se recogieron datos sobre los hábitos tóxicos de los pacientes como el hábito tabáquico y el consumo de alcohol (si la ingesta enólica superaba los 30 g / día en varones y los 20 g / día en mujeres, se excluyeron del estudio).

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

### **5.4.1.2. Evaluación clínica**

A cada uno de los pacientes incluidos en el estudio se le realizó una exploración física, así como las posibles patologías asociadas y se les preguntó si seguían un tratamiento farmacológico de manera habitual, y sus hábitos de vida.

### 5.4.1.3. Evaluación antropométrica

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

#### **Peso, talla e IMC**

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

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

#### **Cintura, cadera e índice cintura-cadera**

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

$$ICC = \frac{\text{cintura (cm)}}{\text{cadera (cm)}}$$

La relación cintura-cadera es un método utilizado para describir la distribución, tanto subcutánea como intraabdominal, del tejido adiposo.

En la siguiente tabla se resumen las variables analizadas en este apartado (tabla 5).

Tipo de variable	Unidad	Forma de medición
Sexo	♀ - ♂	-----
Edad	Años	-----
Talla	cm	Estadiómetro
Peso	kg	Báscula manual
IMC	kg/m <sup>2</sup>	peso/talla <sup>2</sup>
Cintura y cadera	Cm	Cinta métrica

**Tabla 5.** Resumen de las variables antropométricas analizadas. ♀: mujer; ♂: hombre; IMC: índice de masa corporal; PT: pliegue tricípital; kg: kilogramos; cm: centímetros

#### 5.4.1.4. Evaluación de adherencia a la dieta mediterránea

Se evaluó el nivel de adherencia al patrón dietético mediterráneo mediante la utilización de la herramienta de evaluación de la dieta mediterránea de 14 ítems (figura

6). Se realizó un cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea en una entrevista cara a cara con cada uno de los pacientes. La herramienta de evaluación de la dieta mediterránea de 14 ítems se desarrolló en un estudio español de casos y controles de infarto de miocardio., donde se seleccionaron los mejores puntos de corte para discriminar entre casos y controles para cada alimento o grupo de alimentos.

Se consideró una baja adherencia a la dieta mediterránea si se obtuvo una puntuación inferior o igual a 7 y los que tenían puntuaciones superiores a 8 se consideraron sujetos con una dieta mediterránea.



Cumplimiento de la dieta

---

**Identificador del participante:**

	Nodo	Ciudad	Médico	Paciente	Visita
<p><b>Nodo:</b> anotar el número de nodo correspondiente.                      01. Andalucía - Málaga / 02. Andalucía - Sevilla - S.Pablo / 03. Andalucía - Sevilla - V.Rocío / 04. Baleares /                      05. Cataluña - Barcelona norte / 06. Cataluña - Barcelona Sur / 07. Cataluña - Reus - Tarragona / 08. Madrid Norte /                      09. Madrid Sur / 10. Navarra / 11. País Vasco / 12. Valencia</p> <p><b>C.Salud:</b> anotar el número del centro de salud correspondiente.  <b>Médico:</b> anotar el número del médico correspondiente.  <b>Paciente:</b> anotar el número del paciente correspondiente.  <b>Visita:</b> anotar el número de visita correspondiente.                      00. Inclusión - exclusión / 01. Visita inicial / 02. Visita 3 meses / 03. Visita 1 año / 04. Visita 2 años / 05. Visita 3 años</p>					

**Fecha del examen**

\_ / \_ / 200\_

Día Mes Año

- |   |              |                          |
|---|--------------|--------------------------|
| 1. ¿Usa usted el aceite de oliva como principal grasa para cocinar? | Sí = 1 punto | <input type="checkbox"/> |
|---|--------------|--------------------------|
- |  |                              |                          |
|--|------------------------------|--------------------------|
| 2. ¿Cuanto aceite de oliva consume en total al día (incluyendo el usado para freír, comidas fuera de casa, ensaladas, etc.)? | 4 o más cucharadas = 1 punto | <input type="checkbox"/> |
|--|------------------------------|--------------------------|
- |   |  |                          |
|---|--|--------------------------|
| 3. ¿Cuántas raciones de verdura u hortalizas consume al día?<br><small>(las guarniciones o acompañamientos = 1/2 ración) 1 ración = 200g.</small> | 2 o más (al menos una de ellas en ensalada o crudas) = 1 punto | <input type="checkbox"/> |
|---|--|--------------------------|
- |   |                          |                          |
|---|--------------------------|--------------------------|
| 4. ¿Cuántas piezas de fruta (incluyendo zumo natural) consume al día? | 3 o más al día = 1 punto | <input type="checkbox"/> |
|---|--------------------------|--------------------------|
- |   |                             |                          |
|---|-----------------------------|--------------------------|
| 5. ¿Cuántas raciones de carnes rojas, hamburguesas, salchichas o embutidos consume al día? <small>(ración: 100 - 150 g)</small> | menos de 1 al día = 1 punto | <input type="checkbox"/> |
|---|-----------------------------|--------------------------|
- |  |                             |                          |
|--|-----------------------------|--------------------------|
| 6. ¿Cuántas raciones de mantequilla, margarina o nata consume al día?<br><small>(porción individual: 12 g)</small> | menos de 1 al día = 1 punto | <input type="checkbox"/> |
|--|-----------------------------|--------------------------|
- |   |                             |                          |
|---|-----------------------------|--------------------------|
| 7. ¿Cuántas bebidas carbonatadas y/o azucaradas (refrescos, colas, tónicas, bitter) consume al día? | menos de 1 al día = 1 punto | <input type="checkbox"/> |
|---|-----------------------------|--------------------------|
- |   |                                     |                          |
|---|-------------------------------------|--------------------------|
| 8. ¿Bebe usted vino? ¿Cuánto consume a la semana? | 7 o más vasos a la semana = 1 punto | <input type="checkbox"/> |
|---|-------------------------------------|--------------------------|
- |  |                               |                          |
|--|-------------------------------|--------------------------|
| 9. ¿Cuántas raciones de legumbres consume a la semana?<br><small>(1 plato o ración de 150 g)</small> | 3 o más a la semana = 1 punto | <input type="checkbox"/> |
|--|-------------------------------|--------------------------|
- |   |                               |                          |
|---|-------------------------------|--------------------------|
| 10. ¿Cuántas raciones de pescado-mariscos consume a la semana?<br><small>(1 plato pieza o ración: 100 - 150 de pescado o 4-5 piezas o 200 g de marisco)</small> | 3 o más a la semana = 1 punto | <input type="checkbox"/> |
|---|-------------------------------|--------------------------|
- |  |                                  |                          |
|--|----------------------------------|--------------------------|
| 11. ¿Cuántas veces consume repostería comercial (no casera) como galletas, flanes, dulce o pasteles a la semana? | menos de 2 a la semana = 1 punto | <input type="checkbox"/> |
|--|----------------------------------|--------------------------|
- |   |                               |                          |
|---|-------------------------------|--------------------------|
| 12. ¿Cuántas veces consume frutos secos a la semana? <small>(ración 30 g)</small> | 3 o más a la semana = 1 punto | <input type="checkbox"/> |
|---|-------------------------------|--------------------------|
- |  |              |                          |
|--|--------------|--------------------------|
| 13. ¿Consume usted preferentemente carne de pollo, pavo o conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas? <small>(carne de pollo: 1 pieza o ración de 100 - 150 g)</small> | Sí = 1 punto | <input type="checkbox"/> |
|--|--------------|--------------------------|
- |   |                               |                          |
|---|-------------------------------|--------------------------|
| 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)? | 2 o más a la semana = 1 punto | <input type="checkbox"/> |
|---|-------------------------------|--------------------------|



Figura 6. Cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea.

### **5.4.2. Variables analíticas**

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

- Glucosa, albúmina y plaquetas.
- Parámetros de perfil lipídico: LDL-colesterol, HDL-colesterol, colesterol total y triglicéridos.
- Perfil hepático: bilirrubina total, AST, ALT y GGT.
- Proteínas reactivas: proteína C reactiva (PCR) y fosfatasa alcalina.
- Ferritina.
- Hormonas: insulina.

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

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

Parámetro	Valores de referencia	Parámetro	Valores de referencia
Glucosa	75 – 110 mg/dL	Albúmina	3.5-5 g/dL
LDL-colesterol	130 – 160 mg/dL	HDL-colesterol	35 – 70 mg/dL
Colesterol total	110 – 240 mg/dL	Triglicéridos	50 – 170 mg/dL
Bilirrubina	0,3 – 1,4 mg/dL	AST	1 – 37 UI/L
ALT	1 - 40 UI/L	GGT	1 – 50 UI/L
Insulina	2 – 30 $\mu$ U/mL	Fosfatasa alcalina	98 – 279 UI/L
Plaquetas	150 – 400 x 10 <sup>3</sup> / $\mu$ l	Ferritina	15-150 ng/ml
		Hierro	50-150 $\mu$ g/dL

*Tabla 6 . Resumen de los valores de referencia de las diferentes variables analizadas en el laboratorio. PCR: proteína C reactiva; g: gramos; mg: miligramos;  $\mu$ g: microgramos; UI: unidades internacionales.*

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

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

$$\text{LDL- colesterol} = \text{colesterol total} - \text{HDL- colesterol} - \frac{\text{triglicéridos}}{5}$$

(en mg/L) o  $\frac{\text{triglicéridos}}{2.1}$  (en mmol/L)

### 5.4.3. Valoración de los factores de riesgo cardiovascular

Para valorar los posibles factores de riesgo cardiovascular presentes en los pacientes a estudiar, se utilizaron los 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). Se establece la definición de síndrome metabólico ante la presencia de **tres o más** de los siguientes criterios:

- Obesidad abdominal, definida como perímetro de la cintura superior a 102 cm en hombres y superior a 88 cm en mujeres.
- Trigliceridemia elevada. Se considerará elevada cuando sea igual o superior a 150 mg/dL (1,7 mmol/L) o tratamiento específico.
- Niveles séricos de HDL –cuando sean inferiores a 40mg/dL (1,1 mmol/dL) en hombres e inferior a 50mg/dL (1,3 mmol/dL) en mujeres, o tratamiento específico.

- Hipertensión arterial: tensión arterial elevada, cuando esta sea igual o superior a 130 mmHg de tensión arterial sistólica, o una tensión arterial diastólica igual o superior a 85 mmHg, o tratamiento antihipertensivo.
- Glucemia basal elevada, es decir, igual o superior a 100 mg/dL (5,6 mmol/L), o en tratamiento.

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

FRCV propuestos NCPE-ATP III	Límite
Obesidad central	102 cm en hombres
(perímetro de cintura) <sup>1</sup>	88 cm en mujeres
Tensión arterial <sup>1</sup>	TAS $\geq$ 130 mmHg
	TAD $\geq$ 85 mmHg
Glucemia basal <sup>1</sup>	$\geq$ 100 mg/dL
Trigliceridemia <sup>1</sup>	$\geq$ 150 mg/dL
Niveles séricos de HDL- colesterol <sup>2</sup>	< 40 mg/dL en hombres
	< 50 mg/dl en mujeres

**Tabla 7.** Criterios de factores de riesgo cardiovascular propuestos por la NCEP- ATP III, con sus respectivos límites. FRCV: factores de riesgo cardiovascular; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; <sup>1</sup>: límite por encima del cual se considera patológico; <sup>2</sup>: límite por debajo del cual se considera patológico.

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

- Características generales y riesgo cardiovascular: se analizó la posible asociación entre presencia de riesgo cardiovascular y la edad, el sexo, los niveles de tensión arterial, la práctica de ejercicio físico y el consumo de alcohol.
- Variables antropométricas y riesgo cardiovascular. De igual manera, se analizó la posible asociación entre factores de riesgo cardiovascular y distintas variables antropométricas: peso, talla e IMC, cintura, cadera e índice cintura-cadera.

#### **5.4.4. Genotipado de los polimorfismos de un único nucleótido (SNP).**

Se obtuvo una única muestra de sangre de cada paciente en tubos con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) en cada visita del estudio. Las muestras de plasma se obtuvieron tras una centrifugación adecuada. Las muestras se almacenaron a -80°C hasta el análisis de los genotipos.

#### **5.4.4.1. Genotipado del polimorfismo del gen G308A del factor de necrosis tumoral- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )**

Para realizarlo, extraemos ADN de todos los pacientes partiendo de sangre total y usamos el kit FastStart Essential DNA Probes Master de Roche y sonda de TaqMan específica para este SNP. La prueba se realiza en una máquina de PCR a tiempo real, en esta ocasión es la QuantStudio1 de ThermoFisher, y el análisis de los resultados mediante el software de ThermoFisher.

Los cebadores de oligonucleótidos y las sondas se diseñaron con el Beacon Designer 4.0 (Premier Biosoft International®, LA, CA). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se llevó a cabo 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 final de 25 uL (Termociclador iCycler IQ (Bio-Rad®), Hercules, CA). El ADN se desnaturalizó a 95°C durante 3 minutos; a esto le siguieron 50 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 15 s, y de anillamiento a 59,3° durante 45 s). La PCR se ejecutó en un volumen final de 25 uL que contenía 12,5 uL de IQTM Supermix (Bio-Rad®, Hercules, CA) con Taq ADN polimerasa de inicio en caliente.

#### **5.4.4.2. Genotipado del polimorfismo rs738409 del patatin-like phospholipase domain-containing 3 (PNPLA3)**

El genotipado del polimorfismo rs738409 se realizó mediante un análisis de alta resolución de la disociación de amplicones (HRM, high-resolution melting analysis) obtenido por la amplificación de una zona genómica corta que incluía el polimorfismo estudiado. El análisis HRM se realizó con un equipo Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Australia).

Para obtener amplicones que contenían el sitio del polimorfismo, se amplificaron dos  $\mu\text{L}$  de ADN genómico extraído para el genotipado estándar con la ayuda de 2  $\times$  SensiFastHRM master mix (Bioline, Reino Unido) y se utilizaron los cebadores GCCTTGGTATGTTCTGCTTC y GGATAAGGCCACTGTAGAAGG a una concentración final de 200 nM. El protocolo de temperatura aplicado fue la activación de la enzima durante tres minutos a 95 °C, seguido de siete ciclos de 10 s a 95 °C y 30 s a 67 °C, y luego 40 ciclos de 10 s a 95 °C y 25 s a 60 °C. La longitud del proceso de amplificación fue de 46 pb. El análisis de las curvas de disociación se llevó a cabo utilizando el software del equipo (Rotor-Gene 6000 Series Software 1.7.87, Corbett Research, Australia). Con el fin de normalizar las curvas, seleccionamos una región de predisociación y otra de posdisociación, dentro de las cuales se consideró que la fluorescencia relativa de cada curva era del 100% y del 0%, respectivamente. La región de predisociación se definió entre 68,5 y 69,1°C, mientras que la región de posdisociación se eligió entre 77,0 y 78,6 °C.

Paralelamente a las muestras de ADN genómico, se analizó lo siguiente en cada serie de reacciones:

Tres estándares de genotipado (CC, CG, GG), consistentes en moléculas de ADN sintético con una secuencia que incluye la región genómica de 46 pb amplificada con la ayuda del par de cebadores utilizados en la reacción;

Tres controles de genotipado (rs738409 CC, CG, GG), consistentes en ADN genómico muestreado con un genotipo PNPLA3 conocido; un control de amplificación negativo, en el que no se introdujo ADN.

#### **5.4.4.3. Genotipado del polimorfismo G1359A del receptor cannabinoide 1 (CNR1)**

Los cebadores de oligonucleótidos y las sondas se diseñaron con el programa Beacon Designer 4.0 (Premier Biosoft International®, LA, CA). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó con 50 ng de ADN genómico, 0,5 µl de cada oligonucleótido cebador (cebador directo: 5' -TTC ACA GGG CCG CAG AAA G-3' y reverso 5' -GAG GCA TCA GGC TCA CAG AG-3'), y 0,25 µl de cada sonda (sonda salvaje: 5' -Fam-ATC AAG AGC ACG GTC AAG ATT GCC-BHQ-1-3') y (sonda mutante: 5' -Texas red- ATC AAG AGC ACA GTC AAG ATT GCC-BHQ-1-3') en un volumen final de 25 µl (Termociclador iCycler IQ (Bio-Rad®), Hercules, California, EE.UU.). El ADN se desnaturalizó a 95 ° C durante 3 minutos; a continuación, se realizaron 50 ciclos de desnaturalización a 95 ° C durante 15 s, a 59,3° durante 45 s). La

PCR se ejecutó en un volumen final de 25 µl que contenía 12,5 µl de IQTM Supermix (Bio-Rad ®, Hercules, Calif, EE.UU) con ADN polimerasa. Se evaluó el equilibrio Hardy Weimberger.

#### **5.4.5. Valoración ecográfica**

El estudio radiológico consistió en la realización de una ecografía basal en modo B (información morfológica), ecografía Doppler (información hemodinámica) y elastografía tipo ARFI (información acerca de la rigidez del hígado) con medición de la velocidad de corte “Vc” (SWV-shear wave velocity), en pacientes con sospecha de HGNA en un periodo inferior a un año desde la realización de la biopsia hepática.

A todos los pacientes se les solicitó el consentimiento informado para pruebas no invasivas, autorizado por el Comité Ético del HCUV, previo a la realización de la exploración radiológica. El único requisito solicitado para realizar la prueba era acudir en ayunas de 4-6 horas.

La ecografía fue efectuada por el mismo radiólogo y para ello, se utilizó una plataforma una plataforma Acuson S 2000 (Siemens, Erlangen, Alemania), equipada con una sonda convex multifrecuencia 6-1 MHz (6C1). En todos los casos se desconocía datos analíticos y resultados de la biopsia.

Primero se realizó un estudio ecográfico hepático convencional en modo B, con el paciente tumbado en la camilla en posición de decúbito supino, con el brazo derecho

localizado en abducción máxima. Se determinaron los siguientes ítems: presencia de esteatosis hepática de forma subjetiva, al comparar el aumento de ecogenicidad del parénquima respecto la cortical del riñón derecho y la disminución de la visualización del diafragma y los vasos hepáticos; graduándolo en normal (ecogenicidad similar al riñón), esteatosis leve (ligero aumento de ecogenicidad, con adecuada visualización de diafragma y vasos hepáticos), esteatosis moderada ( aumento de la ecogenicidad con dificultad para la visualización de diafragma y vasos hepáticos) y esteatosis severa (aumento marcado de la ecogenicidad sin lograr visualizar diafragma y vasos hepáticos). Existencia de heterogeneidad del parénquima con signos de fibrosis/cirrosis (hipertrofia de lóbulo caudado y lóbulo hepático izquierdo, contornos lobulados) y tamaño hepático (se consideró la presencia de hepatomegalia si el diámetro craneocaudal del lóbulo hepático derecho era mayor de 15cm al medirlo en un plano sagital a la altura de la línea medioclavicular).

En la misma exploración se llevó a cabo la técnica ARFI. El paciente se mantiene en decúbito supino con el brazo derecho en máxima abducción. La sonda se sitúa sobre la superficie cutánea, en el espacio intercostal, entre la 9ª y 10ª costilla ligeramente por delante de la línea axilar media, para la adquisición de las medidas del lóbulo hepático derecho. En la adquisición del lóbulo hepático izquierdo, la sonda se coloca en sentido transversal, por debajo del apéndice xifoides con una orientación craneal y ligeramente oblicua hacia la derecha. Una vez colocada la sonda, y sin ejercer compresión sobre la piel, se solicita al paciente que se mantenga en apnea, sin inspiración máxima, y se realiza el disparo.

Se obtuvieron imágenes en modo-B previas a la adquisición, del lóbulo hepático correspondiente. La región de interés (RDI) se colocó en el segmento VII-VIII, VI-VII II-III, a una profundidad 5.5 cm, siempre 2 cm por debajo de la cápsula hepática, en una porción del parénquima hepático sin estructuras vasculares ni biliares. Se tomaron 4 medidas con éxito de Vc en apnea sin inspiración profunda de cada segmento. Los resultados de cada exploración fueron la media de 12 medidas válidas de velocidad de cizallamiento. Si la Vc detectada por el equipo era “xxx” (debido a artefactos de movimiento), se consideraba el valor como no válido y no se tenía en cuenta, realizando un máximo de 20 disparos. Los datos obtenidos se expresan en m/s, junto con la mediana, la desviación estándar y el RIC.

Las imágenes se transmitieron de forma rutinaria al PACS (Picture Archiving and Communication System) modelo IRE STORE CHANNEL 4.9.0.0. del HCUV.

#### **5.4.6. Elastografía de transición**

Se realizó una ET (Fibroscan®) a todos los pacientes para valorar el grado de fibrosis hepática.

La ET se realiza con el paciente en decúbito supino, con el brazo derecho elevado para facilitar el acceso al lóbulo hepático derecho. La punta de la sonda se pone en contacto con la piel con gel de acoplamiento, entre el espacio intercostal 9° a 11°. El operador, asistido mediante una imagen en tiempo-movimiento, localiza una porción del hígado al menos a 6 cm de profundidad y libre de estructuras vasculares grandes.

Entonces, el operador presiona el botón de la sonda para iniciar las mediciones (“disparos”).

El software determina si cada medida es satisfactoria o no.

Se considera válido si se cumplen los siguientes criterios:

- Al menos 10 disparos válidos.
- Una tasa de éxito (relación de disparos válidos respecto al número total de disparos) por encima de 60%.
- Un rango intercuartílico (IQR, reflejo de la variabilidad de las medidas) menor de 30% de la mediana (M) de las medidas de RH valor ( $IQR/M \leq 30\%$ ).

Se valoró el grado de fibrosis de cada paciente estableciéndose los siguientes puntos de corte:

- 8 kPa para fibrosis significativa ( $\geq F2$ ).
- 9,7 kPa para fibrosis avanzada ( $\geq F3$ ).
- 13,6 kPa para cirrosis (F4).

### **5.4.7. Biopsia hepática percutánea**

Se realizó biopsia hepática percutánea a los pacientes con sospecha de enfermedad hepática avanzada o dudas en el diagnóstico, previo consentimiento informado y preparación según las guías:

- Realización de historia clínica completa y exploración física.
- Hemograma.
- Coagulación con INR y TTPA.
- Medicaciones que recibe el paciente que pueden aumentar el riesgo de sangrado durante o después del procedimiento (clopidogrel, aspirina, AINEs en general y por supuesto anticoagulantes) evaluando y valorando su suspensión días antes de la realización de la biopsia según el fármaco concreto (una semana antes los AINEs y antiagregantes) y pautando si es el caso un protocolo de retirada y reintroducción según la indicación de cada paciente que reciba anticoagulantes.
- Todos los pacientes fueron ingresados en planta de hospitalización antes de la realización de la biopsia y permanecieron 24h desde la realización de la misma.

#### **Instrumental:**

Desde 2004 hasta 2012, el instrumento utilizado para la obtención de la muestra fue una aguja de succión, en este caso de Menghini, y desde 2012 una aguja precargada Full Core biopsy instrument BioPince™, de 15 cm de longitud y 18 g de grosor (menos invasiva).



*Figura 7. Aguja de biopsia precargada.*

### **Técnica:**

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

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



**Figura 8.** Instrumental

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

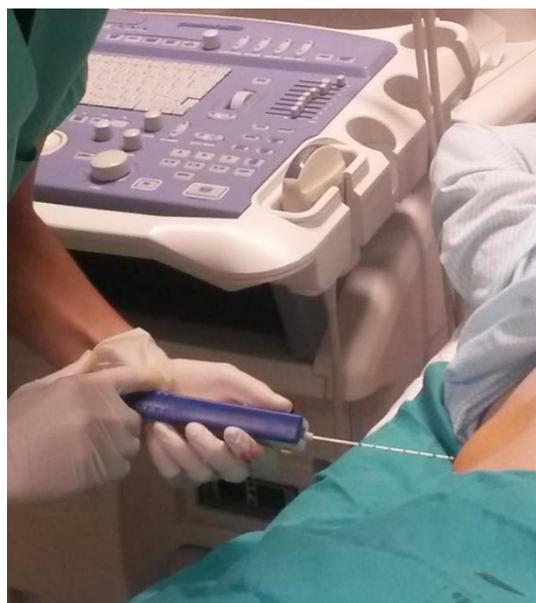


**Figura 9.** Anestésico local

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

Una vez en esa situación, se quita el seguro de la aguja y con el paciente conteniendo la respiración en fase de espiración, se realiza un “disparo” mediante el cual se ha extraído un cilindro de tejido hepático como máximo de 29 mm de longitud (con

un golpe de aguja de 33mm) permaneciendo tan sólo décimas de segundo en el tejido hepático). Posteriormente se extrae la aguja, y mediante un sencillo mecanismo, la muestra, que se envía en un anaclín con formol a Anatomía Patológica.



*Figura 10. Realización de la biopsia.*

### **Análisis de las muestras y clasificación histológica**

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

Se empleó el sistema de puntuación SAF (esteatosis, actividad y fibrosis) para la evaluación de la gravedad histológica de la EHmet. Esta clasificación evalúa por

separado la esteatosis, la actividad (balonización de hepatocitos y la inflamación lobulillar), así como la presencia de fibrosis, mediante escalas semicuantitativas (Tabla 3). Se clasifica como EHNA la presencia de al menos grado 1 de cada una de las características de esteatosis, balonización e inflamación lobulillar.

#### 5.4.8. Diagnóstico de fibrosis mediante índice no invasivos

En el estudio se calcularon índices no invasivos de **esteatosis** FLI -Fatty Liver Index, LAP-Liver Accumulation Product-, HSI-Hepatitis Score Index- y los **índices no invasivos de fibrosis** entre los que se encontraban el NFS-NAFLD Fibrosis Score-, FIB-4 -Fibrosis 4- y HFS -Hepamet Fibrosis Score-; así como la combinación de ellos. Posteriormente se compararon los resultados obtenidos con los de la biopsia hepática.

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

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

Tabla 8. Índice FLI

- **Liver Accumulation Product (LAP):**
  - Hombres:  $\text{LAP} = (\text{CIN} (\text{cm}) - 65) \times \text{trigliceridos} (\text{mol/L})$
  - Mujeres:  $\text{LAP} = (\text{CIN} (\text{cm}) - 58) \times \text{trigliceridos} (\text{mol/L})$

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

Tabla 9. Índice LAP

- **Hepatitis Steatosis Index (HSI)** =  $8 \times (ALT/AST) + IMC$  (+2 mujer; +2 DM2).

Interpretación	
<30	No esteatosis
≥30, <36	Indeterminado
≥36	Esteatosis

Tabla 10. Índice HSI

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

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

Tabla 11. Índice NAFLD-FS

- **Fibrosis-4 (FIB-4) = (Edad x AST) / (plaquetas (U/mL) x (sqrt (ALT)))**

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

Tabla 12. Índice FIB-4

- **Hepamet Fibrosis Score (HFS) = 1 / (1 + e (5.713 - 0.996 x Edad [45-64 años] - 1.745 x Edad [>65 años] + 0.907 x Sexo masculino - 0.771 x Diabetes Mellitus - 0.746 x AST [35-69 UI/mL] - 1.992 x AST [>70 UI/mL] - 0.044 x Albúmina [4-4,49 mg/dL] - 0.944 x Albúmina [<4 mg/dL] - 1.028 x HOMA [2-3,99] - 2.087 x HOMA [>4] - 0.876 x plaquetas [155.000-219.999] - 2.241 x plaquetas [<155.000]))).**

Interpretación	
<0.12	Fibrosis leve
≥0.12, <0.24	Indeterminado
≥0.24	Fibrosis avanzada

Tabla 13. Índice HFS

- **Combinación de los tres índices de fibrosis:**

FIB-4		NFS		HFS	
<1.30	0	< -1.455	0	< 0.12	0
1.30 a 2.67	1	-1.455 a 0.675	1	0.12 a 0.24	1
> 2.67	2	> 0.675	2	> 0.24	2

Tabla 14. Combinación de tres índices de fibrosis.

- Interpretación de la combinación de puntos de los tres índices:
  - Si 0-1 punto: se descarta fibrosis,
  - De 2 a 3 puntos: repetir en 12 meses (resultado indeterminado)
  - $\geq 4$  puntos , alta sospecha de fibrosis avanzada

## **5.5. Cálculo de los costes directos asociados al diagnóstico.**

Se calculó el coste de la consulta, analítica, ecografía, Fibroscan®, biopsia hepática según datos obtenidos de la Dirección de Gestión del Hospital clínico Universitario de Valladolid.

## **5.6. Análisis estadístico**

Los datos fueron tratados empleando el paquete estadístico SPSS (IBM SPSS Statistics versión 29.0)

Las variables continuas se describieron como media  $\pm$  DS en caso de distribución normal o como mediana y rango si la distribución fue no normal. Las variables cualitativas fueron descritas mediante frecuencias absolutas y relativas (porcentajes). Los

datos se recogieron en tablas y se representaron en los gráficos más adecuados para cada tipo de variable (diagrama de barras para las variables cualitativas, histograma de frecuencias para las cuantitativas).

Para estudiar la asociación entre variables cualitativas se utilizó la prueba de Chi cuadrado, con corrección de Yates y test exacto de Fisher cuando las condiciones lo requirieron. En el caso de las variables cuantitativas se utilizó el test de Kolmogorov–Smirnov para determinar la normalidad de las distribuciones. Para estudiar las diferencias entre medias independientes se utilizaron los tests estadísticos paramétricos o no paramétricos exigidos por las condiciones de aplicación (t de Student o U de Mann-Whitney en caso de dos categorías; ANOVA con prueba post-hoc de Bonferroni o H de Kruskal-Wallis para comparaciones de más de dos categorías). El nivel de significación fue fijado convencionalmente en una  $p \leq 0,05$ . Se realizó un análisis de regresión logística con el método condicional Wald considerando como variable dependiente la presencia de fibrosis avanzada en la biopsia hepática.

## **5.7. Tratamiento informático y control de calidad de los datos**

El tratamiento informático de los datos, adecuadamente codificados, fue realizado en un ordenador personal portátil MacBook Air, con procesador 1,4 GHz Intel Core i5 de doble núcleo, sistema operativo MacOS Catalina y herramientas de Microsoft Office 365.

La búsqueda bibliográfica se efectuó a través de Internet con el navegador web Safari. Los datos recogidos fueron introducidos en una base de datos (IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Mac, Version 29.0)

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

## **5.8. Revisión bibliográfica**

La revisión bibliográfica ha sido realizada a través de la página de Internet PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), un servicio de acceso libre a la Base de datos Medline proporcionado por la National Library of Medicine (NLM). Para la búsqueda inicial se han empleado términos libres y vocabulario controlado (non alcoholic fatty liver disease; insuline resistance; cardiovascular disease; obesity; hypertension; diabetes mellitus; cholesterol; sedentarism; metabolic syndrome; nutrition; nutrition assessment; dietary intake; vitamin intake; vitamin B<sub>12</sub>; vitamin B<sub>3</sub>; folate; mineral intake; BIA; anthropometry; body mass index; BMI; body composition, y un largo etcétera).

La búsqueda libre ha sido completada con la utilización de vocabulario controlado (MeSH) restringiéndola a un término o ampliándola a varios si ha sido

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

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

Se ha utilizado asimismo en gran medida la Biblioteca *Cochrane* Plus ([www.bibliotecacochrane.net](http://www.bibliotecacochrane.net)), con acceso libre y gratuito en todo el territorio español gracias a una suscripción realizada por el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.

## **6. RESULTADOS**

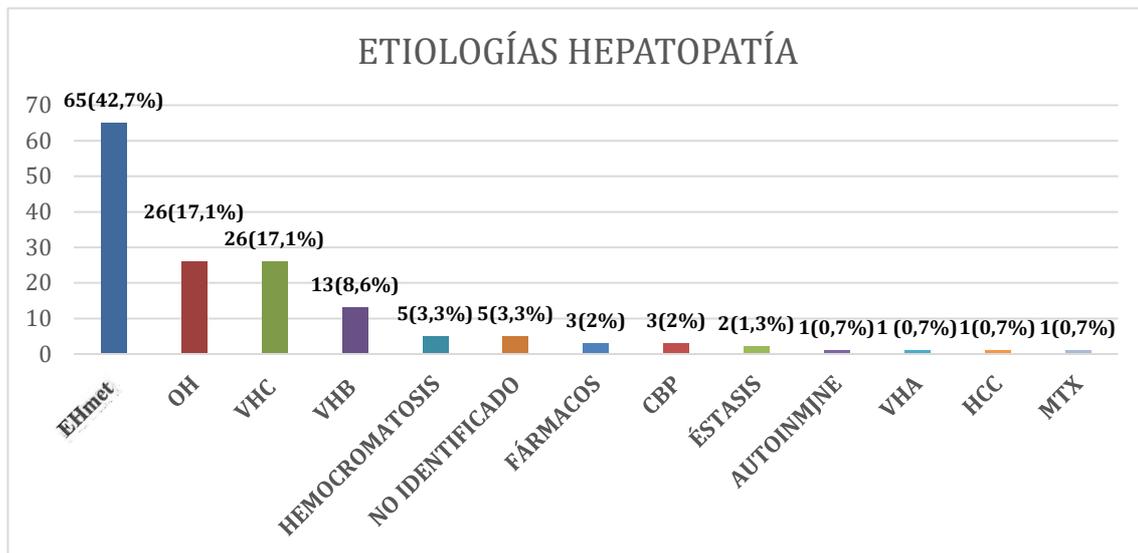
## Resultados

---

## 6.1. Análisis descriptivo

### 6.1.1. Características basales de la muestra

En los dos periodos del estudio se atendieron un total de 152 pacientes para estudio de hepatopatía crónica, de los cuales 65 pacientes (42,7%) presentaban sospecha de EHmet. Los otros 87 pacientes restantes se diagnosticaron de otras causas de hepatopatía crónica (causa enólica 26 (17,1%); VHC 26 (17,1%); VHB 13 (8,6%); hemocromatosis 5 (3,3%); CBP 3 (2%); hígado de estasis 2 (1,3%); VHA 1 (0,7%); metástasis 1 (0,7%); hepatocarcinoma 1 (0,7%); hepatopatía autoinmune 1 (0,7%); fármacos 3 (2%); sin causa aparente 5 (3,3%).



**Figura 11.** Etiologías de hepatopatía. EHmet: esteatosis hepática metabólica; OH: alcohol; VHC: virus de la hepatitis C; VHB: virus de la hepatitis B; CBP: colangitis biliar primaria; VHA: virus de la hepatitis A; HCC: hepatocarcinoma celular; MTX: metástasis.

### 6.1.2. Factores epidemiológicos

Del total de 152 pacientes reclutados, 65 fueron finalmente diagnosticados de EHmet.

El 55,4% de los 65 pacientes con EHmet procedían de Atención Primaria. El resto, de interconsultas hospitalarias (el 43,1% de Endocrinología y el 1,5% de Medicina Interna).

El 53,8% de los pacientes con EHmet son mujeres y el 46,2% hombres, con una edad media de  $54,2 \pm 13,22$  años (19-82).

Al analizar los hábitos de vida, observamos que únicamente un 13,8% de los pacientes eran fumadores; el 52,3% tomaba al menos una taza de café al día; el 23,1% ingería al menos una bebida azucarada al día y ninguno de los pacientes incluidos en el estudio c drogas.

n total=65	n	%
Fumadores	9	13,8
Café ( $\geq 1$ taza/día)	34	52,3
Bebidas azucaradas ( $\geq 1$ /día)	15	23,1
Consumo de Drogas	0	0

**Tabla 15.** Estudio de hábitos de vida

### 6.1.3. Factores de riesgo cardiovascular

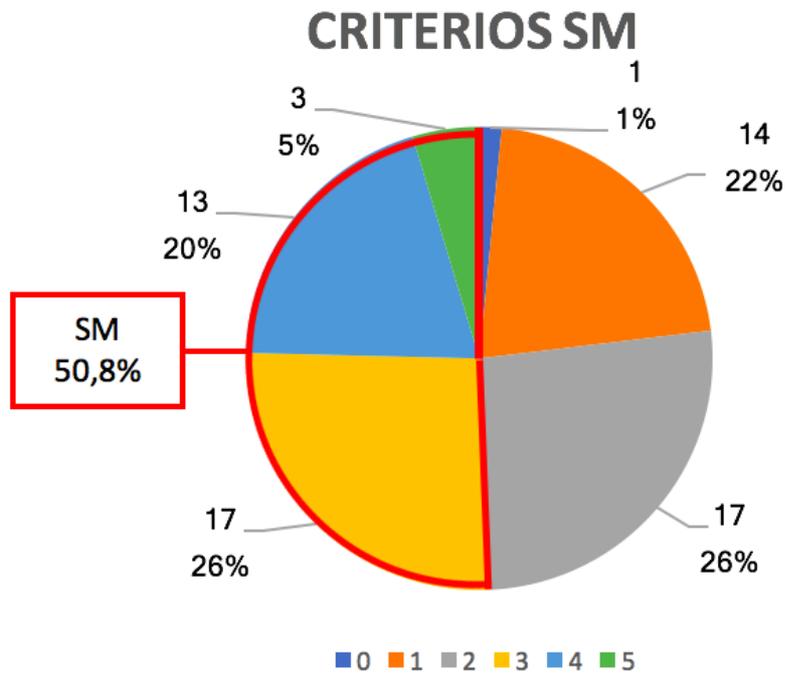
El 61,5% de los pacientes presenta obesidad, el 20% dislipemia aterogénica, el 47,7% HTA y el 27,7% DM-2.

n total=65	n	%
Obesidad	40	61,5
DL aterogénica	13	20
HTA	31	47,7
DM-2	18	27,7

*Tabla 16. Estudio de factores de riesgo cardiovascular. DL: dislipemia; HTA: hipertensión arterial; DM-2: diabetes mellitus tipo 2.*

### 6.1.4. Síndrome Metabólico (SM)

Se observa que algo más de la mitad de nuestros pacientes presenta SM (50,8 %), definido por la presencia de al menos tres de los criterios de la clasificación ATPIII, descrita previamente en el apartado de material y métodos.



*Figura 12. Distribución de pacientes con síndrome metabólico.*

### 6.1.5. Variables antropométricas

En la siguiente tabla se describen las variables antropométricas de nuestros pacientes con EHmet. Se observa que el resultado de la media del IMC es de 33,46 (DS 8,32); es decir, compatible con obesidad (IMC>30).

El índice cintura-cadera (ICC) es una medida antropométrica específica que se utiliza para evaluar de forma indirecta los niveles de grasa intraabdominal. Los valores normales propuestos por la OMS para el ICC son 0,71-0,84 en mujeres 0,78-0,94 en varones. La media del ICC de nuestros pacientes estudiados es de 0,97 (DS 0,12), es decir, compatible con obesidad central.

N total=65	<b>MEDIA</b>	<b>DS</b>
Peso (kg)	92,43	22,62
Altura (m)	1,64	0,10
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	33,46	8,32
Medida cintura (cm)	111,58	17,35
Medida cadera (cm)	115,48	13,96
ICC	0,97	0,12

**Tabla 17.** Estudio de variables antropométricas. IMC: índice de masa corporal; ICC: índice cintura cadera.

### 6.1.6. Variables analíticas

Los resultados de las variables analíticas se representan en la siguiente tabla. Observamos que la mayoría de los pacientes presentan alteración de los niveles de transaminasas con predominio de la ALT sobre la AST, así como elevación moderada de la GGT. Por otra parte, se observa que es frecuente la alteración del perfil lipídico como se aprecia en las cifras de colesterol y triglicéridos.

## Resultados

n total=65	n	MEDIA	DS
Glucosa (mg/dl)	65	106,04	26,81
Hb glicosilada (%)	57	6,05	1,09
Albúmina (g/dl)	65	4,68	0,56
Bilirrubina (mg/dl)	65	0,59	0,38
Creatinina (mg/dl)	65	0,84	0,23
AST (U/l)	65	37,18	20,03
ALT (U/l)	65	51,40	35,54
GGT (U/l)	65	100	88,82
FA (U/l)	65	85,26	37,57
Triglicéridos (mg/dl)	65	164,58	76,21
Colesterol total (mg/dl)	65	191,90	40,63
LDL (mg/dl)	65	108,09	34,46
HDL (mg/dl)	65	50,53	13,18
Ferritina (ng/ml)	61	176,44	203,48
PCR (mg/l)	55	3,92	3,39
Hemoglobina gr/dl	65	14,49	1,35
Plaquetas (x 10 <sup>3</sup> / μl)	65	243,92	73,23

**Tabla 18.** Estudio de variables analíticas. GGT: gamma-glutamil transferasa, FA: fosfatasa alcalina; LDL: lipoproteínas de baja densidad; HDL: lipoproteínas de alta densidad; PCR: proteína C reactiva.

## 6.1.7. Pruebas de imagen

### 6.1.7.1. Ecografía abdominal

Se realizó ecografía abdominal a 63 pacientes (96,9%). Únicamente 2 pacientes no cuentan con ecografía abdominal, debido a que uno de ellos no acudió a la cita y en el segundo caso la ecografía no fue valorable por mala ventana acústica. Se demostró esteatosis en 52 pacientes (82,5%), siendo severa en 10 de ellos (15,9%).

n total=63	n	%
No esteatosis	11	17,5
Esteatosis leve	25	39,6
Esteatosis moderada	17	27,0
Esteatosis severa	10	15,9

*Tabla 19. Estudio de ecografía abdominal.*

### 6.1.7.2. Elastografía de transición (Fibroscan®)

Realizamos Fibroscan® a todos los pacientes, sólo valorable en 54 de ellos, debido a una mala ventana por importante pániculo adiposo a pesar de utilizar la sonda XL cuando estaba indicado. Se observa que 12 pacientes (22,2%) presentan fibrosis significativa, definida como un resultado  $\geq$ F2.

n total=54	n	%
F0-F1	42	77,8
F2	5	9,3
F3	2	3,6
F4	5	9,3

*Tabla 20. Estudio de fibrosis mediante Fibroscan®.*

### 6.1.7.3. ARFI

Se realizó ecografía con elastografía ARFI a 60 pacientes, de los cuales 22 (36,6%) presentaban fibrosis significativa ( $\geq$ F2). En los 5 pacientes restantes los resultados no fueron valorables por mala ventana acústica impidiendo obtener un resultado fiable.

n total=60	n	%
F0-F1	35	58,4
F2	12	20
F3	2	3,3
F4	11	18,3

*Tabla 21. Estudio de fibrosis mediante ARFI.*

### 6.1.8. Índices no invasivos

Se calcularon los índices no invasivos de esteatosis Fatty Liver Index (FLI), Hepatic Steatosis Index (HSI) y Liver Accumulation Product (LAP); así como índices no invasivos de fibrosis incluyéndose el NAFLD Fibrosis Score (NAFLD-FS), Fibrosis 4 (FIB-4) y Hepamet Fibrosis Score (HFS).

#### 6.1.8.1. Índices para valorar la esteatosis

Al aplicar los índices no invasivos de esteatosis observamos que el 90,8% de los pacientes del estudio obtienen un resultado compatible con presencia de esteatosis en el índice FLI; un 87,7% al realizar el índice HSI; y por último un 58,46% en el índice LAP.

FLI		
n total=65	n	%
No esteatosis	2	3,1
Indeterminado	4	6,2
Esteatosis	59	90,8

*Tabla 22. Estudio de esteatosis mediante el índice fatty liver index (FLI).*

HSI		
n total=65	n	%
No esteatosis	1	1,6
Indeterminado	7	10,8
Esteatosis	57	87,7

*Tabla 23. Estudio de esteatosis mediante el índice Hepatic Steatosis Index (HSI).*

LAP		
n total=65	n	%
No esteatosis	27	41,53
Esteatosis	38	58,46

*Tabla 24. Estudio de esteatosis mediante el índice Liver Accumulation Product (LAP).*

### 6.1.8.2. Índices para valorar la fibrosis

A continuación, realizamos índices no invasivos de fibrosis a los pacientes con EHmet incluidos en el estudio, evidenciando que presentan resultados compatibles con fibrosis avanzada en el 4,7% de los casos según el índice NAFLD-FS; 6,2% según el índice FIB-4; y 25,5% en el índice HFS.

## Resultados

NAFLD-FS		
n total=64	n	%
F0-F1	33	51,6
Indeterminado	28	43,1
F3-F4	3	4,7

*Tabla 25. Estudio de fibrosis mediante el índice NAFLD Fibrosis Score (NAFLD-FS).*

FIB-4		
n total=65	n	%
F0-F1	40	61,5
Indeterminado	21	32,3
F3-F4	4	6,2

*Tabla 26. Estudio de fibrosis mediante el índice de Fibrosis 4 (FIB-4).*

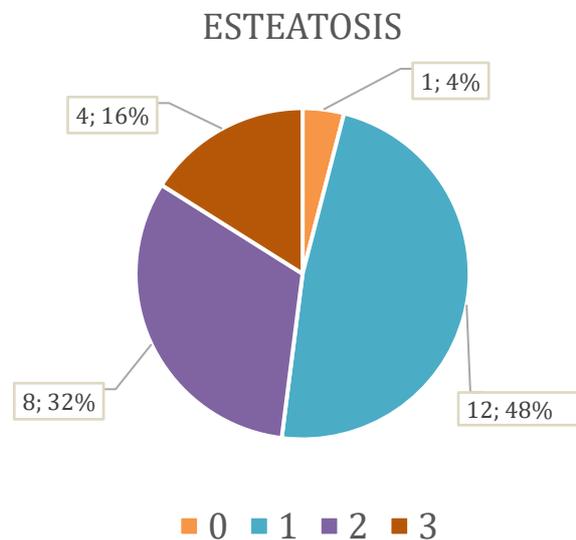
HFS		
n total=55	n	%
F0-F1	31	56,4
Indeterminado	10	18,2
F3-F4	14	25,5

*Tabla 27 Estudio de fibrosis mediante el índice Hepamet Fibrosis Score (HFS).*

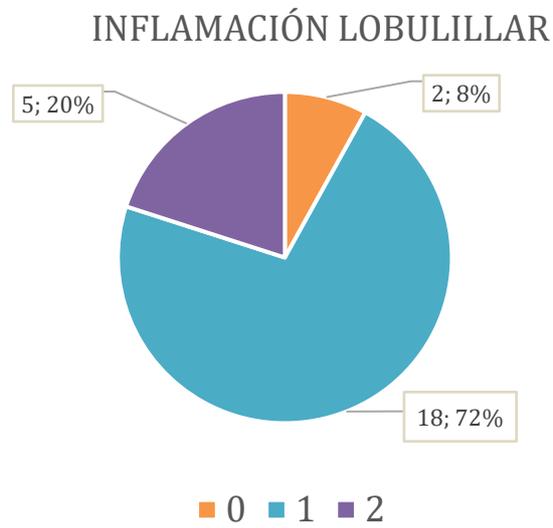
### 6.1.9. Biopsia hepática

Se realizó biopsia hepática a un total de 25 pacientes (38,5%), cuya indicación fue por dudas diagnósticas o sospecha de enfermedad hepática avanzada, según se recomienda en las guías de práctica clínica, y se analizaron las características histopatológicas por el mismo patólogo.

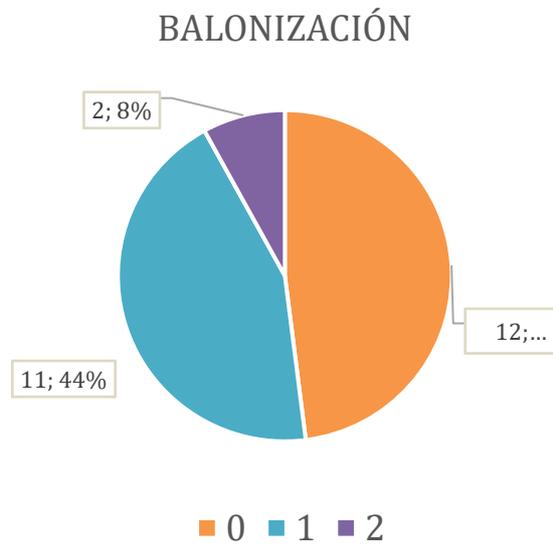
Observamos que un total de 24 pacientes (95,7%), presentan esteatosis; 12 de grado 1 (48%), 8 de grado 2 (32%) y 4 de grado 3 (16%). 23 pacientes (92%), presentan inflamación lobulillar; 18 de grado 1 (72%) y 5 de grado 2 (20%). 13 pacientes (52%), presentan balonización de los hepatocitos; 11 de grado 1 (44%) y 2 de grado 2 (8%).



**Figura 13.** Estudio de esteatosis en la histología hepática.

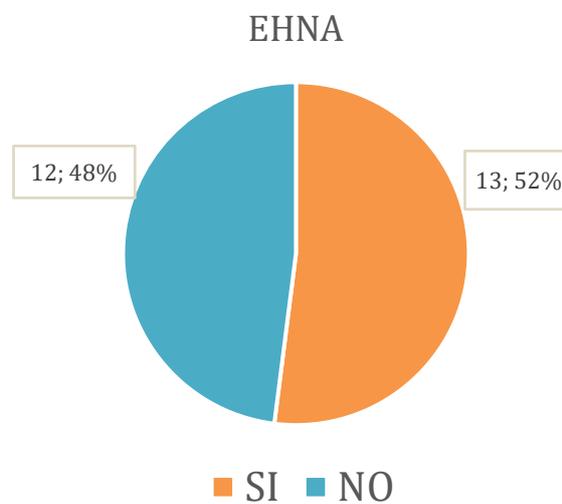


*Figura 14. Estudio de inflamación lobulillar en la histología hepática*



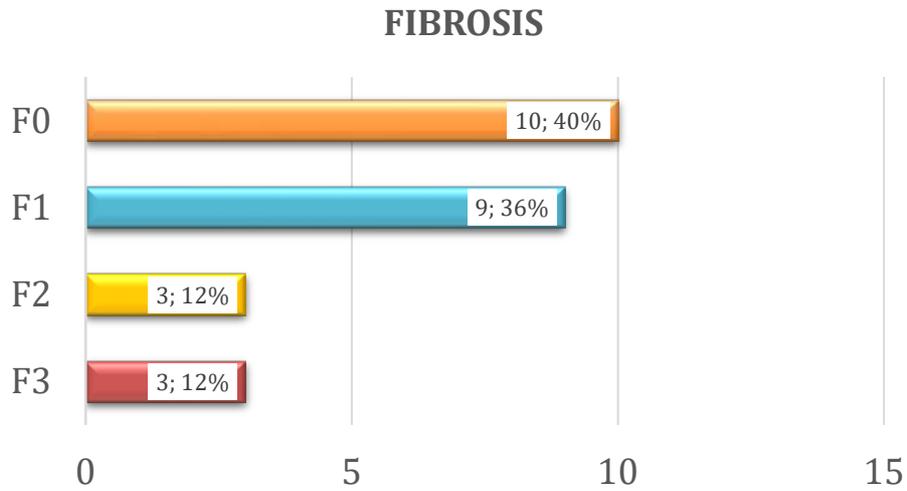
*Figura 15. Estudio de balonización en la histología hepática.*

Del total de pacientes biopsiados, en 13 (54,2%) se evidencia la presencia de esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), definido por la presencia conjunta de esteatosis, inflamación lobulillar y balonización de los hepatocitos.



**Figura 16.** Estudio de EHNA en la histología hepática. EHNA: esteatohepatitis no alcohólica.

Del conjunto de pacientes biopsiados, 15 (60,8%) presentan algún grado de fibrosis, de los cuales en 6 de los casos (13%), es significativa.

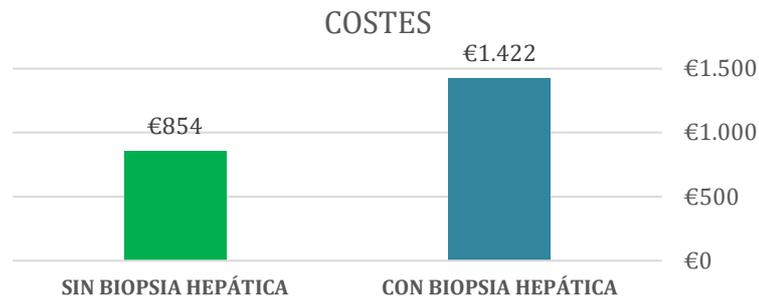


*Figura 17. Estudio de fibrosis en la histología hepática.*

#### **6.1.10. Cálculo de los costes sanitarios asociados al diagnóstico de EHmet**

Se calcularon los costes totales del proceso diagnóstico de los pacientes con EHMET, clasificándolos en dos grupos en función la realización o no de biopsia hepática.

En los pacientes en los que no se realizó biopsia hepática el coste total del proceso diagnóstico fue de 854 euros, frente a los 1422 euros del grupo en el que sí se realizó biopsia.



*Figura 18. Estudio de costes.*

## **6.2. Características de la muestra en función de la edad y sexo**

La mediana de edad (55 años) fue utilizada para clasificar a los pacientes en dos grupos:  $\leq 55$  años y  $> 55$  años.

No se observaron diferencias significativas en la mediana de edad de nuestros pacientes en función de su sexo.

### **6.2.1. Estudio de los hábitos de vida en función de la edad y sexo**

Se observa que los hombres consumen con mayor frecuencia alcohol ( $< 20$  g/día las mujeres y  $< 30$  g/día los hombres), con respecto a las mujeres (Tabla 28). Por el contrario, no se objetivan diferencias en cuanto a la edad.

No se observan diferencias significativas según la mediana de edad y sexo en cuanto al hábito tabáquico, toma de café, o consumo de bebidas carbonatadas.

P valor=0,012		CONSUMO DE ALCOHOL		Total
		no	si	
Sexo	Hombre	23 (76,7%)	7 (23,3%)	30
	Mujer	34 (97,1%)	1 (2,9%)	35
Total		<b>57</b>	<b>8</b>	<b>65</b>

*Tabla 28. Consumo de alcohol en función del sexo.*

### 6.2.2. Estudio de la dieta mediterránea en función de la edad y sexo

No se observan diferencias respecto al patrón de dieta mediterráneo en cuanto a la mediana de edad y sexo.

### 6.2.3. Estudio de los factores de riesgo cardiovascular en función de la edad y sexo

#### 6.2.3.1. Hipertensión arterial (HTA)

Los mayores de 55 años presentan con más frecuencia HTA, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. No observamos diferencias en cuanto al sexo.

## Resultados

P valor=0,034		HTA		Total
		no	si	
Edad 55	≤55	21 (65,6%)	11 (34,4%)	32
	>55	13 (39,4%)	20 (60,6%)	33
Total		34	31	65

*Tabla 29. Estudio de la hipertensión arterial en función de la edad. HTA: hipertensión arterial*

### 6.2.3.2.      **Obesidad**

No se observan diferencias significativas al comparar la hipertensión arterial con la presencia de obesidad (IMC>30).

### 6.2.3.3.      **Diabetes mellitus**

No se encuentran diferencias entre los dos grupos en cuanto a la presencia de DM-2.

### 6.2.3.4.      **Dislipemia**

Con respecto a la edad, la dislipemia es significativamente más frecuente en el grupo de mayores de 55 años, sin observarse diferencias en cuanto al sexo.

P valor=0,002		DL		Total
		no	si	
Edad 55	≤55	20 (62,5%)	12 (37,5%)	32
	>55	8 (24,2%)	25 (75,8%)	33
Total		<b>28</b>	<b>37</b>	<b>65</b>

*Tabla 30. Estudio de la dislipemia en función de la edad. DL: dislipemia*

#### 6.2.3.5. Síndrome metabólico

No se observan diferencias significativas en cuanto a la presencia de síndrome metabólico en los grupos de edad y sexo.

#### 6.2.3.6. Otros

Tampoco se observan diferencias significativas en ambos grupos en cuanto a la presencia de eventos cardiovasculares, o enfermedad tiroidea.

### 6.2.4. Estudio de las variables antropométricas en función de edad y sexo

Se observa que los hombres presentan un **índice cintura-cadera** mayor que las mujeres, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. No se observan diferencias significativas en cuanto a la edad.

	Sexo	Media	DS	P valor
ICC	Hombre	1,03	0,10	0,000
	Mujer	0,91	0,11	

*Tabla 31. Estudio del índice cintura cadera en función del sexo. ICC: índice cintura cadera.*

### 6.2.5. Estudio de las variables analíticas en función de edad y sexo

Respecto a la edad, se evidencian diferencias estadísticamente significativas en cuanto a las cifras de hemoglobina glicosilada, con valores más elevados en el grupo de los pacientes mayores de 55 años. Por otro lado, observamos que las cifras de plaquetas son significativamente inferiores en el grupo de pacientes mayores de 55 años.

Bioquímica	Mediana edad	Media	DS	P valor
AST (U/L)	≤ 55	38,25	17,74	0,676
	> 55	36,15	22,25	
ALT (U/L)	≤ 55	53,00	30,98	0,724
	> 55	49,84	39,90	
GGT (U/L)	≤ 55	85,31	69,70	0,164
	> 55	116,12	102,91	
Fosfatasa Alcalina (U/L)	≤ 55	79,78	22,28	0,250
	> 55	90,57	47,78	

**Tabla 32.** Estudio de las variables analíticas en función de la edad (I). AST: aspartato aminotransferasa; ALT: alanina aminotransferasa; GGT gamma-glutamil transferasa.

## Resultados

Bioquímica	Mediana edad	Media	DS	P valor
<b>Bilirrubina (mg/dL)</b>	≤ 55	0,54	0,28	0,322
	> 55	0,66	0,46	
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	≤ 55	0,80	0,22	0,181
	> 55	0,87	0,24	
<b>Albúmina (g/dL)</b>	≤ 55	4,79	0,73	0,143
	> 55	4,58	0,29	
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	≤ 55	101,65	17,29	0,196
	> 55	110,30	33,32	
<b>Hb glicosilada (%)</b>	≤ 55	5,70	0,64	<b>0,015</b>
	> 55	6,40	1,33	
<b>Insulina (mg/dL)</b>	≤ 55	22,84	13,68	0,747
	> 55	21,64	13,57	
<b>HOMA</b>	≤ 55	5,90	3,82	0,813
	> 55	6,17	4,70	
<b>Colesterol total (mg/dL)</b>	≤ 55	189,21	35,79	0,603
	> 55	194,51	45,23	
<b>HDL (mg/dL)</b>	≤ 55	48,90	12,53	0,330
	> 55	52,12	13,79	
<b>LDL (mg/dL)</b>	≤ 55	106,93	31,98	0,792
	> 55	109,21	37,17	
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	≤ 55	168,93	78,69	0,654
	> 55	160,36	74,70	
<b>Plaquetas (U/L)</b>	≤ 55	266,28	73,85	<b>0,014</b>
	> 55	222,24	66,75	
<b>Ferritina (ng/mL)</b>	≤ 55	146,53	182,32	0,294
	> 55	201,81	219,41	

*Tabla 33. Estudio de las variables analíticas en función de la edad (II). AST: Hb: hemoglobina; HOMA: homeostasis model assessment (índice resistencia insulina); LDL: lipoproteínas de baja densidad; HDL: lipoproteínas de alta densidad; PCR: proteína C reactiva.*

## Resultados

Con respecto al sexo (Tablas 34 y 35), en el estudio del perfil hepático se observan diferencias estadísticamente significativas en la comparación entre ambos grupos en relación con la fosfatasa alcalina, que presenta niveles más elevados en mujeres, al contrario que la bilirrubina que es más alta en hombres, aunque las cifras se encuentran dentro del rango de la normalidad. Los niveles de creatinina se encuentran más elevados en el grupo de los hombres, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. Además, en el análisis del perfil lipídico, se observa que las cifras de colesterol y su fracción HDL son significativamente más altas en el grupo de mujeres. Y en cuanto al hemograma, las plaquetas son significativamente más bajas en los hombres.

Bioquímica	Sexo	Media	DS	P valor
AST (U/L)	Hombre	35,77	23,50	0,611
	Mujer	38,40	16,75	
ALT (U/L)	Hombre	53,13	42,32	0,727
	Mujer	49,91	29,08	
GGT (U/L)	Hombre	95,93	75,80	0,677
	Mujer	105,25	99,53	
Fosfatasa Alcalina (U/L)	Hombre	70,10	19,59	0,002
	Mujer	98,25	44,20	
Bilirrubina (mg/dL)	Hombre	0,72	0,46	0,011
	Mujer	0,48	0,25	
Creatinina (mg/dL)	Hombre	0,98	0,23	<0,001
	Mujer	0,72	0,15	

**Tabla 34.** Estudio de las variables analíticas en función del sexo (I). AST: aspartato aminotransferasa; ALT: alanina aminotransferasa; GGT: gamma-glutamil transferasa.

## Resultados

Bioquímica	Sexo	Media	DS	P valor
Albúmina (g/dL)	Hombre	4,75	0,53	0,358
	Mujer	4,62	0,58	
Glucosa (mg/dL)	Hombre	108,30	26,14	0,535
	Mujer	104,11	27,61	
Hb glicosilada (%)	Hombre	5,94	0,80	0,468
	Mujer	6,15	1,13	
Insulina (mg/dL)	Hombre	22,79	10,52	0,535
	Mujer	21,78	15,98	
HOMA	Hombre	6,49	4,12	0,458
	Mujer	5,63	4,36	
Colesterol total (mg/dL)	Hombre	176,60	32,29	0,004
	Mujer	205,02	42,82	
HDL (mg/dL)	Hombre	46,30	9,05	0,015
	Mujer	54,17	15,10	
LDL (mg/dL)	Hombre	100,74	28,87	0,112
	Mujer	114,40	37,89	
Triglicéridos (mg/dL)	Hombre	151,00	61,20	0,185
	Mujer	176,22	6,22	
Plaquetas (U/L)	Hombre	204,83	60,59	<0,0001
	Mujer	277,42	66,77	
Ferritina (ng/mL)	Hombre	222,98	253,55	0,089
	Mujer	134,26	134,94	

*Tabla 35. Estudio de las variables analíticas en función del sexo (II). Hb: hemoglobina; HOMA: homeostasis model assesement (índice resistencia insulina); LDL: lipoproteínas de baja densidad; HDL: lipoproteínas de alta densidad.*

## **6.2.6. Estudio de los métodos no invasivos de diagnóstico de EHmet en función de edad y sexo**

### **6.2.6.1. Métodos físicos**

No se aprecian diferencias significativas en cuanto a la presencia de fibrosis avanzada valorada mediante **Fibroscan®**, en función del sexo y la mediana de edad.

Tampoco se observan diferencias significativas en cuanto a la presencia de fibrosis avanzada evaluada mediante **ARFI**, en función del sexo y la mediana de edad.

### **6.2.6.2. Índices no invasivos séricos para valorar la esteatosis**

Respecto al **índice HSI**, encontramos que los menores de 55 años presentan mayor frecuencia de esteatosis, comparados con los mayores de 55 años, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. Sin embargo, no se observan diferencias en cuanto al sexo.

## Resultados

<b>P valor=0,05</b>		<b>HSI</b>		<b>Total</b>
		No esteatosis	Esteatosis	
Edad 55	≤55	1 (3,1%)	31 (96,9%)	32
	>55	6 (18,2%)	27 (81,8%)	33
<b>Total</b>		<b>7</b>	<b>58</b>	<b>65</b>

*Tabla 36. Estudio del índice HSI de esteatosis en función de la edad. HSI: Hepatic Steatosis Index.*

No se observan diferencias significativas en las puntuaciones del **índice FLI** en los grupos de edad y sexo.

En cuanto al **índice LAP**, los hombres presentan significativamente mayor porcentaje de esteatosis grave respecto a las mujeres. No se observan diferencias significativas según la mediana de edad.

<b>P valor=0,024</b>		<b>LAP</b>		<b>Total</b>
		No esteatosis	Esteatosis grave	
Sexo	Hombre	8 (26,6%)	22 (73,4%)	30
	Mujer	19 (54,3%)	16 (45,7%)	35
<b>Total</b>		<b>27</b>	<b>38</b>	<b>65</b>

*Tabla 37. Estudio del índice LAP en función del sexo. LAP: Liver Accumulation Product*

### 6.2.6.3. Índices no invasivos séricos para valorar la fibrosis

Observamos que los mayores de 55 años presentan con mayor frecuencia resultados correspondientes con fibrosis avanzada mediante el **índice HFS** con respecto al grupo de pacientes menores de 55 años, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. Por el contrario, no se observan diferencias estadísticamente significativas respecto al sexo.

<b>P valor=0,001</b>		<b>HFS</b>		<b>Total</b>
		No fibrosis	Fibrosis avanzada	
Edad 55	≤55	22 (78,6%)	6 (21,4%)	28
	>55	9 (33,3%)	18 (66,7%)	27
<b>Total</b>		<b>31</b>	<b>24</b>	<b>55</b>

**Tabla 38.** Estudio del índice HFS en función de la edad. HFS: Hepamet Fibrosis Score.

Los hombres obtienen con mayor frecuencia resultados correspondientes con fibrosis avanzada respecto a las mujeres en el **índice NAFLD-FS**, sin encontrar diferencias respecto a la edad.

Resultados

		NAFLD-FS		Total
		No fibrosis	Fibrosis avanzada	
<b>P valor=0,045</b>				
Sexo	Hombre	11 (36,7%)	19 (63,3%)	30
	Mujer	21 (61,8%)	13 (38,2%)	34
Total		32	22	64

*Tabla 39. Estudio del índice NAFLD-FS en función del sexo. NAFLD-FS: NAFLD Fibrosis Score*

En cuanto al **índice FIB-4**, los hombres presentan significativamente mayor frecuencia de fibrosis avanzada respecto a las mujeres.

		FIB-4		Total
		No fibrosis	Fibrosis avanzada	
<b>P valor=0,001</b>				
Sexo	Hombre	12 (40%)	18 (60%)	30
	Mujer	28 (80%)	7 (20%)	35
Total		40	25	65

*Tabla 40. Estudio del índice FIB-4 en función del sexo. FIB-4: índice de fibrosis 4.*

Observamos que los pacientes mayores de 55 años también muestran mayor frecuencia de fibrosis avanzada con el **índice FIB-4** respecto a los menores de 55 años.

P valor=0,000		FIB-4		Total
		No fibrosis	Fibrosis avanzada	
Edad 55	≤55	28 (87,5%)	4 (12,5%)	32
	>55	12 (36,4%)	21 (63,6%)	33
Total		<b>40</b>	<b>25</b>	<b>65</b>

*Tabla 41. Estudio del índice FIB-4 en función de la edad. FIB-4: índice de fibrosis 4*

Al aplicar la **combinación de los tres índices de fibrosis** no se encuentran diferencias significativas en los grupos de edad y sexo en cuanto a la presencia de fibrosis avanzada.

### **6.2.7. Estudio de los parámetros histológicos en función de edad y sexo**

No se observan diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en el estudio de esteatosis, balonización, inflamación lobulillar, ni fibrosis en función de la edad y el sexo.

### 6.3. Análisis de las diferentes variables estudiadas en función de los factores de riesgo cardiovascular

#### 6.3.1. Hipertensión arterial

##### 6.3.1.1. Estudio de los hábitos de vida en función de la presencia de HTA

Se observa que los pacientes con HTA consumen alcohol con mayor frecuencia (<20 g/día las mujeres y <30 g/día los hombres) respecto a los pacientes no hipertensos, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

P valor=0,016		Consumo de alcohol (<20/30 gr día)		Total
		no	si	
HTA	no	33 (97,1%)	1 (2,9%)	34
	si	24 (77,4%)	7 (22,6%)	31
Total		<b>57</b>	<b>8</b>	<b>65</b>

*Tabla 42. Estudio de del consumo de alcohol en el grupo de pacientes con HTA. HTA: hipertensión arterial.*

No se observan diferencias significativas en el grupo de pacientes hipertensos, en cuanto al hábito tabáquico, toma de café, o consumo de bebidas carbonatadas.

### 6.3.1.2. Estudio de la adherencia a la dieta mediterránea en función de la presencia de HTA

No se observa una relación significativa entre la HTA y la dieta mediterránea.

### 6.3.1.3. Estudio de los factores de riesgo cardiovascular en función de la presencia de HTA

La presencia de HTA se asocia significativamente con la DM-2.

P valor=0,003		DM-2		Total
		no	si	
HTA	no	30 (88,2%)	4 (11,8%)	34
	si	17 (54,8%)	14 (45,2%)	31
Total		47	181	65

*Tabla 43. Asociación entre la HTA y DM-2. HTA: hipertensión arterial DM-2: diabetes mellitus tipo 2.*

Además, la presencia de HTA se asocia significativamente con una mayor frecuencia de **síndrome metabólico**.

P valor=0,000		Síndrome metabólico		Total
		no	si	
HTA	no	23 (67,6%)	11 (32,4%)	34
	si	7 (22,6%)	24 (77,4%)	31
Total		<b>30</b>	<b>35</b>	<b>65</b>

*Tabla 44. Asociación entre la HTA y el síndrome metabólico. HTA: hipertensión arterial.*

Por el contrario, no se observa una asociación significativa entre la presencia de **dislipemia u obesidad** y la HTA.

Tampoco se observan diferencias significativas en cuanto a la presencia de hiperuricemia, antecedente de eventos cardiovasculares, o enfermedad tiroidea.

#### **6.3.1.4. Estudio de las variables antropométricas en función de la presencia de HTA**

Se observa que los pacientes hipertensos presentan un **índice cintura-cadera (ICC)** significativamente superior.

## Resultados

	HTA	Media	DS	P valor
ICC	no	0,94	0,12	0,029
	si	1,00	0,12	

*Tabla 45. Estudio del ICC en función de la HTA. ICC: índice cintura-cadera; HTA: hipertensión arterial.*

### 6.3.1.5. Estudio de las variables analíticas en función de la presencia de HTA

Como se aprecia en las siguientes tablas, los pacientes con HTA presentan niveles significativamente superiores de glucosa, Hb glicosilada e índice HOMA. Además, también se aprecian diferencias en cuanto al metabolismo lipídico, con niveles significativamente inferiores de colesterol HDL en el grupo de pacientes con HTA.

Bioquímica	HTA	Media	DS	P valor
AST (U/L)	No	36,94	21,40	0,919
	Si	37,45	18,76	
ALT (U/L)	No	52,97	39,73	0,712
	Si	49,67	30,87	
GGT (U/L)	No	84,61	89,74	0,121
	Si	118,87	85,65	
Fosfatasa Alcalina (U/L)	No	81,61	24,23	0,417
	Si	89,25	48,31	

**Tabla 46.** Estudio de las variables analíticas en función de la HTA (I). AST: aspartato aminotransferasa; ALT: alanina aminotransferasa; GGT: gamma-glutamyl transferasa, Hb: hemoglobina; HOMA: homeostasis model assement (índice resistencia insulina).

## Resultados

Bioquímica	HTA	Media	DS	P valor
<b>Bilirrubina (mg/dL)</b>	No	0,58	0,24	0,773
	Si	0,61	0,50	
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	No	0,80	0,19	0,188
	Si	0,88	0,27	
<b>Albúmina (g/dL)</b>	No	4,73	0,55	0,476
	Si	4,63	0,56	
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	No	96,97	15,34	0,003
	Si	116,00	32,86	
<b>Hb glicosilada (%)</b>	No	5,61	0,53	0,001
	Si	6,50	1,32	
<b>Insulina (mg/dL)</b>	No	19,00	12,89	0,080
	Si	25,40	13,67	
<b>HOMA</b>	No	4,64	3,05	0,015
	Si	7,37	4,81	
<b>Colesterol total (mg/dL)</b>	No	204,14	42,02	0,010
	Si	178,48	34,97	
<b>HDL (mg/dL)</b>	No	53,73	13,21	0,040
	Si	47,03	12,43	
<b>LDL (mg/dL)</b>	No	119,20	36,67	0,060
	Si	95,91	27,59	
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	No	151,88	67,47	0,161
	Si	178,51	83,66	
<b>Plaquetas (U/L)</b>	No	247,88	77,53	0,652
	Si	239,58	69,21	
<b>Ferritina (ng/mL)</b>	No	206,02	260,56	0,268
	Si	147,81	124,34	

*Tabla 47. Estudio de las variables analíticas en función de la HTA (II). LDL: lipoproteínas de baja densidad; HDL: lipoproteínas de alta densidad.*

### 6.3.1.6. Estudio de los métodos no invasivos de diagnóstico de EHmet en función de la presencia de HTA.

#### Métodos físicos

No se aprecian diferencias significativas en cuanto a la presencia de fibrosis avanzada en Fibroscan® ni en ARFI en función de la presencia de HTA

#### Índices no invasivos séricos de esteatosis

Los pacientes con hipertensión presentan con mayor frecuencia esteatosis grave en el **índice LAP**.

		LAP		Total
		No esteatosis	Esteatosis grave	
<b>P valor=0,048</b>				
HTA	no	18 (52,9%)	16 (47,1%)	34
	si	9 (29,1%)	22 (70,9%)	31
<b>Total</b>		<b>27</b>	<b>38</b>	<b>65</b>

*Tabla 48. Estudio del índice LAP en función de la HTA. HTA: hipertensión arterial; LAP: Liver Accumulation Product.*

No se observan diferencias significativas entre la HTA y la presencia de esteatosis en el **índice HSI o FLI**.

### Índices no invasivos séricos de fibrosis

Los pacientes hipertensos presentan con mayor frecuencia resultados correspondientes con fibrosis avanzada en el **índice HFS**, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

		HFS		Total
		No fibrosis	Fibrosis avanzada	
HTA	no	21 (77,8%)	6 (22,2%)	27
	si	10 (35,7%)	18 (64,3%)	28
<b>Total</b>		<b>31</b>	<b>24</b>	<b>55</b>

*Tabla 49. Estudio del índice HFS en función de la HTA. HTA: hipertensión arterial; HFS: Hepamet Fibrosis Score*

Los pacientes con HTA muestran significativamente mayor frecuencia de fibrosis avanzada en el **índice NAFLD-FS**.

P valor=0,024		NALFD-FS		Total
		No fibrosis	Fibrosis avanzada	
HTA	no	21 (63,6%)	12 (36,4%)	33
	si	11 (35,5%)	20 (64,5%)	31
Total		<b>32</b>	<b>32</b>	<b>64</b>

*Tabla 50. Estudio del índice NAFLD-FS en función de la HTA. HTA: hipertensión arterial; NAFLD-FS: NAFLD Fibrosis Score.*

Por el contrario, no se observan diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la presencia de hipertensión arterial y una puntuación correspondiente con fibrosis avanzada en el **índice FIB-4**.

#### **6.3.1.7. Estudio de los parámetros histológicos en función de la presencia de HTA**

No se observan diferencias estadísticamente significativas en los pacientes con hipertensión arterial en el estudio del SAF score, esteatosis, balonización, inflamación lobulillar, ni fibrosis.

## **6.3.2. Diabetes Mellitus tipo 2 (DM-2)**

### **6.3.2.1. Estudio de los hábitos de vida en función de la presencia de DM-2**

No se observan diferencias significativas en el grupo de pacientes diabéticos, en cuanto a la toma de alcohol (<20 g/día las mujeres y <30 g/día los hombres), hábito tabáquico, toma de café, o consumo de bebidas carbonatadas.

### **6.3.2.2. Estudio de la adherencia a la dieta mediterránea en función de la presencia de DM-2**

No se aprecian diferencias respecto al patrón de dieta mediterráneo en cuanto a presencia o no de diabetes.

### **6.3.2.3. Estudio de los factores de riesgo cardiovascular en función de la presencia de DM-2**

Los pacientes con **hipertensión arterial** muestran una asociación significativa con la presencia de DM-2, expuesto previamente (tabla 43).

En la siguiente tabla se aprecia la relación significativa entre la presencia de **síndrome metabólico** y la DM-2.

Resultados

P valor=0,003		Síndrome metabólico		Total
		no	si	
DM-2	no	27 (57,4%)	20 (42,6%)	47
	si	3 (16,7%)	15 (83,3%)	18
Total		<b>30</b>	<b>35</b>	<b>65</b>

*Tabla 51. Estudio de asociación de Síndrome metabólico con DM-2. DM-2: diabetes mellitus tipo 2*

No se objetivan diferencias significativas entre la diabetes y la presencia de dislipemia, obesidad, enfermedad tiroidea ni eventos cardiovasculares.

**6.3.2.4. Estudio de las variables antropométricas en función de la presencia de DM-2**

No se observan diferencias estadísticamente significativas al comparar los resultados del índice cintura cadera en los pacientes con DM-2.

**6.3.2.5. Estudio de las variables analíticas: en función de la presencia de DM-2**

En el grupo de pacientes diabéticos se observa que las cifras de glucosa en ayunas, Hb glicosilada e índice HOMA son significativamente superiores al grupo de pacientes no diabéticos. Además, el colesterol HDL es inferior y las cifras de triglicéridos

## Resultados

son superiores en el grupo de pacientes diabéticos, con diferencias estadísticamente significativas.

Bioquímica	DM-2	Media	DS	P valor
AST (U/L)	No	37,34	20,62	0,920
	Si	36,77	18,94	
ALT (U/L)	No	52,40	37,54	0,716
	Si	48,77	30,83	
GGT (U/L)	No	96,93	90,46	0,560
	Si	111,44	85,98	
Fosfatasa Alcalina (U/L)	No	86,65	41,72	0,632
	Si	81,61	24,20	
Bilirrubina (mg/dL)	No	0,62	0,41	0,316
	Si	0,51	0,25	
Creatinina (mg/dL)	No	0,81	0,22	0,106
	Si	0,91	0,26	
Albúmina (g/dL)	No	4,74	0,62	0,187
	Si	4,53	0,33	
Glucosa (mg/dL)	No	98,19	12,17	<b>0,000</b>
	Si	126,55	41,11	
Hb glicosilada (%)	No	5,64	0,49	<b>0,000</b>
	Si	7,01	1,47	
Insulina (mg/dL)	No	20,14	13,23	0,084
	Si	26,99	13,48	
HOMA	No	4,92	3,13	<b>0,003</b>
	Si	8,52	5,32	

*Tabla 52. Estudio de variables analíticas en función de la presencia de DM-2 (I). DM-2: diabetes mellitus tipo 2; AST: aspartato aminotransferasa; ALT: alanina aminotransferasa; GGT gamma-glutamyl transferasa.*

## Resultados

Bioquímica	DM-2	Media	DS	P valor
Colesterol total (mg/dL)	No	196,42	41,36	0,149
	Si	180,11	37,17	
HDL (mg/dL)	No	53,00	13,70	<b>0,014</b>
	Si	44,11	9,26	
LDL (mg/dL)	No	112,50	34,61	0,096
	Si	96,57	32,17	
Triglicéridos (mg/dL)	No	152,34	73,87	<b>0,035</b>
	Si	196,55	74,85	
Plaquetas (U/L)	No	244,31	73,46	0,944
	Si	242,88	74,72	
Ferritina (ng/mL)	No	184,36	228,05	0,642
	Si	157,51	130,79	

*Tabla 53. Estudio de variables analíticas en función de la presencia de DM-2 (II). DM-2: diabetes mellitus tipo 2; Hb: hemoglobina.; HOMA: homeostasis model assesement (índice resistencia insulina); LDL: lipoproteínas de baja densidad; HDL: lipoproteínas de alta densidad.*

### 6.3.2.6. Estudio de los métodos no invasivos de diagnóstico de EHmet en función de la presencia de DM-2.

#### Métodos físicos

La mayoría de los pacientes no diabéticos presentan un **Fibroscan®** < 9,7 kPa (95%), siendo esta diferencia estadísticamente significativa, mientras que en los diabéticos el 35,8% presenta fibrosis significativa en el **Fibroscan®**.

## Resultados

P valor=0,003		Fibrosis avanzada (Fibroscan®)		Total
		no	si	
DM-2	no	38 (95%)	2 (5%)	40
	si	9 (64,2%)	5 (35,8%)	14
Total		<b>47</b>	<b>7</b>	<b>54</b>

*Tabla 54. Estudio del Fibroscan® en relación con la presencia de DM-2. DM-2: diabetes mellitus tipo 2*

Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en relación a resultados compatibles con fibrosis avanzada en el ARFI.

### Índices no invasivos séricos de esteatosis

Los pacientes con DM-2 presentan significativamente mayor frecuencia de esteatosis severa en el **índice LAP** al compararlo con el grupo de pacientes no diabéticos.

P valor=0,002		LAP		Total
		No esteatosis	Esteatosis grave	
DM-2	no	25 (53,2%)	22 (46,8%)	47
	si	2 (11,1%)	16 (88,9%)	18
Total		<b>27</b>	<b>38</b>	<b>65</b>

*Tabla 55. Estudio del índice LAP de fibrosis en función de la presencia de DM-2. DM-2: diabetes mellitus tipo 2; LAP: Liver Accumulation Product*

No se observan diferencias significativas entre la diabetes mellitus y la presencia de esteatosis en el **índice HSI o FLI**.

### Índices no invasivos séricos de fibrosis

En cuanto al **índice HFS** los pacientes diabéticos muestran con mayor frecuencia resultados correspondientes con fibrosis avanzada, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

		HFS		Total
		No fibrosis	Fibrosis avanzada	
<b>P valor=0,007</b>				
DM-2	no	26 (68,4%)	12 (31,6%)	38
	si	5 (29,4%)	12 (70,6%)	17
<b>Total</b>		<b>31</b>	<b>24</b>	<b>55</b>

**Tabla 56.** Estudio del índice HFS en función de la presencia de DM-2. DM-2: diabetes mellitus tipo 2; HFS: Hepamet Fibrosis Score.

También se observa mayor frecuencia de fibrosis avanzada en el **índice NAFLD-FS** en el grupo de pacientes con DM-2, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

P valor=0,000		NAFLD-FS		Total
		No fibrosis	Fibrosis avanzada	
DM-2	0	31 (67,4%)	15 (32,6%)	46
	1	1 (5,6%)	17 (94,4%)	18
Total		32	32	64

*Tabla 57. Estudio del índice NAFLD-FS en función de la presencia de DM-2. DM-2: diabetes mellitus tipo 2; NAFLD-FS: NAFLD Fibrosis Score.*

Por el contrario, no se observan diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la presencia de DM-2 y una puntuación correspondiente con fibrosis avanzada en el **índice FIB-4** ni en la **combinación de los tres índices de fibrosis**.

### 6.3.2.7. Estudio de los parámetros histológicos en función de la presencia de DM-2

Como se puede apreciar en la siguiente tabla, aunque no se encuentran diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la histología hepática de los pacientes con y sin DM-2, observamos que 77,7% de los pacientes diabéticos presenta fibrosis en la biopsia hepática (22,2% fibrosis avanzada).

P valor=0,174		FIBROSIS		Total
		No fibrosis	Fibrosis avanzada	
DM-2	0	8 (50%)	8 (50%)	16
	1	2 (22,2%)	7 (77,7%)	9
<b>Total</b>		<b>10</b>	<b>15</b>	<b>25</b>

*Tabla 58. Estudio de la presencia de Fibrosis en la biopsia hepática en función de la presencia de DM-2. DM-2: diabetes mellitus tipo 2.*

### 6.3.3. Dislipemia aterogénica (DL aterogénica)

Se analizó la presencia de dislipemia aterogénica como factor de riesgo CV, definida por la presencia de TG>150 y HDL<40.

#### 6.3.3.1. Estudio de los hábitos de vida en función de la presencia de DL aterogénica

Los pacientes no fumadores muestran significativamente menor frecuencia de DL aterogénica, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

Resultados

P valor=0,030		Fumador		Total
		No	Si	
DL aterogénica	no	48 (90,5%)	5 (9,5%)	53
	si	8 (66,6%)	4 (33,4%)	12
Total		<b>56</b>	<b>9</b>	<b>65</b>

*Tabla 59. Estudio del hábito tabáquico en función de la presencia de DL aterogénica. DL: dislipemia*

No se observan diferencias significativas en cuanto a ingesta de alcohol, toma de café, o consumo de bebidas carbonatadas en ambos grupos.

**6.3.3.2. Estudio de adherencia a la dieta mediterránea en función de la presencia de DL aterogénica**

No se observan diferencias respecto al patrón de dieta mediterráneo en cuanto a la presencia de DL aterogénica.

**6.3.3.3. Estudio de los factores de riesgo cardiovascular en función de la presencia de DL aterogénica.**

Los pacientes con DL aterogénica presentan con mayor frecuencia **síndrome metabólico**, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

P valor=0,004		Síndrome metabólico		Total
		no	si	
DL aterogénica	no	29 (54,7%)	24 (45,4%)	53
	si	1 (8,3%)	11 (91,66%)	12
Total		<b>30</b>	<b>35</b>	<b>65</b>

**Tabla 60.** Estudio de la asociación de la DL aterogénica y el síndrome metabólico. DL: dislipemia.

Por el contrario, no se objetivan diferencias significativas entre la DL aterogénica y la presencia de diabetes, HTA, obesidad, enfermedad tiroidea ni eventos cardiovasculares.

#### 6.3.3.4. Estudio de las variables antropométricas en función de la presencia de DL aterogénica

No se observaron diferencias significativas entre el **índice cintura-cadera** y la presencia de DL aterogénica.

#### 6.3.3.5. Estudio de las variables analíticas en función de la presencia de DL aterogénica

En cuanto a los parámetros analíticos se observa, como cabía esperar, cifras de colesterol HDL significativamente inferiores en los pacientes dislipémicos y las cifras de

## Resultados

triglicéridos significativamente superiores en este grupo de pacientes. No se observan diferencias en el resto de los parámetros.

Bioquímica	Dislipemia	Media	DS	P valor
AST (U/L)	No	3,22	21,53	0,972
	Si	37,00	11,91	
ALT (U/L)	No	51,83	38,64	0,839
	Si	49,50	17,00	
GGT (U/L)	No	104,66	90,54	0,484
	Si	84,58	82,40	
Fosfatasa Alcalina (U/L)	No	87,77	39,57	0,261
	Si	74,16	25,42	
Bilirrubina (mg/dL)	No	0,61	0,40	0,401
	Si	0,51	0,23	
Creatinina (mg/dL)	No	0,84	0,24	0,810
	Si	0,83	0,25	
Albúmina (g/dL)	No	4,71	0,60	0,350
	Si	4,55	0,27	
Glucosa (mg/dL)	No	106,32	28,68	0,864
	Si	104,83	17,09	
Hb glicosilada (%)	No	5,95	1,01	0,172
	Si	6,45	1,33	
Insulina (mg/dL)	No	20,86	13,13	0,085
	Si	29,39	14,24	
HOMA	No	5,60	3,93	0,090
	Si	8,23	5,28	

**Tabla 61.** Estudio de las variables analíticas en función de la presencia de DL aterogénica (I).

AST: aspartato aminotransferasa; ALT: alanina aminotransferasa; GGT gamma-glutamil transferasa, Hb: hemoglobina; HOMA: homeostasis model assesement (índice resistencia insulina).

## Resultados

Bioquímica	Dislipemia	Media	DS	P valor
Colesterol total (mg/dL)	No	193,45	39,51	0,524
	Si	185,08	46,50	
HDL (mg/dL)	No	54,07	11,86	<b>&lt;0,001</b>
	Si	34,91	4,50	
LDL (mg/dL)	No	110,16	31,77	0,312
	Si	98,95	45,01	
Triglicéridos (mg/dL)	No	144,15	64,32	<b>&lt;0,001</b>
	Si	254,83	57,75	
Plaquetas (U/L)	No	237,01	73,13	0,111
	Si	274,41	68,36	
Ferritina (ng/mL)	No	172,94	202,76	0,778
	Si	192,32	115,97	
Ácido úrico	No	5,49	2,01	0,982
	Si	5,51	1,99	

*Tabla 62 Estudio de las variables analíticas en función de la presencia de DL aterogénica (II).*

*LDL: lipoproteínas de baja densidad; HDL: lipoproteínas de alta densidad.*

### **6.3.3.6. Estudio de los métodos no invasivos de diagnóstico de EHmet en función de la presencia de dislipemia aterogénica.**

#### **Físicos**

No se aprecian diferencias significativas en ambos grupos en cuanto a la presencia de fibrosis avanzada en **Fibroscan®** o **ARFI**.

**Índices no invasivos séricos de esteatosis**

Los pacientes con DL aterogénica presentan mayor frecuencia de esteatosis severa en el **índice LAP** con respecto al grupo de pacientes sin dislipemia, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

<b>P valor=0,010</b>		<b>LAP</b>		<b>Total</b>
		No esteatosis	Esteatosis	
DL aterogénica	no	26 (49,1%)	27 (50,9%)	53
	si	1 (8,3%)	11 (91,7%)	12
<b>Total</b>		<b>27</b>	<b>38</b>	<b>65</b>

*Tabla 63. Estudio del índice LAP en función de la DL aterogénica. DL: dislipemia; LAP: Liver Accumulation Product.*

Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en ambos grupos respecto a los resultados del índice **HSI** ni **FLI** de esteatosis.

**Índices no invasivos séricos de esteatosis**

No se aprecian diferencias en cuanto a la presencia de dislipemia y los resultados de los índices no invasivos de fibrosis **HFS**, **FIB-4** y **NAFLD-FS**.

**6.3.3.7. Estudio de los parámetros histológicos en función de la presencia de DL aterogénica.**

No se observan diferencias estadísticamente significativas en los pacientes con DL aterogénica en el estudio de esteatosis significativa, SAF score, balonización, inflamación lobulillar, ni fibrosis de la biopsia hepática.

**6.3.4. Síndrome metabólico (SM)**

**6.3.4.1. Estudio de los hábitos de vida en función de la presencia de SM.**

No se observan diferencias significativas en cuanto a la toma de alcohol hábito tabáquico, toma de café, o consumo de bebidas carbonatadas en los pacientes con síndrome metabólico.

**6.3.4.2. Estudio de la adherencia a la dieta mediterránea en función de la presencia de SM.**

No se aprecian diferencias respecto al patrón de dieta mediterráneo en cuanto a la presencia de síndrome metabólico.

### 6.3.4.3. Factores de riesgo cardiovascular

Como se ha expuesto anteriormente, el grupo de pacientes con síndrome metabólico presenta de forma significativa mayor frecuencia de **DM-2**, **HTA** y **DL aterogénica** (Tablas 43, 51 y 60).

Además, los pacientes con síndrome metabólico muestran una asociación estadísticamente significativa con la **obesidad**.

<b>P valor=0,023</b>		<b>Obesidad (IMC&gt;30)</b>		<b>Total</b>
		no	si	
<b>Síndrome metabólico</b>	no	16 (53,3%)	14 (46,7%)	30
	si	9 (25,7%)	26 (74,3%)	35
<b>Total</b>		<b>25</b>	<b>40</b>	<b>65</b>

*Tabla 64. Estudio de asociación de SM con la presencia de obesidad. IMC: índice de masa corporal.*

Por el contrario, no se observan diferencias significativas en cuanto a la presencia de eventos cardiovasculares, o enfermedad tiroidea.

#### 6.3.4.4. Estudio de las variables analíticas en función de la presencia de SM.

En el análisis de los parámetros analíticos se observa que los pacientes con síndrome metabólico presentan cifras significativamente más altas de glucosa, Hb glicosilada, HOMA y triglicéridos. También se evidencia que presentan cifras significativamente inferiores HDL.

Bioquímica	Síndrome metabólico	Media	DS	P valor
AST (U/L)	No	33,76	21,25	0,205
	Si	40,11	18,73	
ALT (U/L)	No	48,96	41,89	0,613
	Si	53,48	29,53	
GGT (U/L)	No	78,63	58,11	0,060
	Si	120,08	105,61	
Fosfatasa Alcalina (U/L)	No	82,73	25,12	0,610
	Si	87,42	45,92	
Bilirrubina (mg/dL)	No	0,69	0,49	0,054
	Si	5,11	23,19	
Creatinina (mg/dL)	No	0,85	0,22	0,755
	Si	0,83	0,24	
Albúmina (g/dL)	No	4,60	0,33	0,259
	Si	4,76	0,69	

*Tabla 65. Estudio de las variables analíticas en función de la presencia de síndrome metabólico*

(I). AST: aspartato aminotransferasa; ALT: alanina aminotransferasa; GGT gamma-glutamil transferasa.

## Resultados

Bioquímica	Síndrome metabólico	Media	DS	P valor
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	No	93,66	10,56	<b>&lt;0,0001</b>
	Si	116,65	31,74	
<b>Hb glicosilada (%)</b>	No	5,62	0,50	<b>0,008</b>
	Si	6,38	1,29	
<b>Insulina (mg/dL)</b>	No	18,31	12,33	0,057
	Si	25,31	13,87	
<b>HOMA</b>	No	4,24	2,85	<b>0,005</b>
	Si	7,42	4,64	
<b>Colesterol total (mg/dL)</b>	No	193,43	39,96	0,782
	Si	190,60	41,73	
<b>HDL (mg/dL)</b>	No	58,00	11,95	<b>&lt;0,0001</b>
	Si	44,14	10,69	
<b>LDL (mg/dL)</b>	No	109,07	107,25	0,834
	Si	107,25	35,90	
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	No	130,23	67,34	<b>&lt;0,0001</b>
	Si	194,02	71,62	
<b>Plaquetas (U/L)</b>	No	227,43	79,07	0,093
	Si	258,05	65,69	
<b>Ferritina (ng/mL)</b>	No	194,02	246,38	0,539
	Si	161,51	160,98	
<b>Ácido úrico</b>	No	5,04	1,88	0,086
	Si	5,91	2,02	

**Tabla 66.** Estudio de las variables analíticas en función de la presencia de síndrome metabólico (II). Hb: hemoglobina; HOMA: homeostasis model assessment (índice resistencia insulina); LDL: lipoproteínas de baja densidad; HDL: lipoproteínas de alta densidad.

### 6.3.4.5. Estudio de los métodos no invasivos de diagnóstico de EHmet en función de la presencia de síndrome metabólico

#### Métodos físicos

Los pacientes con SM presentan 7 veces más frecuencia de fibrosis significativa con respecto a los pacientes sin SM (21,4% vs 3,8%)

P valor=0,04		Fibroscan®		Total
		<9,7 kPa	>9,7 kPa	
Síndrome metabólico	no	25 (96,2%)	1 (3,8%)	26
	si	22 (78,6%)	6 (21,4%)	28
Total		47	7	54

*Tabla 67. Estudio del Fibroscan® en relación con la presencia de síndrome metabólico.*

Por el contrario, no se demostró asociación significativa entre la presencia de síndrome metabólico y un resultado en el **ARFI** compatible con fibrosis avanzada.

#### Índices no invasivos séricos de esteatosis

Los pacientes con síndrome metabólico presentan mayor frecuencia de puntuaciones compatibles con esteatosis grave en el **índice LAP** de esteatosis, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

## Resultados

		LAP		Total
		No esteatosis	Esteatosis grave	
<b>P valor=0,001</b>				
Síndrome metabólico	no	19 (63,3%)	11 (36,7%)	30
	si	8 (22,9%)	27 (77,1%)	35
<b>Total</b>		<b>27</b>	<b>38</b>	<b>65</b>

**Tabla 68.** Estudio del índice LAP en función de la presencia de síndrome metabólico. LAP: Liver Accumulation Product.

También se observan diferencias significativas en cuanto al **índice FLI** de esteatosis, evidenciándose que la totalidad de pacientes del grupo de síndrome metabólico presentan resultados correspondientes con esteatosis severa.

		FLI		Total
		No esteatosis	Esteatosis severa	
<b>P valor=0,005</b>				
Síndrome metabólico	no	6 (20%)	24 (80%)	30
	si	0 (0%)	35 (100%)	35
<b>Total</b>		<b>6</b>	<b>59</b>	<b>65</b>

**Tabla 69.** Estudio del índice FLI en función de la presencia de síndrome metabólico. FLI: fatty liver index.

Por el contrario, no se objetivaron diferencias en cuanto al **índice HSI** de esteatosis

### Índices no invasivos séricos de fibrosis

Los pacientes con síndrome metabólico presentan con mayor frecuencia fibrosis avanzada en el **índice HFS**, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

		HFS		Total
		No fibrosis	Fibrosis avanzada	
<b>P valor=0,04</b>				
Síndrome metabólico	no	17 (54,8 %)	7 (29,2%)	24
	si	14 (45,2%)	17 (70,8%)	31
<b>Total</b>		<b>31</b>	<b>24</b>	<b>55</b>

*Tabla 70. Estudio del índice HFS en función de la presencia de síndrome metabólico. HFS: Hepamet Fibrosis Score.*

Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar el síndrome metabólico con los índices **NAFLD-FS ni FIB-4**, ni en la **combinación de los tres índices de fibrosis**.

### 6.3.4.6. Estudio de los parámetros histológicos en función de la presencia de síndrome metabólico.

Se observa una mayor frecuencia de esteatosis severa en la biopsia hepática en el grupo de pacientes que presentan síndrome metabólico, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

<b>P valor=0,001</b>		<b>Esteatosis severa</b>		<b>Total</b>
		no	si	
<b>Síndrome metabólico</b>	no	10 (90,9%)	1 (9,1%)	11
	si	2 (18,2%)	9 (81,8%)	11
<b>Total</b>		<b>12</b>	<b>10</b>	<b>22</b>

*Tabla 71. Estudio de la esteatosis en la biopsia hepática en función de la presencia de síndrome metabólico.*

El 76,9% de los pacientes con SM presenta fibrosis en la histología hepática y EHNA el 61,6% de los pacientes con SM, sin embargo, no se alcanzó la significación estadística.

## Resultados

P valor=0,072		Fibrosis		Total
		no	si	
Síndrome metabólico	no	7 (58,3%)	5 (41,7%)	12
	si	3 (23,1%)	10 (76,9%)	13
Total		10	15	25

*Tabla 72. Estudio de la fibrosis en la histología hepática en función de la presencia de síndrome metabólico.*

P valor=0,320		EHNA		Total
		no	si	
Síndrome metabólico	no	7 (58,3%)	5 (41,7%)	12
	si	5 (38,4%)	8 (61,6%)	13
Total		12	13	25

*Tabla 73. Estudio de la fibrosis en la histología hepática en función de la presencia de síndrome metabólico.*

### 6.3.5. Obesidad

#### 6.3.5.1. Estudio de los hábitos de vida en función de la presencia de obesidad

No se observan diferencias significativas en el grupo de pacientes obesos, en cuanto a la toma de alcohol (<20 g/día las mujeres y <30 g/día los hombres), hábito

tabáquico, toma de café, o consumo de bebidas carbonatadas

**6.3.5.2. Estudio de la adherencia a la dieta mediterránea en función de la presencia de obesidad**

No se observan diferencias respecto al patrón de dieta mediterráneo en cuanto a la presencia de obesidad.

**6.3.5.3. Estudio de los factores de riesgo cardiovascular en función de la presencia de obesidad**

Los pacientes obesos presentan con mayor frecuencia asociación con el síndrome metabólico, siendo esta diferencia estadísticamente significativa, como se ha expuesto previamente (Tabla 64).

Sin embargo, no se observa una asociación significativa entre la obesidad y la presencia de DM-2, HTA ni dislipemia.

Tampoco se observan diferencias significativas en ambos grupos en cuanto a la presencia de eventos cardiovasculares, o enfermedad tiroidea.

#### 6.3.5.4. Estudio de las variables antropométricas en función de la presencia de obesidad

Se observa, que los pacientes obesos presentan un **índice cintura-cadera** significativamente superior, es decir, obesidad central.

	Obesidad	Media	DS	P valor
ICC	no	0,91	0,12	0,004
	si	1,00	0,10	

*Tabla 74. Estudio de del ICC en función de la presencia de obesidad. ICC: índice cintura cadera.*

#### 6.3.5.5. Estudio de las variables analíticas en función de la presencia de obesidad.

En el grupo de pacientes con obesidad se observan cifras significativamente más altas de glucosa, HOMA, así como niveles significativamente inferiores de HDL.

## Resultados

Bioquímica	Obesidad	Media	DS	P valor
AST (U/L)	No	35,84	16,76	0,672
	Si	38,02	21,98	
ALT (U/L)	No	52,92	31,60	0,788
	Si	50,45	38,16	
GGT (U/L)	No	94,80	76,20	0,662
	Si	104,80	96,61	
Fosfatasa Alcalina (U/L)	No	89,04	55,45	0,526
	Si	82,90	20,24	
Bilirrubina (mg/dL)	No	0,69	0,43	0,105
	Si	0,53	0,33	
Creatinina (mg/dL)	No	0,81	0,26	0,522
	Si	0,85	0,21	
Albúmina (g/dL)	No	4,68	0,30	1,000
	Si	4,68	0,67	
Glucosa (mg/dL)	No	97,76	15,32	<b>0,048</b>
	Si	111,22	31,05	
Hb glicosilada (%)	No	5,73	0,86	0,105
	Si	6,22	1,17	
Insulina (mg/dL)	No	17,84	15,02	0,068
	Si	24,78	12,17	
HOMA	No	4,39	3,51	<b>0,029</b>
	Si	6,97	4,37	

*Tabla 75. Estudio de las variables analíticas en función de la presencia de obesidad (I). AST: aspartato aminotransferasa; ALT: alanina aminotransferasa; GGT gamma-glutamyl transferasa, Hb: hemoglobina; HOMA: homeostasis model assesement (índice resistencia insulina).*

## Resultados

Bioquímica	Obesidad	Media	DS	P valor
<b>Colesterol total</b> (mg/dL)	No	196,72	44,02	0,455
	Si	188,90	38,63	
<b>HDL (mg/dL)</b>	No	56,28	15,30	<b>0,005</b>
	Si	46,95	10,34	
<b>LDL (mg/dL)</b>	No	109,94	36,79	0,735
	Si	106,94	33,34	
<b>Triglicéridos</b> (mg/dL)	No	148,76	63,88	0,188
	Si	174,47	82,20	
<b>Plaquetas</b> (U/L)	No	229,04	55,97	0,198
	Si	253,22	81,49	
<b>Ferritina</b> (ng/mL)	No	205,04	207,68	0,398
	Si	159,12	201,69	
<b>Ácido úrico</b>	No	4,99	1,80	0,105
	Si	5,83	2,06	

*Tabla 76. Estudio de las variables analíticas en función de la presencia de obesidad (II). LDL: lipoproteínas de baja densidad; HDL: lipoproteínas de alta densidad*

### 6.3.5.6. Estudio de los métodos no invasivos de diagnóstico de EHmet en función de la presencia de obesidad

#### Físicos

No se aprecian diferencias significativas en cuanto a la presencia de fibrosis avanzada en la elastografía de transición valorada mediante Fibroscan® en función de la presencia de obesidad.

Tampoco se observan diferencias significativas en cuanto a la obesidad y la presencia de fibrosis avanzada valorada por ARFI.

**Índices no invasivos séricos de esteatosis**

Los pacientes con obesidad presentan mayor frecuencia de puntuaciones compatibles con esteatosis grave en el **índice LAP** de esteatosis.

P valor=0,000		LAP		Total
		No esteatosis	Esteatosis	
Obesidad	no	18 (72%)	7 (28%)	25
	si	9 (22,5%)	31 (77,5%)	40
Total		<b>27</b>	<b>38</b>	<b>65</b>

*Tabla 77. Estudio del índice LAP en función de la presencia de obesidad. LAP: Liver Accumulation Product.*

También se observan diferencias significativas en el **índice FLI** de esteatosis, encontrándose la totalidad de los pacientes del grupo de obesidad con resultados correspondientes con esteatosis.

P valor=0,001		FLI		Total
		No esteatosis	Esteatosis	
Obesidad	no	6 (24%)	19 (76%)	25
	si	0 (0%)	40 (100%)	40
Total		<b>6</b>	<b>59</b>	<b>65</b>

*Tabla 78. Estudio del índice FLI en función de la presencia de obesidad. FLI: fatty liver index.*

Se observan diferencias significativas en cuanto al **índice HSI** de esteatosis, observándose que el 100% de los pacientes del grupo de obesidad presentan resultados correspondientes con esteatosis.

<b>P valor=0,000</b>		<b>HSI</b>		<b>Total</b>
		No esteatosis	Esteatosis	
Obesidad	no	7 (28%)	18 (72%)	25
	si	0 (0%)	40 (100%)	40
<b>Total</b>		<b>7</b>	<b>58</b>	<b>65</b>

*Tabla 79. Estudio del índice FLI en función de la presencia de obesidad. HSI: Hepatic Steatosis Index*

### Índices no invasivos séricos de fibrosis

Los pacientes obesos presentan con mayor frecuencia resultados correspondientes con fibrosis avanzada en el **índice HFS**, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

<b>P valor=0,035</b>		<b>HFS</b>		<b>Total</b>
		No fibrosis	Fibrosis avanzada	
Obesidad	no	15 (75%)	5 (25%)	20
	si	16 (45,7%)	19 (54,3%)	35
<b>Total</b>		<b>31</b>	<b>24</b>	<b>55</b>

*Tabla 80 Estudio del índice HFS en función de la presencia de obesidad. HFS: Hepamet Fibrosis Score.*

Así mismo, los pacientes obesos mostraron significativamente mayor frecuencia de fibrosis avanzada en el **índice NAFLD-FS** (Tabla 81).

Por el contrario, no se observan diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la presencia de obesidad y una puntuación correspondiente con fibrosis avanzada en el **índice FIB-4**.

		NAFLD-FS		Total
		No fibrosis	Fibrosis avanzada	
<b>P valor=0,010</b>				
Obesidad	no	17 (70,8%)	7 (29,2%)	24
	si	15 (37,5%)	25 (62,5%)	40
<b>Total</b>		<b>32</b>	<b>32</b>	<b>64</b>

*Tabla 81. Estudio del índice NAFLD-FS en función de la presencia de obesidad. NAFLD-FS: NAFLD Fibrosis Score*

#### **6.3.5.7. Estudio de los parámetros histológicos en función de la presencia de obesidad.**

No se observan diferencias estadísticamente significativas en los pacientes con obesidad en el estudio del SAF score, esteatosis, balonización, inflamación lobulillar, ni fibrosis.

## **6.4. Análisis de las variables estudiadas en función de la histología hepática**

Se realizó biopsia hepática a 25 de los pacientes según criterios clínicos habituales, que corresponden a pacientes con duda diagnóstica o sospecha de fibrosis avanzada. A continuación, describimos las características de los pacientes en función de los hallazgos histopatológicos.

### **6.4.1. Esteatosis**

Se consideró la presencia de esteatosis significativa cuando el grado de esteatosis en la biopsia hepática es superior o igual a un grado 2.

#### **6.4.1.1. Estudio de la antropometría en relación con la presencia de esteatosis significativa en la biopsia hepática**

No se observan diferencias entre el ICC y la presencia de esteatosis significativa en la histología.

#### **6.4.1.2. Estudio de los variables analíticas en relación con la presencia de esteatosis significativa en la biopsia hepática**

En cuanto a los parámetros analíticos únicamente se objetivaron diferencias

estadísticamente significativas en los valores de glucemia basal, que fueron superiores en el grupo de pacientes con esteatosis hepática significativa (>33%).

Bioquímica	Esteatosis significativa	Media	DS	P valor
Glucosa (mg/dL)	No	97,46	12,24	0,022
	Si	120,66	31,70	

*Tabla 82. Relación entre los niveles de glucosa y la presencia de esteatosis significativa en la biopsia hepática*

#### **6.4.1.3. Estudio de la adherencia a la dieta mediterránea en relación con la presencia de esteatosis significativa en la biopsia hepática**

No se objetivan diferencias significativas en cuanto a la presencia de esteatosis significativa en la histología y el patrón de dieta mediterráneo.

#### **6.4.1.4. Estudio de los métodos no invasivos de diagnóstico de EHmet en relación con la presencia de esteatosis hepática significativa en la biopsia hepática**

No encontramos diferencias entre la presencia de esteatosis hepática significativa en la histología y los índices no invasivos, tanto físicos como analíticos.

## **6.4.2. EHNA**

### **6.4.2.1. Estudio de la antropometría en relación con la presencia de EHNA en la biopsia hepática**

No se observan diferencias entre el ICC y la presencia de EHNA en la histología.

### **6.4.2.2. Estudio de los variables analíticas en relación con la presencia de EHNA en la biopsia hepática**

En cuanto a los parámetros analíticos no se aprecian diferencias significativas entre los pacientes con y sin EHNA en la biopsia hepática.

### **6.4.2.3. Estudio de la adherencia a la dieta mediterránea en relación con la presencia de EHNA en la biopsia hepática**

No se objetivan diferencias significativas en cuanto a la presencia de EHNA en la histología y el patrón de dieta mediterránea.

**6.4.2.4. Estudio de los métodos no invasivos de diagnóstico de EHmet en relación con la presencia de EHNA en la biopsia hepática**

Tampoco encontramos diferencias en este grupo de pacientes y los índices no invasivos, tanto físicos como analíticos.

**6.4.3. Fibrosis**

**6.4.3.1. Estudio de la antropometría en relación con la presencia de fibrosis en la biopsia hepática**

No se observan diferencias entre el ICC y la presencia de fibrosis en la histología.

**6.4.3.2. Estudio de los variables analíticas en relación con la presencia de fibrosis en la biopsia hepática**

En cuanto a los parámetros analíticos no se aprecian diferencias significativas entre los pacientes con y sin fibrosis en la biopsia hepática.

### 6.4.3.3. Estudio de la adherencia a la dieta mediterránea en en relación con la presencia de fibrosis en la biopsia hepática

La adherencia a la dieta mediterránea se asocia a la ausencia de fibrosis hepática en la histología hepática de tal manera que el 90% de los pacientes con adherencia la dieta mediterránea valorada por el cuestionario Predimed (> 7 puntos) no presentan fibrosis en la biopsia hepática.

		Dieta mediterránea (PREDIMED)		Total
		<7 puntos	>7 puntos	
<b>P valor=0,002</b>				
Fibrosis	no	1 (10%)	9 (90%)	10
	si	11 (73,3%)	4 (26,7%)	15
<b>Total</b>		<b>12</b>	<b>13</b>	<b>25</b>

*Tabla 83. Estudio de la presencia de fibrosis en relación a la adherencia a la dieta mediterránea.*

### 6.4.3.4. Estudio de los métodos no invasivos de diagnóstico de EHmet en relación con la presencia de fibrosis en la biopsia hepática

#### Métodos físicos

Como se muestra en la siguiente tabla, ninguno de los pacientes sin fibrosis histológica obtuvo un resultado superior a 9,7 kPa en el Fibroscan® (fibrosis significativa avanzada)

## Resultados

P valor=0,017		Fibroscan®		Total
		<9,7 kPa	>9,7 kPa	
Fibrosis	no	10 (100%)	0 (0%)	10
	si	8 (57,1%)	6 (42,9%)	14
<b>Total</b>		<b>18</b>	<b>6</b>	<b>24</b>

*Tabla 84. Relación entre los valores del Fibroscan® y la presencia de fibrosis en la biopsia hepática.*

Sin embargo, no se observan diferencias significativas al comparar la presencia de fibrosis en la biopsia con los resultados compatibles con fibrosis significativa en el **ARFI**

### 6.4.3.5. Estudio de los variables analíticas en relación con la presencia de fibrosis en la biopsia hepática

No encontramos diferencias significativas al analizar las variables analíticas en el grupo de pacientes con o sin fibrosis en la histología hepática.

### 6.4.3.6. Exactitud diagnóstica de los índices no invasivos de fibrosis con respecto a la biopsia hepática

En las siguientes tablas se exponen los resultados de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de los tres índices no

invasivos de fibrosis (NAFLD-FS, FIB-4 y HFS), combinación de los tres índices, así como del Fibroscan®, al compararlos con la biopsia hepática.

	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	VPP	VPN
NAFLD-FS	16,6%	100%	100%	79,2%
FIB-4	66,6%	68,4%	40%	86,6%
HFS	60%	72,2%	37,5%	86,6%
COMBINACION DE LOS 3 ÍNDICES PREVIOS	60%	77,7%	42,85%	87,5%

**Tabla 85.** Exactitud diagnóstica de los índices de fibrosis con respecto a la biopsia hepática. NAFLD-FS: NAFLD Fibrosis Score. FIB-4: Fibrosis- 4. HFS: Hepamet Fibrosis Score. VPP: Valor Predictivo Positivo. VPN: Valor Predictivo Negativo.

#### 6.4.3.7. Exactitud diagnóstica del Fibroscan® con respecto a la biopsia hepática

	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	VPP	VPN
FIBROSCAN®	66,6%	72,2%	44,4%	86,6%

**Tabla 86.** Exactitud diagnóstica del Fibroscan® con respecto a la biopsia hepática

## **6.5. Análisis comparativo de los métodos no invasivos de diagnóstico**

### **6.5.1. Comparación de los resultados del Fibroscan® con el resto de las pruebas no invasivas de diagnóstico**

Se comparó el Fibroscan® con el resto de los índices no invasivos que analizamos en el estudio. Se consideró el resultado del Fibroscan® compatible con fibrosis avanzada, cuando la puntuación obtenida fue superior a 9,7 kPa, como se ha comentado previamente.

#### **6.5.1.1. ARFI**

En la siguiente tabla observamos que la mayoría de los pacientes con fibrosis significativa valorada por Fibroscan® también la presentan por ARFI, siendo esta asociación estadísticamente significativa.

## Resultados

<b>P valor=0,029</b>		<b>Fibrosis avanzada por ARFI</b>		<b>Total</b>
		No	Si	
Fibroscan®	<9,7 kPa	28 (63,6%)	16 (36,4%)	44
	>9,7 kPa	1 (16,7%)	5 (83,3%)	6
<b>Total</b>		<b>29</b>	<b>21</b>	<b>50</b>

*Tabla 87. Estudio comparativo de resultados de ARFI y Fibroscan®*

### 6.5.1.2. Índices no invasivos séricos

En la siguiente tabla observamos cómo el **NAFLD-FS** se asocia significativamente con la fibrosis significativa valorada mediante Fibroscan®, cuando el resultado de este score es  $> -1,455$  (valores inferiores a este punto de corte se consideran como no indicativo de fibrosis)

<b>P valor=0,015</b>		<b>NAFLD-FS</b>		<b>Total</b>
		<-1,455	>-1,455	
Fibroscan®	<9,7 kPa	29 (63,1%)	17 (36,9%)	46
	>9,7 kPa	1 (14,3%)	6 (85,7%)	7
<b>Total</b>		<b>30</b>	<b>23</b>	<b>53</b>

*Tabla 88. Estudio comparativo de Fibroscan® con el índice NAFLD-FS. NAFLD-FS: NAFLD Fibrosis Score*

Con el **HFS** también observamos la relación existente de este score con la presencia de fibrosis significativa determinada mediante Fibroscan®, objetivándose una excelente precisión para descartar fibrosis avanzada cuando la puntuación de este índice es inferior a 0,12 (punto de corte considerado como ausencia de fibrosis) ya que ningún paciente con HFS <0,12 presenta fibrosis significativa (>9,7 KPa) en la elastografía por Fibroscan®.

<b>P valor=0,002</b>		<b>HFS</b>		<b>Total</b>
		<0,12	>0,12	
<b>Fibroscan®</b>	<9,7 kPa	28 (71,8%)	11 (28,2%)	39
	>9,7 kPa	0 (0%)	5 (100%)	5
<b>Total</b>		<b>28</b>	<b>16</b>	<b>44</b>

*Tabla 89. Estudio comparativo de Fibroscan® con el índice HFS. HFS: Hepamet Fibrosis Score*

También encontramos una buena asociación entre los valores del Fibroscan® con el **índice FIB-4** para detectar fibrosis avanzada.

<b>P valor=0,004</b>		<b>FIB-4</b>		<b>Total</b>
		<1,3	>1,3	
<b>Fibroscan®</b>	<9,7 kPa	33 (70,2%)	14 (29,8%)	47
	>9,7 kPa	1 (14,3%)	6 (85,7%)	7
<b>Total</b>		<b>34</b>	<b>20</b>	<b>44</b>

*Tabla 90. Estudio comparativo de Fibroscan® con el índice FIB-4. FIB-4: índice de fibrosis 4*

Al analizar la combinación **de los tres índices** se observa también una asociación significativa con la presencia de fibrosis avanzada obtenida mediante Fibroscan®.

<b>P valor=0,001</b>		<b>Combinación de índices</b>		<b>Total</b>
		No fibrosis	Fibrosis avanzada	
Fibroscan®	<9,7 kPa	33 (84,6%)	6 (15,4%)	39
	>9,7 kPa	1 (20%)	4 (80%)	5
<b>Total</b>		<b>34</b>	<b>10</b>	<b>44</b>

*Tabla 91. Estudio comparativo del Fibroscan® con la combinación de los 3 índices no invasivos de fibrosis.*

## **6.5.2. Comparación de los resultados del ARFI con el resto de las pruebas no invasivas de diagnóstico**

### **6.5.2.1. Fibroscan®**

Como se ha expuesto anteriormente se observa una relación significativa entre la fibrosis avanzada determinada por Fibroscan® y mediante ARFI (Tabla 87).

### 6.5.2.2. Índices no invasivos analíticos

En la siguiente tabla observamos cómo el **NAFLD-FS** se asocia significativamente con el grado de fibrosis medido mediante ARFI.

P valor=0,04		NAFLD-FS		Total
		<-1,455	>-1,455	
ARFI con fibrosis avanzada	No	21 (61,8%)	13 (38,2%)	34
	Si	9 (36%)	16 (64%)	25
Total		<b>30</b>	<b>29</b>	<b>59</b>

*Tabla 92. Estudio comparativo del ARFI con el índice NAFLD-FS. NAFLD-FS: NAFLD Fibrosis Score*

No se encontraron diferencias significativas al comparar el ARFI con los índices **HFS**, y **FIB-4**.

## 6.6. Polimorfismos genéticos

### 6.6.1. Polimorfismo -308 G/A del TNF- $\alpha$

Un total de 19 pacientes (2,7%) presentaron la mutación G/A del gen TNF- $\alpha$ .

### 6.6.1.1. Relación entre polimorfismo del gen TNF- $\alpha$ y la edad y sexo de los pacientes

No se encuentran diferencias significativas respecto a la asociación del polimorfismo del gen TNF- $\alpha$  y la edad y sexo de los pacientes del estudio.

### 6.6.1.2. Relación entre polimorfismo del gen TNF- $\alpha$ y los factores de riesgo cardiovascular

Se observa una asociación estadísticamente significativa entre la **HTA** y la presencia del polimorfismo del gen TNF- $\alpha$ .

<b>P valor=0,038</b>		<b>HTA</b>		<b>Total</b>
		no	si	
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	GG	27 (60%)	18 (40%)	45
	GA/AA	6 (31,6%)	13 (68,4%)	19
<b>Total</b>		<b>33</b>	<b>31</b>	<b>64</b>

*Tabla 93. Asociación del polimorfismo TNF- $\alpha$  con la presencia de HTA. HTA: hipertensión arterial*

Así mismo, se demuestra la relación entre los pacientes con **DM-2** y la presencia de la variante mutante del gen **TNF- $\alpha$** , siendo esta asociación estadísticamente significativa.

<b>P valor=0,001</b>		<b>DM-2</b>		<b>Total</b>
		no	si	
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	GG	38 (84,4%)	7 (15,6%)	45
	GA/AA	8 (42,1%)	11 (57,9%)	19
<b>Total</b>		<b>46</b>	<b>18</b>	<b>64</b>

*Tabla 94. Asociación del polimorfismo del gen TNF- $\alpha$  con la DM-2. DM-2: diabetes mellitus tipo*

2

No se encontraron diferencias entre el polimorfismo **TNF- $\alpha$**  y la presencia de dislipemia, obesidad o síndrome metabólico.

### **6.6.1.3. Relación entre los métodos no invasivos y el polimorfismo del TNF- $\alpha$**

#### **Métodos físicos**

Los pacientes con la variante mutante del gen **TNF- $\alpha$**  muestran mayor frecuencia de fibrosis avanzada en la medición elastográfica mediante **ARFI**, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

## Resultados

<b>P valor=0,04</b>		<b>Arfi con fibrosis avanzada</b>		<b>Total</b>
		no	si	
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	GG	27 (65,8%)	14 (34,2%)	41
	GA/AA	7 (38,9%)	11 (61,1%)	18
<b>Total</b>		<b>34</b>	<b>25</b>	<b>59</b>

*Tabla 95. Relación entre la presencia del polimorfismo del gen TNF- $\alpha$  y los resultados del ARFI*

Sin embargo, no se aprecian diferencias significativas respecto a la presencia de fibrosis avanzada en **Fibroscan®** en los portadores del polimorfismo del gen TNF- $\alpha$ .

### Índices no invasivos séricos de esteatosis

Los portadores de la variante mutante del TNF- $\alpha$  muestran mayor frecuencia de esteatosis severa en el **índice LAP** de esteatosis, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

<b>P valor=0,038</b>		<b>LAP</b>		<b>Total</b>
		No esteatosis	Esteatosis	
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	GG	22 (48,9%)	23 (51,1%)	45
	GA/AA	4(21,1%)	15 (78,9%)	19
<b>Total</b>		<b>26</b>	<b>38</b>	<b>64</b>

*Tabla 96. Relación entre la presencia del polimorfismo del gen TNF- $\alpha$  con los resultados del índice LAP. LAP: Liver Accumulation Product*

Por el contrario, no se encontraron diferencias significativas en los índices **HSI** ni **FLL**.

### Índices no invasivos séricos de fibrosis

Se demuestra la asociación estadísticamente significativa entre los portadores de la variante mutada del gen **TNF- $\alpha$**  y la presencia de fibrosis avanzada en los índices **NAFLD-FS** y **FIB-4**, sin encontrarse diferencias en el índice **HFS**.

		NAFLD-FS		Total
		No fibrosis	Fibrosis avanzada	
<b>P valor=0,003</b>				
TNF- $\alpha$	GG	28 (62,2%)	17 (37,8%)	45
	GA/AA	4 (21,1%)	15 (78,9%)	19
Total		<b>32</b>	<b>32</b>	<b>64</b>

*Tabla 97. Relación entre la presencia del polimorfismo del gen **TNF- $\alpha$**  y los resultados en el índice NAFLD-FS. NAFLD-FS: NAFLD Fibrosis Score.*

		FIB-4		Total
		No fibrosis	Fibrosis avanzada	
<b>P valor=0,030</b>				
TNF- $\alpha$	GG	32 (71,1%)	13 (28,9%)	45
	GA/AA	8 (42,1%)	11 (57,9%)	19
Total		<b>40</b>	<b>24</b>	<b>64</b>

*Tabla 98. Relación entre la presencia del polimorfismo del gen **TNF- $\alpha$**  y los resultados en el índice FIB-4. FIB-4: índice de fibrosis 4.*

#### 6.6.1.4. Relación entre polimorfismo del gen TNF- $\alpha$ y la histología hepática

En el análisis de la histología hepática la mayoría de los pacientes portadores de la variante mutante del gen TNF- $\alpha$  muestran con mayor frecuencia **balonización de los hepatocitos y EHNA** en la biopsia, siendo esta asociación estadísticamente significativa.

P valor=0,022		Balonización		Total
		no	si	
TNF- $\alpha$	GG	10 (66,7%)	5(33,3%)	15
	GA/AA	2 (20%)	8 (80%)	10
Total		<b>12</b>	<b>13</b>	<b>25</b>

*Tabla 99. Relación entre el polimorfismo TNF- $\alpha$  y la presencia de balonización en la biopsia hepática.*

P valor=0,022		EHNA		Total
		no	si	
TNF- $\alpha$	GG	10 (66,7%)	5(33,3%)	15
	GA/AA	2 (20%)	8 (80%)	10
Total		<b>12</b>	<b>13</b>	<b>25</b>

*Tabla 100. Relación entre el polimorfismo TNF- $\alpha$  y la presencia de EHNA en la biopsia hepática*  
EHNA: esteatohepatitis no alcohólica

Sin embargo, no se observan diferencias estadísticamente significativas respecto a la presencia de esteatosis, inflamación lobulillar, ni fibrosis en función de la variante G/A del gen TNF- $\alpha$

### 6.6.2. Polimorfismo rs738409 C/G del gen PNPLA3

Un total de 24 pacientes (37,5%), presentaron la mutación rs738409 del gen PNPLA3.

#### 6.6.2.1. Relación entre la mutación C/G del PNPLA3 y la edad y sexo de los pacientes

Se evidencia que el 70,8% pacientes portadores de la variante mutante del polimorfismo del gen PNPLA3 son mayores de 55 años, y en un 62,5% hombres.

P valor=0,010		Edad 55		Total
		≤55	>55	
PNPLA3	CC	27 (67,5%)	15 (37,5%)	40
	CG/GG	7 (29,2%)	17 (70,8%)	24
Total		32	32	64

*Tabla 101. Asociación del polimorfismo del gen PNPLA3 con la edad de los pacientes.*

## Resultados

		Sexo		Total
		Hombre	Mujer	
<b>P valor=0,049</b>				
<b>PNPLA3</b>	CC	15 (37,5%)	25 (62,5%)	40
	CG/GG	15 (62,5%)	9 (37,5%)	24
<b>Total</b>		<b>30</b>	<b>34</b>	<b>64</b>

*Tabla 102. Asociación del polimorfismo del gen PNPLA3 con el sexo de los pacientes*

### 6.6.2.2. Relación entre la mutación C/G del PNPLA3 y los factores de riesgo cardiovascular

Se observa la relación entre la ausencia de a variante mutada del gen PNPLA3 entre los pacientes sin **DM-2**, siendo esta asociación estadísticamente significativa.

		DM-2		Total
		no	si	
<b>P valor=0,015</b>				
<b>PNPLA3</b>	CC	33 (82,5%)	7 (17,5%)	40
	CG/GG	13(54,2%)	11 (45,8%)	24
<b>Total</b>		<b>46</b>	<b>18</b>	<b>64</b>

*Tabla 103. Asociación entre la presencia del polimorfismo del gen PNPLA3 y la DM-2. DM-2: diabetes mellitus tipo 2*

No se observan diferencias en cuanto a la HTA, DL, obesidad o presencia de síndrome metabólico en ambos grupos de pacientes.

### **6.6.2.3. Relación entre la mutación C/G del PNPLA3 y los índices no invasivos de diagnóstico**

#### **Métodos físicos**

No se encuentran diferencias estadísticamente significativas al comparar el polimorfismo genético del PNPLA3 con los métodos no invasivos elastográficos, tanto Fibroscan® como ARFI.

#### **Índices no invasivos séricos de esteatosis**

No se observan diferencias significativas al comparar los índices serológicos no invasivos de esteatosis con el polimorfismo del gen PNPLA3.

#### **Índices no invasivos séricos de fibrosis**

Los pacientes portadores de la variante mutada del gen PNPLA3 muestran mayor frecuencia de fibrosis avanzada en los índices no invasivos séricos de fibrosis **NAFLD-FS** y **FIB-4**, sin encontrarse diferencias en el índice **HFS**.

## Resultados

		NAFLD-FS		Total
		no	si	
<b>P valor=0,000</b>				
<b>PNPLA3</b>	CC	27 (62,2%)	13 (37,8%)	40
	CG/GG	5 (21,1%)	19 (78,9%)	24
<b>Total</b>		<b>32</b>	<b>32</b>	<b>64</b>

*Tabla 104. Relación entre el polimorfismo del gen PNPLA3 y los resultados del índice NAFLD-FS. NAFLD-FS: NAFLD Fibrosis Score*

		FIB-4		Total
		no	si	
<b>P valor=0,008</b>				
<b>PNPLA3</b>	CC	30 (75%)	10 (25%)	40
	CG/GG	10 (41,7%)	14 (58,3%)	24
<b>Total</b>		<b>40</b>	<b>24</b>	<b>64</b>

*Tabla 105. Relación entre el polimorfismo del gen PNPLA3 y los resultados del índice FIB-4. FIB-4: índice de fibrosis 4*

### 6.6.2.4. Relación entre la mutación C/G del PNPLA3 y la histología hepática.

En el estudio de la histología hepática se observa una asociación estadísticamente significativa entre el polimorfismo del gen PNPLA 3 y la presencia de **fibrosis** avanzada en la biopsia.

## Resultados

P valor=0,016		Fibrosis avanzada		Total
		no	si	
PNPLA3	CC	16 (88,9%)	2 (11,2%)	18
	CG/GG	3 (42,9%)	4 (57,1%)	7
Total		19	6	25

*Tabla 106. Relación entre el polimorfismo del gen PNPLA3 y la presencia de fibrosis en la biopsia hepática.*

Sin embargo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los pacientes con polimorfismo PNPLA 3 respecto a la presencia de esteatosis, inflamación lobulillar, balonización ni SAF score.

### **6.6.3. Cannabinoid Receptor Gene (CNR1) (G1359A Polymorphism)**

Se observa la presencia del polimorfismo G1359A del gen CNR1 en un total de 28 pacientes.

#### **6.6.3.1. Relación entre la presencia de la mutante G/A del gen CNR1 y la edad y sexo de los pacientes**

No se aprecian diferencias significativas respecto a la asociación del polimorfismo del gen CNR1 con la edad y sexo de los pacientes del estudio.

### 6.6.3.2. Relación entre la presencia de la mutante G/A del gen CNR1 y los factores de riesgo cardiovascular

Se observa una asociación estadísticamente significativa entre la HTA y la presencia del polimorfismo del gen CNR1.

P valor=0,032		HTA		Total
		no	si	
CNR1	GG	22 (62,9%)	13 (37,1%)	35
	GA/AA	10 (35,7%)	18 (64,3%)	28
Total		32	31	63

*Tabla 107. Asociación entre el polimorfismo del gen CNR1 y la presencia de HTA. HTA: hipertensión arterial; CNR: cannabinoid receptor gene*

Sin embargo, no se observan diferencias en cuanto a la presencia de DM-2, obesidad, dislipemia o síndrome metabólico en los pacientes con y sin presencia de la variante mutante.

### 6.6.3.3. Relación entre los índices no invasivos y la mutante G/A del gen CNR1

#### Métodos físicos

Los pacientes con polimorfismo del gen CNR1 muestran mayor frecuencia de fibrosis avanzada en la medición elastográfica mediante **ARFI**, siendo esta diferencia estadísticamente significativa, sin encontrarse diferencias significativas en la fibrosis valorada por Fibroscan®.

<b>P valor=0,041</b>		<b>ARFI con fibrosis avanzada</b>		<b>Total</b>
		no	si	
<b>CNR1</b>	GG	22 (70,9%)	9 (29,1%)	31
	GA/AA	12 (44,4%)	15 (55,6%)	27
<b>Total</b>		<b>34</b>	<b>24</b>	<b>58</b>

*Tabla 108. Relación entre el polimorfismo del gen CNR1 y los resultados del ARFI. CNR: cannabinoid receptor gene*

### Índices no invasivos séricos de esteatosis

No se observan diferencias significativas entre la presencia del polimorfismo CNR1 y los índices no invasivos tanto de fibrosis como de esteatosis.

#### 6.6.3.4. Relación entre la presencia de la mutante G/A del gen CNR1 y la histología hepática

En el análisis de la histología hepática la mayoría de los pacientes portadores del polimorfismo del gen CNR1 muestran **balonización y EHNA** en la biopsia, siendo esta asociación estadísticamente significativa.

<b>P valor=0,045</b>		<b>Balonización</b>		<b>Total</b>
		no	si	
<b>CNR1</b>	GG	10 (62,5%)	6 (37,5%)	16
	GA/AA	2 (22,2%)	7 (77,8%)	9
<b>Total</b>		<b>12</b>	<b>13</b>	<b>25</b>

*Tabla 109. Relación entre el polimorfismo del gen CNR1 y la presencia de balonización en la biopsia hepática. CNR: cannabinoid receptor gene.*

<b>P valor=0,045</b>		<b>EHNA</b>		<b>Total</b>
		no	si	
<b>CNR1</b>	GG	10 (62,5%)	6 (37,5%)	16
	GA/AA	2 (22,2%)	7 (77,8%)	9
<b>Total</b>		<b>12</b>	<b>13</b>	<b>25</b>

*Tabla 110. Relación entre el polimorfismo del gen CNR1 y la presencia de EHNA en la biopsia hepática. CNR: cannabinoid receptor gene; EHNA: esteatohepatitis no alcohólica*

Por el contrario, no se aprecian diferencias estadísticamente significativas en los pacientes con polimorfismo CNR respecto a la presencia de esteatosis, inflamación lobulillar o fibrosis.

## **6.7. Factores asociados a la presencia de fibrosis avanzada**

Dado que la fibrosis es el factor que más impacta en el pronóstico y supervivencia de los pacientes con EHmet, nos propusimos analizar la asociación entre los factores clínicos, analíticos, dietéticos y con estadios avanzados de fibrosis (F3 y F4).

Observamos que solo las cifras bajas de plaquetas y el polimorfismo genético PNPLA3 muestran una asociación significativa con la presencia de fibrosis avanzada según el estudio univariado (Tabla 111).

En el análisis multivariante tras ajustar el modelo por edad y sexo y tras introducir las variables que en análisis univariado tenían una significación estadística  $p < 0,1$ , observamos que solo la presencia de la mutación del polimorfismo PNPLA3 se asocia de forma independiente a la fibrosis avanzada, con un riesgo 20 veces mayor de desarrollar fibrosis avanzada con respecto a la variante no mutada.

## Resultados

	Análisis univariante		Análisis multivariante	
	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
<b>Edad (años)</b>	1,023 (0,958-1,092)	ns		
<b>Sexo</b>	0,180 (0,018-1,847)	ns		
<b>Café</b>	0,656 (0,208-2,062)	ns		
<b>IMC</b>	1,095 (0,979-1,225)	ns		
<b>HTA</b>	2,750 (0,401-18,876)	ns		
<b>DM-2</b>	2,167 (0,334-14,057)	ns		
<b>DL aterogénica</b>	1,714 (0,339 -8,676)	ns		
<b>HOMA</b>	1,270 (0,918 -1,758)	ns		
<b>PREDIMED</b>	0,642 (0,371 -1,109)	ns		
<b>AST (U/L)</b>	1,035 (0,982-1,090)	ns		
<b>ALT (U/L)</b>	1,030 (0,991-1,070)	ns		
<b>GGT (U/L)</b>	1,004 (0,991 -1,016)	ns		
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	0,990 (0,974 -1,006)	ns		
<b>Plaquetas</b>	0,974 (0,951-0,998)	0,035		
<b>Polimorfismo TNF-<math>\alpha</math></b>	1,714 (0,269 -10,924)	ns		
<b>Polimorfismo PNPLA3</b>	10,667 (1,309 -16,933)	0,027	20,000 (1,613 – 34,981)	0,020
<b>Polimorfismo CNR</b>	5,600 (0,773 -40,594)	ns		

*Tabla III. Factores asociados a la presencia de fibrosis avanzada. IMC: índice de masa corporal. HTA: hipertensión arterial; DM-2: diabetes mellitus tipo 2; DL: dislipemia; HOMA: homeostasis model assesement PREDIMED: prevención con dieta mediterránea. AST: aspartato aminotransferasa; ALT: alanina aminotransferasa; GGT gamma-glutamil transferasa.*

## **7. DISCUSIÓN**

## Discusión

---

La EHmet supone un problema importante de salud pública y es en la actualidad la causa más frecuente de hepatopatía crónica en nuestro medio.

La incidencia creciente de esta enfermedad se ha asociado con la epidemia mundial de obesidad y de las manifestaciones del síndrome metabólico, como la hipertensión, diabetes y dislipemia. El rápido aumento de la carga sanitaria y económica de la EHmet justifica la implementación de medidas diagnósticas y preventivas principalmente en las poblaciones de alto riesgo en un esfuerzo por reducir la morbilidad y la mortalidad asociadas a la enfermedad (115).

### **7.1. Prevalencia de EHmet en el mundo, en Europa y en nuestro hospital**

En 2016 Younossi y cols.(9) publicaron un metaanálisis que incluyó 86 estudios con un tamaño de muestra de 8.515.431 pacientes de 22 países, estimando una prevalencia global del 25,2%. Por regiones, la prevalencia más alta se encontró en Oriente medio (31,8%), seguido de América del Sur (30,4%). Por el contrario, las cifras más bajas de prevalencia de EHmet se encontraron en África (13,5%). Comparativamente, la prevalencia en Asia, Europa y EE. UU fue del 27,4%, 23,7% y 24,1% respectivamente. En España, se estimó una prevalencia de EHmet del 25,8%, según la serie publicada de Caballería y cols.(8).

En el presente trabajo nos planteamos estimar la prevalencia de EHmet en las consultas de Aparato Digestivo de nuestra área (Valladolid Este, con una población aproximada de 250.000 habitantes). Para ello se estudiaron 152 pacientes que acudieron a las consultas de Aparato Digestivo por sospecha de enfermedad hepática crónica durante dos meses con una separación de un período de 6 meses, de los cuales 65 (42,7%) fueron diagnosticados de EHmet. Este porcentaje de prevalencia, significativamente superior a los publicados en la literatura, puede explicarse debido a que, a diferencia de otros estudios, no se trata de una muestra de población general con individuos seleccionados al azar, sino que son pacientes que habían sido valorados por sus médicos de atención primaria u otras especialidades con sospecha de hepatopatía crónica por alteraciones analíticas o en las pruebas de imagen y posteriormente derivados a nuestras consultas para su estudio.

Además, se trata de un hospital de tercer nivel, de referencia en EHmet y es probable que la prevalencia esté sobreestimada, así como la severidad de la enfermedad.

## **7.2. Estudio de EHmet según factores de riesgo.**

### **7.2.1. Edad y sexo**

En nuestro estudio, de los 65 pacientes diagnosticados de EHmet, 35 (53,8%) son mujeres y 30 (46,2%) hombres, con una edad media de 54,2 años. Observamos que el sexo masculino se asocia significativamente con mayor probabilidad de presentar

fibrosis avanzada, valorada mediante los índices no invasivos de fibrosis FIB-4 y NAFLD-FS. Así mismo, los mayores de 55 años también presentan mayor prevalencia de fibrosis avanzada según los índices no invasivos de fibrosis FIB-4 y HFS. Sin embargo, no encontramos diferencias significativas en la presencia de fibrosis o EHNA evidenciada en la biopsia hepática en cuanto a la edad y distribución por sexos.

Los estudios varían en cuanto a la distribución por sexos, algunos sugieren que es más común en hombres y otros en mujeres. Yang y cols. mostraron que los hombres tienen un mayor riesgo de fibrosis grave en comparación con las mujeres premenopáusicas. No obstante, el riesgo es similar en mujeres posmenopáusicas, lo que sugiere que las hormonas femeninas pueden tener efectos protectores sobre la fibrosis hepática, ya que la distribución de la grasa se altera en la menopausia hacia una localización más central o visceral (116).

Por otro lado, la EHmet es más prevalente con la edad avanzada debido probablemente a un incremento en la prevalencia de factores de riesgo asociados, como el síndrome metabólico, la diabetes y la hipertensión.

### **7.2.2. Predisposición genética en la EHmet**

Existe cada vez más evidencia acerca de la importancia de la carga genética en el desarrollo de EHmet. Estudios recientes han identificado distintos polimorfismos relacionados con la aparición y progresión de la enfermedad, entre los que destacan los

asociados con el gen PNPLA3 (117), TM6SF2 (20), MBOAT7 (118), TNF- $\alpha$  (119) y CNR1(120).

El gen mejor caracterizado y estudiado es el polimorfismo **PNPLA3** rs738409 que confiere a los ácidos grasos una mayor resistencia a la degradación hepática y por tanto la acumulación y toxicidad de éstos a nivel hepático y posteriormente la activación de la cascada inflamatoria y fibrótica (51). Este polimorfismo del gen PNPLPA3 se ha asociado con mayor susceptibilidad para presentar esteatosis hepática, así como mayor probabilidad de desarrollo de daño histológico más severo y más riesgo de fibrosis (121)

La variante PNPLA3 rs738409 está asociada con el desarrollo y la progresión EHmet y la interacción entre esta variante y los factores ambientales, incluidos los hábitos dietéticos, parece ser crucial en la fisiopatología de la enfermedad. También parece estar relacionada con una mayor respuesta a las intervenciones en el estilo de vida, la cirugía bariátrica y ciertos tipos de agentes terapéuticos, como la combinación de inhibidores del cotransportador de sodio-glucosa y ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) (122).

En nuestra serie encontramos una asociación estadísticamente significativa entre los portadores de la variante mutada del gen PNPLA3 y la presencia de fibrosis avanzada valorada por los índices NAFLD-FS y FIB-4. Además, los pacientes con este polimorfismo del gen PNPLA3, presentan significativamente mayor probabilidad de fibrosis avanzada en la histología hepática.

En nuestro estudio, en el análisis multivariante, observamos que la variante mutante del PNPLA3 se asocia de forma independiente con la fibrosis avanzada, con un riesgo 20 veces mayor de desarrollar fibrosis avanzada con respecto a la variante no mutada (IC 95% 1,613 – 34,981;  $p < 0,02$ ).

El **TNF- $\alpha$**  es un biomarcador de inflamación sistémica que participa en la fisiopatología del síndrome metabólico, incluida la EHmet (123).

Crespo y cols. realizaron un estudio en 52 pacientes obesos y evidenciaron que la expresión intrahepática de ARNm de TNF- $\alpha$  estaba aumentada en pacientes con EHmet y era aún superior en pacientes con mayor actividad necroinflamatoria y estadios más avanzados de fibrosis (124).

En el estudio de Aller y cols. demostraron que la presencia de la variante mutante del gen TNF- $\alpha$  (-308 GA), se asocia con mayor resistencia a la insulina, así como la presencia de daño histológico más severo y mayor riesgo de fibrosis que los pacientes con genotipo salvaje (-308 GG) (125).

También se han encontrado diferencias en la respuesta a los cambios dietéticos. En este sentido, De Luis y cols. evidenciaron que los pacientes obesos con la variante -308 GA del gen presentan una peor respuesta metabólica tras recibir una dieta hipocalórica rica en proteínas con respecto a los pacientes no portadores de la mutación (119).

Por otra parte, en estudios recientes se ha objetivado que el polimorfismo del gen **CNR 1** también confiere riesgo de susceptibilidad a la obesidad, anomalías metabólicas y EHmet (120). En este caso, en el estudio de De Luis y cols. no encontraron diferencias en la respuesta después de recibir una dieta hipocalórica en los pacientes portadores de la variante mutada de este gen (126).

En nuestra serie, la variante mutada del gen TNF- $\alpha$  se relaciona significativamente con la presencia de fibrosis avanzada según los índices NAFLD-FS y FIB-4. Además, observamos que los pacientes con el polimorfismo del gen TNF- $\alpha$ , así como los pacientes con polimorfismo del gen CNR1, presentan significativamente mayor probabilidad de presentar esteatohepatitis en la histología hepática.

### **7.2.3. Obesidad**

La obesidad es un importante factor de riesgo para el desarrollo de EHmet, siendo su prevalencia en España del 22-25% (51).

El sobrepeso y obesidad están fuertemente asociados con el desarrollo de EHmet, e incluso un aumento de peso modesto demuestra un incremento en el riesgo de desarrollar la enfermedad (127). Además, se ha evidenciado que la distribución corporal del tejido adiposo está más relacionada con el desarrollo de EHmet que la cantidad total de tejido adiposo, ya que hay un vínculo importante entre la esteatosis hepática y la grasa visceral (128). La adiposidad visceral también se asocia con resistencia a la insulina y aumento del contenido de grasa hepática.

En nuestro trabajo, observamos que el 61,5% de los pacientes con EHmet tienen obesidad. Además, les realizamos la medida de ICC como medida antropométrica para evaluar de forma indirecta la grasa visceral, y encontramos que presentaban una media de 0,97 (DS 0,12), es decir, compatible con obesidad central.

Respecto a los valores analíticos, en los pacientes obesos de nuestra serie objetivamos niveles significativamente inferiores de colesterol HDL, así como niveles más elevados del índice HOMA, comparado con el grupo de pacientes no obesos.

Por otro lado, los estudios publicados en pacientes obesos con biopsia hepática han mostrado resultados controvertidos. En el estudio del grupo de Leung y cols. con una cohorte de 307 pacientes que incluye a 72 pacientes no obesos, encontraron que los pacientes no obesos presentan un menor grado de esteatosis y fibrosis, pero la proporción general de pacientes con EHNA y fibrosis avanzada no difería entre ambos grupos (129).

En el estudio de Aller y cols. de 203 pacientes con EHmet con biopsia hepática, observaron que la proporción de pacientes con EHNA es significativamente superior en el grupo de pacientes obesos con respecto a los pacientes con sobrepeso, siendo el índice HOMA el único factor independiente de riesgo de fibrosis (123).

Aunque en nuestra serie no encontramos diferencias significativas con respecto a los parámetros histológicos hepáticos, sí que objetivamos que el grupo de pacientes obesos presenta mayor probabilidad de fibrosis avanzada según los índices no invasivos de fibrosis NAFLD-FS y HFS.

#### **7.2.4. HTA**

En nuestro trabajo, el 47,7% de los pacientes con EHmet presentan HTA, datos similares a los publicados en la literatura en los que se estima una prevalencia de HTA entre los pacientes con EHmet que varía del 40 al 70% (130).

Observamos que la presencia de HTA se asocia con otros factores de riesgo cardiovascular como la DM-2 o el síndrome metabólico. El grupo de pacientes hipertensos muestran un índice cintura-cadera significativamente superior, así como niveles significativamente superiores de HOMA e inferiores de colesterol-HDL con respecto a los pacientes sin HTA.

En cuanto a la severidad de la enfermedad, encontramos que los pacientes con HTA presentan con mayor frecuencia fibrosis hepática valorada mediante los índices no invasivos de fibrosis NAFLD-FS y HFS, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. No encontramos diferencias significativas en cuanto a la histología hepática.

Resultados similares se observaron en el estudio de Aneni y cols. en el que analizaron la probabilidad de presentar fibrosis mediante el índice FIB-4 en su cohorte de pacientes con EHmet, y encontraron que, en comparación con los pacientes hipertensos, los normotensos tienen menor fibrosis valorado por FIB-4 <1,3 (131).

### **7.2.5. DM-2 y resistencia a la insulina**

Existe una estrecha relación entre la resistencia a la insulina y la presencia de EHmet.

El tejido adiposo libera citocinas proinflamatorias, que se asocia con la resistencia a la insulina. Hay otros mecanismos potenciales de resistencia a la insulina en la EHmet, entre los que se encuentran el aumento de la lipogénesis, alteración de la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos a nivel mitocondrial, cambios en la distribución de la grasa, alteraciones en la microbiota intestinal, y alteración de los niveles de adiponectina (132).

En nuestra serie, el 27,2% de los pacientes con EHmet son diabéticos y observamos que la presencia de DM-2 se asocia significativamente con la presencia de otros factores de riesgo cardiovascular como la HTA o el síndrome metabólico.

Un metaanálisis reciente estimó que la prevalencia global de EHmet en pacientes con DM-2 era del 55,5%, además de presentar formas más graves de enfermedad (22).

La DM-2 no solo se asocia con EHmet, sino que también se ha demostrado que es un factor de riesgo independiente para el desarrollo de EHNA (133). Así mismo, en los pacientes diabéticos, la EHmet muestra un curso clínico más agresivo con más necroinflamación, fibrosis y progresión de la enfermedad (134).

En nuestra serie objetivamos que el Fibroscan® descarta la presencia de fibrosis avanzada en el 95% de los pacientes no diabéticos, mientras que, en el grupo de pacientes con DM-2, el 36% presenta fibrosis avanzada en la ET.

Además, observamos que los pacientes diabéticos muestran mayor frecuencia de fibrosis avanzada en el índice NAFLD-FS y HFS, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

Aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la histología hepática de los pacientes con y sin DM-2, observamos que el 77,7% de los pacientes diabéticos presentan fibrosis en la biopsia hepática (22,2% fibrosis avanzada).

En un estudio reciente que comparaba las características clínicas e histopatológicas de pacientes con EHmet con y sin DM-2, mostraron una prevalencia mayor de esteatohepatitis en pacientes diabéticos (72,2% vs. 48,6%). Del mismo modo, la prevalencia de enfermedad avanzada representada por la fibrosis avanzada también era mayor en este tipo de pacientes (75% vs. 43%) (135).

En un metaanálisis de 22 estudios que incluyó a 24 millones de enfermos, encontraron que la DM-2 se relacionaba con una mayor incidencia de eventos hepáticos graves (cirrosis, complicaciones y mortalidad) (HR 2,25, IC 95% 1,83–2,76,  $p < 0,001$ ) (136).

### **7.2.6. Dislipemia**

La dislipemia aterogénica se caracteriza por niveles elevados de triglicéridos y colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL), y por concentraciones reducidas de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL). Estas alteraciones del metabolismo lipídico parecen ser, al menos en parte, responsables del incremento del riesgo cardiovascular en pacientes con EHmet. Igualmente se han asociado de forma independiente con la morbilidad y/o mortalidad por enfermedad cardiovascular (137).

El contenido de grasa en el hígado refleja el equilibrio entre el flujo de ácidos grasos libres a través de la lipólisis, la oxidación de ácidos grasos, la lipogénesis de novo y la secreción de VLDL. La acumulación de triglicéridos hepáticos es probablemente una consecuencia de la saturación de la oxidación de ácidos grasos y la secreción de VLDL, ya que ambas vías están reguladas al alza en pacientes con EHmet (138).

La presencia de dislipemia se ha documentado en el 20% al 80% de los pacientes con EHmet (139).

En nuestra serie, el 20% de los pacientes con EHmet presentan dislipemia aterogénica, definida por la presencia de TG>150 mg/dl y HDL<40 mg/dl.

El grupo de Kantartzis y cols. (140) realizó un estudio de 16 pacientes con EHmet y 24 sujetos de control. En este trabajo demostraron que la EHmet se asociaba significativamente con niveles más bajos de HDL. Del mismo modo, se han informado

resultados similares en otro estudio, que reveló que los pacientes con EHmet presentaban mayor prevalencia de hipertrigliceridemia y niveles bajos de HDL (141)

Además, se ha documentado que la hipertrigliceridemia es un factor de riesgo independiente para el desarrollo de EHmet e incrementa el riesgo de cirrosis hepática (142).

Por otro lado, cuando analizamos los factores asociados con el estilo de vida de nuestros pacientes, observamos que el consumo de tabaco se asoció significativamente a mayor riesgo de dislipemia aterogénica en los pacientes con EHmet.

El tabaquismo altera la liberación de catecolaminas, provocando una alteración de la peroxidación lipídica y liberación de ácidos grasos en forma de colesterol VLDL y colesterol LDL. Este hecho genera una disminución del colesterol HDL lo que favorece la aterogénesis vascular (143). Además, en varios estudios se ha puesto de manifiesto que el cese del tabaquismo conduce a un aumento de los niveles de HDL (144,145).

### **7.2.7. Síndrome metabólico**

Se estima que la incidencia de SM se sitúa en torno al 25% en la población europea (146).

En nuestro trabajo observamos que algo más de la mitad de nuestros pacientes presenta SM (50,8 %). Además, demostramos la asociación del SM y obesidad, ya que

el 74,3% de los pacientes con EHmet que cumplen criterios de SM son obesos (IMC > 30 kg/m<sup>2</sup>), siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

En el estudio de Marchesini y cols. (147) comunicaron que la prevalencia de SM en pacientes con EHmet aumenta a medida que aumenta el IMC, estando presente en el 18 % en EHmet no obesos y en el 67 % en EHmet obesos en una serie de 304 pacientes. En este mismo trabajo, informaron que la presencia de SM se asociaba con mayor riesgo de EHNA y fibrosis avanzada.

La relación entre EHmet y SM es compleja y puede estar asociada bidireccionalmente. La EHmet está fuertemente asociada con el SM, cuyos componentes incluyen obesidad abdominal, hiperglucemia, hipertensión y dislipemia (148). Con respecto a la población general, las personas con SM tienen una prevalencia cinco veces mayor de DM-2 y dos a tres veces mayor de enfermedades cardiovasculares (149).

La EHmet y el SM comparten muchos aspectos de su fisiopatología, y la resistencia a la insulina es el factor patogénico común. Actualmente hay evidencia suficiente de la causalidad recíproca entre ambas entidades, y también de que cada uno actúa como un factor de perpetuación o exacerbación del otro (150).

En nuestro trabajo analizamos la relación entre el SM y la resistencia a la insulina, y observamos que los pacientes con SM presentan niveles significativamente superiores del índice HOMA como marcador de resistencia a la insulina, con respecto a los pacientes que no cumplen criterios de SM.

Como hemos expuesto anteriormente, hay evidencia en la literatura que sugiere que el SM está asociado a mayor progresión de la enfermedad. En nuestro estudio, los pacientes con SM presentan un riesgo 7 veces superior de fibrosis significativa en la ET que los pacientes sin SM (21,4% vs 3,8%,  $p < 0,05$ ). Además, los pacientes con SM muestran con mayor frecuencia fibrosis avanzada en el índice no invasivos de fibrosis HFS.

En el estudio histológico de nuestros pacientes con EHmet observamos que los pacientes con SM presentan significativamente mayor prevalencia de esteatosis grave con respecto a los pacientes sin SM. Aunque no se alcanzó la significación estadística, observamos que el 76,9% de los pacientes con SM presentan fibrosis en la histología hepática y el 61,5% EHNA comparado con los pacientes sin SM.

### **7.2.8. Papel de la dieta**

Se ha evidenciado que la dieta con patrón mediterráneo ejerce un efecto beneficioso en cuanto al control de los factores de riesgo tanto del síndrome metabólico como de la EHmet (151).

En una cohorte de 203 pacientes biopsiados con EHmet se observó que la adherencia a la dieta mediterránea ejerce un efecto protector contra el desarrollo de EHNA y fibrosis (OR 0,7, IC del 95 % 0,5-0,8) (123).

En nuestros pacientes evaluamos el nivel de adherencia al patrón dietético mediterráneo mediante la utilización de una herramienta de evaluación de dieta mediterránea de 14 ítems que se desarrolló en un estudio español de casos y controles de infarto de miocardio (152). La menor adherencia a la dieta mediterránea se consideró en los pacientes con una puntuación menor o igual a 7 y aquellos con mayores niveles de adherencia (por encima de 8 o 9) se consideraron sujetos que seguían una dieta mediterránea.

Tras realizar el cuestionario mencionado anteriormente en nuestra cohorte, observamos que la adherencia a la dieta mediterránea se asocia con menor riesgo de fibrosis hepática en la histología hepática, de tal manera que el 90% de los pacientes con adherencia a la dieta mediterránea (puntuación > 7 puntos), no presentan fibrosis en la biopsia hepática.

En el estudio del grupo de Aller y cols. observaron resultados similares en una cohorte de pacientes diabéticos, ya que demostraron que la adherencia a la dieta mediterránea es un factor protector de fibrosis hepática (153).

### **7.3. Relación de las pruebas no invasivas de fibrosis hepática con la presencia y severidad de la fibrosis obtenida en la biopsia hepática de nuestra muestra de pacientes con EHmet.**

Como se ha expuesto previamente, realizamos biopsia hepática a 25 (38,5%) de los pacientes con EHmet según criterios clínicos habituales, que corresponden a pacientes con duda diagnóstica o sospecha de enfermedad hepática avanzada por test no invasivos.

En nuestra serie, observamos que, en la biopsia hepática, 13 pacientes (54,2%) presentan EHNA y 15 pacientes (60,8%) fibrosis hepática. Según el estadio de fibrosis: 9 pacientes (36%) mostraron fibrosis leve (F1); 3 pacientes (12%) fibrosis moderada (F2), y 3 pacientes (12%) fibrosis avanzada (F3). No se observó cirrosis (F4) en ningún paciente.

La detección de fibrosis en pacientes con EHmet es fundamental, ya que el grado de fibrosis predice de forma independiente el pronóstico, el desarrollo de complicaciones relacionadas con el hígado, la necesidad de un trasplante hepático y la mortalidad general y relacionada con la enfermedad hepática en pacientes con EHmet (154,155).

La biopsia hepática representa el "patrón oro" para el diagnóstico de la enfermedad y evaluación de la fibrosis. Sin embargo, se trata de una prueba invasiva, no

exenta de riesgos, con variabilidad interobservador y alto coste. Por ello se ha impulsado en los últimos años el desarrollo de estrategias alternativas no invasivas. Las pruebas no invasivas se pueden clasificar en marcadores séricos o modalidades de basadas en la imagen.

Los marcadores o índices no invasivos séricos combinan parámetros clínicos y analíticos para determinar de forma rápida, sencilla, y con bajo coste la severidad de la fibrosis hepática en la EHmet.

Los índices no invasivos de fibrosis FIB-4 y NAFLD-FS son los más validados en nuestro medio, y se trata de herramientas particularmente prometedoras basadas en variables fácilmente disponibles y se pueden calcular de manera sencilla usando calculadoras online que se encuentran disponibles gratuitamente (156). Tanto NAFLD-FS como FIB-4 han sido validados externamente en poblaciones con EHmet, mostrando alta precisión diagnóstica comparado con la biopsia (AUROC alrededor de 0,80) (157). Ambas herramientas tienen buenos valores predictivos negativos y pueden excluir de forma fiable la fibrosis avanzada, identificando así a los pacientes de menor riesgo que no necesitan derivación a atención especializada.

Recientemente se ha validado el índice Hepamet Fibrosis Score (HFS), que ha demostrado una precisión diagnóstica significativamente mayor (AUROC 0,85), en comparación con FIB-4 y NAFLD-FS. Este nuevo índice, ofrece la ventaja de que no se ve afectado por la edad del paciente, el índice de masa corporal, la hipertransaminasemia o la diabetes y además reduce el número de pacientes con resultados indeterminados (79).

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, nos propusimos determinar la exactitud diagnóstica (sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN)) de los índices no invasivos séricos en comparación con la biopsia hepática, con objeto de evaluar su utilización como marcadores no invasivos de fibrosis hepática.

Respecto a la exactitud diagnóstica de los índices no invasivos comparados con la biopsia hepática, concluimos que los índices de fibrosis presentan un alto valor predictivo negativo para descartar fibrosis avanzada, siendo el FIB-4 y HFS los que obtuvieron los valores más altos, con un VPN de 86,6% en ambos casos (tabla 85). Por otra parte, como se ha observado en otros estudios, los 3 índices no invasivos de fibrosis tienen un valor predictivo negativo mayor para la fibrosis avanzada que el valor predictivo positivo correspondiente. Por lo tanto, su mayor utilidad en la práctica clínica sería fundamentalmente para excluir la presencia de fibrosis avanzada.

Posteriormente realizamos una combinación de estos tres índices no invasivos de fibrosis con el objeto de evaluar si la combinación de estos aporta ventajas en cuanto a mayor exactitud diagnóstica. Con la combinación de los tres índices observamos un incremento del valor predictivo negativo que alcanza el 87,5%, por lo que concluimos que la combinación de varios índices no invasivos aumenta la precisión para descartar fibrosis avanzada de los pacientes con EHmet.

En cuanto a las modalidades por imagen para determinar la fibrosis, los métodos de elastografía por ultrasonidos son técnicas fiables, generalizadas y asequibles, siendo

la **elastografía de transición (Fibroscan®)** el método más validado hasta el momento. El Fibroscan® ha demostrado buena precisión para el diagnóstico de estadios avanzados de fibrosis (F3-F4) así como un alto valor predictivo negativo para descartar fibrosis (101).

En nuestro estudio observamos como el Fibroscan® se relaciona significativamente con la presencia de fibrosis hepática en la biopsia de los pacientes con EHmet (tabla 84), de tal manera que ninguno de los pacientes con rigidez hepática <9,6kPa en el Fibroscan® presenta fibrosis en la histología hepática.

Al analizar la exactitud diagnóstica del Fibroscan® comparado con la biopsia hepática, hemos obtenido resultados similares a los encontrados con los índices no invasivos clínico-analíticos, con un alto VPN para descartar fibrosis avanzada (86,6%).

En el trabajo de Kwok y cols. (80) evaluaron 9 estudios con un total de 1047 pacientes con EHmet, informaron de una sensibilidad de la elastografía de transición del 85% y el 92% y especificidad del 83% y el 92% en el diagnóstico de fibrosis avanzada y cirrosis, respectivamente. En otro estudio del grupo de Jiang y col. (158) en el que evaluaron 11 estudios con 1753 pacientes, notificaron un AUROC de 0,92 para el diagnóstico de fibrosis avanzada (sensibilidad del 79 % y especificidad del 89%) y de 0,94 para el diagnóstico de cirrosis hepática (sensibilidad del 90% y especificidad del 91%).

Eddowes y col. (159) realizaron un estudio prospectivo de 426 pacientes que acudieron a realizarse una biopsia hepática por sospecha de EHmet, a los que se realizó elastografía de transición dentro de las dos semanas posteriores a la biopsia. La elastografía en comparación con la biopsia obtuvo un AUROC de 0,77 (IC 95 % 0,72–0,82) para  $F \geq F2$ , de 0,80 (IC 95 % 0,75–0,84) para  $F \geq F3$  y de 0,89 (IC 95 % 0,84–0,93) para  $F = F4$ . Los valores de corte de para  $F \geq F2$ ,  $F \geq F3$  y  $F = F4$  fueron 8,2 kPa, 9,7 kPa y 13,6 kPa, respectivamente.

Por otra parte, otra modalidad de imagen para la determinación de fibrosis en los pacientes con EHmet es la pSWE (*point shear wave elastography*), también conocida como impulso de fuerza de radiación acústica (ARFI) (72). Aunque menos estudiado que el Fibroscan®, también hay varios estudios que evalúan el ARFI en pacientes con EHmet. Aunque los puntos de corte varían en diferentes estudios, una velocidad de onda transversal de aproximadamente 1,34 m/s está estrechamente relacionada con una fibrosis significativa ( $\geq F2$ ) (160). Un metaanálisis reciente de 1147 pacientes con EHmet mostró un AUROC para el diagnóstico de fibrosis en estadio 2, 3 y 4 de 0,89, 0,94 y 0,94 respectivamente (161). Sin embargo, no hay datos disponibles para el seguimiento de los pacientes con EHmet. Por este motivo, el ARFI no está contemplado en las guías actuales para el manejo de EHmet ya que no están suficientemente validados sus puntos de corte.

En nuestros pacientes, no observamos una asociación significativa al comparar los resultados de fibrosis avanzada medida mediante ARFI con la histología hepática.

Además de las técnicas diagnósticas expuestas anteriormente, se han desarrollado otras modalidades como la elastografía por resonancia magnética, que evalúa la fibrosis de forma panorámica en todo el hígado y cuenta con mejor rendimiento en etapas intermedias de fibrosis, aunque su alto coste y escasa disponibilidad hace que se utilice casi exclusivamente con fines de investigación en el momento actual (162).

#### **7.4. Relación entre las pruebas no invasivos de fibrosis hepática**

En nuestro estudio comparamos los índices no invasivos séricos con técnicas de imagen como el Fibroscan®. Observamos una asociación significativa entre la presencia de fibrosis avanzada medida mediante Fibroscan® ( $>9,7$  Kpa) y las puntuaciones de fibrosis avanzada de los tres índices no invasivos NAFLD-FS ( $> -1,455$ ), FIB-4 ( $>0,12$ ) y HFS ( $>1,3$ ), así como de la combinación de los tres índices.

Además, comparamos las dos modalidades de imagen para el estudio de fibrosis hepática que realizamos a nuestros pacientes, el Fibroscan® y ARFI. Observamos que el 83,3% de los pacientes que presentan una rigidez hepática evaluada con Fibroscan® compatible con fibrosis avanzada, también muestran mediciones correspondientes con fibrosis avanzada empleando el ARFI.

A diferencia del Fibroscan®, cuando comparamos el ARFI con los índices no invasivos séricos, no evidenciamos una relación estadísticamente significativa.

Varios estudios han intentado combinar el Fibroscan® y un índice no invasivo como el NAFLD-FS para mejorar la precisión del diagnóstico. Las aplicaciones potenciales de las pruebas combinadas incluyen realizar ambas pruebas (test no invasivo y Fibroscan®) y considerar el diagnóstico confirmado si brindan resultados concordantes; o bien reservar la segunda prueba para cuando los resultados de la primera prueba no son concluyentes. En el estudio de Chan WK y cols. (163) demuestran que el uso del Fibroscan® reservado solo para pacientes con puntuaciones de NAFLD-FS altos e indeterminados reduce el número de pacientes que requieren una biopsia hepática a casi la mitad en comparación con el uso solo del NAFLD-FS, mientras se mantiene la precisión para predecir la fibrosis avanzada. En cambio, la combinación simultánea de ambas pruebas a todos los pacientes no proporciona ninguna ventaja sobre el uso de cualquiera de las pruebas solas.

En este sentido, son necesarios más estudios prospectivos para valorar la utilidad concomitante o secuencial de ambas pruebas.

Por otro lado, las pruebas no invasivas también han demostrado un papel pronóstico en pacientes con EHmet. Un reciente estudio longitudinal mostró que los cambios de NAFLD-FS y FIB-4 a lo largo del tiempo están significativamente asociados con la progresión de la fibrosis, de tal manera que un cambio de unidad en FIB-4 o NAFLD-FS refleja una progresión media del estadio de fibrosis de 0,26 y 0,19, respectivamente (164).

En un estudio longitudinal retrospectivo con una media de seguimiento de 81 meses, tanto el índice NAFLD-FS basal como el FIB-4 predijeron eventos relacionados con el hígado (HR, 2,77 y 1,68, respectivamente) (165)

En otro estudio, la descompensación hepática en pacientes con EHmet se predice de forma independiente mediante la medición de la rigidez hepática basal con elastografía de transición (HR 1,03, IC del 95 % 1,02-1,04,  $p < 0,001$ ), especialmente la rigidez hepática  $> 21$  kPa (HR 3,71, IC del 95 % 1,89-6,78;  $p < 0,001$ ). Además, un incremento en más del 20% respecto a los valores de rigidez hepática de la elastografía de transición basal se relacionan con un aumento de riesgo de descompensación hepática y mayor riesgo de mortalidad (166,167).

## **7.5. Costes asociados al diagnóstico de EHmet**

Se calcularon los costes totales del proceso diagnóstico de los pacientes con EHmet, clasificándolos en dos grupos en función de si se realiza o no biopsia hepática. En los pacientes en los que no se realiza biopsia hepática el coste total del proceso diagnóstico alcanza los 854 euros, frente a los 1422 euros del grupo en el que sí se lleva a cabo la biopsia. Por lo tanto, la realización de la biopsia hepática supone un incremento del 41,2% del presupuesto en comparación con los pacientes sin biopsia hepática.

Es importante destacar la escasa literatura existente acerca de la carga económica de la enfermedad. El grupo de Ghamar-Chehreh y cols.(168) estiman un coste promedio de diagnóstico y tratamiento de pacientes con EHmet de 2.521\$ por persona-año,

constatando que la mayoría de estos pacientes presentan un  $IMC > 25 \text{ Kg/m}^2$ , así como otros factores de riesgo cardiovascular.

En un estudio teórico de evaluación económica (modelo de Markov) (169), concluyen que una intervención intensiva sobre los factores de riesgo de estos pacientes es más efectiva que una atención preventiva (£2.138 por años de vida ajustados por calidad de vida ganada).

Un estudio español publicado recientemente que evalúa el impacto económico de los pacientes con EHmet, pone de manifiesto que los pacientes con fibrosis avanzada asocian un mayor grado de comorbilidad y medicación concomitante, lo cual repercute en unos mayores costes sanitarios para el Sistema Nacional de Salud. El promedio del coste (paciente-año) de los sujetos con fibrosis avanzada corregido por covariables es significativamente superior (1.812 € vs. 1.128 €) (170).

En el estudio de Srivastava y cols. realizaron un análisis de comparación de costes de los métodos no invasivos FIB-4, ELF y Fibroscan®. Compararon 5 escenarios: la atención estándar (escenario 1), FIB-4 para todos los pacientes seguido de la prueba ELF para pacientes con resultados indeterminados (escenario 2), FIB-4 seguido de Fibroscan® para FIB-4 indeterminado (escenario 3), ELF solo (escenario 4) y Fibroscan® solo (escenario 5). Observaron que, durante el período de 1 año, en comparación con la atención estándar, estas estrategias redujeron la tasa relativa de derivación desde la atención primaria al hospital en un 70, 67, 56 y 43% para los escenarios 2, 3, 4 y 5 respectivamente. Se produjo una reducción en los requerimientos

de biopsia hepática, que se tradujo en un ahorro de costes en el primer año por 1000 pacientes derivados de £165.530,04, £150.184,67, £133.505,60 y £68.256,85 para los escenarios 2, 3, 4 y 5 respectivamente. Por lo tanto, concluyen que la adopción de un enfoque de dos niveles mejora la utilización de los recursos (171).

## **7.6. Propuesta de optimización coste eficaz del diagnóstico de la EHmet**

La EHmet es una entidad que requerirá especial atención en los próximos años, dada la asociación del síndrome metabólico y con la epidemia mundialmente creciente de obesidad y DM-2.

En Estados Unidos, se aprecia un aumento progresivo de los pacientes con cirrosis por EHmet de forma que ésta ya representa aproximadamente un tercio de las causas de trasplante hepático (172).

En un estudio epidemiológico reciente realizado en España (173), se fusionaron los conjuntos de datos de una gran cohorte poblacional que incluía datos de ET y otra cohorte de EHNA comprobada por biopsia con datos de ET emparejados de centros terciarios. La prevalencia estimada de EHNA con fibrosis significativa y avanzada (F2-3) y cirrosis en población adulta española fue del 1,33% (95IC 0,29-5,98) y del 0,70% (95IC 0,10-4,95), respectivamente.

En este sentido, la elevada prevalencia de EHmet, la necesidad de diferenciar los diversos grados de afectación hepática, y la limitación diagnóstica de la biopsia hepática como ya hemos comentado, han hecho necesaria la búsqueda de métodos no invasivos para facilitar el diagnóstico que nos permitan optimizar la derivación del paciente a unidades de hepatología, así como a predecir la evolución de la enfermedad.

Los métodos no invasivos se pueden utilizar para identificar pacientes de alto riesgo en la población general. La implementación de programas de detección específicos en atención primaria podría reducir en gran medida el número de pacientes con fibrosis hepática avanzada no diagnosticada, que podría representar el 6-7 % de la población (174)

El objetivo en entornos de atención primaria, frente a poblaciones con baja prevalencia de fibrosis avanzada, es realizar una estratificación de riesgo que oriente la derivación a atención secundaria (162). Los métodos no invasivos como los índices séricos (NAFLD-FS, FIB-4 o HFS) con alto valor predictivo negativo, bajo coste y amplia disponibilidad son la mejor opción para descartar la fibrosis avanzada (175).

Cuando no se pueda excluir la fibrosis avanzada, los pacientes deben ser derivados a atención especializada para la realización de una evaluación adicional mediante una elastografía transitoria y en su caso biopsia hepática.

Mientras que los índices séricos tienen una especificidad subóptima para diagnosticar fibrosis avanzada, Fibroscan® y otras técnicas de elastografía tienen un

mejor rendimiento en el diagnóstico de pacientes con fibrosis avanzada o enfermedad hepática crónica avanzada compensada (72).

Una validación reciente de los puntos de corte de Fibroscan® muestra que los puntos de corte óptimos para excluir o diagnosticar enfermedad hepática avanzada en pacientes con EHmet son < 8 KPa (sensibilidad > 90 %) y > 12 KPa (especificidad = 92 %), respectivamente (176).

Finalmente, los pacientes con Fibroscan®>8 KPa deben de ser derivados a atención especializada para valoración de una biopsia hepática. Los pacientes por debajo del umbral pueden ser seguidos en atención primaria utilizando los índices séricos cada 2-3 años con control de los factores de riesgo y modificaciones en el estilo de vida.

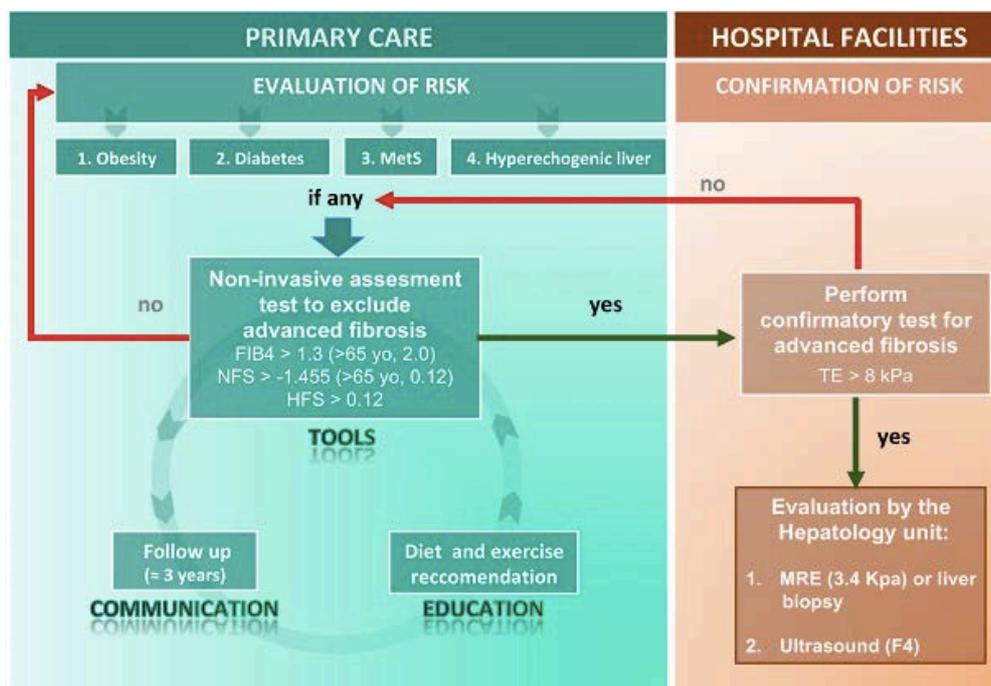


Figura 19. Algoritmo de derivación desde atención primaria a especializada (175)

## Conclusiones

---

## **8. CONCLUSIONES**

## Conclusiones

---

1. La prevalencia de EHmet como causa de hepatopatía crónica en las consultas externas de Aparato Digestivo del Área Este de Valladolid es del 42,7%, por lo que es la causa más frecuente de hepatopatía crónica en nuestro medio por encima de otras etiologías como vírica o alcohólica.

2. Los factores de riesgo asociados a la EHmet en nuestro estudio son la obesidad, dislipemia, HTA, DM-2 y síndrome metabólico. Además, estos factores de riesgo se asocian a formas más severas de la enfermedad.

3. Las técnicas diagnósticas más empleadas para el diagnóstico de la EHmet fueron los índices no invasivos, la ecografía y la elastografía de transición, siendo necesaria la biopsia hepática en un 38,5% de los pacientes. Se observó una excelente concordancia entre los métodos no invasivos y de éstos con la biopsia hepática, que fue necesaria en casos de duda diagnóstica o sospecha de enfermedad hepática avanzada.

4. Los pacientes con los polimorfismos genéticos del PNPLA3, TNF- $\alpha$  y CNR1 presentaron formas más severas de la enfermedad, siendo esta asociación más manifiesta en el caso del polimorfismo PNPLA3, lo que pone de manifiesto el importante papel de la genética en esta enfermedad.

5. La EHmet supone una importante carga de trabajo en las consultas de hepatología, siendo necesarias al menos dos consultas para su diagnóstico. Los métodos no invasivos permiten el diagnóstico en la mayoría de los pacientes, aunque la biopsia

hepática sigue siendo necesaria en algunos casos hasta que dispongamos de otros métodos no invasivos más robustos en especial para el diagnóstico de esteatohepatitis.

6. La mayoría de los pacientes (76%) presentaron formas leves de EHmet (fibrosis no significativa) tanto por métodos no invasivos como por biopsia hepática. Sólo el 12% fueron diagnosticados de fibrosis avanzada ( $F \geq 3$ ). La adherencia a la dieta mediterránea demostró ser un factor protector de fibrosis avanzada.

7. El coste asociado a la atención de pacientes con EHmet varía sustancialmente en función de la realización de biopsia hepática ya que la realización de la misma duplica el coste. Aun así, el coste derivado de la atención de estos pacientes es alto sobre todo teniendo en cuenta su elevada prevalencia. La adecuada atención de estos pacientes desde AP mediante el empleo de métodos no invasivos de diagnóstico es fundamental para optimizar la derivación a atención especializada y disminuir costes al Sistema sanitario.

## **9. ANEXOS**



 <p>HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO C/ Ramón y Cajal, 3 47008 - VALLADOLID</p>	<b>DOCUMENTO APROBACION DEFINITIVA CINV</b>	Código:	FO-P07-12	 <p>Sacyl</p>
		Edición:	02	
		Unidad:	iHCUV	
		Fecha:	13/02/2015	
		Pág.:	1 de 1	

**D. DAVID ANDALUZ OJEDA**, Presidente de la Comisión de Investigación del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, una vez revisado el proyecto:

**Título:** Estudio "Constants". Prevalencia y costes asociados a la EHGA.

**Investigador Principal:** DRA. ROCIO ALLER DE LA FUENTE

**Equipo Investigador:** Dra. Mora Cuadrado, Dr. Pérez Rubio, Dr. López Gómez.

**Servicios Implicados:** Aparato Digestivo y Endocrinología y Nutrición.

Informa que la **Comisión de Investigación** ha decidido:

La **APROBACIÓN DEFINITIVA** del Proyecto.

En Valladolid a, 30 de Noviembre de 2016

El Presidente de la Comisión de Investigación



Fdo.: David Andaluz Ojeda.

El Director Gerente del Hospital Clínico  
Universitario de Valladolid



Fdo.: Francisco Javier Vadillo Olmo

**CINV 16-140**

Observaciones

## Bibliografía

---

## **10. BIBLIOGRAFÍA**

## Bibliografía

---

1. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, George J, Bugianesi E. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018 Jan;15(1):11-20.
2. Romero-Gómez M, Ampuero J. Looking for a new name for non-alcoholic fatty liver disease in Spanish: esteatosis hepática metabólica (EHmet). *Rev Esp Enferm Dig*. 2021 Mar;113(3):161-163.
3. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc*. 1980 Jul;55(7):434-8.
4. Nalbantoglu IL, Brunt EM. Role of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014 Jul 21;20(27):9026-37.
5. European Association for the Study of the Liver (EASL); European Association for the Study of Diabetes (EASD); European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2016 Jun;64(6):1388-402.
6. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002 May;122(6):1649-57.

7. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011 Aug;34(3):274-85.
8. Caballería L, Pera G, Auladell MA, Torán P, Muñoz L, Miranda D, Alumà A, Casas JD, Sánchez C, Gil D, Aubà J, Tibau A, Canut S, Bernad J, Aizpurua MM. Prevalence and factors associated with the presence of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population in Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2010 Jan;22(1):24-32.
9. 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.* 2016 Jul;64(1):73-84.
10. Marchesini G, Mazzotti A. NAFLD incidence and remission: only a matter of weight gain and weight loss? *J Hepatol.* 2015 Jan;62(1):15-7.
11. Brea A, Puzo J. Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk. *Int J Cardiol.* 2013 Aug 20;167(4):1109-17.
12. Papandreou D, Rousso I, Mavromichalis I. Update on non-alcoholic fatty liver disease in children. *Clin Nutr.* 2007 Aug;26(4):409-15.

13. Lim HW, Bernstein DE. Risk Factors for the Development of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis, Including Genetics. *Clin Liver Dis.* 2018 Feb;22(1):39-57.
14. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology.* 2004 Dec;40(6):1387-95.
15. Trépo E, Nahon P, Bontempi G, Valenti L, Falletti E, Nischalke HD, Hamza S, Corradini SG, Burza MA, Guyot E, Donati B, Spengler U, Hillon P, Toniutto P, Henrion J, Franchimont D, Devière J, Mathurin P, Moreno C, Romeo S, Deltenre P. Association between the PNPLA3 (rs738409 C>G) variant and hepatocellular carcinoma: Evidence from a meta-analysis of individual participant data. *Hepatology.* 2014 Jun;59(6):2170-7.
16. Aller R, Laserna C, Rojo MÁ, Mora N, García Sánchez C, Pina M, Sigüenza R, Durà M, Primo D, Izaola O, de Luis D. Role of the PNPLA3 polymorphism rs738409 on silymarin + vitamin E response in subjects with non-alcoholic fatty liver disease. *Rev Esp Enferm Dig.* 2018 Oct;110(10):634-640.
17. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, Boerwinkle E, Cohen JC, Hobbs HH. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet.* 2008 Dec;40(12):1461-5.

18. Krawczyk M, Portincasa P, Lammert F. PNPLA3-associated steatohepatitis: toward a gene-based classification of fatty liver disease. *Semin Liver Dis.* 2013 Nov;33(4):369-79.
19. Liu YL, Reeves HL, Burt AD, Tiniakos D, McPherson S, Leathart JB, Allison ME, Alexander GJ, Piguet AC, Anty R, Donaldson P, Aithal GP, Francque S, Van Gaal L, Clement K, Ratziu V, Dufour JF, Day CP, Daly AK, Anstee QM. TM6SF2 rs58542926 influences hepatic fibrosis progression in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nat Commun.* 2014 Jun 30;5:4309.
20. Kahali B, Liu YL, Daly AK, Day CP, Anstee QM, Speliotes EK. TM6SF2: catch-22 in the fight against nonalcoholic fatty liver disease and cardiovascular disease? *Gastroenterology.* 2015 Apr;148(4):679-84.
21. Bril F, Cusi K. Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients With Type 2 Diabetes: A Call to Action. *Diabetes Care.* 2017 Mar;40(3):419-430.
22. Younossi ZM, Golabi P, de Avila L, Paik JM, Srishord M, Fukui N, Qiu Y, Burns L, Afendy A, Nader F. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol.* 2019 Oct;71(4):793-801.
23. Ampuero J, Aller R, Gallego-Durán R, Crespo J, Calleja JL, García-Monzón C, Gómez-Camarero J, Caballería J, Lo Iacono O, Ibañez L, García-Samaniego J, Albillos A,

- Francés R, Fernández-Rodríguez C, Diago M, Soriano G, Andrade RJ, Latorre R, Jorquera F, Morillas RM, Escudero D, Estévez P, Guerra MH, Augustín S, Banales JM, Aspichueta P, Benlloch S, Rosales JM, Salmerón J, Turnes J, Romero Gómez M; HEPAmet Registry. Significant fibrosis predicts new-onset diabetes mellitus and arterial hypertension in patients with NASH. *J Hepatol.* 2020 Jul;73(1):17-25.
24. Milić S, Lulić D, Štimac D. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations. *World J Gastroenterol.* 2014 Jul 28;20(28):9330-7.
25. Machado M, Marques-Vidal P, Cortez-Pinto H. Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery. *J Hepatol.* 2006 Oct;45(4):600-6.
26. Rosato V, Masarone M, Dallio M, Federico A, Aglitti A, Persico M. NAFLD and Extra-Hepatic Comorbidities: Current Evidence on a Multi-Organ Metabolic Syndrome. *Int J Environ Res Public Health.* 2019 Sep 14;16(18):3415.
27. Kelley CE, Brown AJ, Diehl AM, Setji TL. Review of nonalcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome. *World J Gastroenterol.* 2014 Oct 21;20(39):14172-84.
28. Cerda C, Pérez-Ayuso RM, Riquelme A, Soza A, Villaseca P, Sir-Petermann T, Espinoza M, Pizarro M, Solis N, Miquel JF, Arrese M. Nonalcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome. *J Hepatol.* 2007 Sep;47(3):412-7.

29. Vgontzas AN, Bixler EO, Chrousos GP. Sleep apnea is a manifestation of the metabolic syndrome. *Sleep Med Rev.* 2005 Jun;9(3):211-24.
30. Keijer J, van Schothorst EM. Adipose tissue failure and mitochondria as a possible target for improvement by bioactive food components. *Curr Opin Lipidol.* 2008 Feb;19(1):4-10.
31. Morlán-Coarasa MJ, Arias-Loste MT, Ortiz-García de la Foz V, Martínez-García O, Alonso-Martín C, Crespo J, Romero-Gómez M, Fábrega E, Crespo-Facorro B. Incidence of non-alcoholic fatty liver disease and metabolic dysfunction in first episode schizophrenia and related psychotic disorders: a 3-year prospective randomized interventional study. *Psychopharmacology (Berl).* 2016 Dec;233(23-24):3947-3952.
32. Candía R, Ruiz A, Torres-Robles R, Chávez-Tapia N, Méndez-Sánchez N, Arrese M. Risk of non-alcoholic fatty liver disease in patients with psoriasis: a systematic review and meta-analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015 Apr;29(4):656-62.
33. Phan K, Onggo J, Charlton O, Smith SD. Relationship between psoriasis and non-alcoholic fatty liver disease - Updated systematic review and adjusted meta-analysis. *Australas J Dermatol.* 2019 Nov;60(4):e352-e355.
34. Carrascosa JM, Bonanad C, Dauden E, Botella R, Olveira-Martín A; en nombre del Grupo de Trabajo en Inflamación Sistémica en Psoriasis. Psoriasis and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Actas Dermosifiliogr.* 2017 Jul-Aug;108(6):506-514.

35. Durán-Vian C, Arias-Loste MT, Hernández JL, Fernández V, González M, Iruzubieta P, Rasines L, González-Vela C, Vaqué JP, Blanco R, Crespo J, González-López MA. High prevalence of non-alcoholic fatty liver disease among hidradenitis suppurativa patients independent of classic metabolic risk factors. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019 Nov;33(11):2131-2136.
36. Restellini S, Chazouillères O, Frossard JL. Hepatic manifestations of inflammatory bowel diseases. *Liver Int*. 2017 Apr;37(4):475-489.
37. Lin A, Roth H, Anyane-Yeboa A, Rubin DT, Paul S. Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients With Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis*. 2021 May 17;27(6):947-955.
38. Saroli Palumbo C, Restellini S, Chao CY, Aruljothy A, Lemieux C, Wild G, Afif W, Lakatos PL, Bitton A, Cocciolillo S, Ghali P, Bessissow T, Sebastiani G. Screening for Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Inflammatory Bowel Diseases: A Cohort Study Using Transient Elastography. *Inflamm Bowel Dis*. 2019 Jan 1;25(1):124-133.
39. Diehl AM, Day C. Cause, Pathogenesis, and Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2017 Nov 23;377(21):2063-2072.
40. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015 Apr;13(4):643-54.

41. Klair JS, Yang JD, Abdelmalek MF, Guy CD, Gill RM, Yates K, Unalp-Arida A, Lavine JE, Clark JM, Diehl AM, Suzuki A; Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. A longer duration of estrogen deficiency increases fibrosis risk among postmenopausal women with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2016 Jul;64(1):85-91.
42. Pelusi S, Cespiati A, Rametta R, Pennisi G, Mannisto V, Rosso C, Baselli G, Dongiovanni P, Fracanzani AL, Badiali S, Maggioni M, Craxi A, Fargion S, Prati D, Nobili V, Bugianesi E, Romeo S, Pihlajamaki J, Petta S, Valenti L. Prevalence and Risk Factors of Significant Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Without Steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019 Oct;17(11):2310-2319.e6.
43. Anstee QM, Targher G, Day CP. Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013 Jun;10(6):330-44.
44. Zoppini G, Fedeli U, Gennaro N, Saugo M, Targher G, Bonora E. Mortality from chronic liver diseases in diabetes. *Am J Gastroenterol*. 2014 Jul;109(7):1020-5.
45. Negro F. Natural history of NASH and HCC. *Liver Int*. 2020 Feb;40 Suppl 1:72-76.
46. Huang DQ, El-Serag HB, Loomba R. Global epidemiology of NAFLD-related HCC: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021 Apr;18(4):223-238.

47. Younossi ZM, Otgonsuren M, Henry L, Venkatesan C, Mishra A, Erario M, Hunt S. Association of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) with hepatocellular carcinoma (HCC) in the United States from 2004 to 2009. *Hepatology*. 2015 Dec;62(6):1723-30.
48. Stine JG, Wentworth BJ, Zimmet A, Rinella ME, Loomba R, Caldwell SH, Argo CK. Systematic review with meta-analysis: risk of hepatocellular carcinoma in non-alcoholic steatohepatitis without cirrhosis compared to other liver diseases. *Aliment Pharmacol Ther*. 2018 Oct;48(7):696-703.
49. Ong JP, Pitts A, Younossi ZM. Increased overall mortality and liver-related mortality in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2008 Oct;49(4):608-12.
50. Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2010 Sep 30;363(14):1341-50.
51. Lazarus J, Calleja JL, Crespo J, Romero M, Agustín S, Berenguer M, et al. EHGNA. Enfermedad de hígado graso no alcohólico: un estudio integral Asociación Española para el Estudio del Hígado. Madrid: Fundación Gaspar Casal; 2021.
52. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology*. 1998 Apr;114(4):842-5.

53. Pérez-Aguilar F. Etiopatogenia de la esteatohepatitis no alcohólica [Etiopathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis]. *Gastroenterol Hepatol*. 2005 Aug-Sep;28(7):396-406. Spanish.
54. Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology*. 2010 Nov;52(5):1836-46.
55. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*. 2016 Aug;65(8):1038-48.
56. Pierantonelli I, Svegliati-Baroni G. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Basic Pathogenetic Mechanisms in the Progression From NAFLD to NASH. *Transplantation*. 2019 Jan;103(1):e1-e13.
57. Zhang XQ, Xu CF, Yu CH, Chen WX, Li YM. Role of endoplasmic reticulum stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014 Feb 21;20(7):1768-76.
58. Szabo G, Petrasek J. Inflammasome activation and function in liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015 Jul;12(7):387-400.
59. Gaul S, Leszczynska A, Alegre F, Kaufmann B, Johnson CD, Adams LA, Wree A, Damm G, Seehofer D, Calvente CJ, Povero D, Kisseleva T, Eguchi A, McGeough MD, Hoffman HM, Pelegrin P, Laufs U, Feldstein AE. Hepatocyte pyroptosis and release of

- inflammasome particles induce stellate cell activation and liver fibrosis. *J Hepatol.* 2021 Jan;74(1):156-167.
60. Tsochatzis EA, Papatheodoridis GV, Archimandritis AJ. Adipokines in nonalcoholic steatohepatitis: from pathogenesis to implications in diagnosis and therapy. *Mediators Inflamm.* 2009;2009:831670.
61. Tsochatzis E, Papatheodoridis GV, Hadziyannis E, Georgiou A, Kafiri G, Tiniakos DG, Manesis EK, Archimandritis AJ. Serum adipokine levels in chronic liver diseases: association of resistin levels with fibrosis severity. *Scand J Gastroenterol.* 2008;43(9):1128-36.
62. Tilg H, Hotamisligil GS. Nonalcoholic fatty liver disease: Cytokine-adipokine interplay and regulation of insulin resistance. *Gastroenterology.* 2006 Sep;131(3):934-45.
63. Turnbaugh PJ, Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Knight R, Gordon JI. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Sci Transl Med.* 2009 Nov 11;1(6):6ra14.
64. Duarte SMB, Stefano JT, Oliveira CP. Microbiota and nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis (NAFLD/NASH). *Ann Hepatol.* 2019 May-Jun;18(3):416-421.

65. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, Harrison SA, Brunt EM, Sanyal AJ. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2018 Jan;67(1):328-357.
66. Martín-Domínguez V, González-Casas R, Mendoza-Jiménez-Ridruejo J, García-Buey L, Moreno-Otero R. Pathogenesis, diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Rev Esp Enferm Dig*. 2013 Aug;105(7):409-20.
67. Fedchuk L, Nascimbeni F, Pais R, Charlotte F, Housset C, Ratziu V; LIDO Study Group. Performance and limitations of steatosis biomarkers in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014 Nov;40(10):1209-22.
68. Tafur Sánchez CN, Durá Gil M, Alemán Domínguez Del Río A, Hernández Pérez CM, Mora Cuadrado N, de la Cuesta SG, Primo Martín D, de Luis Román D, de la Fuente RA. The practical utility of non-invasive indices in metabolic hepatic steatosis. *Endocrinol Diabetes Nutr (Engl Ed)*. 2022 Jun-Jul;69(6):418-425.
69. Hernaez R, Lazo M, Bonekamp S, Kamel I, Brancati FL, Guallar E, Clark JM. Diagnostic accuracy and reliability of ultrasonography for the detection of fatty liver: a meta-analysis. *Hepatology*. 2011 Sep 2;54(3):1082-1090.

70. Castera L, Friedrich-Rust M, Loomba R. Noninvasive Assessment of Liver Disease in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2019 Apr;156(5):1264-1281.e4.
71. Karlas T, Petroff D, Sasso M, Fan JG, Mi YQ, de Lédinghen V, Kumar M, Lupsor-Platon M, Han KH, Cardoso AC, Ferraioli G, Chan WK, Wong VW, Myers RP, Chayama K, Friedrich-Rust M, Beaugrand M, Shen F, Hiriart JB, Sarin SK, Badea R, Jung KS, Marcellin P, Filice C, Mahadeva S, Wong GL, Crotty P, Masaki K, Bojunga J, Bedossa P, Keim V, Wiegand J. Individual patient data meta-analysis of controlled attenuation parameter (CAP) technology for assessing steatosis. *J Hepatol*. 2017 May;66(5):1022-1030.
72. Miele L, Zocco MA, Pizzolante F, De Matthaeis N, Ainora ME, Liguori A, Gasbarrini A, Grieco A, Rapaccini G. Use of imaging techniques for non-invasive assessment in the diagnosis and staging of non-alcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2020 Nov;112:154355.
73. Boudinaud C, Abergel A, Joubert-Zakeyh J, Fontarensky M, Pereira B, Chauveau B, Garcier JM, Chabrot P, Boyer L, Magnin B. Quantification of steatosis in alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease: Evaluation of four MR techniques versus biopsy. *Eur J Radiol*. 2019 Sep;118:169-174.
74. Middleton MS, Heba ER, Hooker CA, Bashir MR, Fowler KJ, Sandrasegaran K, Brunt EM, Kleiner DE, Doo E, Van Natta ML, Lavine JE, Neuschwander-Tetri BA, Sanyal A,

- Loomba R, Sirlin CB; NASH Clinical Research Network. Agreement Between Magnetic Resonance Imaging Proton Density Fat Fraction Measurements and Pathologist-Assigned Steatosis Grades of Liver Biopsies From Adults With Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2017 Sep;153(3):753-761.
75. Cusi K, Chang Z, Harrison S, Lomonaco R, Bril F, Orsak B, Ortiz-Lopez C, Hecht J, Feldstein AE, Webb A, Louden C, Goros M, Tio F. Limited value of plasma cytokeratin-18 as a biomarker for NASH and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2014 Jan;60(1):167-74.
76. Alonso C, Fernández-Ramos D, Varela-Rey M, Martínez-Arranz I, Navasa N, Van Liempd SM, Lavín Trueba JL, Mayo R, Ilisso CP, de Juan VG, Iruarrizaga-Lejarreta M, delaCruz-Villar L, Mincholé I, Robinson A, Crespo J, Martín-Duce A, Romero-Gómez M, Sann H, Platon J, Van Eyk J, Aspichueta P, Noureddin M, Falcón-Pérez JM, Anguita J, Aransay AM, Martínez-Chantar ML, Lu SC, Mato JM. Metabolomic Identification of Subtypes of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2017 May;152(6):1449-1461.e7.
77. Gallego-Durán R, Cerro-Salido P, Gomez-Gonzalez E, Pareja MJ, Ampuero J, Rico MC, Aznar R, Vilar-Gomez E, Bugianesi E, Crespo J, González-Sánchez FJ, Aparcero R, Moreno I, Soto S, Arias-Loste MT, Abad J, Ranchal I, Andrade RJ, Calleja JL, Pastrana M, Iacono OL, Romero-Gómez M. Imaging biomarkers for steatohepatitis and fibrosis detection in non-alcoholic fatty liver disease. *Sci Rep*. 2016 Aug 12;6:31421.

78. European Association for the Study of the Liver. Electronic address: easloffice@easloffice.eu; Clinical Practice Guideline Panel; Chair:; EASL Governing Board representative:; Panel members:.. EASL Clinical Practice Guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis - 2021 update. *J Hepatol.* 2021 Sep;75(3):659-689.
79. Ampuero J, Pais R, Aller R, Gallego-Durán R, Crespo J, García-Monzón C, Boursier J, Vilar E, Petta S, Zheng MH, Escudero D, Calleja JL, Aspichueta P, Diago M, Rosales JM, Caballería J, Gómez-Camarero J, Lo Iacono O, Benlloch S, Albillos A, Turnes J, Banales JM, Ratziu V, Romero-Gómez M; HEPAmet Registry. Development and Validation of Hepamet Fibrosis Scoring System-A Simple, Noninvasive Test to Identify Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease With Advanced Fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2020 Jan;18(1):216-225.e5.
80. Kwok R, Tse YK, Wong GL, Ha Y, Lee AU, Ngu MC, Chan HL, Wong VW. Systematic review with meta-analysis: non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease-the role of transient elastography and plasma cytokeratin-18 fragments. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014 Feb;39(3):254-69.
81. Shili-Masmoudi S, Wong GL, Hiriart JB, Liu K, Chermak F, Shu SS, Foucher J, Tse YK, Bernard PH, Yip TC, Merrouche W, Chan HL, Wong VW, de Lédinghen V. Liver stiffness measurement predicts long-term survival and complications in non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* 2020 Mar;40(3):581-589.

82. Petta S, Vanni E, Bugianesi E, Di Marco V, Cammà C, Cabibi D, Mezzabotta L, Craxì A. The combination of liver stiffness measurement and NAFLD fibrosis score improves the noninvasive diagnostic accuracy for severe liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* 2015 May;35(5):1566-73.
83. Patel K, Wilder J. Fibroscan. *Clin Liver Dis (Hoboken).* 2014 Dec 9;4(5):97-101.
84. Castera L. Noninvasive Evaluation of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Semin Liver Dis.* 2015 Aug;35(3):291-303.
85. Ferraioli G, Tinelli C, Dal Bello B, Zicchetti M, Filice G, Filice C; Liver Fibrosis Study Group. Accuracy of real-time shear wave elastography for assessing liver fibrosis in chronic hepatitis C: a pilot study. *Hepatology.* 2012 Dec;56(6):2125-33.
86. Herrmann E, de Lédinghen V, Cassinotto C, Chu WC, Leung VY, Ferraioli G, Filice C, Castera L, Vilgrain V, Ronot M, Dumortier J, Guibal A, Pol S, Trebicka J, Jansen C, Strassburg C, Zheng R, Zheng J, Francque S, Vanwolleghem T, Vonghia L, Manesis EK, Zoumpoulis P, Sporea I, Thiele M, Krag A, Cohen-Bacrie C, Criton A, Gay J, Deffieux T, Friedrich-Rust M. Assessment of biopsy-proven liver fibrosis by two-dimensional shear wave elastography: An individual patient data-based meta-analysis. *Hepatology.* 2018 Jan;67(1):260-272.

87. Wong VW, Adams LA, de Lédighen V, Wong GL, Sookoian S. Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH - current progress and future promise. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018 Aug;15(8):461-478.
88. Hsu C, Caussy C, Imajo K, Chen J, Singh S, Kaulback K, Le MD, Hooker J, Tu X, Bettencourt R, Yin M, Sirlin CB, Ehman RL, Nakajima A, Loomba R. Magnetic Resonance vs Transient Elastography Analysis of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Pooled Analysis of Individual Participants. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019 Mar;17(4):630-637.e8.
89. Yin M, Talwalkar JA, Glaser KJ, Manduca A, Grimm RC, Rossman PJ, Fidler JL, Ehman RL. Assessment of hepatic fibrosis with magnetic resonance elastography. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007 Oct;5(10):1207-1213.e2.
90. Papatheodoridi M, Cholongitas E. Diagnosis of Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): Current Concepts. *Curr Pharm Des*. 2018;24(38):4574-4586.
91. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, Liu YC, Torbenson MS, Unalp-Arida A, Yeh M, McCullough AJ, Sanyal AJ; Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005 Jun;41(6):1313-21.

92. Kleiner DE, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: pathologic patterns and biopsy evaluation in clinical research. *Semin Liver Dis.* 2012 Feb;32(1):3-13.
93. 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.* 2014 Aug;60(2):565-75.
94. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, Gómez-Gracia E, Ruiz-Gutiérrez V, Fiol M, Lapetra J, Lamuela-Raventos RM, Serra-Majem L, Pintó X, Basora J, Muñoz MA, Sorlí JV, Martínez JA, Martínez-González MA. Retraction and Republication: Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet. *N Engl J Med* 2013;368:1279-90. *N Engl J Med.* 2018 Jun 21;378(25):2441-2442.
95. 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.* 2015 Dec 1;32(6):2518-24.
96. Chen X, Li L, Liu X, Luo R, Liao G, Li L, Liu J, Cheng J, Lu Y, Chen Y. Oleic acid protects saturated fatty acid mediated lipotoxicity in hepatocytes and rat of non-alcoholic steatohepatitis. *Life Sci.* 2018 Jun 15;203:291-304.

97. Leoni S, Tovoli F, Napoli L, Serio I, Ferri S, Bolondi L. Current guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review with comparative analysis. *World J Gastroenterol*. 2018 Aug 14;24(30):3361-3373.
98. Katsagoni CN, Georgoulis M, Papatheodoridis GV, Panagiotakos DB, Kontogianni MD. Effects of lifestyle interventions on clinical characteristics of patients with non-alcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Metabolism*. 2017 Mar;68:119-132.
99. Hashida R, Kawaguchi T, Bekki M, Omoto M, Matsuse H, Nago T, Takano Y, Ueno T, Koga H, George J, Shiba N, Torimura T. Aerobic vs. resistance exercise in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review. *J Hepatol*. 2017 Jan;66(1):142-152.
100. Fakhry TK, Mhaskar R, Schwitalla T, Muradova E, Gonzalvo JP, Murr MM. Bariatric surgery improves nonalcoholic fatty liver disease: a contemporary systematic review and meta-analysis. *Surg Obes Relat Dis*. 2019 Mar;15(3):502-511.
101. Aller R, Fernández-Rodríguez C, Lo Iacono O, Bañares R, Abad J, Carrión JA, García-Monzón C, Caballería J, Berenguer M, Rodríguez-Perálvarez M, Miranda JL, Vilar-Gómez E, Crespo J, García-Cortés M, Reig M, Navarro JM, Gallego R, Genescà J, Arias-Loste MT, Pareja MJ, Albillos A, Muntané J, Jorquera F, Solà E, Hernández-Guerra M, Rojo MÁ, Salmerón J, Caballería L, Diago M, Molina E, Bataller R, Romero-Gómez M. Consensus document. Management of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Clinical practice guideline. *Gastroenterol Hepatol*. 2018 May;41(5):328-349.

102. Espinet Coll E, Vila Lolo C, Díaz Galán P, Gómez Valero JA, Bacchiddu S, Quintana Tomás C, Irigoyen D, Gunnard K, Juan-Creix Comamala A. Bariatric and metabolic endoscopy in the handling of fatty liver disease. A new emerging approach? *Rev Esp Enferm Dig.* 2019 Apr;111(4):283-293.
103. Hadefti A, Arvanitakis M, Huberty V, Devière J. Metabolic endoscopy: Today's science-tomorrow's treatment. *United European Gastroenterol J.* 2020 Jul;8(6):685-694.
104. Salomone F, Sharaiha RZ, Boškoski I. Endoscopic bariatric and metabolic therapies for non-alcoholic fatty liver disease: Evidence and perspectives. *Liver Int.* 2020 Jun;40(6):1262-1268.
105. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM, Neuschwander-Tetri BA, Lavine JE, Tonascia J, Unalp A, Van Natta M, Clark J, Brunt EM, Kleiner DE, Hoofnagle JH, Robuck PR; NASH CRN. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med.* 2010 May 6;362(18):1675-85.
106. Belfort R, Harrison SA, Brown K, Darland C, Finch J, Hardies J, Balas B, Gastaldelli A, Tio F, Pulcini J, Berria R, Ma JZ, Dwivedi S, Havranek R, Fincke C, DeFronzo R, Bannayan GA, Schenker S, Cusi K. A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med.* 2006 Nov 30;355(22):2297-307.
107. Reimer KC, Wree A, Roderburg C, Tacke F. New drugs for NAFLD: lessons from basic models to the clinic. *Hepatol Int.* 2020 Jan;14(1):8-23.

108. Jeong SW. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Drug Revolution Is Coming. *Diabetes Metab J*. 2020 Oct;44(5):640-657.
109. Shen B, Lu LG. Efficacy and safety of drugs for nonalcoholic steatohepatitis. *J Dig Dis*. 2021 Feb;22(2):72-82.
110. Grunau PD, Arneja S, Leith JM. A Randomized Clinical Trial to Assess the Clinical Effectiveness of a Measured Objective Tensioning Device in Hamstring Anterior Cruciate Ligament Reconstruction. *Am J Sports Med*. 2016 Jun;44(6):1482-6.
111. Newsome PN, Buchholtz K, Cusi K, Linder M, Okanou T, Ratziu V, Sanyal AJ, Sejling AS, Harrison SA; NN9931-4296 Investigators. A Placebo-Controlled Trial of Subcutaneous Semaglutide in Nonalcoholic Steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2021 Mar 25;384(12):1113-1124.
112. Malik SM, deVera ME, Fontes P, Shaikh O, Ahmad J. Outcome after liver transplantation for NASH cirrhosis. *Am J Transplant*. 2009 Apr;9(4):782-93.
113. Houlihan DD, Armstrong MJ, Davidov Y, Hodson J, Nightingale P, Rowe IA, Paris S, Gunson BK, Bramhall SB, Mutimer DJ, Neuberger JM, Newsome PN. Renal function in patients undergoing transplantation for nonalcoholic steatohepatitis cirrhosis: time to reconsider immunosuppression regimens? *Liver Transpl*. 2011 Nov;17(11):1292-8.

114. 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*. 2014 Mar;12(3):394-402.e1.
115. Iqbal U, Perumpail BJ, Akhtar D, Kim D, Ahmed A. The Epidemiology, Risk Profiling and Diagnostic Challenges of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Medicines (Basel)*. 2019 Mar 18;6(1):41.
116. Yang JD, Abdelmalek MF, Pang H, Guy CD, Smith AD, Diehl AM, Suzuki A. Gender and menopause impact severity of fibrosis among patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2014 Apr;59(4):1406-14.
117. Anstee QM, Day CP. The Genetics of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Spotlight on PNPLA3 and TM6SF2. *Semin Liver Dis*. 2015 Aug;35(3):270-90.
118. Mancina RM, Dongiovanni P, Petta S, Pingitore P, Meroni M, Rametta R, Borén J, Montalcini T, Pujia A, Wiklund O, Hindy G, Spagnuolo R, Motta BM, Pipitone RM, Craxì A, Fargion S, Nobili V, Käkälä P, Kärjä V, Männistö V, Pihlajamäki J, Reilly DF, Castro-Perez J, Kozlitina J, Valenti L, Romeo S. The MBOAT7-TMC4 Variant rs641738 Increases Risk of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Individuals of European Descent. *Gastroenterology*. 2016 May;150(5):1219-1230.e6.

119. De Luis DA, Aller R, Izaola O, Romero E. Association of the TNF-alpha -308 G/A polymorphisms with metabolic responses secondary to a high protein/low carbohydrate versus a standard hypocaloric diet. *Nutr Hosp.* 2016 Jun 30;33(3):267.
120. De Luis DA, González Sagrado M, Aller R, Conde R, Izaola O, de la Fuente B, et al. Papel del polimorfismo G1359A del gen del receptor endocanabinoide tipo 1 (CNR1) en la perdida de peso y adipocitoquinas tras una dieta hipocalórica. *Nutr. Hosp.* 2011;26(2).
121. 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.* 2011 Jun;53(6):1883-94.
122. Martínez-Montoro JI, Cornejo-Pareja I, Gómez-Pérez AM, Tinahones FJ. Impact of Genetic Polymorphism on Response to Therapy in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Nutrients.* 2021 Nov 15;13(11):4077.
123. Aller R, Burgueño Gomez B, Sigüenza R, Fernández-Rodríguez C, Fernández N, Antolín B, Durà M, Pina M, Lorenzo S, García C, de Luis Román D. Comparative study of overweight and obese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Rev Esp Enferm Dig.* 2019 Apr;111(4):256-263.
124. Crespo J, Cayón A, Fernández-Gil P, Hernández-Guerra M, Mayorga M, Domínguez-Díez A, Fernández-Escalante JC, Pons-Romero F. Gene expression of tumor necrosis

factor alpha and TNF-receptors, p55 and p75, in nonalcoholic steatohepatitis patients. *Hepatology*. 2001 Dec;34(6):1158-63.

125. Aller R, de Luis DA, Izaola O, González Sagrado M, Conde R, Alvarez Gago T, Pacheco D, González JM, Velasco MC. G308A polymorphism of TNF-alpha gene is associated with insulin resistance and histological changes in non alcoholic fatty liver disease patients. *Ann Hepatol*. 2010 Oct-Dec;9(4):439-44.
126. de Luis DA, Aller R, Izaola O, Díaz Soto G, López Gómez JJ, Gómez Hoyos E, Torres B, Villar A, Romero E. Effects of a High-Protein/Low-Carbohydrate versus a Standard Hypocaloric Diet on Weight and Cardiovascular Risk Factors during 9 Months: Role of a Genetic Variation in the Cannabinoid Receptor Gene (CNR1) (G1359A Polymorphism). *Ann Nutr Metab*. 2015;66(2-3):125-131.
127. Zelber-Sagi S, Lotan R, Shlomai A, Webb M, Harrari G, Buch A, Nitzan Kaluski D, Halpern Z, Oren R. Predictors for incidence and remission of NAFLD in the general population during a seven-year prospective follow-up. *J Hepatol*. 2012 May;56(5):1145-1151.
128. Rocha PM, Barata JT, Minderico CS, Silva AM, Teixeira PJ, Sardinha LB. Visceral abdominal and subfascial femoral adipose tissue have opposite associations with liver fat in overweight and obese premenopausal caucasian women. *J Lipids*. 2011;2011:154672.

129. Leung JC, Loong TC, Wei JL, Wong GL, Chan AW, Choi PC, Shu SS, Chim AM, Chan HL, Wong VW. Histological severity and clinical outcomes of nonalcoholic fatty liver disease in nonobese patients. *Hepatology*. 2017 Jan;65(1):54-64.
130. Kasper P, Martin A, Lang S, Kütting F, Goeser T, Demir M, Steffen HM. NAFLD and cardiovascular diseases: a clinical review. *Clin Res Cardiol*. 2021 Jul;110(7):921-937.
131. Aneni EC, Oni ET, Martin SS, Blaha MJ, Agatston AS, Feldman T, Veledar E, Conceicao RD, Carvalho JA, Santos RD, Nasir K. Blood pressure is associated with the presence and severity of nonalcoholic fatty liver disease across the spectrum of cardiometabolic risk. *J Hypertens*. 2015 Jun;33(6):1207-14.
132. Khan RS, Bril F, Cusi K, Newsome PN. Modulation of Insulin Resistance in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology*. 2019 Aug;70(2):711-724.
133. Gupte P, Amarapurkar D, Agal S, Baijal R, Kulshrestha P, Pramanik S, Patel N, Madan A, Amarapurkar A, Hafeezunnisa. Non-alcoholic steatohepatitis in type 2 diabetes mellitus. *J Gastroenterol Hepatol*. 2004 Aug;19(8):854-8.
134. Targher G, Bertolini L, Padovani R, Rodella S, Zoppini G, Pichiri I, Sorgato C, Zenari L, Bonora E. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *J Hepatol*. 2010 Oct;53(4):713-8.

135. Aller de la Fuente R, Mora Cuadrado N, Tafur C, López Gómez JJ, Gómez de la Cuesta S, García Sánchez MC, Antolin Melero B, de Luis Román DA. Histopathological differences in patients with biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease with and without type 2 diabetes. *Endocrinol Diabetes Nutr (Engl Ed)*. 2018 Jun-Jul;65(6):354-360.
136. Jarvis H, Craig D, Barker R, Spiers G, Stow D, Anstee QM, Hanratty B. Metabolic risk factors and incident advanced liver disease in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): A systematic review and meta-analysis of population-based observational studies. *PLoS Med*. 2020 Apr 30;17(4):e1003100.
137. Katsiki N, Mikhailidis DP, Mantzoros CS. Non-alcoholic fatty liver disease and dyslipidemia: An update. *Metabolism*. 2016 Aug;65(8):1109-23.
138. Gaggini M, Morelli M, Buzzigoli E, DeFronzo RA, Bugianesi E, Gastaldelli A. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease. *Nutrients*. 2013 May 10;5(5):1544-60.
139. Souza MR, Diniz Mde F, Medeiros-Filho JE, Araújo MS. Metabolic syndrome and risk factors for non-alcoholic fatty liver disease. *Arq Gastroenterol*. 2012 Jan-Mar;49(1):89-96.

140. Kantartzis K, Rittig K, Cegan A, Machann J, Schick F, Balletshofer B, Fritsche A, Schleicher E, Häring HU, Stefan N. Fatty liver is independently associated with alterations in circulating HDL2 and HDL3 subfractions. *Diabetes Care*. 2008 Feb;31(2):366-8.
141. Speliotes EK, Massaro JM, Hoffmann U, Vasani RS, Meigs JB, Sahani DV, Hirschhorn JN, O'Donnell CJ, Fox CS. Fatty liver is associated with dyslipidemia and dysglycemia independent of visceral fat: the Framingham Heart Study. *Hepatology*. 2010 Jun;51(6):1979-87.
142. Schult A, Eriksson H, Wallerstedt S, Kaczynski J. Overweight and hypertriglyceridemia are risk factors for liver cirrhosis in middle-aged Swedish men. *Scand J Gastroenterol*. 2011 Jun;46(6):738-44.
143. Cordovilla DO, Llambí L, Romero S. Tabaquismo y niveles de colesterol HDL en pacientes que asisten a una unidad de prevención secundaria cardiovascular. *Rev. Urug. Med. Interna*. 2019 Mar 17;4(1):23-31.
144. Gepner AD, Piper ME, Johnson HM, Fiore MC, Baker TB, Stein JH. Effects of smoking and smoking cessation on lipids and lipoproteins: outcomes from a randomized clinical trial. *Am Heart J*. 2011 Jan;161(1):145-51.

145. Chelland Campbell S, Moffatt RJ, Stamford BA. Smoking and smoking cessation -- the relationship between cardiovascular disease and lipoprotein metabolism: a review. *Atherosclerosis*. 2008 Dec;201(2):225-35.
146. Serradilla Martín M, Oliver Guillén JR, Palomares Cano A, Ramia Ángel JM. Metabolic syndrome, non-alcoholic fatty liver disease and hepatocarcinoma. *Rev Esp Enferm Dig*. 2020 Feb;112(2):133-138.
147. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, Melchionda N, Rizzetto M. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*. 2003 Apr;37(4):917-23.
148. Kim D, Touros A, Kim WR. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Metabolic Syndrome. *Clin Liver Dis*. 2018 Feb;22(1):133-140.
149. Zimmet PZ, Alberti KG, Shaw JE. Mainstreaming the metabolic syndrome: a definitive definition. *Med J Aust*. 2005 Aug 15;183(4):175-6.
150. Wainwright P, Byrne CD. Bidirectional Relationships and Disconnects between NAFLD and Features of the Metabolic Syndrome. *Int J Mol Sci*. 2016 Mar 11;17(3):367.
151. Kim D, Kim WR. Nonobese Fatty Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2017 Apr;15(4):474-485.

152. Martínez-González MA, Fernández-Jarne E, Serrano-Martínez M, Martí A, Martínez JA, Martín-Moreno JM. Mediterranean diet and reduction in the risk of a first acute myocardial infarction: an operational healthy dietary score. *Eur J Nutr.* 2002 Aug;41(4):153-60.
153. Aller R, Sigüenza R, Pina M, Laserna C, Antolín B, Burgueño B, Durà M, Izaola O, Primo D, de Luis DA. Insulin resistance is related with liver fibrosis in type 2 diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease proven biopsy and Mediterranean diet pattern as a protective factor. *Endocrine.* 2020 Jun;68(3):557-563.
154. Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, Fredrikson M, Stål P, Kechagias S, Hultcrantz R. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology.* 2015 May;61(5):1547-54.
155. Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, Adams LA, Bjornsson ES, Charatcharoenwitthaya P, Mills PR, Keach JC, Lafferty HD, Stahler A, Haflidadottir S, Bendtsen F. Liver Fibrosis, but No Other Histologic Features, Is Associated With Long-term Outcomes of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology.* 2015 Aug;149(2):389-97.e10.
156. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, Sulkowski M, Torriani FJ, Dieterich DT, Thomas DL, Messinger D, Nelson M; APRICOT Clinical Investigators. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology.* 2006 Jun;43(6):1317-25.

157. 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*. 2017 Nov;66(5):1486-1501.
158. Jiang W, Huang S, Teng H, Wang P, Wu M, Zhou X, Ran H. Diagnostic accuracy of point shear wave elastography and transient elastography for staging hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *BMJ Open*. 2018 Aug 23;8(8):e021787.
159. Eddowes PJ, Sasso M, Allison M, Tsochatzis E, Anstee QM, Sheridan D, Guha IN, Cobbold JF, Deeks JJ, Paradis V, Bedossa P, Newsome PN. Accuracy of FibroScan Controlled Attenuation Parameter and Liver Stiffness Measurement in Assessing Steatosis and Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2019 May;156(6):1717-1730.
160. Tapper EB, Loomba R. Noninvasive imaging biomarker assessment of liver fibrosis by elastography in NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018 May;15(5):274-282.
161. Lin Y, Li H, Jin C, Wang H, Jiang B. The diagnostic accuracy of liver fibrosis in non-viral liver diseases using acoustic radiation force impulse elastography: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2020 Jan 15;15(1):e0227358.

162. Liguori A, Zoncapè M, Tsochatzis EA. Non-invasive liver fibrosis tests in non-alcoholic fatty liver disease. *Rev Esp Enferm Dig.* 2022 Apr;114(4):191-194.
163. Chan WK, Nik Mustapha NR, Mahadeva S. A novel 2-step approach combining the NAFLD fibrosis score and liver stiffness measurement for predicting advanced fibrosis. *Hepatol Int.* 2015 Oct;9(4):594-602.
164. Siddiqui MS, Yamada G, Vuppalanchi R, Van Natta M, Loomba R, Guy C, Brandman D, Tonascia J, Chalasani N, Neuschwander-Tetri B, Sanyal AJ; NASH Clinical Research Network. Diagnostic Accuracy of Noninvasive Fibrosis Models to Detect Change in Fibrosis Stage. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2019 Aug;17(9):1877-1885.e5.
165. Younes R, Caviglia GP, Govaere O, Rosso C, Armandi A, Sanavia T, Pennisi G, Liguori A, Francione P, Gallego-Durán R, Ampuero J, Garcia Blanco MJ, Aller R, Tiniakos D, Burt A, David E, Vecchio FM, Maggioni M, Cabibi D, Pareja MJ, Zaki MYW, Grieco A, Fracanzani AL, Valenti L, Miele L, Fariselli P, Petta S, Romero-Gomez M, Anstee QM, Bugianesi E. Long-term outcomes and predictive ability of non-invasive scoring systems in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2021 Oct;75(4):786-794.
166. de Franchis R; Baveno VI Faculty. Expanding consensus in portal hypertension: Report of the Baveno VI Consensus Workshop: Stratifying risk and individualizing care for portal hypertension. *J Hepatol.* 2015 Sep;63(3):743-52.

167. Petta S, Sebastiani G, Viganò M, Ampuero J, Wai-Sun Wong V, Boursier J, Berzigotti A, Bugianesi E, Fracanzani AL, Cammà C, Enea M, Grottes MD, Di Marco V, Younes R, Keyrouz A, Mazzola S, Mendoza Y, Pennisi G, Romero-Gomez M, Craxì A, de Ledinghen V. Monitoring Occurrence of Liver-Related Events and Survival by Transient Elastography in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Compensated Advanced Chronic Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2021 Apr;19(4):806-815.e5.
168. Ghamar Chehreh ME, Vahedi M, Pourhoseingholi MA, Ashtari S, Khedmat H, Amin M, Zali MR, Alavian SM. Estimation of diagnosis and treatment costs of non-alcoholic Fatty liver disease: a two-year observation. *Hepat Mon*. 2013 May 8;13(5):e7382.
169. Tanajewski L, Harris R, Harman DJ, Aithal GP, Card TR, Gkountouras G, Berdunov V, Guha IN, Elliott RA. Economic evaluation of a community-based diagnostic pathway to stratify adults for non-alcoholic fatty liver disease: a Markov model informed by a feasibility study. *BMJ Open*. 2017 Jul 5;7(6):e015659.
170. Sicras-Mainar A, Aller R, Crespo J, Calleja JL, Turnes J, Romero Gómez M, Agustín S. Overall clinical and economic impact of non-alcoholic fatty liver disease. *Rev Esp Enferm Dig*. 2021 Jun;113(6):396-403.
171. Srivastava A, Jong S, Gola A, Gailer R, Morgan S, Sennett K, Tanwar S, Pizzo E, O'Beirne J, Tsochatzis E, Parkes J, Rosenberg W. Cost-comparison analysis of FIB-4,

- ELF and fibroscan in community pathways for non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol.* 2019 Jul 11;19(1):122.
172. Kwong A, Kim WR, Lake JR, Smith JM, Schladt DP, Skeans MA, Noreen SM, Foutz J, Miller E, Snyder JJ, Israni AK, Kasiske BL. OPTN/SRTR 2018 Annual Data Report: Liver. *Am J Transplant.* 2020 Jan;20 Suppl s1:193-299.
173. Calleja JL, Rivera-Esteban J, Aller R, Hernández-Conde M, Abad J, Pericàs JM, Benito HG, Serra MA, Escudero A, Ampuero J, Lucena A, Sánchez Y, Arias-Loste MT, Iruzubieta P, Romero-Gómez M, Augustin S, Crespo J. Prevalence estimation of significant fibrosis because of NASH in Spain combining transient elastography and histology. *Liver Int.* 2022 Aug;42(8):1783-1792.
174. Ginès P, Graupera I, Lammert F, Angeli P, Caballeria L, Krag A, Guha IN, Murad SD, Castera L. Screening for liver fibrosis in the general population: a call for action. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2016 Nov;1(3):256-260.
175. Maya-Miles D, Ampuero J, Gallego-Durán R, Dingiana P, Romero-Gómez M. Management of NAFLD patients with advanced fibrosis. *Liver Int.* 2021 Jun;41 Suppl 1:95-104.
176. Papatheodoridi M, Hiriart JB, Lupsor-Platon M, Bronte F, Boursier J, Elshaarawy O, Marra F, Thiele M, Markakis G, Payance A, Brodtkin E, Castera L, Papatheodoridis G, Krag A, Arena U, Mueller S, Cales P, Calvaruso V, de Ledinghen V, Pinzani M,

## Bibliografía

---

Tsochatzis EA. Refining the Baveno VI elastography criteria for the definition of compensated advanced chronic liver disease. *J Hepatol.* 2021 May;74(5):1109-1116.



