



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica en la Obesidad Mórbida: Implicaciones Patogénicas y Diagnósticas.

Tesis Doctoral presentada por:

M^a Luisa García Torres. Licenciada en Medicina y Cirugía.

Directores de la tesis:

**Dr. José Manuel Rodrigo Gómez. Profesor Emérito Departamento de
Medicina Universitat de València.**

**Dra. María Desamparados Escudero García. Profesora del Departamento
de Medicina de la Universitat de València.**

Valencia 2015

DEDICATORIA:

a José Manuel.
a mis padres.

AGRADECIMIENTOS:

A todas y cada una de las personas que me han servido de apoyo para la realización de esta Tesis Doctoral.

Como no empezar por el Servicio de Hepatología del Hospital Clínico Universitario de Valencia, del que hasta su jubilación fué Jefe de Servicio el Profesor José Manuel Rodrigo Gómez al que tengo el honor de tener como director de tesis y donde me he formado como Hepatólogo y en el que empezó mi interés sobre la Enfermedad Grasa del Hígado siguiendo los estudios realizados por el Dr. Juan Ángel del Olmo Puchalt y que me animó a elegir este como tema para mi tesis y de la Dra Escudero que me ha sabido orientar en muchísimas de las cuestiones académicas, científicas y de estilo que me eran necesarias, así mismo mi gratitud al resto de este equipo Dr. Miguel Ángel Serra Desfilis y Dra Felicidad Rodríguez Almendros.

Agradecer también especialmente a las Dras Montoliu y Urios por su colaboración en los estudios llevados a cabo sobre esteatosis desde su experiencia en el campo de la Biología Molecular.

Por último y muy importante el respaldo de mi familia y en especial de mi marido Dr. Francisco García Morata que ha sufrido-aguantado-padecido y colaborado en las horas que he dedicado a este trabajo y que como siempre ha sabido estar a mi lado apoyándome en mi trabajo y en mi vida. Mi hijo Carlos, que siempre me anima a continuar mis iniciativas, dándome una visión desde su juventud, a Maribel mi hermana en el corazón. Y también en mi familia a los que ya no están físicamente pero que yo tengo siempre presentes a mi lado como origen de todo.

Tengo el privilegio de contar con muchas buenas personas a mí alrededor formando parte de mi vida y también aquí les dejo mi gratitud.

Parece innecesario extenderme más, la lista sería larga y nunca podría expresar mis sentimientos, así que acabaré diciendo **gracias** a todos los que directa o indirectamente me habéis ayudado.

ÍNDICE

1.INTRODUCCIÓN:.....	1
1.1: Recuerdo Histórico:.....	3
1.2: Conceptos Generales:.....	13
1.2.1: Importancia del estudio de la EHGNA en relación con la obesidad severa: ...	13
1.2.2: Definición de Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica:.....	15
1.2.3: Definición de Obesidad:.....	21
1.3: Prevalencia de la Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica:.....	27
1.3.1: Datos generales de prevalencia:.....	27
1.3.2: Implicaciones socioeconómicas:.....	36
1.3.3: Cambios en los hábitos de vida:	38
1.4: Criterios diagnósticos actuales:	39
1.4.1: Criterios clínicos:.....	39
1.4.2: Pruebas de laboratorio:	44
1.4.3: Cálculo de la Resistencia a la insulina HOMA:	52
1.4.4: Determinaciones antropométricas:.....	54
1.4.5: Diagnóstico por imágenes de EHGNA:.....	56
1.4.6: Criterios histológicos para el diagnóstico de EHGNA:	59
1.4.7: Técnica de Elastografía Impulsacional: Fibroscan®:	67
1.5: Fisiopatología de la EHGNA:	69
1.5.1: Mecanismos patogénicos, conceptos generales:	70
1.5.2: Síndrome de Resistencia a la insulina:.....	73
1.5.3: Estrés oxidativo:	77
1.5.4: Importancia de las citocinas inflamatorias o adipoquinas:.....	79
1.5.5: Microbiota y EHGNA:.....	87

2. HIPÓTESIS y OBJETIVOS GENERALES:	91
2.1: Hipótesis general:.....	93
2.2: Objetivos del estudio:.....	95
3. MATERIAL Y MÉTODO:	97
3.1: Grupo de estudio:.....	99
3.1.1: Estudio clínico:.....	99
3.1.2: Estudio analítico:	102
3.1.3 :Estudio histológico:.....	106
3.2: Grupo control:	107
3.3: Criterios de exclusión en ambos grupos:.....	109
4. ESTUDIO ESTADÍSTICO:	111
5. RESULTADOS:	115
5.1: Datos antropométricos:	117
5.1.1: Grupo de estudio:.....	117
5.1.2: Grupo control:	123
5.1.3: Comparación datos antropométricos entre grupo de estudio y controles:.	124
5.2:Patologías asociadas:.....	125
5.3: Resultados histológicos:	128
5.4: Resultados analíticos:	135
5.5: Determinaciones analíticas específicas:	143
5.5.1: Leptina y Adiponectina:	143
5.5.2: Interleucina 6 (IL-6):.....	147
5.5.3: Interleucina (IL-18):	149
5.5.4: Cytokeratina-18 (CK-18):	151
5.5.5: Factor de Crecimiento Fibroblástico 21 (FCF-21:.....	153
5.5.6: Lesiones histológicas e interleucinas (IL-6 IL-18),citokeratina-18 y FCF-21:.	156

6. DISCUSIÓN:	159
7. CONCLUSIONES:	181
8. BIBLIOGRAFÍA:	185

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Parámetros del Síndrome Metabólico	19
Tabla 2: Clasificación de los trastornos ponderales según el Índice de Masa Corporal	22
Tabla 3: Patologías más frecuentes asociadas a la enfermedad hepática grasa no alcohólica	42
Tabla 4: Fármacos y otros cambios nutricionales asociados a la enfermedad grasa hepática no alcohólica	43
Tabla 5: Nuevos métodos de diagnóstico no invasivo para valoración de fibrosis en la EHGNA	51
Tabla 6: Clasificación histológica de EHGNA	62
Tabla 7: Clasificación histológica de Kleiner	64
Tabla 8: Datos recogidos durante la encuesta al paciente	101
Tabla 9: Pruebas de laboratorio realizadas en el presente estudio	102
Tabla 10: Pruebas de específicas laboratorio	104
Tabla 11: Kits de laboratorio empleados para las distintas determinaciones	106
Tabla 12: Datos antropométricos del grupo de estudio según sexo y totales	118
Tabla 13: Datos comparativos entre esteatosis y NASH según el sexo	120
Tabla 14: Datos antropométricos comparados de esteatosis y NASH.....	122
Tabla 15: Datos antropométricos del grupo control	123
Tabla 16: Datos antropométricos comparativos entre obesos y grupo control.....	124
Tabla 17: Datos comparativos entre obesos y grupo control respecto al sexo.....	124
Tabla 18: Patologías asociadas más frecuentes en el grupo de obesidad mórbida por nº de casos	126
Tabla 19: Distribución de paciente según el número de comorbilidades	127
Tabla 20: Distribución de casos según histología por número de casos y %	128
Tabla 21: Resultados histológicos de presencia de esteatosis según grado, localización y microvesículas en ambos grupos	130
Tabla 22: Resultados histológicos de inflamación (grado, localización y microvesículas).....	131
Tabla 23: Resultados histológicos de balonización, cuerpos acidófilos, macrófagos pigmentados y megamitocondrias	132
Tabla 24: Otras lesiones: Hialina de Mallory y núcleos glicogenados	133
Tabla 25: Resultados histológicos de fibrosis comparando esteatosis y NASH	134

Tabla 26: Resultados analíticos alterados expresados en % de pacientes, en el grupo de obesidad mórbida	138
Tabla 27: Valores de HOMA	139
Tabla 28: Resultados de HOMA entre grupos	139
Tabla 29: Resultados analíticos en el grupo de obesidad mórbida	140
Tabla 30: Resultados analíticos en los grupos de esteatosis y NASH	141
Tabla 31: Resultados analíticos con diferencias significativas entre los grupos	142
Tabla 32: Resultados analíticos de la leptina entre los grupos control y obesos	143
Tabla 33: Resultados analíticos de la leptina entre los grupos esteatosis y NASH.....	144
Tabla 34: Resultados analíticos de la adiponectina entre los grupos control y obesos	145
Tabla 35: Resultados analíticos de la adiponectina entre los grupos esteatosis y NASH..	145
Tabla 36: Resultados de interleucina 6 entre los grupos control y obesos	147
Tabla 37: Resultados de la interleucina 6 entre los grupos esteatosis y NASH.....	147
Tabla 38: Resultados analíticos de la interleucina 18 entre los grupos control y obesos .	149
Tabla 39: Resultados de la interleucina 18 entre los grupos esteatosis y NASH	150
Tabla 40: Resultados de la CK-18 entre los grupos control y obesos	152
Tabla 41: Resultados analíticos de la CK-18 entre los grupos esteatosis y NASH.....	152
Tabla 42: Resultados del factor de crecimiento entre los grupos control y obesos.....	155
Tabla 43: Resultados analíticos del factor de crecimiento entre los grupos esteatosis y NASH.....	155
Tabla 44: Correlaciones entre los distintos tipos de lesiones histológicas e inmunomoduladores.....	157

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Formas clínicas de enfermedad hepática grasa	17
Figura 2: Distribución de los factores que intervienen en la obesidad	24
Figura 3: Factores que dificultan el cálculo de la prevalencia de la EHGNA	28
Figura 4: Prevalencia de EHGNA en estas poblaciones a nivel mundial	31
Figura 5: Distribución geográfica de obesidad en España en % por regiones	33
Figura 6: Fórmula para calcular el índice HOMA	53
Figura 7: Fórmula para el cálculo del IMC o Índice de Quetelet	55
Figura 8: Imágenes ecográficas de esteatosis hepática	57
Figura 9: Imágenes de tomografía axial computarizada de esteatosis hepática	58
Figura 10: Mecanismos patogénicos de EHGNA: modelo de los dos impactos	71
Figura 11: Mecanismos patogénicos de EHGNA	75
Figura 12: Modelo de cuaderno de recogida de datos (CRD) del estudio	100
Figura 13: Distribución de grupos del estudio	119
Figura 14: Patologías asociadas del grupo de obesidad mórbida en %	128
Figura 15: Comparación de medias entre obesidad mórbida y controles y entre esteatosis simple y NASH para leptina	144
Figura 16: Comparación de medias entre obesidad mórbida y controles y entre esteatosis simple y NASH para adiponectina	146
Figura 17: Comparación de medias entre obesidad mórbida y controles y entre esteatosis simple y NASH para IL-6	148
Figura 18: Correlaciones positivas de la IL-6 con el HOMA y el ICC	148
Figura 19: Comparación de medias entre obesidad mórbida y controles y entre esteatosis simple y NASH para IL-18	150
Figura 20: Comparación de medias entre obesidad mórbida y controles y entre esteatosis simple y NASH para CK-18	152
Figura 21: Comparación de medias entre obesidad mórbida y controles y entre esteatosis simple y NASH para FCF-21	153

ABREVIATURAS:

AgHbs: Antígeno de superficie del virus de la Hepatitis B.

AGL: Ácidos Grasos Libres.

ALT: Alanin aminotransferasa.

APRI: Índice aspartato aminotransferasa/plaquetas.

AST: Aspartato aminotransferasa.

ATP III: Adult Treatment Panel III.

BARD: Índice no invasivo para evaluar la fibrosis.

CAP: (Controlled Attenuation Parameter) para la prueba de Fibroscan.

CCH: Carcinoma Hepatocelular.

CK-18: Citoqueratina 18.

CLAMP: Método para evaluar la sensibilidad tisular a la insulina.

DM: Diabetes Mellitus.

EHGNA: Enfermedad por Hígado Graso No Alcohólica.

EHNA: Esteatohepatitis No Alcohólica.

ELF: European Liver Fibrosis.

FGF-21: Factor de Crecimiento Fibroblástico 21.

FIB-4: Índice no invasivo para evaluar la fibrosis.

GG: Gamma-glutamilttransferasa.

HBA_{1c}: Hemoglobina glicosilada.

HDL-colesterol: (High density lipoprotein) Fracción de colesterol.

HGNA: Hígado Graso No Alcohólico.

HOMA: Homeostatic Model Assessment.

HTA: Hipertensión Arterial.

ICC: Índice cintura/cadera.

IL-18: Interleucina 18.

IL-6: Interleucina 6.

IMC: Índice de Masa Corporal.

INR: Tiempo de protrombina razón.

IQR: Índice Intercuartil: medida de dispersión de datos. En Fibroscan.

Kpa: Kilopascales (unidad de presión).

LDL-colesterol: (Low Density Lipoprotein) Fracción de colesterol.

NAFLD: Non Alcoholic Fatty Liver Disease.

NAS: Nonalcoholic Fatty Liver Disease Activity Score.

NASH CRN: Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network.

OM: Obesidad Mórbida.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

P3NP: Procollagen III N-peptide.

PBH: Punción Biopsia Hepática.

PCR AS: Proteína C Reactiva de Alta Sensibilidad.

QUICKI: Quantitative Insulin Sensitivity Check Índice.

RI: Resistencia a la Insulina.

RMN: Resonancia Magnética Nuclear.

ROS: Especies Reactivas de Oxígeno.

SM: Síndrome metabólico.

TAC: Tomografía axial computerizada.

TAD: Tensión arterial diastólica.

TAS: Tensión arterial sistólica.

TIMP-1: Metalloproteinase inhibitor 1.

TIMP-2: Metalloproteinase inhibitor 2.

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa.

TSH/T4: Hormonas tiroideas.

VHC: Virus de la hepatitis C.

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana.

1. INTRODUCCION:

1.1: Recuerdo Histórico:

Desde finales del siglo XIX los anatomopatólogos describieron en muestras de tejido hepático procedentes de autopsias la presencia de acúmulos grasos y otras lesiones similares, en ocasiones indistinguibles a las encontradas en hepatopatías alcohólicas pero presentes en pacientes sin enolismo constatado (Rokitansky Karl Freiherr von A, 1894).

Posteriormente Zelman en 1952 y Werswater and Fainer en 1958 describen por primera vez acúmulos grasos y fibrosis junto a infiltrados inflamatorios en el hígado de pacientes obesos y sin ingesta importante de alcohol, lo que hizo que se sustituyera el término “hepatitis alcohólica”, que hasta entonces se empleaba para esos hallazgos, por el de “*Fettleberhepatitis*” es decir “hepatitis grasa o esteatohepatitis” (Zelman, 1952), (Werswater JD, 1958), (Thaler, 1962).

Dado que la confirmación diagnóstica de hígado graso se realiza por estudio histológico, la introducción y sistematización de la punción biopsia

hepática (PBH) hizo que aumentaran rápidamente los conocimientos de la enfermedad (Herruzo, 2006).

A lo largo de los años 1960 y 1970 se describen en la bibliografía médica casos histológicamente similares a la esteatosis alcohólica en pacientes con distintas patologías como la Diabetes Mellitus (DM), sobrepeso, by-pass gástrico por obesidad mórbida, dislipemia e ingesta de determinados fármacos (Itoh S, 1979) (Creutzfeldt W, 1970) (Brunt EM, 1999).

En 1980 Ludwig y colaboradores presentaron una serie de 20 pacientes a los que se les habían hecho un seguimiento durante diez años en la Clínica Mayo en los cuales se presentaban evidencias histológicas similares a la hepatitis alcohólica pero sin historial de ingesta importante de etanol y establecen por primera vez el término de Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica (EHGNA) en su terminología en español y (NALFD) (**Non**alcoholic **L**iver **F**atty **D**isease) en terminología inglesa (Ludwig J, 1980).

Posteriormente aparecen las clasificaciones histológicas de Matteoni junto con la descripción por grados y estadios de Brunt en el mismo año (Matteoni, 1999) (Brunt EM, 1999).

Estas clasificaciones han sido revisadas en 2002 por The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Pathology (NIDDK) proponiendo un sistema de clasificación semicuantitativo, de aplicación en los estudios histológicos, conocido como NASH CRN (Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network) y que ha sido recientemente validado por varios autores (Kleiner DE, 2005) (Brunt E, 2011).

A partir de estos autores e investigadores citados son cada vez más numerosos los estudios sobre fisiopatología, histología, clínica, diagnóstico y prevención de la Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica que existen en la actualidad, lo que viene a confirmar la importancia de ampliar el conocimiento de dicha patología.

The European Association for the Study of the Liver, en artículo publicado en Journal of Hepatology en 2008 declara que la Esteatosis Hepática “Se considera en la actualidad como la enfermedad hepática más frecuente en los países desarrollados” (Ogden C, 2007), (Marchesini G 2008).

Por otra parte, la Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica se halla íntimamente relacionada con la obesidad (Silverman JF, 1990).

Fong y colaboradores encuentran que el 80% de los individuos obesos presentan hígado graso (Fong DG, 2000).

La obesidad es conocida desde la antigüedad pero su importancia en relación con la salud ha sufrido distintas variaciones a lo largo de la historia. Su relevancia va en aumento a medida que se van conociendo sus implicaciones en procesos patológicos diversos (cardiovasculares, HTA, etc) siendo uno de ellos la acumulación excesiva de grasa a nivel hepático (Jeffcoale, 1998).

La gran demanda energética a la que está sometido el hombre del paleolítico, impide o minimiza procesos de sobrepeso, pero al pasar a una sociedad recolectora y ganadera como la del neolítico, con menor desgaste físico y hábitos más sedentarios se origina una transformación conocida como “revolución neolítica” que está considerada actualmente como uno de los acontecimientos más importantes en la historia del ser humano en cuanto de sus hábitos sociales y por tanto de su estilo de vida (Brown PJ, 1987).

Ya desde sus etapas iniciales el “*homo sapiens*” aprecia la existencia de cambios morfológicos entre distintos individuos dentro de un grupo. Una de las representaciones iconográficas antropométricas más conocida del mundo prehistórico es la Venus de Willendorf que tiene una antigüedad aproximada de 25.000 años y que muestra la figura femenina con exceso de volumen en sus formas con un gran abdomen y voluminosas mamas. Aunque representa probablemente un símbolo de maternidad y fecundidad también puede reflejar *una incipiente* aparición de la obesidad en la prehistoria (Bray GB 1998).

La primera visión lógica y racional de obesidad aparece en la Grecia antigua. Hipócrates de Cos (s.V a.C) es uno de los primeros en hacer referencia a la obesidad y su relación con algunas enfermedades, y así en sus célebres aforismos afirma : *“Los que son excesivamente gordos por naturaleza están más expuestos que los delgados a una muerte repentina ”* Aforismo 44 (Hipocrates, 460 370 a. C).

Durante la Edad Media la gordura aún no se ve relacionada de manera directa con la ingesta excesiva de alimentos, ni con ninguna consecuencia que pudiera perjudicar al sujeto haciéndolo enfermar. Bien al contrario, estaba bien considerada, ya que un caballero debía ser fuerte e incluso robusto para poder competir en los torneos y las batallas. Se distinguía entre “el gordo y el muy gordo ” y sólo se intentaba poner remedio cuando la obesidad resultaba incapacitante para el que la padecía.

Durante el Renacimiento se añade un valor social y la gordura pasa a ser considerada también un defecto propio de la gente simplona y popular sin características de nobleza, pero sigue sin tener visos de enfermedad.

Durante la Época Barroca la sociedad evidencia un gusto social por la voluptuosidad de la carne, y así artistas como Pedro Pablo Rubens lo recrean en su obra pictórica (Rubens 1577-1640).

Es en el siglo XVII cuando la gordura o delgadez, que hasta ese momento eran una cuestión subjetiva, pasan a poder ser cuantificadas al establecer un método de calibración.

El físico inglés Sactorius Santorio instala en su casa un balancín monumental con el que controlaba su peso (Vigarello, 2011). La utilización de básculas a nivel popular y los nuevos conocimientos científicos sobre este tema hacen que empiecen a cambiar los conceptos sociales de los trastornos del peso.

En el siglo XVIII se empieza a hablar de obesidad, y lo hace por primera vez Antoine Furetière en su Dictionnaire de 1701 (Furetière 1619-1688). En la L'Encyclopédie de 1760 (D'Alembert J, 1751-1772) aparece la obesidad como término médico, definida como *“una forma de corpulencia excesiva”*.

Más recientemente en nuestro país Gregorio Marañón considerado como el padre de la endocrinología en España, en su monografía «Gordos y Flacos» defiende la delgadez por razones de tipo médico y de salud y es también Marañón el que con sus agudas intuiciones clínicas hace una descripción del Síndrome Metabólico, casi igual a la que conocemos actualmente al asociar la aparición de diabetes, gota y arteriosclerosis en un mismo paciente (Marañón G, 1936).

La obesidad ha sido estigmatizada social y culturalmente durante años. Los obesos han sido considerados como débiles de voluntad (Maddox GL, 1969).

Se mantiene este concepto hasta que en 1994 la prestigiosa revista Nature publica un artículo científico con el título de "*Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue*" en el que se describe el descubrimiento del gen ob en el ratón y que mutaciones en dicho gen pueden intervenir en la aparición de la enfermedad, aportando datos sobre un enfoque genético de la misma.

También en este estudio se describe la leptina, sustancia ausente en los ratones ob/ob. El descubrimiento de dicha sustancia y de sus acciones abrió una esperanza para su posible utilización en el tratamiento de la obesidad en humanos, ya que administrada a los ratones hacía reversible la obesidad. La decepción aparece al descubrirse que en los pacientes con obesidad mórbida hay una hiperleptinemia, lo que la hace ineficaz para su uso como tratamiento a pesar de lo cual es de gran importancia en los estudios sobre fisiopatología de la esteatosis hepática.

Estos hallazgos hacen que el componente genético sea relegado a un número limitado de obesos, aquellos llamados poligénicos, pero sin apenas relevancia en las presentaciones comunes de obesidad.

En 1947 el endocrinólogo francés Jean Vague realiza una precisa descripción de un conjunto de enfermedades que constituyen un síndrome conocido como síndrome X, metabólico o plurimetabólico, hallándolo vinculado a la distribución topográfica de la grasa en la zona central

o abdomino-visceral, siendo esta distribución lo que define la llamada obesidad androide (Vague, 1947).

1.2: Conceptos Generales:

1.2.1: Importancia del estudio de la EHGNA en relación con la Obesidad:

Diversas circunstancias justifican la importancia del estudio de la Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica en la Obesidad:

- Los primeros estudios histológicos descritos ya establecen la relación entre los acúmulos grasos del hígado y la obesidad, apreciándose que los obesos presentan mayor predisposición a padecer de hígado graso, lo cual no excluye la existencia también de esteatosis hepática en pacientes con normopeso
- Elevada prevalencia de ambas patologías
- Una de las causas más frecuente de hipertransaminasemia persistente
- Relación con un elevado porcentaje de cirrosis hepática consideradas hasta ahora como criptogénicas
- Factor implicado en la etiología del hepatocarcinoma
- Amplia relación con cambios de hábitos de vida actuales (falta de ejercicio, comida rápida, etc.)

- Aumento directamente proporcional al que se observa en los casos de obesidad en todas sus fases y especialmente en las formas severas o mórbidas
- Implicaciones socioeconómicas graves como aumento en el número de visitas médicas con incremento de exploraciones complementarias y su repercusión en los costos sanitarios
- Implicaciones en patologías de riesgo como las cardiovasculares y ateromatósicas, entre otras
- Escasos conocimientos de los mecanismos fisiopatológicos y de su evolución a formas más graves
- Disminución de la calidad de vida estos pacientes
- Por último y de gran importancia, la falta de marcadores diagnósticos alternativos a la punción biopsia hepática y por tanto la conveniente búsqueda de nuevos métodos no invasivos tanto para el diagnóstico como para la evaluación de su evolución

El hecho de que la Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica asociada a Obesidad Mórbida tenga una evolución benigna en su fase de esteatosis simple pero que pueda evolucionar a formas graves como la cirrosis hepática y/o el hepatocarcinoma (HCC) en las fases avanzadas de esteatohepatitis

justifica el interés por conocer que mecanismos están implicados en la patogénesis de dichos procesos (Sheth SG, 1997).

Por otra parte la evidente dificultad del abordaje terapéutico de la obesidad se hace patente por los múltiples enfoques realizados que van desde las dietas “milagro” como la dieta del Dr. W Harvey (Banting, 1869) hasta la cirugía bariátrica (Foz, 1999) (Zhang Y, 1994) (Foz M,2002) (Ortega J, 2012) y que hacen más difícil aún la prevención y tratamiento del hígado graso.

1.2.2: Definición de Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica:

La esteatosis se define como la acumulación anormal de grasa, fundamentalmente en forma de triglicéridos en el citoplasma de células parenquimatosas, como son los hepatocitos o las células cardíacas (DeNoon, 2008).

La Enfermedad Hepática Grasa es un proceso inflamatorio crónico caracterizado por el depósito de grasa en forma vacuolas intrahepatocitarias

con una afectación de hepatocitos que debe ser superior al 5% del número total de los mismos.

Estos acúmulos están formados principalmente por triglicéridos y puede presentarse en formas macro o microvesicular. Puede tener su origen en la ingesta excesiva de alcohol etílico y hablaremos de Esteatosis Hepática Alcohólica o puede ser debido a diversos trastornos fundamentalmente metabólicos y hablaremos entonces de Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica.

Cuando los acúmulos grasos son la única alteración histológica valorable hablamos de esteatosis simple y cuando junto a lo anterior aparecen fenómenos necroinflamatorios y grados variables de fibrosis se denomina esteatohepatitis o NASH (Oneta CM, 2002) (ver **Figura 1**).

La presencia de vacuolas grasas intrahepáticas no es exclusiva de la Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica ya que se produce también en otras afecciones del hígado como: consumo excesivo de alcohol, Hepatitis crónica por VHC, enfermedad de Wilson entre otras (Rodriguez Hernandez H, 2002).

Para algunos autores la esteatohepatitis podría ser considerada como una complicación de una esteatosis simple mantenida en el tiempo. (Bacon BR, 1994).

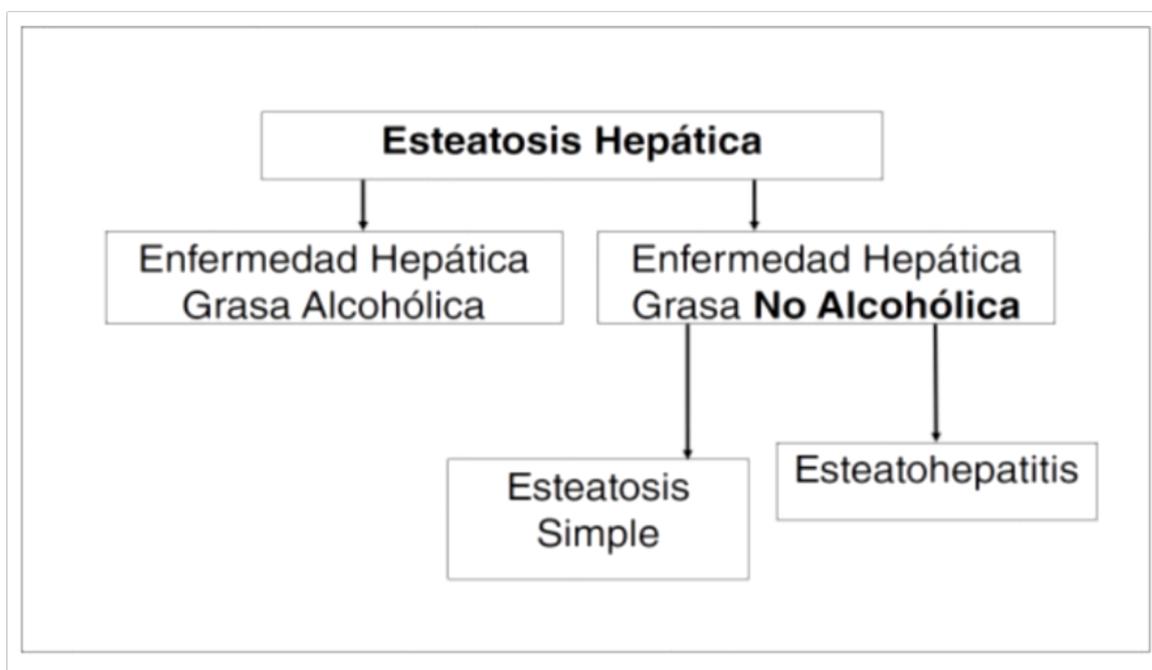


Figura 1: Formas clínicas de enfermedad hepática grasa

A pesar de los avances en diversas técnicas diagnósticas de la patología hepática, la histología mediante punción biopsia (PBH) sigue siendo fundamental a la hora de constatar tanto la presencia de vacuolas

grasas como del resto de lesiones que definen a la Enfermedad Hepática

Grasa No Alcohólica en la que se incluyen:

- esteatosis macrovesicular
- balonización hepatocitaria y necrosis
- presencia de Hialina de Mallory
- megamitocondrias y núcleos glicogenados
- infiltrado inflamatorio polinuclear
- fibrosis pericelular, perivenular portal y/o con puentes

Desde el punto de vista clínico y de historia natural en la Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica (EHGNA) se presentan dos formas evolutivas:

esteatosis hepática simple: Con evolución clínica generalmente benigna y con bajo porcentaje de evolución a formas severas (3%).

esteatohepatitis no alcohólica NASH -non alcoholic steatohepatitis- que puede evolucionar a formas clínicas más graves incluyendo la cirrosis hepática e incluso hepatocarcinoma (Rosmorduc, 2012).

Clínicamente la EHGNA se asocia con las patologías que componen el Síndrome Metabólico (SM): diabetes mellitus tipo 2 (DM T2), resistencia a la insulina (RI), obesidad abdominal, hiperlipidemia con elevación de LDL-colesterol, hipertrigliceridemia e hipertensión arterial (HTA) (Clark JM, 2002) y hacen que la EHGNA sea considerada como la expresión hepática del Síndrome Metabólico (Grundy et al 2004).

Tabla 1: Parámetros del Síndrome Metabólico

Parámetros diagnósticos del Síndrome Metabólico		Hombres		Mujeres
Obesidad abdominal	>	102 cm	>	88 cm
LDL colesterol	<	40 mg /dl	<	50 mg /dl
Triglicéidos	≥	150 mg /dl	≥	150 mg / dl
Nivel de glucosa en ayunas	≥	100 mg /dl	≥	100 mg / dl
Tensión arterial	≥	130/85 mmHg	≥	130/85 mmHg

Tomada de Grundy et al (2004) y American Heart Association (2005).

Los criterios para el diagnóstico del Síndrome Metabólico más utilizados son los propuestos por el *Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition*, conocido abreviadamente como ATP-III (Grundy et al, 2004) actualizados posteriormente en 2005 (Alberti KG, 2005).

Dichos criterios incluyen: obesidad abdominal medida por el perímetro de cintura en centímetros, índice de lípidos con la determinación de LDL colesterol, niveles de triglicéridos y de glucosa en sangre tras ayuno.

Se han establecido criterios diferentes para el Síndrome Metabólico según el sexo y que vienen expresados en la **Tabla 1**.

1.2.3: Definición de Obesidad:

La obesidad es una enfermedad crónica caracterizada por un aumento de la masa grasa por encima de los valores normales establecidos. Aumentos en la cantidad de masa grasa del 10 al 20 % en hombres y del 20 al 30 % en mujeres en la edad adulta por encima de lo normal son considerados como obesidad (Bray 1998) (Salas-Salvadó Jordi, 2007).

La determinación de la cantidad de masa grasa es difícil en la práctica habitual. Se han utilizado métodos que van desde el pesaje del individuo bajo el agua hasta la utilización de la impedancia bioeléctrica. Como quiera que el aumento de la masa grasa tiene como consecuencia un incremento del peso corporal (Björntorp P, 1997) la medición del mismo resulta muy útil por su fiabilidad y la sencillez en su determinación (Arriazabalaga JJ, 2003).

La determinación del peso corporal puede ser clasificada, o bien por tablas de pesos en función del sexo, estatura y tipo constitucional, o bien por índices, de los cuales el más utilizado es el Índice de Masa Corporal (IMC).

El Índice de Masa Corporal define la relación existente entre el peso de el sujeto medido en kilogramos dividido por la estatura expresada en metros al cuadrado (Eknoyan, 2008), (Serra-Manjem LI, 2003).

La Organización Mundial de la Salud establece una clasificación de las variaciones ponderales de la población en función de su IMC.

En dicha clasificación los valores de IMC entre 30 y 40 son considerados obesidad (tipo I y II) y los superiores a 40 como obesidad mórbida (WHO 2000) **Tabla 2.**

Tabla 2: Clasificación de los trastornos ponderales según el Índice de Masa Corporal

IMC (kg /m ²)	Clasificación
25.00 - 29.99	Sobrepeso
30.00 - 34.99	Obeso: Tipo I
35.00 - 40.00	Obeso: Tipo II
> 40.00	Obeso: Tipo III (Obesidad Mórbida)

Tomado de OMS 1995, 2000 y 2004.

Los valores normales de IMC varían considerablemente con la edad.

Los referidos en la tabla anterior corresponden a individuos en edad adulta.

En 2007 “*El Consenso de la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad*” publicado en la Revista Española de la Obesidad de 2007 incluyó como variante de la obesidad mórbida aquella en la que IMC supera el valor 50 y a la que se denominó obesidad extrema (Salas-Salvadó J, 2007).

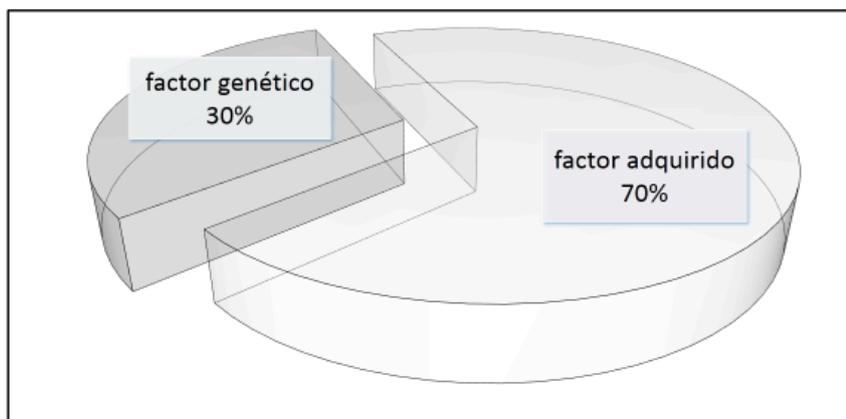
Otro de los métodos para la valoración del grado de obesidad es la medición del contorno de cintura y su relación con el contorno de cadera dando como resultado del cociente el Índice Cintura Cadera (ICC), medidos ambos en centímetros. Valores superiores a 0.8 en la mujer y a 1 en el hombre sirven para definir el concepto de obesidad abdominovisceral o de tipo androide (Aranceta J, 1996).

La obesidad con distribución abdominovisceral se halla relacionada con un mayor riesgo de morbimortalidad (Han TS, 1995), (WHO, 2000), (Gonzales PG,2000), (Raul A.Marano R, 2012).

Hasta donde conocemos la causa fundamental del sobrepeso y la obesidad es un desequilibrio entre la ingesta de calorías junto a una menor actividad física.

Las causas de la obesidad pueden ser múltiples, y entre ellas se incluyen: factores genéticos, alteraciones de los sistemas nervioso, endocrino y metabólico todo ello asociado a la influencia de los hábitos de vida individuales.

Para Mazza la proporción entre factores genéticos sería del 30% y la de ambientales del 70% respectivamente.



Mazza, C. 2012. «Obesidad en pediatría: Panorama Actual.» SAOTA Obesidad, 2012; 12 (1):28-30.

Figura 2: Distribución de los factores que intervienen en la obesidad

Según el factor que la puede originar, la obesidad se clasifica en dos tipos:

exógena: La obesidad debida a un régimen alimenticio inadecuado asociado a una escasa actividad física.

endógena: La que tiene como causa alteraciones metabólicas como obesidad hipotiroidea, gonadal, etc. De presentación menos frecuente.

Además de su asociación con la Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica la obesidad se presenta relacionada con un gran número de patologías: artrosis, apnea del sueño, diabetes, cáncer, enfermedades cardiovasculares, etc. (Bray 2012).

1.3: Prevalencia de la Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica:

1.3.1: Datos generales de prevalencia:

La Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica es considerada en la actualidad como la patología hepática más frecuente en los países desarrollados, superando inclusive a otras afecciones hepáticas tan extendidas como las infecciones virales o las afecciones autoinmunes entre otras (Diehl AM, 1988).

Cada vez más estudios poblacionales encuentran que este aumento del número de casos está relacionado con los aumentos del número de casos a nivel mundial de enfermedades como la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 (Seidell JC, 2000), (Clark JM 2003), (Fan JG, 2009).

Su aparición en áreas menos desarrolladas aumenta de forma alarmante, haciendo que se amplíe su distribución geográfica en todo el mundo (Lazo M, 2008),(Swinburn BA, 2011).

No obstante, los datos de prevalencia aún son escasos y poco actualizados y ello es debido a diversos factores:

- ausencia de marcadores diagnósticos no invasivos con capacidad de sensibilidad y especificidad suficientes para el diagnóstico.

- ausencia de uniformidad en los criterios diagnósticos empleados en las distintas comunidades afectadas.

- ausencia de ensayos aleatorios, prospectivos, doble ciego adecuados que proporcionen la información necesaria para la elaboración de guías clínicas (Swinburn BA, 2011).



Figura 3: Factores que dificultan el cálculo de prevalencia de la EHGNA

Aunque los datos de prevalencia son escasos por las anteriores causas citadas, existen algunos indicadores que nos pueden orientar sobre la frecuencia de esta enfermedad en la población general:

1) Prevalencia según ***estudios histológicos***:

En estudios llevados a cabo en autopsias, tras una revisión total de 351 sujetos aparentemente no alcohólicos, Wanless y Lentz describen que la EHGNA se detecta en el 2,7 % de las necropsias efectuadas en individuos con peso normal y en el 18,5 % de los sujetos con sobrepeso (Wanless IR, 1990). Dichos estudios presentan sesgos importantes como son tanto los propios de indicación de la biopsia hepática como del número de casos (Choudhury J, 2004), (Rodriguez Hernandez M, 2002).

Cuando las autopsias se realizan tras accidente de aviación los datos hablan de 2,1 % de esteatohepatitis y 16 % de esteatosis. Cuando se realizan tras accidente automovilístico las esteatohepatitis encontradas son de 2,4 % y las esteatosis de 24 %. Al igual que en otros grupos se desconoce la ingesta de alcohol en estos casos al que se añade el sesgo de la diferente extracción social de los fallecidos (Copeland, 1986), (Sjogren H, 1996).

Los resultados de biopsias hepáticas en la población general reflejan que aparece esteatosis entre un 15 y 39 % y esteatohepatitis entre 12 y 48 %. Estos porcentajes también sufren variaciones al analizar en qué circunstancias ha sido necesaria la realización de la biopsia hepática (oncológicas, virales, hepatitis fulminantes u otras).

2) Prevalencia según *estudios de imagen*:

Los porcentajes de prevalencia de EHGNA diagnosticada por imagen ecográfica característica de esteatosis muestran valores que varían entre el 16 y 24,5 % (Ataseven H, 2005).

Recientemente en un estudio efectuado en China con un total de 3762 sujetos a los que se les practicó ultrasonografía hepática encuentra signos de hepatopatía grasa en el 31,3% de los sujetos sin antecedentes de ingesta de bebidas alcohólicas excesiva (Yan J, 2013).

Browning y colaboradores llevaron a cabo un amplio estudio en la población urbana de Texas (USA) analizando un total 2287 resultados de resonancia magnética nuclear (RMN) siendo la muestra multiétnica.

El resultado del estudio determinó que se presentaba esteatosis en el 31 % de los casos siendo más frecuente entre individuos hispanos que los de raza negra y/o caucásicos. En el citado trabajo se valoró la aparición de esteatosis pero no si existe o no ingesta de alcohol ni otros cofactores como la infección por el virus C de la hepatitis (Browning JD, 2004).

3) Prevalencia según **distribución geográfica:**

En los estudios sobre prevalencia a nivel mundial la OMS aporta los siguientes porcentajes tanto la esteatosis como la esteatohepatitis ver **Fig 4**

Región estudiada	Prevalencia de EHGNA en estas poblaciones (%)	
EEUU	población general	27–34
	obesidad mórbida	75–92
	europeos-americanos	33
	hispano – americanos	45
	afro- americanos	24
Europa	población general	20–30
	obesidad o diabetes	75
	obesidad mórbida	90–95
Medio Oriente	población general	20–30
Lejano Oriente	población general	15
Paquistán	población general	18

Guías mundiales de la OMS. HGNA/NASH 2012

Figura 4: Prevalencia de EHGNA en estas poblaciones a nivel mundial

Los datos sobre prevalencia de EHGNA en España son escasos. Los recogidos por la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO) están elaborados en 2008 e indicaban que el 39 % de la población tiene sobrepeso y el 23 % obesidad.

Estos datos se van modificando en nuestro país paralelamente a los aumentos registrados en el resto de países occidentales (SEEDO, 1996) (WHO, 2000). Sin embargo no existen datos a nivel nacional actualizados al respecto.

Dada la relación de EHGNA con la obesidad convendría señalar la distribución de esta última en la geografía española. Las cifras mayores de obesidad se encuentran en la zona sudeste 15,9 %, le sigue la región norte donde se alcanza una cifra de obesidad del 14 %, el centro peninsular un 12,5 % y el noreste con un porcentaje menor 11,1 % (Aranceta J, 1996) , (Aranceta-Bartrina J, 2005), (Basterra-Gortari FJ, 2011).

Dicha distribución geográfica se reflejan en el mapa de la **Figura 5**.

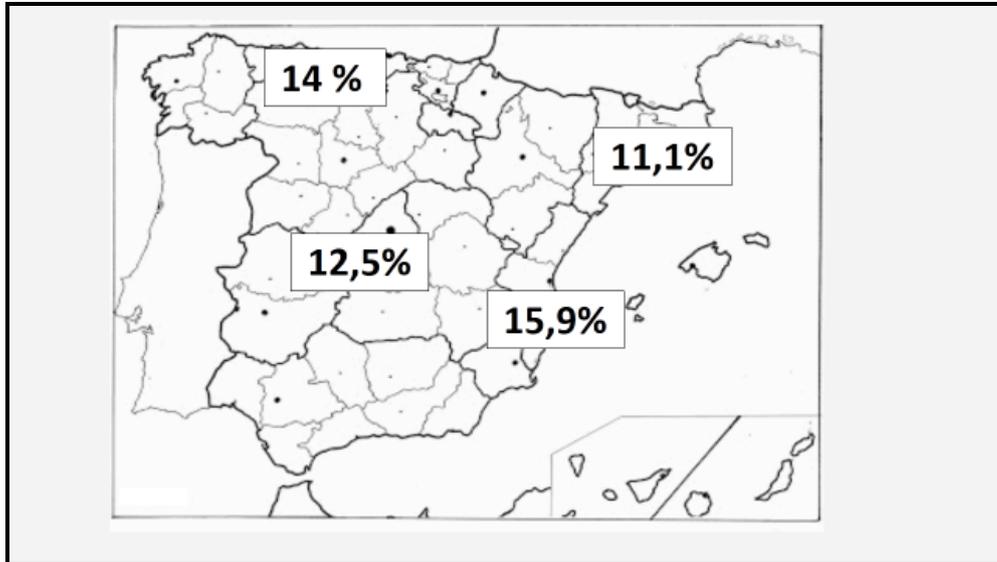


Figura 5: Distribución geográfica de obesidad en España en % por regiones

La prevalencia de la Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica se encuentra relacionada con diversas cuestiones:

a) Índice de Masa Corporal (IMC):

La prevalencia de EHGNA está en relación con el aumento de las tasas de peso corporal entre la población general y que pueden ser medidas por el Índice de Masa Corporal conocido como Índice de Quetelet.

A medida que aumenta el IMC aumentan también los casos tanto de esteatosis simple como de esteatohepatitis. Es por tanto directamente proporcional al valor de dicho índice (Quetelet 1987).

Pero al hablar de EHGNA, no sólo es importante el aumento de masa grasa, sino también la distribución de dicha grasa en el organismo. Aumentos en la localización a nivel abdominovisceral medidos mediante el cociente cintura/cadera (ICC) se relaciona con una mayor aparición de esteatosis y esteatohepatitis (Gonzales C, 2000).

B) Sexo y edad:

Clásicamente se ha considerado la EHGNA como una enfermedad de predominio en el sexo femenino, pero en la actualidad se observa una prevalencia similar en ambos sexos (Falck-Ytter Y, 2001).

Las características clínicas de los varones que presentan EHGNA son diferentes a la de las mujeres, pues se trata de pacientes en los que previamente no suelen existir factores de riesgo como obesidad, diabetes o dislipemias (Iríbar-Diéguez IK, 2006) (Bacon BR, 1994).

Respecto a la edad sólo cabe señalar que la frecuencia y la intensidad de la EHGNA aumentan con la edad. La esteatohepatitis con fibrosis avanzada y/o cirrosis se presenta más frecuentemente entre la 6ª y 8ª décadas de la vida (Williams C, 2011).

En la población pediátrica se encuentra EHGNA en el 3% de niños normopeso llegando al 53% en los niños obesos (WHO, 2000).

c) Etnia:

La mayor cantidad de datos respecto a este punto los encontramos en los estudios poblacionales de EEUU en los que la EHGNA aparece con una prevalencia mayor entre individuos de raza hispana respecto a los caucásicos y afroamericanos, lo que sugeriría un componente genético predisponente a padecer la enfermedad entre los miembros de estas comunidades (Browning JD, 2004).

1.3.2: Implicaciones socioeconómicas:

El incremento de casos de Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica puede ocasionar, en un futuro, graves problemas sociosanitarios tanto por el empeoramiento de la calidad de vida en la población, como por el aumento de costes económicos para su diagnóstico y tratamiento, presentándose estos problemas de igual forma tanto en los países ricos como en los de economías bajas.

Dado que actualmente se consideran a la diabetes tipo 2 y la obesidad, patologías ampliamente vinculadas a la aparición de EHGNA en forma de pandemias, son fundamentales las campañas de prevención de dichas patologías en adultos, infancia y pubertad con el objetivo de disminuir su aparición (WHO, 2000).

Las repercusiones sociales de la obesidad son tan variadas que van desde la presión que se ejerce desde las aerolíneas, que aplican un canon en

el billete a las personas con problemas de sobrepeso (Dannenberg AL, (2004) hasta el mencionado aumento de los costos sociales y económicos.

El 9,1 % de todo el gasto médico en los Estados Unidos corresponde al cuidado de pacientes con hígado graso (Finkelstein EA, 2003).

Así mismo, hay una disminución en la productividad de los trabajadores obesos, calculándose este dato según el número de permisos por incapacidad y absentismo laboral concedidos, llegando a suponer una pérdida en días de trabajo de hasta 12 veces superior que el resto de trabajadores (Zarate A, 2009).

Siguiendo en el plano sociolaboral es importante conocer que las lesiones asociadas al sobrepeso más comúnmente detectadas son las debidas a caídas, afectando a las extremidades inferiores, las manos, las muñecas y la espalda (Ostbye T, 2007).

1.3.3: Cambios en los hábitos de vida:

Los cambios en los hábitos alimenticios y el aumento del sedentarismo, ambos factores propiciados por un nuevo estilo de vida, llevan acarreado un aumento de enfermedades relacionadas con el sobrepeso.

En los países desarrollados la obesidad es particularmente frecuente en individuos de los grupos de nivel cultural más bajo y que consumen alimentos con alto contenido calórico y exceso de grasas.

El caso opuesto se observa en los países más pobres ya que en ellos es la población de mayor nivel educativo y socioeconómico y con poder adquisitivo más alto la que tiene mayor prevalencia de obesidad.

El abuso de la llamada comida basura “fast food” entre los niños y adolescentes, junto a la cada vez más frecuente falta de ejercicio en la población por distintas circunstancias, como son las sustitución de trabajos físicos por maquinaria tanto en las empresas como a nivel doméstico, los

desplazamientos con medios de automoción, el empleo de nuestro tiempo libre en actividades de ocio pasivas (TV, consolas y ordenadores) actúa como factor coadyuvante (Cynthia L. Ogden, 2012) perfilando unos cambios en los hábitos y costumbres que favorecen este tipo de enfermedades propiciando su elevada presencia.

1.4: Criterios diagnósticos actuales:

1.4.1: Criterios clínicos:

La mayoría de pacientes con EHGNA se encuentran asintomáticos y con ausencia de signos de enfermedad hepática crónica.

Puede aparecer en ocasiones astenia moderada junto a leve sensación de presión localizada en hipocondrio derecho acompañada de mínima hepatomegalia apreciable en la exploración física (Adams LA, 2006).

Las manifestaciones clínicas anodinas son comunes a otros procesos hepáticos.

La aparición de síntomas y signos evidentes se produce en fases avanzadas y con cuadros clínicos de cirrosis. Pero inclusive en la fase inicial de la fibrosis la ausencia de síntomas clínicos hace que el valor predictivo positivo de la clínica en estos pacientes sea muy alta y el valor predictivo negativo muy bajo y por lo tanto los datos clínicos resulten insuficientes a la hora del diagnóstico y del estadiaje de la Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica (Carey E, 2010).

Estas presentaciones clínicamente anodinas hacen que el diagnóstico se sospeche en la gran mayoría de los casos o bien tras una analítica rutinaria en la que aparece un ligero movimiento enzimático a nivel hepático o bien tras una exploración con ultrasonidos en la que se detecta imagen de hígado brillante (Portincasa P, 2006).

La EHGNA se presenta asociada a numerosas enfermedades, fundamentalmente trastornos metabólicos: dislipemia, DM tipo 2 resistencia a la insulina, hipotiroidismo, pero también con otro tipo de procesos patológicos no metabólicos como son la hipertensión arterial, la enfermedad inflamatoria intestinal, otras patologías inflamatorias crónicas como artritis reumatoide o lupus, estados nutricionales especiales como tras la intervención por by-pass gástrico, nutrición parenteral, ayuno prolongado y malnutrición, entre otras (Vuppalanchi R, 2009)

A lo anterior hay que añadir la existencia de otras patologías cuya relación con la EHGNA aún no está clara pero con las que aparece asociada como el ovario poliquístico, síndrome de apnea del sueño, hipopituitarismo e hipogonadismo o la resección pancreática.

En presencia de una de estas patologías deberemos recordar que pueden tener asociada una esteatosis hepática y completar el estudio si fuera necesario.

Así mismo, hay que tener en cuenta la relación existente entre la enfermedad hepática grasa y la toma de algunos fármacos de muy frecuente utilización entre los que se hallan glucocorticoides, inhibidores de la proteasa, estrógenos sintéticos y sustancias tóxicas como el aceite tóxico industrial. Las principales patologías y circunstancias asociadas a la enfermedad grasa del hígado aparecen en **Tabla 3 y 4**.

Tabla 3: Patologías más frecuentes asociadas a la enfermedad hepática grasa no alcohólica

Enfermedades genéticas y del metabolismo	Otras patologías
sobrepeso diabetes mellitus tipo 2 hipertrigliceridemia hipercolesterolemia hemocromatosis enfermedad de Wilson degeneración hepatolenticular glucogenosis tipo 1	hipertensión arterial enfermedad Inflamatoria Intestinal disfunción hipopituitaria o hipotalámica diversos síndromes asociados a RI enfermedades inflamatorias crónicas: <ul style="list-style-type: none"> - artritis reumatoidea - lupus eritematoso

Tabla 4: Fármacos y otros cambios nutricionales asociados a la enfermedad grasa hepática no alcohólica

Fármacos	Condiciones nutricionales especiales
amiodarona maleato de perexilina bloqueadores de canales de calcio glucocorticoides estrógenos sintéticos tamoxifeno cloroquina inhibidores de Proteasas tóxicos :aceite tóxico industrial	by-pass gastrointestinal nutrición parenteral total ayuno prolongado malnutrición protéica

1.4.2: Pruebas de laboratorio:

Dentro de las pruebas de laboratorio se incluyen: determinaciones analíticas habituales y pruebas analíticas específicas.

a) **Determinaciones analíticas habituales:** La aparición de movimientos enzimáticos inespecíficos, con aumentos menores a 3 veces la normalidad en la aspartato-aminotransferasa (AST), alanin aminotransferasa (ALT) y la gama-glutamiltanspetidasa (GGT) junto con la negatividad de otras etiologías (víricas, autoinmunes o genéticas) mediante sus correspondientes métodos de cribado deberá ser suficiente para sospechar una EHGNA e iniciar el estudio y confirmación de su diagnóstico.

En la Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica el cociente ALT/AST es menor de 1, similar al que se encuentra en otras hepatopatías. Tanto la bilirrubina total como el tiempo de protrombina son normales en estadíos iniciales (Pratt DS, Kaplan MM, 2000).

Las determinaciones de glucemia y de hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}) pueden aparecer elevadas.

En el estudio de los lípidos hay elevación leve y/o moderada tanto de las cifras de colesterol total como de su fracción LDL, así como de los valores de triglicéridos (Harrison SA, 2002), (Ruhl CE, 2003).

b) Pruebas analíticas específicas: Sólamente o combinadas con las anteriores se pueden realizar determinaciones en sangre de sustancias que en diversos estudios aparecen relacionadas con la EHGNA.

Los inmunomoduladores del tipo de las citocinas (adiponectina y leptina) por su implicación en los mecanismos patogénicos de EHGNA pueden ser de interés para el diagnóstico (Cheung O, 2010).

Todas las determinaciones analíticas que se han descrito hasta ahora en el presente trabajo tienen un limitado valor diagnóstico para determinar la aparición de fibrosis (Guha, 2006) (Parkes, 2009).

Dado que la presencia o no de fibrosis modifica tanto la evolución como el pronóstico en Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica son fundamentales estudios de nuevos marcadores bioquímicos de fibrosis.

Entre los estudios que se vienen realizando en este sentido encontramos los marcadores que se describen a continuación:

Marcadores serológicos directos de fibrosis: Son de difícil utilización en la práctica clínica habitual por su falta de comercialización. Aun siendo prometedores no tienen todavía la validación adecuada para su utilización en pacientes. Se basan en la determinación tanto del depósito de sustancias pro-fibrinolíticas como el procolágeno tipo III (P3NP), los colágenos tipo I y IV y el procolágeno tipo II a nivel del estroma celular, así como la degradación del mismo en las que intervienen las metaloproteinasas 2 y 3 (MMP-2 y MMP-3) y sus inhibidores a nivel tisular (TIMP-1 y TIMP-2).

De todos ellos el procolágeno P3NP es el marcador de fibrosis hepática más ampliamente estudiado y el que parece más prometedor para la práctica clínica habitual (Carey E, 2010).

Marcadores serológicos indirectos de fibrosis: Son de más fácil accesibilidad en la clínica rutinaria.

De ellos los más conocidos y empleados, no sin dispares opiniones respecto a su fiabilidad, son: la relación AST/ALT, el APRI, el índice PGA, el ELF, FIB-4, Fibrotest y Fibroscure, SAFE y BARD como queda reflejado en la **Tabla 5**.

Cociente AST/ALT: el valor normal es de 0,8. Valores > 1 presenta un valor predictivo positivo de cirrosis hepática del 89%, pero es de escasa utilidad para predecir los grados leves de fibrosis hepática. Fue el primer test para detectar la presencia de una fibrosis significativa (Williams, 1998).

Índice APRI: Relación entre los valores de AST y plaquetas. Tiene la ventaja de su sencilla realización. Valores de índice APRI $< 0,5$ indican escasa o nula existencia de fibrosis mientras que valores $> 1,5$ indican la posible existencia de la misma aunque sin poder determinar su gravedad (Puneet, 2013).

ELF: (European Liver Fibrosis): En dicho test se desarrolla un algoritmo en el que están incluidos la edad junto a las determinaciones de ácido hialurónico, propéptido aminoterminal del colágeno tipo III y el inhibidor tisular de la metaloproteinasa.

Se ha señalado que la aplicación de este algoritmo tiene una buena sensibilidad y especificidad para la detección de fibrosis en estadios 3 y 4 en el EHGNA (Rosenberg WM, 2004).

NAFLD Fibrosis Score: Validado por Angulo y colaboradores incluye la edad, hiperglicemia, índice de masa corporal (IMC), plaquetas, albúmina y el cociente AST/ALT sobre los que se aplica una fórmula de regresión logística. Unos valores bajos excluyen la existencia de fibrosis significativa en un 93%, con una sensibilidad del 82% y una especificidad del 77%. Los valor elevados determinan una fibrosis en puente o una cirrosis en un 90% de los casos, con una sensibilidad del 51% y una especificidad del 98% (Angulo P, 2007), (Guha IN, 2008).

Fibrometer®: Este índice incluye edad, glucosa, AST, ALT, ferritina, plaquetas e IMC. Su rendimiento fue significativamente mejor que los índices NAFLD fibrosis score y el índice APRI. Cuando este índice sea validado puede ser de gran utilidad clínica.

Índice Fibrotest®: Uno de los primeros modelos matemáticos para predecir el grado de fibrosis hepática basándose en marcadores bioquímicos indirectos de fibrosis hepática es el Fibrotest®. En él se incluyen determinaciones en sangre de α 2-macroglobulina, α 2-globulina, haptoglobina, apolipoproteína-A1, GGT y bilirrubina total además de la edad y el sexo. Aunque es un buen índice, el hecho de que utilice marcadores que generalmente no se utilizan en la práctica diaria disminuye claramente su utilidad práctica (Imbert-Bismut F, 2001).

El FIB-4: Se ha propuesto para diagnosticar el grado de fibrosis en los pacientes con hepatitis crónica por VHC + y se elabora con los valores de las plaquetas, ALT, AST y la edad. Este test fue comparado por sus autores con los resultados de la biopsia y el Fibrotest® (Vallet-Pichard A, 2007).

BARD: Incluye el IMC, cociente AST/ALT, y diabetes mellitus. Un índice BARD de 3 y 4 se asoció a una probabilidad del 43% de presentar una esteatohepatitis con puentes de fibrosis o cirrosis según el estudio de Harrison y col. Una puntuación mayor de 2 del índice BARD mostraba una buena eficacia para el diagnóstico de fibrosis avanzada (estadios 3-4) con un valor predictivo positivo del 43% y negativo del 96% (Harrison SA, 2008).

Índice HAIR: Se utiliza en la evaluación de pacientes con obesidad mórbida sometidos a cirugía bariátrica. En él se asocian tres factores pronósticos: HTA, cifra de ALT y RI, con una sensibilidad del 80% y una especificidad del 85% para el diagnóstico de esteatohepatitis (Dixon JB, 2001).

SAFE: Combinación del APRI y el Fibrotest®-Fibrosure®.

Algunos de estos métodos para diagnóstico de fibrosis aparecen indicados en la **Tabla 5**.

Tabla 5: Nuevos métodos de diagnóstico no invasivo para valoración de fibrosis en la EHGNA

AST/ALT:	Primer test para evaluar la presencia de una fibrosis significativa.
APRI:	Relaciona la AST junto al recuento de plaquetas.
ELF:	European Liver Fibrosis de utilidad en hepatopatía por VHC +.
Fibrotest®	Fibrosure® Fibrometer® .
FIB-4:	Combina edad, recuento de plaquetas, nivel de AST y nivel de ALT.
BARD:	Incluye IMC, AST/ALT, DM, TAC.
HAIR:	Empleado para valoración de fibrosis en obesidad mórbida.
SAFE:	Combina el APRI y el Fibrotest® - Fibrosure®.

1.4.3: Cálculo de la Resistencia a la Insulina HOMA:

Para el cálculo de la Resistencia a la Insulina se han empleado diversos métodos (Muniyappa R, 2008). Entre los más utilizados se encuentran:

CLAMP: Índice hiperinsulinémico-euglucémico método para evaluar la sensibilidad tisular a la insulina.

HOMA: (Homeostatic Model Assessment). Este modelo es quizás el más empleado en la práctica. El método HOMA cuantifica la alteración tanto genética como adquirida de la respuesta tisular a la acción de la insulina procedente del páncreas valorando a la vez la función de las células β -pancreáticas.

QUICKI: (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index) para muchos autores superior al HOMA.

La determinación del índice HOMA se realiza mediante la fórmula que se obtiene al multiplicar el valor de la insulina en ayunas (mU/L) por el de la glucosa también en ayunas (mmol/L) y dividirlo por una constante 22,5 tal y como aparece en la **Figura 6**.

$$\text{HOMA : } \frac{\text{insulina en ayunas (m U/L)} \times \text{glucemia en ayunas (mmol/L)}}{22,5}$$

Figura 6: Fórmula para calcular el índice HOMA

Los valores del índice HOMA mayores o iguales a 3 son considerados como diagnósticos de resistencia a la insulina (Matthews DR, 1985), (Katsuki A, 2001). El índice HOMA es en el ámbito clínico el más utilizado para calcular la RI.

Los valores obtenidos por este método se correlacionan bien con los obtenidos mediante la técnica CLAMP, considerada hoy por hoy como el “gold standard” en la determinación de la RI (Mittendorfer B, 2009).

1.4.4: Determinaciones antropométricas:

Las medidas antropométricas dan información sobre variaciones ponderales y de localización de la grasa en el organismo y resultan de fácil realización por lo que pueden entrar a formar parte de los métodos diagnósticos no invasivos. Las de mayor utilidad en el estudio de la patología hepática grasa son el IMC y ICC.

Los valores normales del IMC son similares en hombres y mujeres adultos (OMS, 2014). En la infancia y en la adolescencia varían tanto en lo referente a la graduación como en los rangos de normalidad (Serra-Manjem LI, 2003).

El cálculo del IMC se obtiene dividiendo el peso del paciente en kilogramos y por el cuadrado de su altura en centímetros utilizando el sistema MKS (metro- kilogramo- segundo). Se utiliza la fórmula que aparece en la **Figura 7**.

$$\text{IMC : } \frac{\text{peso en (kilogramos)}}{\text{altura en (m}^2\text{)}}$$

Figura 7: Fórmula para el cálculo del IMC o Índice de Quetelet

Son considerados valores normales para individuos adultos aquellos que se encuentran entre 20 y 25. Los valores de $\text{IMC} \geq 40$ corresponden a la Obesidad Mórbida.

El índice cintura / cadera se obtiene dividiendo el perímetro de la cintura por el perímetro de la cadera, medidos ambos en centímetros. Valores máximos para el índice cintura/cadera de 0,8 en mujeres y 1 en hombres se consideran normales según las recomendaciones de la OMS (Jover E, 1997).

1.4.5: Diagnóstico por imágenes de EHGNA:

El diagnóstico de hígado graso por métodos de imagen incluye técnicas como la Tomografía Axial Computarizada (TAC), la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y la Ultrasonografía (Rumack C, 1998).

La Ecografía por ultrasonidos es el método más utilizado y rentable para el diagnóstico de la patología hepática en general y de la esteatosis hepática en particular y aunque su práctica habitual ha aumentado exponencialmente en los últimos años todavía está por dilucidar el significado de algunos de los hallazgos que se obtienen debido posiblemente a la falta de patrones consensuados (Wilson SR, 1982).

La imagen ecográfica típica de esteatosis hepática es la que conocemos como "hígado brillante", caracterizada por un aumento de la ecogenicidad del parénquima hepático junto con una atenuación del haz sonoro en los sectores profundos del hígado (Grinner P, 1981).

Esta técnica además de valorar la presencia de esteatosis añade la

posibilidad del diagnóstico de otro tipo de lesiones como formaciones tumorales o quísticas, hipertensión portal, hiperesplenismo y/o ascitis.

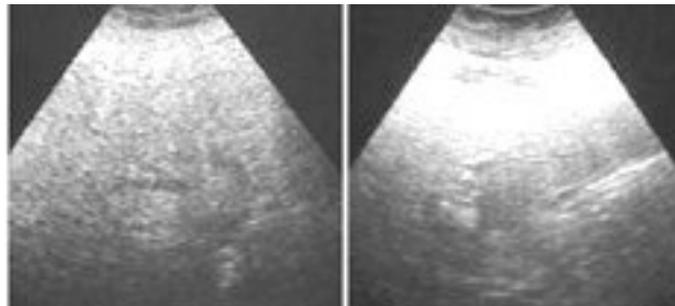


Figura 8: Imágenes ecográficas de esteatosis hepática

No existe todavía una clasificación consensuada para la descripción de las imágenes de hígado graso en la EHGNA, pero podemos agruparlas en:

1. **Leve:** sólo se observan imágenes hiperecóicas y hepatomegalia.
2. **Moderada:** junto a lo anterior aparece atenuación del haz sonoro.
3. **Severa:** en la que se añade falta de visualización de la pared de los vasos portales y del diafragma.

Ya se han señalado los otros dos métodos diagnósticos por imagen empleados en el diagnóstico de la EHGNA, la Resonancia Magnética Nuclear y la Tomografía Axial Computarizada.

Ambas proporcionan una información similar a la ecográfica pero con el inconveniente de un coste económico superior y, en el caso de la TAC la consiguiente exposición del paciente a una radiación añadida (Burt AD, 1998), (Martí-Bonmati L,1999), (Cobbold JFL, 2012). Ejemplos de estas imágenes se muestran en las **Figuras 8 y 9**.

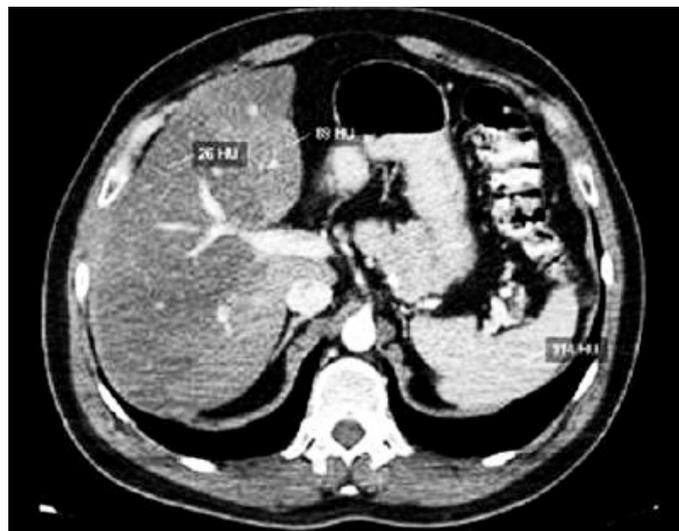


Figura 9: Imágenes de tomografía axial computarizada de esteatosis hepática

1.4.6: Criterios histológicos para el diagnóstico de EHGNA:

A pesar de los intentos que se vienen desarrollando para el diagnóstico por métodos no invasivos de la Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica, la confirmación diagnóstica sigue requiriendo del estudio histológico de tejido hepático mediante punción biopsia (PBH). Dicho método es considerado en este momento como el “patron oro” para el diagnóstico de la EHGNA (Silverman MD, 1990), (Liu YC, 1998), (Bravo AA, 2001) dado que permite:

- establecer o confirmar el diagnóstico
- clasificar la gravedad de las lesiones
- determinar la presencia de otras alteraciones de daño celular o inflamatorias
- identificar la presencia de fibrosis y su estadio

Existe una clara similitud de las lesiones en la EHGNA y las que aparecen en la esteatosis alcohólica, que las hace en ocasiones casi indistinguibles histológicamente, lo que propició el escepticismo inicial de la comunidad científica sobre la veracidad de la abstinencia enólica de los pacientes que padecían de hígado graso (Lieber, 1993).

La característica fundamental de la histología de la EHGNA es la acumulación de grasa en el interior de la célula hepática formando acúmulos. Dichos acúmulos, compuestos fundamentalmente por triglicéridos, deben afectar al menos el 5% del número total de hepatocitos. La forma predominante es la de macrovesículas con desplazamiento del núcleo por grandes gotas de grasa en el citoplasma, pero en ocasiones conviven formas macro y microvacuoladas. La descripción histológica descrita es la que corresponde al término “esteatosis simple” y en su definición debe existir ausencia total de fibrosis y de signos de daño hepático, aunque se admite que pueda aparecer ligero infiltrado inflamatorio en zona lobulillar o portal (Diehl AM L. Z., 2005).

La enfermedad puede evolucionar a formas en las que aparece fibrosis. La fibrosis que se desarrolla en la EHGNA, al igual del resto de lesiones, tiene características similares a la que se observa en la hepatitis alcohólica, iniciándose en la zona 3 (central o perivenular) del lobulillo

hepático y se presenta con afectación pericelular y perisinusoidal hasta progresar a la formación de puentes de fibrosis. La aparición de este tipo de cambios histológicos define la forma “esteatohepatitis” (Burt AD, 1998).

La descripción anatomopatológica no incluye características histológicas que pronostiquen la progresión de esteatosis simple hacia formas avanzadas por lo que la histología no hace más que describirlas pero sin capacidad de previsión en su evolución.

Existen diversas clasificaciones histológicas de EHGNA.

El grupo de Brunt publicó en 1999 un sistema de puntuación histológica de amplia aplicación y utilización clínica y en el que se describen las lesiones histológicas referentes tanto a grados de esteatosis como a estadio de fibrosis (Matteoni CA, 1999), (Brunt EM J. C I,1999). La clasificación de Brunt incluye tanto los grados de extensión y actividad de la esteatosis como los estadios de fibrosis **Tabla 6.**

Tabla 6: Clasificación histológica de EHGNA

Grado de esteatosis
0: no
I: <33%
II: 33-66%
III: >66%

Grado de actividad de EHGNA
1: Leve: esteatosis + balonización e infiltrado central
2: Moderado: balonización + infiltrado portal
3: Grave: balonización + infiltrado difuso

Estadío de fibrosis de EHGNA
0: Sin fibrosis
I: Perisinusoidal / pericelular (pericentral)
II: Portal o periportal
III En puentes
IV: Cirrosis

Tomado de Brunt EM, 1999. «Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions» *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2467-74.

Posteriormente Kleiner y colaboradores elaboraron una clasificación conocida como NAS (**N**onalcohólica fatty liver disease **A**ctivity **S**core). Se trata de un sistema semicuantitativo con ciertas controversias en cuanto a su validez en la práctica clínica, por lo que tal vez deba ser reservado para ensayos clínicos (Kleiner DE B. E., 2005), (Cobbold JFL, 2012).

Los componentes de dicha clasificación incluyen la actividad para esteatosis y los estadios clínicos de fibrosis en la esteatohepatitis.

La clasificación NAS establece la suma de los scores para grado de esteatosis, inflamación lobular y balonamiento. El rango es de 0-8 considerando 0 la falta de lesiones y 8 la suma de todos. Los rangos para cada tipo de score se detallan a continuación:

- grado de esteatosis (de 0 a 3)
- grado de inflamación lobulillar (de 0 a 3)
- aparición de fenómenos de balonamiento (de 0 a 2)

Valores totales entre 0-2 se consideran con diagnóstico negativo para EHGNA, entre 3-4 pueden ser positivos, negativos o en el límite de la normalidad y por último valores entre 5 y 8 se consideran claramente diagnósticos de esteatohepatitis.

El estadio de fibrosis es evaluado separadamente y su rango es de 0 a 4, en el que 0: corresponde a la no existencia de fibrosis, 1: a la afectación de la zona 3 (perisinusoidal perisinusoidal), 2: presentación portal/ periportal,3: la existencia de puentes de fibrosis y 4:aparición de cirrosis como se muestra en la **Tabla 7**.

Tabla 7: Clasificación histológica de Kleiner		
Lesión	Definición	Valor
Esteatosis:		
<i>Grado</i>	<5%	0
	5-33%	1
	>33-66%	2
	>66%	3
	<i>Localización</i>	Zona 3
	Zona 1	1
	Azona	2
	Panacinar	3
<i>Esteatosis microvesicular</i>	Ausente	0
	Presente	1
Fibrosis:		
<i>Estadio</i>	No	0
	Ligera, zona 3, perisinusoidal	1
	Moderada, zona 3, perisinusoidal	1
	Portal/periportal	1
	Perisinusoidal y portal/periportal	2
	Puentes de fibrosis	3
	Cirrosis	4
Inflamación:		
<i>Lobular</i>	No	0
	<2 focos por 20 x campo	1
	2-4 focos por 20 x campo	2
	>4 focos por 20 x campo	3
<i>Microgranulomas</i>	Ausente	0
	Presente	1
<i>Lipogranulomas grandes</i>	Ausente	0
	Presenta	1
<i>Inflamación portal</i>	No o mínima	0
	Mas que mínima	1
Lesiones Hepatocitos:		
<i>Balonizantes</i>	No	0
	Pocas células	1
	Muchas células	2
<i>Cuerpos Acidófilos</i>	No o alguno	0
	Muchos	1
<i>Macrófagos Pigmentados</i>	No o alguno	0
	Muchos	1
<i>..Megamitocondrias</i>	No o alguno	0
	Muchos	1
Otras lesiones:		
<i>Hialina de Mallory</i>	No o alguno	0
	Muchos	1
<i>..Núcleos glucogenados</i>	No o alguno	0
	Muchos	1

Kleiner DE, 2005. «Design and validation of a histological scoring system fr nonalcoholic fatty liver disease.» *Hepatology* 2005,41,1313-21

Para el diagnóstico histológico de la esteatosis no alcohólica se siguen las recomendaciones dadas por la "American Association for the Study of Liver Diseases" en la conferencia realizada en Atlanta en Septiembre del 2002 y revisada por American College of Gastroenterology, and The American Gastroenterological Association en 2012 (Chalasani N D. A., 2012).

Tras estas reuniones de consenso se admite que existen:

a) Cambios *indispensables* para el diagnóstico: presencia de esteatosis localizada en zona 3, la inflamación lobular y la lesión hepatocelular de tipo balonización.

b) Cambios usualmente *presentes pero no necesarios* para el diagnóstico: fibrosis subsinusoidal o pericelular en zona 3, lipogranulomas, núcleos glicogenados en zona 1, cuerpos acidofílicos y presencia de células de Kupffer hipertróficas con material PAS diastasa positivo.

c) *Otros cambios que pueden presentarse pero no necesarios* para el diagnóstico: aparición de cuerpos de Mallory y de depósitos de hierro en los hepatocitos o en células sinusoidales.

d) Hallazgos *inusuales*. Estos hallazgos histológicos, habituales en otras patologías hepáticas, pueden estar también presentes en la EHGNA, aunque sea en escasa frecuencia como: esteatosis de tipo microvesicular, esteatosis macrovesicular menor del 30% con presencia de un infiltrado inflamatorio rico en plasmocitos o eosinófilos junto colestasis crónica y depósitos de cobre o colestasis aguda con formación de tapones biliares que están descritos como poco probables (Brunt EM J,1999), (Loomba R, 2009).

A pesar del indudable valor de la biopsia hepática para el diagnóstico de EHGNA el hecho de que sea una prueba invasiva, costosa y con morbilidad y potenciales riesgos vitales, ha propiciado la búsqueda de otros métodos que puedan ser de utilidad diagnóstica.

1.4.7: Técnica de Elastografía Impulsional Fibroscan®:

Entre las nuevas pruebas no invasivas propuestas en la valoración de la fibrosis y de la grasa hepática se encuentra la «Elastografía por impulso unidimensional». Consistente en la medición de la rigidez o elasticidad de un tejido utilizando para ello un pulso mecánico de vibración y una onda de ultrasonidos. El método comercializado que utiliza la Elastografía para medir la rigidez del hígado se denomina Fibroscan® (FS) (Echosens, París, Francia) (Sandrin L, 2003), (Sebastiani G, 2006), (Castera L F. X, 2008).

El método se basa en la emisión de una onda de mediana amplitud y baja frecuencia que se propaga a través del tejido hepático. La medición de la dificultad de propagación de dicha onda informa sobre “la dureza parenquimatosa” del hígado dando información, no sólo de la presencia o no de fibrosis, sino que también permite la cuantificación de la misma (Myers RP, 2010).

La determinaciones abarcan valores comprendidos entre 2,5 a 75 kilopascales (Kpa) considerando normales determinaciones de 5,5 Kpa.

Para la valoración de los resultados de la medición es importantes disponer del rango intercuartil (IQC) que permite conocer el grado de dispersión de datos, admitiéndose cifras de hasta 30% máximo de dicho valor y de 16 % como valor medio.

Existen ciertas limitaciones para este nuevo método de diagnóstico como son: *la ascitis* ya que la dificultad de propagación de la onda en medio acuoso lo que hace de esta situación una contraindicación para la prueba.

La excesiva cantidad de grasa abdominal como en el caso de *la obesidad* pues la interposición de un gran pánículo adiposo abdominal impide la adecuada propagación de la onda y en ocasiones la medición. El empleo de sondas XL (Myers RP, 2012) con mayor poder de penetración frente a la sonda M estándar y la aplicación de la medición del (CAP) Controlled Attenuation Parameter (Chon YE1, 2014) está permitiendo la realización de la prueba en pacientes con obesidad y por tanto con un pánículo adiposo mayor a nivel de la pared abdominal.

Otra situación que puede influir en la alteración en los resultados de la prueba es de tipo anatómico y depende de la *disposición de la parilla costal* ya que una falta de separación entre costillas disminuye el espacio ventana por el que colocar el transductor (Escudero A, 2009).

1.5: Fisiopatología de la EHGNA:

El estudio de los mecanismos fisiopatológicos de Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica conlleva el hacer una pequeña revisión de conceptos generales de las vías metabólicas implicadas, tales como la resistencia a la insulina y el estrés oxidativo, así como conocer la importancia de las citocinas proinflamatorias e incluir los nuevos estudios sobre el papel de la microbiota en la fisiopatología de la EHGNA.

1.5.1: Mecanismos patogénicos, conceptos generales:

A pesar de los recientes avances en el conocimiento de las complejas rutas metabólicas e inflamatorias que intervienen en la EHGNA, su patogénesis es todavía poco clara y también los son los mecanismos de progresión de la esteatosis a esteatohepatitis y la formación de fibrosis / cirrosis (Petta S, 2009).

El modelo propuesto por Day en 1998 y conocido como el del doble impacto o doble golpe “Two Hits” establece los siguientes mecanismos fisiopatogénicos:

-primer impacto: Se iniciaría con el aumento de la tasa de triglicéridos en el hepatocito. A este acúmulo excesivo de grasa a nivel hepático se añade una disregulación de la respuesta insulínica por parte del páncreas.

-segundo impacto: Como consecuencia del primer impacto se induciría la activación de sustancias como las citocinas proinflamatorias, a la que se asociaría la alteración de la función mitocondrial y la aparición de estrés

oxidativo desencadenando así los fenómenos de fibrosis, lesiones que están en la esencia de este segundo impacto como se ve en **Figura 10**.

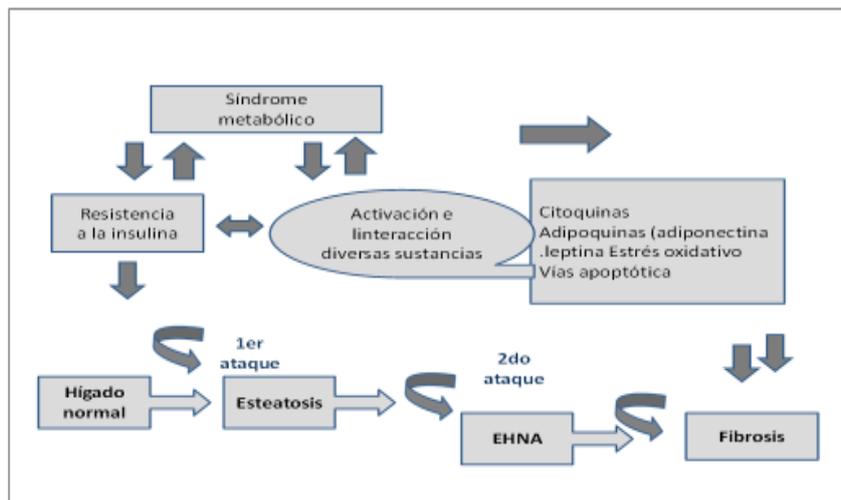


Figura 10: Mecanismos patogénicos de EHNA: modelo de los dos impactos

Al clásico modelo de los dos impactos propuesto por Day en 1998 Anna Marie Diehl en 2005 propone un nuevo mecanismo que intervendría en la patogénesis de la EHGNA, el llamado “tercer impacto”, y que al ser incluido formaría la conocida como “teoría del multimpacto” en el que una inadecuada respuesta a los fenómenos de apoptosis o muerte generaría una respuesta proliferativa de los hepatocitos progenitores que sustituirían así a los hepatocitos normales (Diehl, 2005).

La muerte celular o apoptosis provoca en el hígado sano una respuesta en la que los hepatocitos dañados son sustituidos por tejido normal, pero en presencia de EHGNA estos mismos fenómenos de apoptosis actúan sobre las células progenitoras hepáticas haciendo que evolucionen a células intermedias en clara relación con los fenómenos de fibrosis.

La muerte celular y los cambios en la capacidad de regeneración de los hepatocitos constituirían por tanto este tercer impacto (Muratore C, 2009).

1.5.2: Síndrome de Resistencia a la insulina:

La resistencia periférica a la insulina se encuentra implicada en la base patogénica de la EHGNA.

La falta de respuesta celular a la acción normal de la insulina ocasiona el Síndrome de Resistencia a la Insulina (RI) y hace que tanto la glucosa, los aminoácidos y los ácidos grasos no queden retenidos en las células y por tanto aumenten sus valores en sangre periférica.

Por otra parte la RI provoca un incremento en el aporte de Ácidos Grasos Libre (AGL) al hígado, que junto a la reducción del malonil-coA, inducen la entrada de los mismos en las mitocondrias. Los AGL producen un daño hepático directo por aumento de estrés oxidativo y activación de las vías inflamatorias mediadas por el citocromo p450 y la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) interviniendo así en la peroxidación lipídica (Sanyal AJ, 2001).

La resistencia a la insulina tiene diferentes efectos según donde se produce:

- *en el músculo y en el tejido graso* la RI reduce la absorción de glucosa así como su almacenamiento en forma de glucógeno y triglicéridos.

- *en el hígado* ocasiona una disminución de la síntesis y almacenamiento de glucógeno junto a un fracaso de los mecanismos, tanto de supresión de la producción de glucosa como de su liberación en sangre. Esta falta de regulación provoca que el páncreas segregue una mayor cantidad de hormona en un intento de compensar dichas variaciones.

En conjunto, el hiperinsulinismo originado tras la activación del páncreas en presencia de resistencia a la insulina, hace que en el tejido adiposo se produzca un incremento de la lipólisis junto a la alteración en los AGL originando la neoglucoénesis y el aumento de triglicéridos a nivel hepático.

La falta de producción de insulina hace que la glucemia se eleve como mecanismo de compensación (Macias-Rodriguez RU, 2009).

El acúmulo de grasa intrahepática en forma de triglicéridos puede deberse a distintos mecanismos como aparecen en la **Figura 11**:

- aumento de la síntesis hepática de los mismos
- aumento de su transporte a la célula hepática
- disminución de su salida
- oxidación lipídica insuficiente

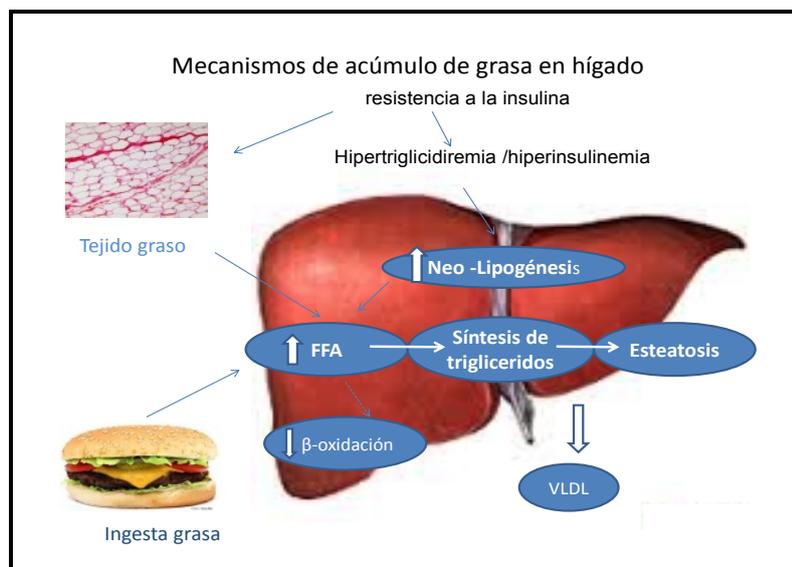


Figura 11: Mecanismos patogénicos de EHGNA

La resistencia a la insulina influye también en la regulación de adipocinas proinsulínicas y antiinsulínicas, por lo que hoy en día está considerada como desencadenante fundamental de la mayor parte de alteraciones patogénicas que se producen en la EHGNA.

Pese a la alta prevalencia de factores desencadenantes de aparición de resistencia a la insulina, tan sólo una fracción de individuos desarrolla NAFLD y una minoría de ellos progresa a esteatohepatitis y sus complicaciones.

Esto sugeriría que la predisposición genética y los factores ambientales pueden jugar un papel colaborador en la patogenia de la enfermedad. En la esteatosis simple intervendrían genes implicados en la resistencia a la insulina o que codifican a las proteínas que intervienen en el metabolismo hepático de los lípidos mientras que en la esteatohepatitis los genes participantes sería aquellos cuya misión es la codificación de las proteínas relacionadas en la generación de metabolitos de oxígeno reactivos y defensas antioxidantes y citocinas (Macias-Rodriguez R, 2009).

1.5.3: Estrés oxidativo:

A la importancia de la resistencia a la insulina como factor inductor de acúmulos grasos a nivel hepático hay que añadir el estrés oxidativo, con el cual se produce un paso más en la evolución fisiopatológica de la esteatosis hacia formas más avanzadas y aparición de esteatohepatitis.

La importancia del estrés oxidativo y su relación con las disfunciones mitocondriales en la enfermedad grasa hepática está ampliamente establecida en trabajos como el de Soltys K y colaboradores (Soltys K, 2001).

La aparición del stress oxidativo inducido por el incremento de los AGL en el hepatocito hace que se desencadenen varios mecanismos como la activación de citocromo P450, el aumento de beta oxidación mitocondrial, la estimulación de lipo-oxigenasa y factor de necrosis tumoral, junto con aumento de hierro, entre otros (Saxena NK, 2002).

Este incremento del stress oxidativo llevará a la activación de factores proinflamatorios y de necrosis celular y pondrá en marcha a las células

estrelladas llamadas de Ito, que son precursoras de fibrosis hepatocitaria. Se desencadena así el segundo golpe.

Las causas del estrés oxidativo son múltiples, pero parece claro que un mal funcionamiento de la mitocondria supone alteraciones en el metabolismo de los AGL, ya que es en la mitocondria donde se produce su β -oxidación y la aparición de especies reactivas de oxígeno (Sanyal AJ, 2001), (Pessayre D, 2002), (Solis Herruzo, 2006), (Dowman JK, 2012).

Además del estrés mitocondrial, también existe stress a nivel del retículo endoplasmático apareciendo este en diversas circunstancias como la insulinoresistencia, la inflamación, la apoptosis y la disfunción mitocondrial (Lluch P, 2004) (Serviddio G, 2008).

En los pacientes con Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica las mitocondrias se hallan alteradas morfológica y funcionalmente (Day CP, 1998) (Muratore C, 2009) (Dowman JK, 2010).

No existe acuerdo sobre si las alteraciones moleculares y enzimáticas descritas hasta la actualidad en el desarrollo de la EGHNA son independientemente de la causa que la origina (Scorletti E, 2011).

El conocimiento de diversos genes relacionados tanto con la acumulación grasa como con otros mecanismos (oxidación, estrés oxidativo, adipocinas y receptores, citoquinas y receptores, etc) abren una vía de estudio para nuevos mecanismos patogénicos de la EHGNA (De Alwis NM, 2007).

1.5.4: Importancia de las citocinas inflamatorias o adipoquinas:

El daño hepático inducido por citocinas correspondería al de los mecanismos responsables del segundo impacto de Day. Entre las citocinas relacionadas con procesos inflamatorios se deben mencionar el TNF α (factor de necrosis tumoral alfa), las interleucinas 6 y 18 (IL-6 IL-18), las adipocinas u hormonas producidas por el tejido adiposo (adiponectina y leptina) y otros factores como el angiotensinógeno y la resistina, cuyo papel aún no ha sido aclarado en la patogenia de EGHNA.

Las citocinas son proteínas solubles segregadas por diversas células del organismo con una actividad reparadora de tejidos y activadora de la respuesta inmune a diversas agresiones. Entre las distintas citosinas proinflamatorias se encuentran:

1.- Adiponectina:

Es una hormona sintetizada en el tejido adiposo y cuya acción fundamentalmente es intervenir en el metabolismo de la glucosa y los ácidos grasos.

La adiponectina es necesaria para regular la sensibilidad a la insulina y la homeostasis de la glucosa (Maeda N, 2002), (Hui JM, 2004).

La regulación de la homeostasis de la resistencia a la insulina y la glucosa se basa en las siguientes acciones:

- a) Aumento de la oxidación de lípidos
- b) Mejora de la señalización de insulina en el receptor y posterior transducción de señal
- c) Inhibición de la gluconeogénesis y aumento de la captación de glucosa por el músculo esquelético
- d) Inhibición de TNF α en el tejido adiposo

La Adiponectina forma parte de la familia de las adipocitocinas junto a la leptina y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α).

En la obesidad, sobre todo con aumento de grasa visceral aparece una disminución de adiponectina junto a RI y un aumento de TNF- α (Moyiminiyi OA, 2007).

Estos hallazgos han dado lugar al estudio del posible efecto hepatoprotector de la adiponectina en el desarrollo de la Enfermedad Hepática Grasa no Alcohólica (Kamada Y, 2003).

2.-Leptina:

Se trata de una hormona liberada por los adipocitos y que actúa informando a nivel encefálico sobre una excesiva cantidad de tejido adiposo en el organismo. Tiene una acción y efecto anorexígeno. Interviene además en otros aspectos del organismo como la reproducción y la inmunidad (Chitturi S, 2002).

A pesar de que no es bien conocido el poder de producción de fibrosis hepática por acción de la leptina, en condiciones normales, la leptina suprime la producción hepática de glucosa y la lipogénesis de novo mientras que induce la oxidación de ácidos grasos en los hepatocitos jugando un papel en la patogénesis de la EHGNA al actuar como una citocina pro-inflamatoria y pro-fibrogénica (Polyzos SA, 2011).

Los niveles circulantes de leptina son directamente proporcionales a la cantidad de grasa corporal y fluctúan con los cambios agudos en la ingesta (Considine RV, 1996).

Las mujeres suelen tener concentraciones de leptina mas elevadas que los hombres y esto parece debido a la presencia de mayores cantidades de grasa subcutánea (Leshan RL, 2006). Su incremento se ha relacionado tanto con la obesidad como con la EHGNA (Auwerx J, 1998), (Canbakan B, 2008), (Zhang Y, 2006).

3.-Interleucinas 6 y 18:

Las citocinas son proteínas solubles de bajo peso molecular que intervienen como mediadores en actividades como la inflamación, los fenómenos de inmunidad y el crecimiento celular entre otros.

Se producen no sólo en los hepatocitos sino también en las células no parenquimatosas como las células de Kupffer y las células hepáticas estrelladas (Oberholzer A, 2000).

La mayor expresión intrahepática de citocinas resulta de la activación local de la vía de actividad NF- κ B lo que sugiere un papel importante en la modulación de la RI, la inflamación mediada por daño hepatocelular y por los factores derivados de los acúmulos grasos.

Es probable por tanto que desempeñe un papel clave en la progresión de la EHGNA y las enfermedades cardiovasculares. (Miller AM, 2001)(Garcia-Galiano D, 2007).

- Interleucina 6 (IL-6): Es una glucoproteína segregada por diversas células del organismo como los fibroblastos y macrófagos y con propiedades de actividad inflamatoria.

La esteatosis hepática se asocia con un aumento de la producción de interleucina-6, así como de otras citocinas proinflamatorias. Se encuentra en estudio su posible valor para la diferenciación de esteatosis y esteatohepatitis.

- Interleucina 18 (IL-18): Esta citocina que se produce principalmente por los macrófagos interviene en la inmunidad mediada por células.

La actividad inflamatoria de esta interleucina se ha relacionado en los últimos años con varias entidades patológicas entre ellas las hepatitis crónicas víricas y la enfermedad grasa del hígado no alcohólica (Tapan SD, 2010).

4.-Citoqueratina 18 (CK-18):

La citoqueratina es una proteína cuya función es la de formar los filamentos del citoesqueleto intracelular. Su función principal es la organización de la estructura tridimensional interna de la célula formando a la vez una barrera rígida que evita la entrada de microorganismos.

Recientemente varios estudios (Wieckowaska A, Lopez AR, 2006), (Yilmaz Y, 2007) han indicado que un neoepitopo de la Cytokeratin-18 conocido como M30-CK18 puede ser un biomarcador de enfermedad grasa en humanos (Yilmaz Y, 2007).

Además estos niveles circulantes de M30-CK18 parecen correlacionarse positivamente con la apoptosis y negativamente con los niveles de adiponectina.

5.-Factor fibroblástico 21 (FCF 21):

Es uno de los factores de crecimiento que aumenta la actividad

mitótica y la síntesis de ADN principalmente en tejidos fibrosos del organismo humano.

El factor de crecimiento fibroblástico 21 (FGF21) es un péptido segregado por el hígado que se ha relacionado con la oxidación de los ácidos grasos y la captación de glucosa.

Se ha indicado que los niveles en sangre periférica se correlacionan con la obesidad cita ¿?. Recientemente estos niveles se han detectado también elevados entre los pacientes con EHGNA (Jarrar MH1, 2007), (Mraz M, 2009), (Morris-Stiff G, 2010).

1.5.5: Microbiota y EHGNA:

La microbiota la constituyen un número tan elevado de bacterias intestinales que llega a superar al número total de células del organismo humano por lo que es considerada por algunos autores como “el superorganismo” (Clemente JC, 2012), (Nicholson JK, 2012).

La microbiota intestinal tiene varias e importantes funciones. Ejerce un efecto barrera que dificulta la colonización de microorganismos patógenos en el organismo junto a esta función, la más conocida hasta ahora, se van descubriendo nuevas como el papel modulador en la respuesta inflamatoria e inmunológica.

Además se está describiendo la capacidad que tiene de:

- regulación en el almacenamiento de grasa
- acción sobre la lipogénesis y oxidación de ácidos grasos
- actividad metabólicas, mediante la extracción de energía a partir de carbohidratos no digeribles y la fermentación de carbohidratos a ácidos grasos de cadena corta
- absorción de agua y sales minerales y síntesis de vitaminas

- intervención en el metabolismo de xenobióticos, compuestos ajenos al organismo generalmente sintetizados en el laboratorio (Imajo K,2014).

La existencia de diversos estudios ha revelado una enorme diversidad de la microbiota intestinal entre individuos, incluso entre gemelos idénticos. Wu y colaboradores sugirieron que esta composición lejos de ser aleatoria está fuertemente asociada con los patrones alimenticios (Wu GD, 2011).

En el estudio de la microbiota conviene conocer el concepto de disbiosis como el desequilibrio, ya sea estructural o funcional, de la estructura microbiana dentro del organismo. Este desequilibrio se produce más frecuentemente en el tracto digestivo y produce una disrupción en la homeostasis entre el huésped y la microbiota del colon.

Este concepto es importante dado que se establecen relaciones entre la disbiosis y la aparición de ciertas enfermedades como obesidad, Síndrome Metabólico y Esteatosis Hepática No Alcohólica (Zhu L, 2013) así como enfermedades inflamatorias intestinales, síndrome del colon irritable,

arterosclerosis, autismo, alergias y asma (Backhed FD, 2004), (Turnbaugh PJ, 2006), (Backhed F, 2007), (Tilg H, 2011).

La mayoría de las reacciones bioquímicas que se producen en la microbiótica son reductoras, pero también las hay de oxidación. Es lo que ocurre con el alcohol que es oxidado por el acetaldehído por acción de la alcohol deshidrogenasa. El metabolito primario de esta oxidación, el etanol, es altamente tóxico. El papel de la endotoxemia que se produce en el sobrecrecimiento bacteriano a nivel intestinal asociado a un aumento de la permeabilidad de la pared del intestino delgado propicia la formación de etanol. La formación de etanol induce fenómenos de estrés oxidativo por activación de $\text{TNF}\alpha$ (Solga SF, 2003).

La alteración de bacterias intestinales se asocian con el segundo golpe de la patogenia de la EHGNA por ser potencial fuente de daño oxidativo.

El sobrecrecimiento bacteriano se observó aumentado en pacientes con esteatohepatitis comparativamente con pacientes controles en estudios como el de Abu-Shanab Ahmed 2010.

En pacientes con esteatohepatitis se documentó aumento de la producción de etanol respiratorio, incremento del riesgo de daño hepático en obesos después de cirugía bariátrica y mejoría con el uso de metronidazol después de la cirugía lo que sugiere que el sobrecrecimiento bacteriano es un factor de riesgo para severidad de enfermedad hepática en pacientes obesos.

Se plantea como teoría, que el sobrecrecimiento bacteriano contribuiría a la patogénesis del NAFLD aumentando la producción endógena de alcohol acetaldehído y de citoquinas por vía de exposición a lipopolisacáridos aunque la evidencia es todavía débil (Tilg H, 2010).

2. HIPÓTESIS y OBJETIVOS GENERALES:

2.1: Hipótesis general:

La hipótesis general se plantea tras constatar la relación existente entre la Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica (EGHNA) con la obesidad mórbida (OM).

La hipótesis de trabajo del presente estudio es analizar sustancias como adiponectina, leptina, interleucinas 6 y 18 (IL-6, 18), caspasa (CK-18) y factor de crecimiento fibroblástico 21 (FCF-21) en un grupo de pacientes con Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica asociada a obesidad mórbida y ver si una o varias de estas sustancias está relacionada con el desarrollo de la EHGNA, y el comportamiento de dichas sustancias en sus variantes esteatosis o esteatohepatitis.

Como hipótesis secundaria, estaría la utilización de estos biomarcadores en sangre periférica como métodos diagnósticos no invasivos como alternativa a la biopsia hepática para el diagnóstico de EHGNA así como para ser utilizados como factores predictivos de evolución y diferenciación entre esteatosis y esteatohepatitis.

2.2: Objetivos del estudio:

En un grupo de pacientes diagnosticados de obesidad mórbida, estudiar la existencia y las características de EHGNA y para ello analizar los siguientes datos:

1.- Prevalencia de EHGNA en los pacientes del estudio y su distribución por grupos de esteatosis y esteatohepatitis según histología.

2.- Valorar las lesiones histológicas hepáticas según el NASH Scoring System.

3.- Cuantificar los valores de adiponectina, leptina, interleucinas 6 y 18, CK-18 y factor de crecimiento fibroblástico 21 entre los pacientes incluidos en el estudio.

4.- Valorar si estas determinaciones pueden ser válidas para diferenciar a los pacientes con esteatosis de los pacientes con esteatohepatitis.

5.- Por último comparar los resultados con un grupo de sujetos sanos como grupo control.

3. MATERIAL y MÉTODO:

3.1: Grupo de estudio:

3.1.1: Estudio clínico:

El grupo de estudio se compone de 55 pacientes diagnosticados de Obesidad Mórbida en las Consultas Externas del Hospital Clínico Universitario de Valencia. Dado su diagnóstico estaban programados para cirugía bariátrica terapéutica.

De los 55 pacientes incluidos, 45 eran mujeres (81,8 %) y 10 hombres (18,2 %). Las edades oscilaban entre 27 y 61 años con una media de $46,67 \pm 8,07$.

En las Consultas Externas del Servicio de Hepatología, eran visitados entre 30 y 60 días previos a la intervención quirúrgica y remitidos al Laboratorio de Digestivo donde se les practicaba extracción sanguínea.

En dicha visita, se informaba al paciente del motivo de su inclusión en el estudio y de las distintas exploraciones que les iban a ser realizadas: analítica sanguínea y extracción de muestra de tejido hepática durante la intervención quirúrgica.

El protocolo de estudio fue aprobado por los Comités Científico y Ético del Hospital Clínico Universitario de Valencia.

El consentimiento informado fue obtenido en cada caso siguiendo las Guías de Ética de la Declaración de Helsinki de 1975 (Helsinki, 1997).

Para el diseño del estudio se había elaborado un protocolo de recogida de datos en el que incluyen los datos antropométricos, antecedentes familiares y personales, hábitos tóxicos, enfermedades concomitantes e historial farmacológico, ver **Figura 12**.

PROTOCOLO RECOGIDA DE DATOS ESTEATOSIS HEPATICA	
Fecha _____; Nombre _____; Nº Historia _____; EDAD _____; SEXO _____; TALLA _____; PESO _____; IMC _____; FECHA DE NACIMIENTO _____; PULSO _____; T.A. _____; Perimetro Cintura _____; Cadera _____	
ANTECEDENTES CLÍNICOS: GRUPOS <input type="checkbox"/> 1-ENOLISMO <input type="checkbox"/> 2-OBESIDAD MÓRBIDA <input type="checkbox"/> 3-DIABETES MELLITUS <input type="checkbox"/> 4-HIPERLIPIDEMIA <input type="checkbox"/> 5-OTROS _____	
OTRAS PATOLOGÍAS <input type="checkbox"/> DIABETES MELLITUS <input type="checkbox"/> HIPERTENSION <input type="checkbox"/> CARDIOPATIA <input type="checkbox"/> APNEA DEL SUEÑO <input type="checkbox"/> ALCOHOL _____ <input type="checkbox"/> ENF. HEPATICA _____ <input type="checkbox"/> OTRA _____; <input type="checkbox"/> TABACO _____ <input type="checkbox"/> TRATAMIENTOS _____	
ANÁLITICA : FECHA _____ Leucocitos _____ AST _____ Neutrofilos _____ ALT _____ Linfocitos _____ γ-GT _____ Monocitos _____ FA _____ Hb _____ B.Total _____ Plaquetas _____ B.Indirecta _____ INR _____ TSH _____ T4 _____ Glucemia _____ Urea _____ Colesterol _____ HDL _____ LDL _____ Triglicéridos _____ Creatinina _____ Insulina (HOMA) _____	
SEROLOGÍA: HBs Ag _____ anti HBs _____ anti HBc _____ anti VHC _____ anti VIH _____	
ESTUDIO HISTOLOGICO Fecha _____; Nº Biopsia _____; Score _____ DIAGNOSTICO: 1.- Esteatosis 2.- Esteatosis mas infla 3.- Esteatosis mas degener 4.- Lo anterior mas fibrosis 4-1 Fibrosis periportal o sinusoidal en zona 3 4-2 Fibrosis periportal 4-3 Puentes de Fibrosis 4-4 Cirrosis	

Figura 12: Modelo de cuaderno de recogida de datos del estudio

A continuación se detallan el resto de datos y mediciones que se realizaban a cada paciente **Tabla 8**.

Tabla 8: Datos recogidos durante la encuesta al paciente

<p>datos antropométricos</p> <ul style="list-style-type: none"> -edad (años) -sexo -talla (cm) -peso (Kg) -IMC -perímetro cintura (cm) -perímetro cadera (cm) -tensión arterial sistólica y diastólica (mmHg) -pulso arterial (ppm) 	<p>antecedentes clínicos</p> <ul style="list-style-type: none"> -hábito enólico (gr/día) -tabaquismo (cigarrillos/día) -diabetes mellitus Tipo 2 -dislipemia
<p>otras patologías</p> <ul style="list-style-type: none"> -cardiopatías -hipertensión arterial -apnea del sueño -otras 	<p>historial farmacológico</p> <ul style="list-style-type: none"> -tratamientos actuales -antecedentes farmacológicos

3.1.2: Estudio analítico:

El estudio clínico se complementaba con determinaciones analíticas en sangre periférica de los valores que a continuación se detallan en la **Tabla 9**.

Tabla 9: Pruebas de laboratorio realizadas en el presente estudio

-leucocitos -neutrofilos -linfocitos -monocitos	-AST -ALT -GGT -fosfatasas alcalinas -bilirrubina total, directa e indirecta
-glucemia -Hba _{1c} -insulina -urea -colesterol (HDL,LDL) -trigliceridos -plaquetas -INR -creatinina -TSH / T4 -PCR ultrasensible	-HBs Ag -antiHBs -antiHBc -anti VHC -anti VIH

HbA_{1c}: hemoglobina glicosilada, AST/GOT: aspartato amino transferasa ALT/GPT: alanin amino transferasa, GGT:gamma glutamitransteroamilasa, HDL/LDL: fracciones de colesterol, INR: control de protrombina, TSH/T4: hormonas tiroideas PCR :proteína C reactiva HbsAg: Antígeno de superficie del VHB, Anti VHC y anti VIH: anticuerpos frente al virus de la hepatitis C y del SIDA.

Los métodos de laboratorio empleados fueron los siguientes:

:

=La *glucosa* se determinó por prueba UV enzimática con método de hexoquinasa en analizador Olympus (Olympus Life and Material Science Europe GmbH, Ireland).

=La *hemoglobina glicosilada* (HbA_{1c}) medida por cromatografía líquida de alta resolución por intercambio iónico en fase reversa, utilizando el analizador automático Adams HA-8160 (Menarini Diagnósticos, S.A).

=El *colesterol total* y sus fracciones (LDL, HDL) así como los triglicéridos, se determinaron por método enzimático colorimétrico en el analizador Olympus.

=Para la determinación de *insulina* se utilizó un método de inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (Elecsys, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

=La *Proteína C Reactiva de alta sensibilidad* (PCR-AS) se determinó por inmunonefelometría (CardioPhase hsPCR, Dade Behring Marburg GMBH, Marburg).

=El cálculo de la resistencia a la insulina (RI) realizado por el método HOMA: $\text{insulinemia en ayunas (uU/ml)} \times \text{glucemia en ayunas (mmol/l)}$.

=Otras determinaciones específicas: además de las anteriores se realizaron las siguientes determinaciones: adipocinas (adiponeptina y leptina), inmunomoduladores (interleucina IL6 e IL18), CK-18 (creatinquinasa 18) y FGF-21 (factor de crecimiento fibroblástico 21) ver **Tabla 10**.

Tabla 10: Pruebas de específicas laboratorio

- adiponectina
 - leptina
 - interleucina-6
 - interleucina-18
 - CK-18 (antígeno de fragmentos de M-30)
 - FCF-21: Factor de crecimiento fibroblástico-21
-

CK-18: Citokeratina 18, FCF 21: Factor de crecimiento fibroblástico 21

Estas determinaciones fueron realizadas en el Laboratorio de Digestivo del Hospital Clínico de Valencia para lo cual a todos los pacientes del estudio

se les efectuó una extracción de 5 ml de sangre periférica que fueron almacenados en tubos de BD Vacutainer para determinaciones analíticas y siendo sometidas a centrifugación a 55g durante 10 minutos. El sobrenadante era recogido en alícuotas de 500 micrólitros y mantenido en nevera a -80 C.

Los kits de laboratorio empleados para cada una de estas moléculas fueron:

Adiponectina: por Kits de Radioinmunoensayo de Linco Research Inc.St. Louis, MO, USA. Unidad de medida en: μ g/ml.

Leptina: BioVendor's Human Leptin, medida en ng/mL.

Interleucina 6 (IL-6): Con test de Biotrack Easy Elisa system de Amersham Biosciences UK Ltd medida en pg/ml.

Interleucina 18 (IL-18): por Kit de Bnder Med System GmbH, Austria.en pg/ml, medida en pg/ml.

M-30 Antígeno de fragmentos de CK-18: por Apoptense Elisa Kit (PEPIVA, Alexis, Grunwald, Germany) expresadoU/L.

Factor de Crecimiento Fibroblástico 21 (FCF-21): con Elisa Kit de Biovendor.

Todos ellos aparecen en la **Tabla 11**.

Tabla 11: Kits de laboratorio empleados para las distintas determinaciones

Determinaciones	Kits utilizados
adiponectina:	Radioinmunoensayo de Linco Research Inc, St. Louis, MO, USA.
leptina:	BioVendor's Human Leptin.
interleucina 6 (IL-6):	Test de Biotrack Easy Elisa system de Amersham Biosciences UK Ltd.
interleucina 18 (IL-18):	Kit de Bnder Med System GmbH, Austria.
Citokeratina 18 (CK18)	Apoptense Elisa Kit (PEPIVA, Alexis, Grunwald, Germany).
Factor de Crecimiento Fibroblástico 21	Elisa Kit de Biovendor.

3.1.3: Estudio histológico:

Se obtuvieron muestras de tejido hepático durante la intervención programada de cirugía bariátrica. Dichas muestras fueron incluidas en parafina y se tiñeron con hematoxilina eosina y tricrómico de Masson para su estudio histológico.

Todas las muestras fueron analizadas por el mismo anatomopatólogo siguiendo las clasificaciones de Brunt y de Kleiner.

Se clasificaron los resultados en: normal, esteatosis, esteatohepatitis y cirrosis, y así mismo se valoró la intensidad de la esteatosis, lesiones de hepatocitos, fibrosis, inflamación y otras lesiones (Brunt EM 1999), (Kleiner DE, 2005).

3.2: Grupo control:

Compuesto por 36 sujetos sanos, en los que se había descartado la existencia de enfermedad hepática mediante: anamnesis, exploración física, y determinaciones analíticas presentando Índice de Masa Corporal dentro de la normalidad.

De forma similar a lo realizado a los pacientes de obesidad mórbida, en este grupo se practicó extracción de 5 ml de sangre periférica que tras ultra centrifugación se almacenaron en alícuotas a -80 Cº para la determina-

ción de adiponectina, leptina, interleucina IL-6 y IL-18, citokeratina-18 y factor de crecimiento Fibroblástico 21.

Las técnicas y kits de laboratorio fueron las mismas que las descritas en el grupo de obesidad mórbida

En este grupo se realizó elastografía impulsional (Fibroscan ©) que fue normal en todos ellos.

3.3: Criterios de exclusión en ambos grupos:

1- Ingesta enólica: en el estudio se excluyeron los pacientes que referían ingesta de alcohol etílico con cantidades ≥ 40 gr/día en varones y de ≥ 20 gr/día en mujeres que sería equivalente a 4 copas de vino o cerveza/día en hombres y 2 en mujeres siguiendo las recomendaciones del **ISCA** (Interrogatorio Sistematizado de Consumos Alcohólicos) (Gual A, 2001).

2- Positividad de infección activa para el virus B, o C de la hepatitis y de la Inmunodeficiencia humana, mediante determinación de AgHbs y anticuerpos para VHC y VIH.

3- Otras enfermedades hepáticas: hemocromatosis, hepatopatía autoinmune o la enfermedad de Wilson.

4- Enfermedades cardíacas o renales graves.

5- Rechazo del paciente a la participación en el estudio.

4. ESTUDIO ESTADÍSTICO:

El estudio estadístico se realizó con una base de datos del programa informatizado SPSS v. 14 (SPSS, Chicago, IL).

=Las variables cuantitativas se expresan como media \pm desviación estándar o medianas y rangos de intercuartiles, para variables simétricas o no simétricas respectivamente.

=Las variables cualitativas se expresan en forma de frecuencia (n) y porcentajes (%).

La comparación de medias se hizo con el test de Mann-Whitney. Se utilizó F de Anova o el test t de Student para comparar medias entre normales y NALFD y entre esteatosis y esteatohepatitis.

También para comparar diferentes grados y estadios de las lesiones histológicas y la comparación de proporciones se realizó con el test de X^2 o de Fisher según el número de determinaciones.

Las correlaciones simples se estimaron mediante el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson o Spearman así como Correlación Múltiple con Regresión Linear y análisis de Regresión Logística.

5. RESULTADOS:

5.1: Datos antropométricos:

5.1.1: Grupo de estudio:

El grupo de estudio lo componen 55 pacientes, todos ellos diagnosticados de obesidad mórbida ($\text{IMC} \geq 40 \text{ kg/m}^2$) de los cuales 45 eran mujeres (81,8 %) y 10 hombres (18,2 %) con una edad media de $46,83 \pm 8,06$ años y rango entre los 27 y 61 años.

La estatura media era de $163,13 \pm 9,49$ medida en centímetros, el peso medio cuantificado en kilogramos de $134,68 \pm 25,89$ y el índice de masa corporal medio de $48,07 \pm 8,13$ expresado en kg/m^2 .

Los valores medios de los contornos de cintura y cadera eran $130,92 \pm 14,86$ centímetros para el primero y $151,32 \pm 19,89$ centímetros para el segundo con un índice cintura / cadera (ICC) medio de $0,87 \pm 0,82$.

La tensión arterial sistólica (TAS) media obtenida fue de $146,40 \pm 25,44$ mmHg y la diastólica (TAD) de $94,25 \pm 14,65$ medidas en mm Hg.

La resistencia a la insulina calculada mediante el índice HOMA fue de $3,01 \pm 1,57$ de valor medio \pm DE.

Los valores de los parámetros antes citados, comparados entre hombres y mujeres no alcanzaron significación estadística, salvo para la estatura como se muestra en la **Tabla 12**.

Tabla 12: Datos antropométricos del grupo de estudio según sexo y totales

	Mujeres n = 45		Hombres n = 10		Totales n =55		p
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	
edad (en años)	46,80	\pm 8,07	47,00	\pm 6,96	46,83	\pm 8,06	0,93
peso (en Kg)	130,12	\pm 23,43	155,11	\pm 27,59	134,68	\pm 25,89	0,21
talla (en cm)	160,16	\pm 7,25	176,30	\pm 6,58	163,13	\pm 9,49	0,00
IMC (en kg/m ²)	48,22	\pm 8,16	47,40	\pm 8,38	48,07	\pm 8,13	0,71
p.cintura (en cm)	128,92	\pm 14,69	138,72	\pm 13,59	130,92	\pm 14,86	0,90
p.cadera (en cm)	150,67	\pm 19,23	151,56	\pm 24,18	151,32	\pm 19,89	0,50
ICC	0,86	\pm 0,08	0,92	\pm 0,07	0,87	\pm 0,82	0,39
HOMA	3,10	\pm 1,69	2,45	\pm 0,08	3,01	\pm 1,57	0,64
TAS (mm Hg)	144,19	\pm 24,62	157,00	\pm 28,13	146,40	\pm 25,44	0,23
TAD (mm Hg)	93,81	\pm 14,95	96,33	\pm 13,71	94,25	\pm 14,65	0,63
Pulso (ppm)	83,88	\pm 10,95	86,33	\pm 21,70	84,31	\pm 13,17	0,61

IMC: Índice de masa corporal, ICC: índice cintura cadera, HOMA: Homeostatic Model Assessment
TAS: tensión arterial sistólica, TAD: tensión arterial diastólica, ppm: pulsaciones por minuto

Se obtuvieron muestras para estudio histológico en 48 de los 55 pacientes. De los 7 restantes, 4 no llegaron a ser intervenidos y en 3 la muestra obtenida no fue válida para su estudio.

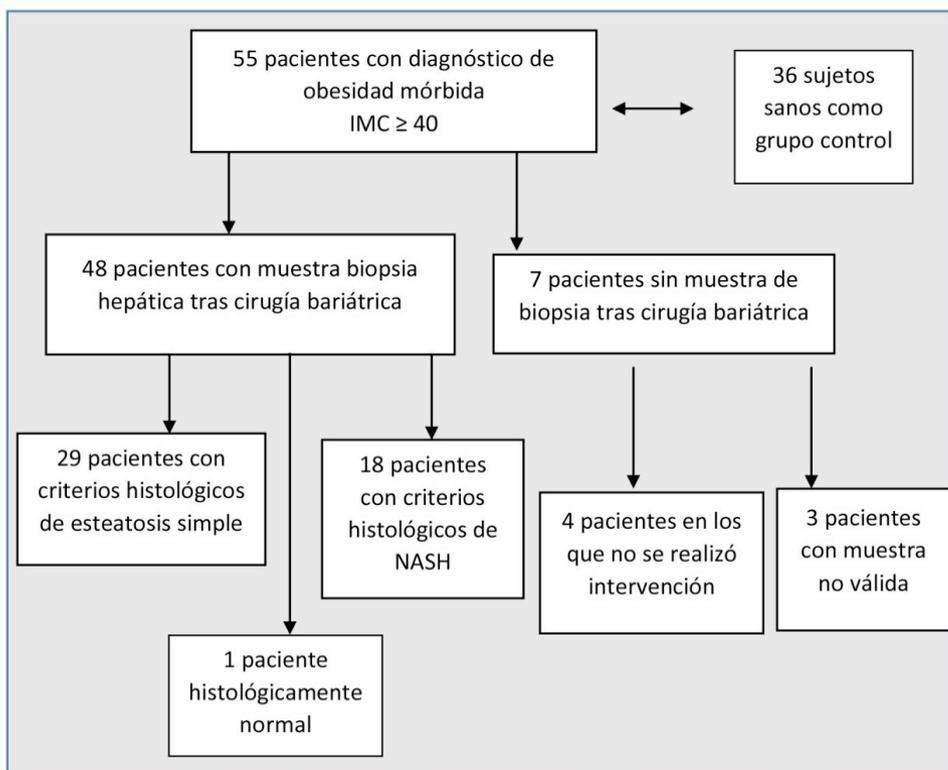


Figura 13: Distribución de grupos del estudio

El estudio histológico permitió la distribución de pacientes en dos grupos: los que cumplían criterios de esteatosis simple 29 casos (61,70 %) y aquellos otros con criterios histológicos de NASH 18 casos (38,29 %) junto con 1 caso que fue histológicamente normal como se observa en la **Figura 13**.

La distribución en función del resultado histológico nos permite comparar datos entre ambos grupos siendo este uno de los objetivos del estudio.

El grupo con esteatosis simple se componía de 23 mujeres y 6 hombres y en el grupo NASH estaba compuesto por 16 mujeres y 2 hombres. Al comparar ambos grupos según su sexo no aparecían diferencias con significación estadística reflejadas en la **Tabla 13**.

Tabla 13: Datos comparativos entre esteatosis y NASH según el sexo

	grupo esteatosis n = 29 (%)	grupo NASH n = 18 (%)	valor p
Hombres	6 (20,68%)	2 (11,12%)	0,407
Mujeres	23 (79,32%)	16 (88,88 %)	

La edad media era de $45,28 \pm 8,58$ años en esteatosis simple y de $50,06 \pm 6,30$ años en NASH ($p= 0,062$).

Los valores promedios del peso en kilogramos eran de $136,33 \pm 27,73$ en esteatosis y de $127,81 \pm 23,71$ en esteatohepatitis ($p=0,223$). El IMC medio era de $51,19 \pm 8,76$ en el grupo de esteatosis y de $48,16 \pm 9,54$ en el grupo de pacientes con NASH ($p= 0,155$).

Los perímetros de cintura eran de $130,11 \pm 12,71$ y $130,32 \pm 12,86$ cm en los grupos de esteatosis simple y NASH respectivamente ($p=0,956$).

Los datos registrados de los perímetros de cadera resultaron ser de $152,23 \pm 19,14$ cm en esteatosis simple y $145,44 \pm 17,32$ cm en esteatohepatitis ($p= 0,239$). Los índices cintura/cadera eran de $0,88 \pm 0,10$ y $0,91 \pm 0,73$ respectivamente expresados en medias \pm DE ($p=0,253$).

Los resultados de datos antropométricos comparando los dos grupos

no muestran diferencias estadísticamente significativas como se observa en la **Tabla 14**.

Tabla 14: Datos antropométricos comparados de esteatosis y NASH

	grupo esteatosis n = 29	grupo NASH n = 18	valor p
	media ± DE	media ± DE	
edad (años)	45,28 ± 8,58	50,06 ± 6,30	0,062
peso (Kg)	136,33 ± 27,73	127,81 ± 23,71	0,223
talla (cm)	164,14 ± 10,21	160,65 ± 9,23	0,253
IMC (kg/m ²)	51,19 ± 8,76	48,16 ± 9,54	0,155
perímetro cintura (cm)	130,11 ± 12,71	130,32 ± 12,80	0,956
perímetro cadera(cm)	152,23 ± 19,14	145,44 ± 17,30	0,239
Índice cintura /cadera	0,88 ± 0,84	0,91 ± 0,73	0,186

5.1.2: Grupo control:

El grupo control estaba compuesto por 36 voluntarios sanos de los cuales 27 (75%) eran mujeres y 9 (25%) hombres y con una edad media de $42,63 \pm 9,21$ años.

Tabla 15: Datos antropométricos del grupo control

	Media	DE
edad (años)	42,63	9,21
peso (Kg)	78,35	8,42
talla (cm)	162,82	8,95
IMC (kg/m ²)	21,78	1,60
perímetro cintura (cm)	85,30	5,02
perímetro cadera (cm)	100,20	3,05
Índice cintura /cadera	0,71	0,18

Todos ellos se encontraban en situación de normopeso, con valores medios de $78,35 \pm 8,42$ kilogramos y con el IMC medio de $21,78 \pm 1,60$. La estatura media era de $162,82 \pm 8,95$ centímetros y los valores medios de contorno de cintura $85,30 \pm 5,02$ y cadera $100,20 \pm 3,05$ se encontraban dentro de la normalidad siendo, así mismo, normales el índice cintura cadera $0,71 \pm 0,18$, las medias de tensión arterial sistólica y diastólica y el índice HOMA ver **Tabla 15**.

5.1.3: Comparación de datos antropométricos entre grupo de estudio y controles:

Tabla 16: Datos antropométricos comparativos entre obesos y grupo control

	grupo obesidad n = 55 media ± DE	grupo control n = 36 media ± DE	valor p
edad (años)	46,67 ± 8,07	42,63 ± 9,21	NS
peso (Kg)	134,68 ± 25,89	78,35 ± 8,42	0,000
talla (cm)	163,13 ± 9,49	162,82 ± 8,95	NS
IMC (kg/m ²)	46,32 ± 12,81	21,78 ± 1,70	0,002
perímetro cintura (cm)	130,92 ± 14,86	85,30 ± 5,02	0,000
perímetro cadera (cm)	151,32 ± 19,89	100,20 ± 3,05	0,001
Índice cintura /cadera	0,87 ± 0,82	0,71 ± 0,18	0,010

Al procesar los datos antropométricos estableciendo comparaciones entre el grupo de obesos y los controles los únicos parámetros sin diferencias estadísticamente significativos son los referentes a altura y edad

Tabla 16 y sexo **Tabla 17**.

Tabla 17:Datos comparativos entre obesos y grupo control respecto al sexo

	grupo obesidad n = 55 (%)	controles n = 36 (%)	valor p
hombres	10 (18 %)	9 (25 %)	0,612
mujeres	45 (82 %)	27 (75 %)	

5.2: Patologías asociadas:

En 44 de los 55 pacientes del grupo de estudio (96,3 %) se encontraron patologías asociadas.

Entre las comorbilidades las más frecuentes eran las relacionadas con trastornos metabólicos de los glúcidos: Diabetes Mellitus tipo 2 (DM T2) y glucemia basal elevada (gbe). Una o ambas situaciones clínicas se presentaban conjuntamente en casi la mitad del total de los casos (45,5 %).

Le seguían en frecuencia la HTA (40 %) los trastornos del metabolismo de los lípidos (25%) y el hipotiroidismo en el (18,2%) de pacientes.

La aparición de trastornos respiratorios del tipo EPOC / SAOS se encontró en casi una cuarta parte de enfermos 13 pacientes (23,6 %).

Las comorbilidades expresadas en porcentajes aparecen en la **Figura 14.**

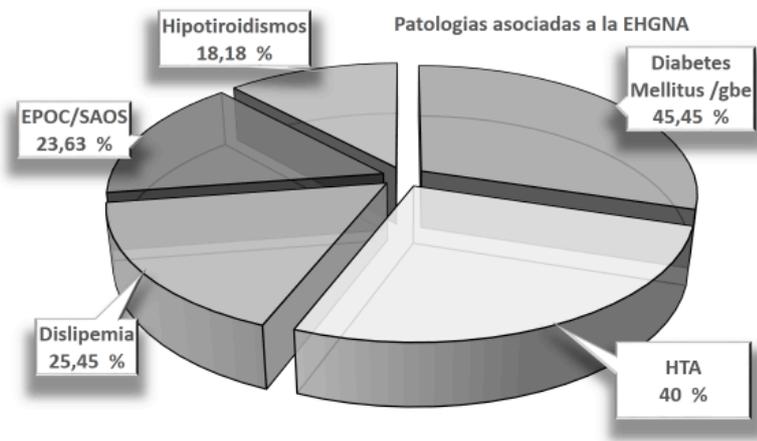


Figura 14: Patologías asociadas del grupo de obesidad mórbida en %

Casi la mitad de pacientes tenían asociados DMT2, le seguían por número de casos la HTA, dislipemias, trastornos respiratorios EPOC/SAOS e Hipotiroidismo **Tabla 18.**

Tabla 18: Patologías asociadas más frecuentes en el grupo de obesidad mórbida por nº de casos

comorbilidades	nº de casos	%
DMT2 /gbe	25	45,45
HTA	22	40,00
dislipemia	14	25,45
EPOC/SAOS	13	23,63
hipotiroidismo	10	18,18

Los datos sobre el tabaquismo reflejan que eran fumadores activos el 21,8 % (12 pacientes), no fumadores el 65,5 % (36 pacientes) y 12,7 % ex fumadores (7 pacientes).

Se completó el estudio de comorbilidades agrupando a los pacientes según presentaran tres o más comorbilidades. Más de un tercio de los pacientes (34,54 %) presentaban al menos dos patologías asociadas, 16 pacientes (29,09 %) presentaban tres o más comorbilidades y sólo 4 pacientes (6,29 %) declaraban no padecer ninguna patología previa al inicio del estudio **Tabla 19**.

Tabla 19: Distribución de paciente según el número de comorbilidades

Pacientes sin ninguna patología asociada	4 (6,29 %)
Pacientes con una patología asociada	16 (29,09 %)
Pacientes con al menos dos patologías asociadas	19 (34,54 %)
Pacientes con tres o más patologías asociadas	16 (29,09 %)

5.3: Resultados histológicos:

Dado que entre los objetivos del estudio está el de tratar de obtener datos que puedan ayudarnos a encontrar diferencias entre las formas de presentación histológica de la EHGNA (Esteatosis frente a NASH) el apartado de resultados histológicos es fundamental en el presente trabajo.

De los 48 pacientes con biopsia hepática 47 tenían enfermedad grasa del hígado y 1 caso (2,08 %) resultó histológicamente normal.

De estos 47 pacientes, 29 casos (60,41 %) presentaban esteatosis simple y 18 (37,51 %) esteatohepatitis (uno de ellos en grado de cirrosis) y un caso histológicamente normal como se muestra en la **Tabla 20**.

Tabla 20: Distribución de casos según histología por número de casos y %

	n= 48	%
Esteatosis	29	60,41
Esteatohepatitis	18	37,51
Normal	1	2,08

Los distintos datos histológicos hallados en el grupo de Obesidad Mórbida con Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica, comparando esteatosis y esteatohepatitis/NASH y siguiendo los baremos de la clasificación para enfermedad hepática grasa no alcohólica NAS se detallan a continuación.

a) Resultados de esteatosis:

1) Presencia o no de esteatosis y su extensión (< 5%, entre 5-33%, entre 33-66% y más de 66% de parénquima) localización (zona 3, zona 1, azonal, panacinar) y la presencia o no de microvesículas **Tabla 21**.

Tabla 21: Resultados histológicos de presencia de esteatosis según grado, localización y microvesículas en ambos grupos

	grupo esteatosis n = 29 (%)	grupo NASH n = 18 (%)
Grado		
< 5 %	0 (0,0)	2 (11,1)
5-33 %	20 (68,9)	6 (33,3)
33-66 %	6 (20,6)	8 (44,5)
> 66 %	3 (10,5)	2 (11,1)
Localización		
zona 3	16 (55,2)	9 (50,0)
zona 1	1 (3,4)	1 (5,6)
azonal	10 (34,5)	5 (27,8)
panacinar	2 (6,9)	3 (16,6)
Microvesículas		
ausentes	8 (27,6)	4 (22,2)
presentes	21 (72,4)	14 (77,8)

El grado de esteatosis más frecuente en el grupo de esteatosis simple corresponde al de 5/33 % afectando 68,9 % y en NASH el grado mas prevalente es 33/66 % con un 44,5 % de pacientes.

La localización de esteatosis en la zona 3 fue la más frecuente en ambos grupos con porcentajes de 55,2 % en esteatosis y 50 % en NASH, la aparición de microvesículas fue elevada con porcentajes similares, mientras que el grado de extensión fue superior en el grupo NASH.

2) Las características de inflamación quedan determinados por la aparición o no de focos inflamatorios, el número de los mismos por campo y con la presencia o ausencia de microgranulomas y lipogranulomas junto a la aparición de inflamación portal que puede estar ausente o mínima o con presencia escasa **Tabla 22**.

Tabla 22: Resultados histológicos de inflamación (grado, localización y microvesículas)

Características de la Inflamación	grupo esteatosis n = 29 (%)	grupo NASH n =18 (%)
<i>Focos de inflamación</i>		
No	27 (93,2)	3 (16,6)
<2 focos /200 células	1 (3,4)	14 (77,8)
2-4 focos /200 células	1 (3,4)	1 (5,6)
>4 focos /200 células	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Microgranulomas</i>		
ausentes	28 (96,6)	16 (88,9)
presentes	1 (3,4)	2 (11,1)
<i>Lipogranulomas</i>		
Ausentes	29 (100)	17 (94,4)
Presentes	0 (0,0)	1 (5,6)
<i>Inflamación portal</i>		
No o mínima	24 (82,7)	12 (66,7)
Escasa	5 (17,3)	6 (33,3)

3) Lesiones hepatocitarias: balonización, presencia de cuerpos acidófilos y/o megamitocondrias. Dichas lesiones tienen unos porcentajes irrelevantes en ambos grupos salvo la presencia de fenómenos de balonización de pocas células en el grupo NASH **Tabla 23**.

Tabla 23: Resultados histológicos de balonización, cuerpos acidófilos, macrófagos pigmentados y megamitocondrias

Características de lesiones hepatocitarias	grupo esteatosis n = 29 (%)	grupo NASH n =18 (%)
Balonización		
no	28 (96,6)	4 (22,2)
pocas células	1 (3,4)	13 (72,2)
abundante balonización	0 (0,0)	1 (5,6)
Cuerpos acidófilos		
no o raros	29 (100)	14 (77,8)
muchos	0 (0,0)	4 (22,2)
Macrófagos pigmentados		
no o raros	29 (100)	13 (72,2)
muchos	0 (0,0)	5 (27,8)
Megamitocondrias		
no o raras	29 (100)	14 (77,8)
muchas	0 (0,0)	4 (22,2)

4) Otras lesiones: La presencia o ausencia tanto de cuerpos de Mallory y /o núcleos glicogenados aparecen en la **Tabla 24**.

Tabla 24: Otras lesiones: Hialina de Mallory y núcleos glicogenados

Otras lesiones	grupo esteatosis n = 29 (%)	grupo NASH n = 18 (%)
Hialina de Mallory		
No o rara	29 (100)	16 (88,9)
Mucha	0 (0)	2 (11,1)
Núcleos glicogenados		
No o raros	25 (86,2)	11 (61,1)
Muchos	4 (13,8)	7 (38,9)

Tanto la existencia de núcleos glicogenados como de Hialina de Mallory tienen escasa presencia entre los pacientes del grupo de estudio.

b) Aparición de focos de fibrosis: El hecho diferencial de la aparición o no de focos de fibrosis y su localización es junto con la formación de puentes de fibrosis fundamental para establecer el diagnóstico de esteatohepatitis.

En el grupo NASH aparece en todas las localizaciones y en distintas proporciones y en más de la mitad de pacientes de NASH (55,6 %) existen puentes de fibrosis marcando la transición de esteatosis simple a esteatohepatitis, estos datos aparecen en la **Tabla 25**.

Tabla 25: Resultados histológicos de fibrosis comparando esteatosis y NASH

Fibrosis	grupo esteatosis n = 29 (%)	grupo NASH n = 18 (%)
No	28 (96,6)	0 (0,0)
Perisinusoidal o periportal	1 (3,4)	4 (22,2)
Perisinusoidal y portal /periportal	0 (0,0)	3 (16,6)
Puentes de fibrosis	0 (0)	10 (55,6)
Cirrosis	0 (0)	1 (5,6)

5.4: Resultados analíticos:

Ya en el apartado de material y método se explica como en la analítica de sangre realizada a todos los pacientes se incluían hemograma completo, estudio de coagulación, determinaciones bioquímicas estándar y otras determinaciones específicas que se hallan incluidas en el diseño del estudio.

Los resultados que se indica a continuación corresponden a los 55 pacientes del grupo de obesidad mórbida.

Las alteraciones del metabolismo de los glúcidos, valorados mediante la determinación de glucemia y de hemoglobina glicosilada (Hb1a) se encontraban con valores superiores a la normalidad.

La glucosa en sangre presentó una media de $134,37 \pm 63,0$ mg/dl encontrándose alterada en el 47,2 % del total de pacientes y la Hb1a se presentaba elevada en el 23.6 % con una media de $6,70 \pm 1,70$ % mcU/ml.

En casi un tercio de los casos (29,3 %) se encontraron valores de insulinemia superiores a las normales con tasas medias de $24,40 \pm 20,60$ μ U/ml.

Los valores de lípidos estaban alterados fundamentalmente a expensas del colesterol total con un valor medio de $202,80 \pm 43,20$ mg/dl encontrándose elevaciones el 45,4% de los casos y de su fracción LDL con valor medio de $124,00 \pm 33,30$ mg/dl en el 43,6 % de muestras.

También de triglicéridos aparecían elevados en el 38,1 % de pacientes y con valores medios de $173,20 \pm 133,00$ mg/dl.

Los enzimas hepáticos AST y ALT se encontraban moderadamente alterados. En el caso de la GGT se presentaron cifras elevadas en el 45,4 % de los pacientes y el valor medio fue $40,96 \pm 23,94$ U/l.

Se encontraron elevadas en el 38,1 % de los casos las fosfatasas alcalinas teniendo un valor medio de $197,75 \pm 63,74$ mU/ml mientras que la Bilirrubina Total aparecía dentro de los límites de la normalidad en casi la totalidad de las muestras.

Entre los valores encontrados en el perfil del metabolismo del hierro destaca la elevación de ferritina en el 52,7 % de los casos, con un valor medio de $154,50 \pm 10,70$ ng/mL.

Las tasas de hierro total presentaron valores aumentados en 9 pacientes (16,3 %) y disminuidos en 1 caso (1,8 %) con un valor medio de $72,38 \pm 30,99 \mu\text{U/dL}$.

Los títulos de hormonas tiroideas elevadas a expensas de la TSH aparecieron en el 20% de pacientes del estudio con $2,70 \pm 1,60 \mu\text{U/ml}$ de valor medio.

Tanto los valores de aldosterona, renina/angiotensina y homocisteína se encontraban dentro de la normalidad en la mayoría de los pacientes.

Los valores de la proteína C reactiva ultrasensible se encontraron elevados en el 76,6 % de pacientes obteniéndose un valor medio $10,8 \pm 9,20 \text{ mg /L}$.

La urea mostro índices alterados en el 20 % de los casos con una media de $31,40 \pm 7,90 \text{ mg/dL}$.

Los parámetros analíticos en los que mayor número de pacientes presentaban variaciones son: proteína C reactiva (76,6%), glucemia (56,3%)

ferritina (52,7 %), GGT(46,4%), LDL-colesterol (45,4%), triglicéridos (38,1%) y fosfatasas alcalinas (38,1%), así como la y la TSH presentaba variaciones en el 20 % de pacientes, tal como se indica en la **Tabla 26**.

Tabla 26: Resultados analíticos alterados expresados en % de pacientes, en el grupo de obesidad mórbida

Parámetros analíticos con variaciones sobre la normalidad	% de pacientes
Proteína C ultrasensible	76,6
glucemia	56,3
ferritina	52,7
GGT	46,4
LDL-colesterol	45,4
triglicéridos	38,1
fosfatasas alcalinas	38,1
TSH	20,0

El valor promedio obtenido para el índice HOMA fue $2,97 \pm 1,58$.

El 89,1 % de los casos los pacientes presentaban un HOMA superior a 3, estos datos se expresan en **Tabla 27**.

Tabla 27: Valores de HOMA

	<u>hombres n = 10</u>	<u>mujeres n = 45</u>	<u>totales n = 55</u>
< 3	3 (30 %)	18 (40 %)	6 (10,9)
> 3	7 (70 %)	27 (60 %)	49 (89,1)

Los resultados para el valor HOMA entre grupos de esteatosis y NASH aparecen en la **Tabla 28**.

Tabla 28: Resultados de HOMA entre grupos

<u>Valores de HOMA entre grupos</u>	<u>grupo esteatosis n = 29 (%)</u>	<u>grupo NASH n = 18 (%)</u>
< 3	11 (37,93)	6 (33,33)
>3	18 (62,07)	12 (66,67)

Los resultados analíticos de resto de valores estudiados aparecen en la **Tabla 29** en los referentes al total de pacientes y en la **Tabla 30** en la que se comparan dichos resultados entre los grupos de esteatosis y esteatohepatitis.

Tabla 29: Resultados analíticos en el grupo de obesidad mórbida			
Resultados analíticos en grupo total n=55	Media ± DE		nº Alterados (%)
leucocitos	8,50	± 2,40	8 (14,5)
Hb	13,70	± 1,50	6 (10,9)
plaquetas	298,10	± 7,80	7 (12,7)
INR	1,05	± 0,35	2 (3,6)
glucemia	134,37	± 63,00	31 (56,3)
Hb glicosilada	6,70	± 1,70	↑ 13 (23,6)
insulina	24,40	± 20,60	16 (29,0)
colesterol total	202,80	± 43,20	↑ 25 (45,4)
LDL	124,00	± 33,30	↑ 24 (43,6)
HDL	53,40	± 189,00	3 (5,4)
Triglicéridos	173,20	± 133,00	21 (38,1)
urea	31,40	± 7,90	11 (20)
creatinina	0,85	± 0,16	1 (1,8)
Fe	72,30	± 30,90	↓ 9 (16,3)
			↑ 2 (3,6)
IST	22,40	± 10,40	12 (21,8)
			1 (1,8)
ferritina	154,50	± 10,70	29 (52,7)
Bilirrubina total	0,50	± 0,14	0 (0,0)
AST	24,50	± 9,80	7 (12,7)
ALT	32,90	± 25,10	20 (36,3)
GGT	41,40	± 23,90	25 (45,4)
F.alcalinas	197,75	± 63,74	21 (38,1)
Albúmina	4,20	± 2,60	0 (0,0)
T4	1,36	± 0,48	5 (9,0)
TSH	2,70	± 1,60	↓ 1 (1,8)
			↑ 11 (20,0)
aldosterona	199,41	± 194,00	↓ 1 (1,8)
			↑ 3 (5,4)
renina	2,25	± 2,28	↓ 2 (3,6)
			↑ 4 (7,2)
homocisteina	15,30	± 4,90	5 (9,0)
PCR de alta sensibilidad	10,82	± 9,20	42 (76,3)
adiponectina	7,03	± 2,63	0 (0,0)
leptina	12,13	± 8,47	39 (70,9)

Tabla 30: Resultados analíticos en los grupos de esteatosis y NASH

	grupo esteatosis n= 29			grupo NASH n=18			valor p
	media ± DE			media ± DE			
Leucocitos	8,71	±	2,70	8,58	±	1,97	796
Hb	13,43	±	1,91	13,62	±	1,87	,713
INR	1,11	±	0,46	1,00	±	0,69	,340
Urea	31,83	±	7,96	28,41	±	6,90	,147
Creatinina	0,85	±	0,14	0,80	±	0,13	,314
Fe	68,62	±	27,62	83,60	±	37,96	,316
IST	22,11	±	11,21	24,40	±	9,95	,849
Ferritina	170,33	±	131,50	131,50	±	98,01	,253
Colesterol total	196,80	±	48,63	219,88	±	31,79	099
LDL	121,17	±	38,46	133,71	±	24,11	,202
HDL	53,70	±	18,04	53,53	±	23,60	,963
Hba1	6,14	±	1,16	7,72	±	2,20	,019
Bilirrubina total	0,53	±	0,15	0,51	±	0,13	,914
AST	23,07	±	15,20	30,06	±	27,44	,271
ALT	31,03	±	17,34	42,41	±	34,74	,145
GGT	39,90	±	25,36	46,88	±	24,31	,361
F, alcalinas	213,32	±	68,56	185,71	±	53,72	,164
Triglicéridos	160,31	±	93,13	221,24	±	189,93	,151
albúmina	4,17	±	0,26	4,25	±	0,26	,015
T4	1,25	±	0,27	1,54	±	0,69	,058
TSH	2,80	±	1,76	2,60	±	1,45	,745
Aldosterona	209,81	±	182,50	150,30	±	83,42	,338
Renina	1,98	±	1,71	3,46	±	3,23	,200
Insulina	19,83	±	9,65	25,91	±	12,76	,387
Glucosa	119,27	±	51,15	161,76	±	80,94	,071
HOMA	2,66	±	1,20	3,88	±	1,90	,040
Homocisteina	14,26	±	3,85	16,41	±	5,77	,209
PCR ultrasensible	10,40	±	9,90	10,06	±	8,35	,827
adiponectina	7,22	±	2,43	6,12	±	2,50	,169
leptina	71,15	±	25,68	57,43	±	18,40	,075
plaquetas	294,86	±	94,58	301,06	±	71,26	,813

Tabla 31: Resultados analíticos con diferencias significativas entre los grupos

Valores analíticos alterados	grupo esteatosis n =29 media \pm DE	grupo NASH n=18 media \pm DE	valor p
insulina	19,83 \pm 9,65	25,91 \pm 12,76	,387
HOMA	2,76 \pm 1,23	3,88 \pm 1,90	,040
Hb glicosilada	6,12 \pm 1,15	7,72 \pm 2,20	,019
colesterol	196,80 \pm 48,63	219,88 \pm 31,79	,099
triglicéridos	156,67 \pm 93,66	221,24 \pm 189,93	,151
T ₄ tiroxina	1,25 \pm 0,27	1,50 \pm 0,69	,058
adiponectina	7,22 \pm 2,43	6,12 \pm 2,50	,169
leptina	71,15 \pm 25,68	57,43 \pm 18,43	,075

El estudio comparativo de los parámetros analíticos citados entre los dos grupos según histología esteatosis simple y NASH aparece reflejado en la **Tabla 31** y en la que tanto la T4 tiroxina, el LDL colesterol, la insulinemia, el colesterol total y los triglicéridos mostraban valores superiores en el grupo de pacientes NASH que en esteatosis simple.

5.5: Determinaciones analíticas específicas:

5.5.1: Leptina y Adiponectina:

Los resultados obtenidos en la determinación de la **leptina** fueron estadísticamente superiores en el grupo de obesidad mórbida con valor medio de $66,37 \pm 24,10$ ng/mL frente al grupo control $12,18 \pm 8,47$ ng/mL siendo las diferencias estadísticamente significativas ($p=0,000$). También fueron superiores sus valores en el grupo de esteatosis simple ($71,15 \pm 25,68$ ng/mL) respecto al obtenido en pacientes NASH ($57,43 \pm 18,40$ ng/mL) pero no alcanzando significación estadística ($p=0,075$) **Tablas 32 y 33**.

Tabla 32: Resultados analíticos de la leptina entre los grupos control y obesos			
	grupo control n= 36 media \pm DE	grupo obesidad mórbida n= 55 media \pm DE	valor p
leptina entre grupos	12,18 \pm 8,47 ng/mL	66,37 \pm 24,10 ng/mL	0,000

Tabla 33: Resultados analíticos de la leptina entre los grupos esteatosis y NASH

	grupo esteatosis n= 29 media ± DE	grupo NASH n= 18 media ± DE	valor p
leptina entre grupos	71,15 ± 25,68 ng/mL	57,43 ± 18,40 ng/mL	0,075

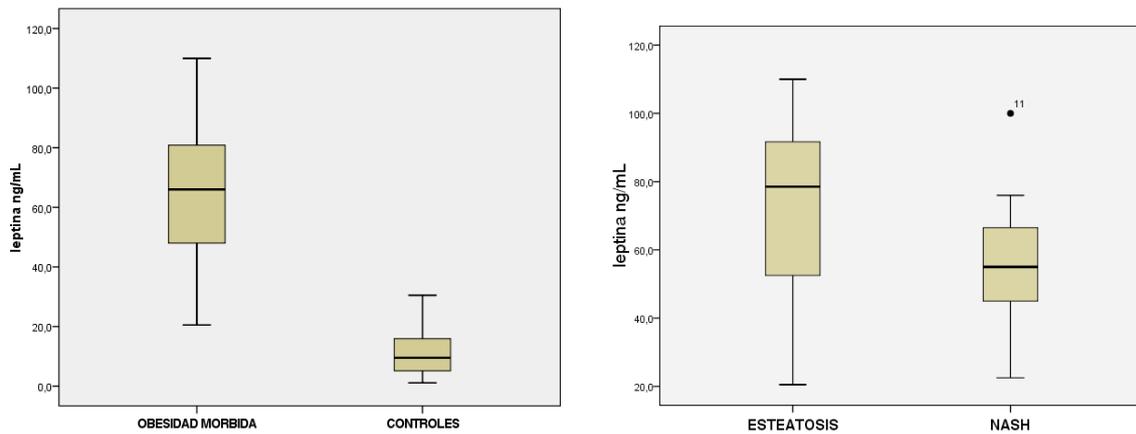


Figura 15: Comparación de medias entre obesidad mórbida y controles y entre esteatosis simple y NASH para leptina

La **adiponectina** en el grupo de obesidad mórbida presento valores medios de $7,05 \pm 2,63 \mu\text{g/ml}$ inferiores a los encontrada en el grupo control $11,15 \pm 5,70 \mu\text{g/ml}$ con lo que se alcanzó la significación ($p= 0,000$).

Aunque sin significación estadística, los valores de adiponectina en el grupo de paciente con NASH eran inferiores a los del grupo de esteatosis simple. Todos estos resultados aparecen reflejados en las **Tablas 34 y 35**.

Tabla 34: Resultados analíticos de la adiponectina entre los grupos control y obesos

	grupo control n=36 media \pm DE	grupo obesidad mórbida n=55 media \pm DE	valor p
adiponectina entre grupos	11,15 \pm 5,70 $\mu\text{g/ml}$	7,05 \pm 2,63 $\mu\text{g/ml}$	0,000

Tabla 35: Resultados analíticos de la adiponectina entre los grupos esteatosis y NASH

	grupo esteatosis n=29 media \pm DE	grupo NASH n= 18 media \pm DE	valor p
adiponectina entre grupos	7,22 \pm 2,43 $\mu\text{g/ml}$	6,12 \pm 2,50 $\mu\text{g/ml}$	0,169

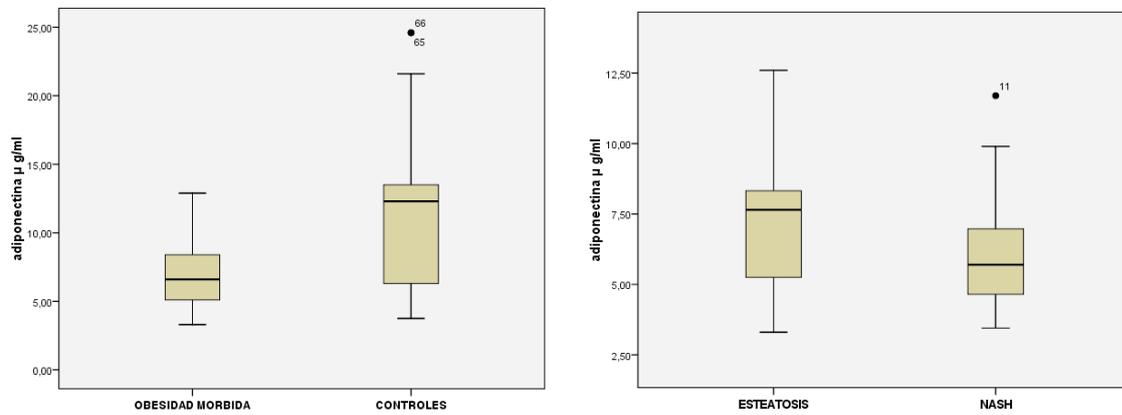


Figura 16: Comparación de medias entre obesidad mórbida y controles y entre esteatosis simple y NASH para adiponectina

Tanto la leptina como la adiponectina presentaron diferencias significativas al comparar las medias de sus valores entre el grupo de obesidad mórbida y los controles, pero no se alcanzó dicha significación al comprar los datos entre esteatosis y NASH (ver **Figuras 15 y 16**).

5.5.2: Interleucina 6 (IL-6):

El grupo control mostró unos valores medios de interleucina-6 de $2,61 \pm 1,10$ pg/ml inferiores a los del grupo con obesidad mórbida en los que se obtuvo una media de $7,05 \pm 4,97$ pg /m. La diferencia entre ambas alcanzó significación estadística ($p = 0,000$) **Tabla 36.**

Tabla 36: Resultados de interleucina 6 entre los grupos control y obesos

	grupo control n= 36 media \pm DE	grupo obesidad mórbida n= 55 media \pm DE	valor p
interleucina 6 entre grupos	$2,61 \pm 1,10$ pg/ml	$7,05 \pm 4,97$ pg/ml	$p= 0,000$

También el grupo con esteatosis simple mostró valores medios de IL-6 de $5,06 \pm 2,92$ pg/ml inferiores que los hallados en el grupo con NASH $10,89 \pm 5,92$ con un valor al borde la significación estadística ($p=0,051$) **Tabla 37.**

Tabla 37: Resultados de la interleucina 6 entre los grupos esteatosis y NASH

	grupo esteatosis n= 29 media \pm DE	grupo NASH n= 18 media \pm DE	valor p
interleucina 6 entre grupos	$5,06 \pm 2,92$ pg/ml	$10,89 \pm 5,92$ pg/ml	$p= 0,051$

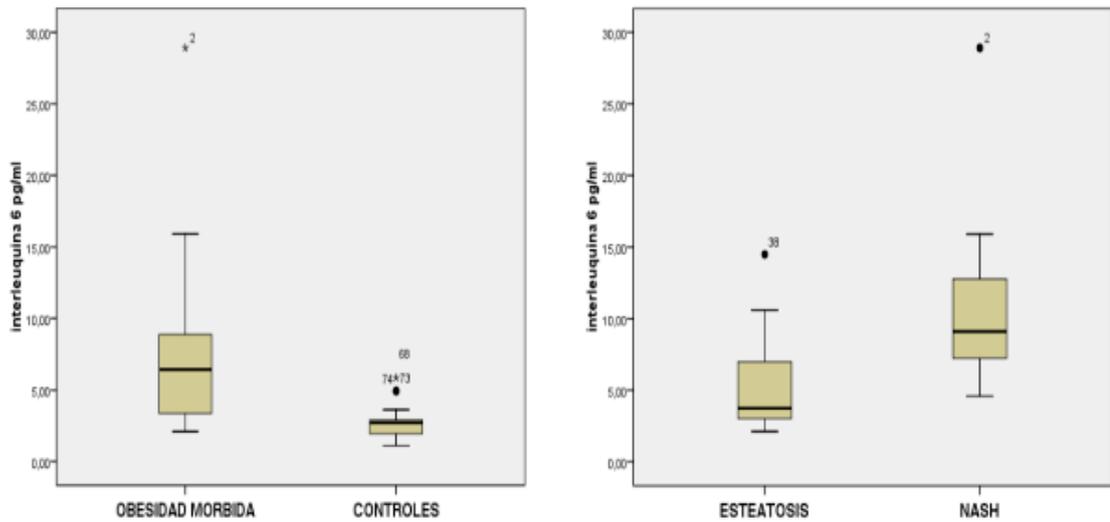


Figura 17: Comparación de medias entre obesidad mórbida y controles y entre esteatosis simple y NASH para IL-6

La IL-6 presento una correlación con el ICC de ($r_s = 0,195$; $p = 0,268$) y levemente positiva con el HOMA ($r_s = 0,351$; $p = 0,028$) como se aprecia en las gráficas de la **Figura 18**.

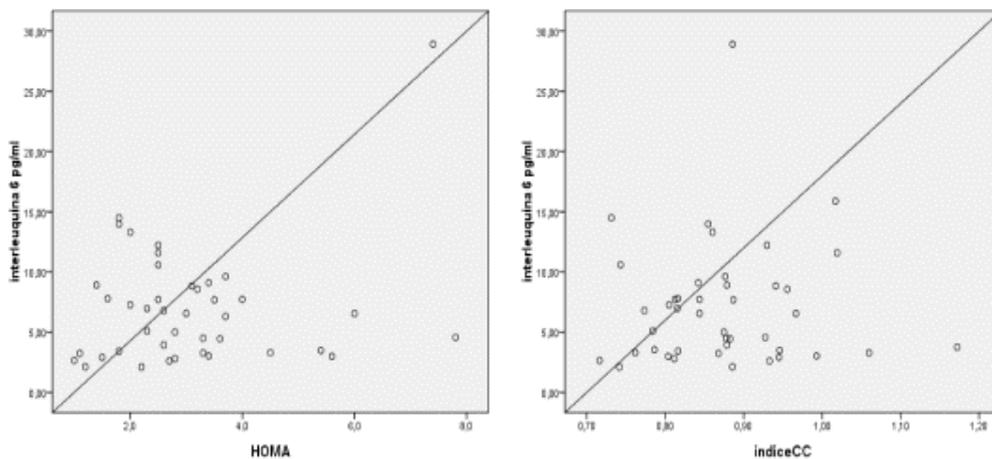


Figura 18: Correlaciones positivas de la IL-6 con el HOMA y el ICC

5.5.3: Interleucina (IL-18):

La Interleucina 18 presentó valores inferiores en el grupo control (96,81 ± 34,77 pg/ml) que en el grupo de obesidad mórbida (144,27 ± 105,30 pg/ml) (p=0,011) **Tabla 38**.

Tabla 38: Resultados analíticos de la interleucina 18 entre los grupos control y obesos

	grupo control n= 36 media ± DE	grupo obesidad mórbida n= 55 media ± DE	valor p
interleucina 18 entre grupos	96,81 ± 34,77 pg/ml	144,27 ± 105,30 pg/ml	p= 0,011

Los pacientes con esteatosis simple presentaron cifras de IL-18 menores que los del grupo de NASH ($p=0,008$) **Tabla 39**.

Tabla 39: Resultados de la interleucina 18 entre los grupos esteatosis y NASH

	grupo esteatosis n= 29 media ± DE	grupo NASH n= 18 media ± DE	valor p
interleucina 18 entre grupos	114,67 + 86,60 pg/ml	201,50 +117,10 pg/ml	p= 0,008

Los valores medios de IL-18 en esteatosis fue de $114,67 \pm 86,60$ pg/ml y en esteatohepatitis de $201,50 \pm 117,10$ pg/ml con valor de $p= 0,008$.

Alcanzándose por tanto, en ambas situaciones significación estadística ($p = 0,011$ y $p = 0,008$) respectivamente.

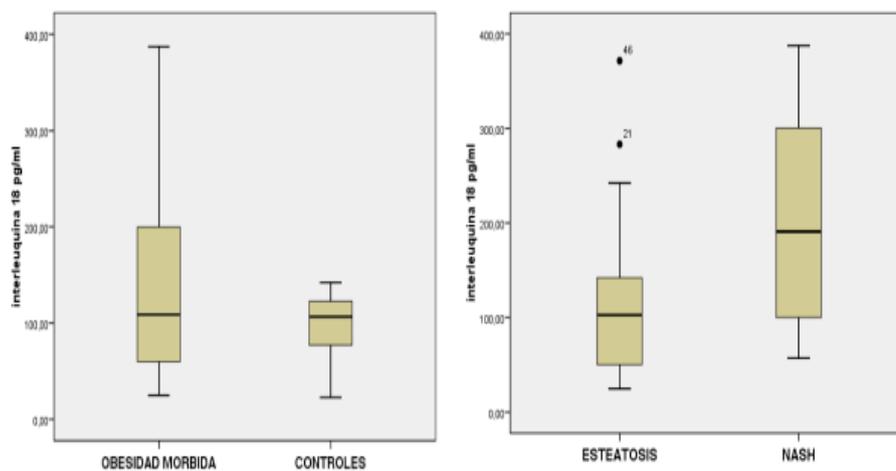


Figura 19: Comparación de medias entre obesidad mórbida y controles y entre esteatosis simple y NASH para IL-18

5.5.4: Cytokeratina-18:

La Cytokeratin-18 (M30Ag-CK18) mostró cifras inferiores en el grupo control que en los pacientes con obesidad mórbida con valores medios respectivamente de $114,90 \pm 31,43$ U/l y $239,79 \pm 135,82$ ($p = 0,000$) como queda reflejado en la **Tabla 40**.

Tabla 40: Resultados de la CK-18 entre los grupos control y obesos			
	grupo control n= 36 media \pm DE	grupo obesidad mórbida n= 55 media \pm DE	valor p
cytokeratina-18 entre grupos	114,90 \pm 31,43U/l	239,79 \pm 135,82 U/l	0,000

Los 29 pacientes con esteatosis simple presentaron valores medios para CK-18 inferiores a los encontrados en los 18 pacientes con NASH ($194,93 \pm 84,44$ U/l) ($315,66 \pm 181,59$ U/l) ($p = 0,026$) (ver **Tabla 41**).

Tabla 41: Resultados analíticos de la CK-18 entre los grupos esteatosis y NASH			
	grupo esteatosis n= 29 media \pm DE	grupo NASH n= 18 media \pm DE	valor p
cytokeratina-18 entre grupos	194,93 \pm 84,44 U/L	315,66 \pm 181,59 U/L	0,026

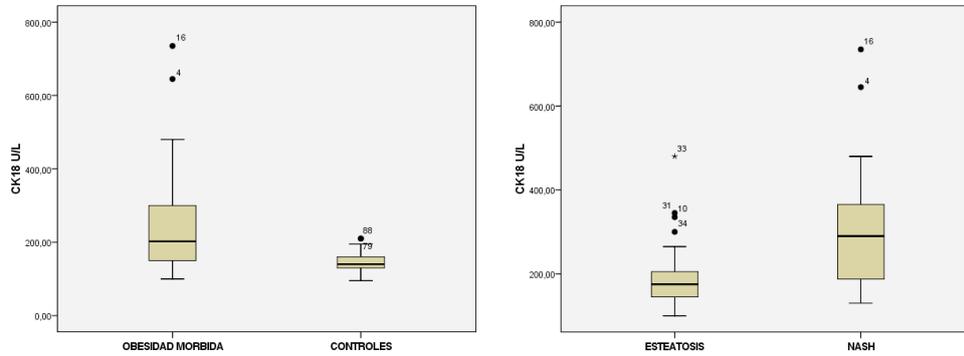


Figura 20: Comparación de medias entre obesidad mórbida y controles y entre esteatosis simple y NASH para CK-18

En la comparación de medias de la CK-18 se obtuvo significación estadística tanto entre obesidad mórbida y controles como entre esteatosis simple y NASH como se aprecia en **Figura 20**.

5.5.5: Factor de Crecimiento Fibroblástico 21 (FCF-21):

El factor de crecimiento fibroblástico presentó valores superiores en el grupo estudiado por obesidad mórbida con $475,97 \pm 386,64 \mu\text{g/ml}$ de media mientras que en el grupo control la media es de $284,50 \pm 135,42 \mu\text{g/ml}$ ($p=0,019$) tal como se ve en la **Tabla 42**.

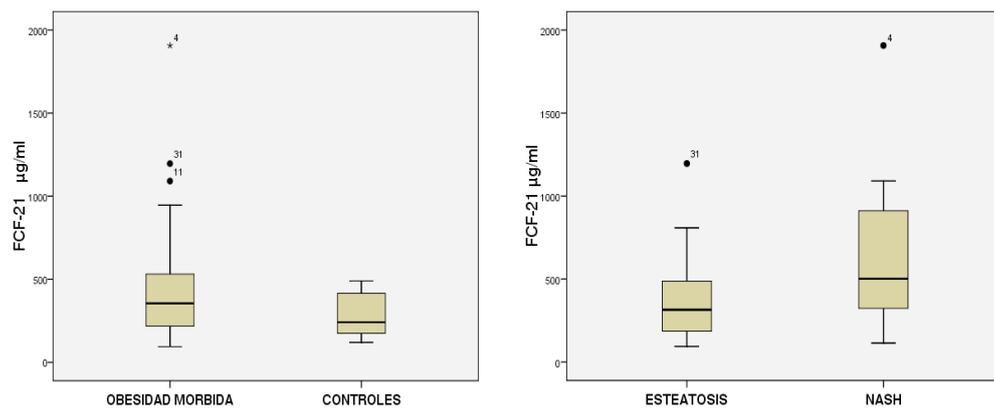


Figura 21: Comparación de medias entre obesidad mórbida y controles y entre esteatosis simple y NASH para FCF-21

Tabla 42: Resultados del factor de crecimiento entre los grupos control y obesos

	grupo control n= 36 media ± DE	grupo obesidad mórbida n=55 media ± DE	valor p
FCF-21 entre grupos	284,50 ± 135,42	475,97 ± 386,64	0,019

Dentro del grupo de obesos mórbidos los portadores de esteatohepatitis presentaban valores de FCF-21 significativamente más elevados que los que presentaban esteatosis simple con valores medios de $666,33 \pm 500,51 \mu\text{g/ml}$ y $367,19 \pm 259,31 \mu\text{g/ml}$ respectivamente ($p=0,074$) no alcanzándose significación estadística **Tabla 43**.

Tabla 43: Resultados analíticos del factor de crecimiento entre los grupos esteatosis y NASH

	grupo esteatosis n= 29 media ± DE	grupo NASH n= 18 media ± DE	valor p
FCF-21 entre grupos	$367,19 \pm 259,31 \mu\text{g/ml}$)	$666,33 \pm 500,51 \mu\text{g/ml}$)	0,074

Los valores de FGF-21 fueron estadísticamente superiores entre los pacientes con índice cintura-cadera superior a 0,9 ($t=2,1$; $p=0,04$) y HOMA superior a 3 ($t=2,2$; $p=0,03$) y una correlación positiva con la glucemia ($r=0,688$), triglicéridos ($r=0,560$), Hb glicosilada ($r=0,750$), CK-18 ($r=0,617$) en cuanto a parámetros analíticos.

En nuestros resultados el factor de crecimiento fibroblástico no se correlacionó ni con Adiponectina, Leptina, ni con las interleucinas IL6 y IL18.

5.5.6: Lesiones histológicas e interleucinas (IL-6 IL-18),citokeratina-18 y FCF-21:

Tabla 44: Correlaciones entre los distintos tipos de lesiones histológicas e inmunomoduladores

	CK-18	IL-6	IL-18	FCF-21
Global	r = 0,507 p = 0,000	r= 0,523 p= 0,000	r= 0,223 p=0,146	r= 0,450 p= 0,009
Esteatosis	r = 0,235 p = 0,125	r= 0,230 p=0,134	r= 0,021 p=0,893	r= 0,100 p=0,583
Fibrosis	r= 0,457 p= 0,002	r= 0,481 p= 0,001	r=0,340 p= 0,024	r= 0,574 p= 0,000
Inflamación	r= 0,263 p= 0,085	r= 0,272 p=0,074	r= 0,172 p=0,265	r= 0,156 p=0,385
Lesiones Hepatocitos	r= 0,494 p= 0,001	r= 0,425 p= 0,004	r= 0,188 p=0,222	r= 0,310 p=0,080
Otras Lesiones	r= 0,100 p=0,517	r= 0,214 p=0,163	r= 0,006 p= 0,967	r= 0,417 p=0,162

Las correlaciones entre los distintos inmunomoduladores del estudio y las lesiones histológicas encontradas en los pacientes incluidos muestran que las interleucinas 6 y 18, la CK-18 y el FCF-21 en relación con los diferentes

tipos de lesiones, observamos que la IL-6 y la Cytokeratin-18 y el FCF-21 se correlacionaban de forma estadísticamente significativas con el global de las lesiones, con la fibrosis y con otras lesiones de hepatocitos, mientras que la IL-18 sólo mostraba correlación con la fibrosis como se observa en la **Tabla 44**, por lo que podría ser de interés como marcador no invasivo de fibrosis en la enfermedad hepática grasa no alcohólica.

El análisis de Regresión Lineal mostró que la Cytokeratin-18 ($p=0,016$) la IL-6 ($p=0,003$) la IL-18 ($p=0,048$) y FCF21 ($p=0,034$) eran significativamente diferentes entre los grupos de esteatosis y los NASH.

Al incluir el FCF21 en la regresión logística continua siendo la IL-6 la única variable que se comporta como Factor Independiente (coeficiente β : 0,350) con un error estándar de 0,155, Wald 5,120, Sig=0,024, Exp (B) de 0,705 mientras que los otros parámetros no alcanzan significación estadística (CK18 $p= 0,4$; IL18 $p= 0,2$; FCF21 $p=0,5$).

6. DISCUSIÓN:

La importancia de la relación entre la Enfermedad Hepática Grasa no Alcohólica (EHGNA) y la Obesidad Mórbida (OM) viene marcada por la elevada frecuencia con la que se presenta esta enfermedad hepática entre los enfermos con sobrepeso extremo.

Si bien es cierto que los pacientes con obesidad mórbida presentan un elevado número de patologías asociadas (diabetes, hipertensión arterial, dislipemia, broncopatías, etc) cada vez la enfermedad grasa del hígado aparece con más frecuencia como una de estas comorbilidades por lo cual tendremos que tenerla en cuenta en el manejo clínico de estos pacientes.

Así mismo la obesidad aparece cada vez más como factor coadyuvante en la aparición de cirrosis hepática.

La obesidad y la resistencia a la insulina influyen en la historia natural de la cirrosis hepática principalmente por disfunción del tejido adiposo y alteración de la circulación portal aunque se desconocen gran parte de las vías moleculares que lo originan (Berzigotti A, 2013).

La mayoría de pacientes del estudio presentaban trastornos del metabolismo de glúcidos, pero era también elevada la presentación de otras afecciones como hipertensión arterial (40%), enfermedades pulmonares (25%), dislipemia (25%), tabaquismo e hipotiroidismo (18%).

Estos valores son similares a los referidos por otros autores que se han ocupado de las comorbilidades entre los pacientes con OM, además de la diabetes, hipertensión, dislipemia, tabaquismo e hígado graso, refieren la frecuencia de otro tipo de patologías asociadas a la obesidad como las artropatías degenerativas en las articulaciones de carga y el reflujo gastroesofágico e infertilidad entre otros (Cabrerizo L, 2008).

Schauer y colaboradores refieren en su estudio una media de entre 6 y 8 comorbilidades por paciente, siendo la más común la enfermedad degenerativa articular (64%) seguido de la dislipemia (62%), HTA (52%), depresión (41%), SAOS (36%), esteatosis hepática (28%) y diabetes mellitus tipo 2 (22%) (Schauer PR, 2001).

También los pacientes con obesidad mórbida que requieren la práctica de cirugía bariátrica presentan polipatologías. Se han publicado resultados en una serie de 70 pacientes que previo a la cirugía presentaban algún tipo de patología asociada a su obesidad con una prevalencia general del 77,1% y predominando la HTA (41,4%) seguido de la dislipemia (38,2%), hiperuricemia (34,7%), diabetes mellitus (29,4%) y artropatía (26%). Otras patologías observadas con una menor incidencia fueron SAOS (8,5%) y enfermedad cardiovascular (4,2%) (Ocón J , Pérez Naranjo S, 2005).

Desde el punto de vista de la evolución natural el 90% de los pacientes con OM presentan EGHNA y de ellos el 30% evolucionan a formas de esteatohepatitis, que si no se controlan van a finalizar en Cirrosis Hepática e incluso en Carcinoma Hepatocelular (Ratziu V, 2002), (Ascha MS, 2010).

Las lesiones que definen la esteatosis y la esteatohepatitis incluyen el depósito de triglicéridos en el interior de los hepatocitos en forma generalmente macrovacuolada desplazando el núcleo de la célula hasta la

perifería aunque, en ciertas ocasiones, pueden presentarse formas microvacuoladas con núcleo centralizado que le dan al hepatocito forma de mórula.

Otra lesión es la aparición de células plasmáticas en el entorno de los espacios porta y también procesos inflamatorios ocasionados por la acción de linfocitos polinucleares que intentan la “limpieza” de hepatocitos destruidos.

Junto a lo anterior se presenta degeneración balonzante, cuerpos acidófilos e Hialina de Mallory y restos degenerativos de hepatocitos que han sufrido apoptosis, aparición de megamitocondrias, lipogranulomas y microgranulomas en el desarrollo de fibrosis hepática.

La aparición de fibrosis suele definir la forma avanzada de la enfermedad, la esteatohepatitis, tanto en su presentación inicial con formas perisinuosoidales o periportales como en formas más avanzadas llegando a los puentes de fibrosis y al desarrollo de cirrosis hepática (Kleiner DE 2005).

La resistencia a la insulina se considera, en la actualidad, uno de los factores patogénicos principales para que se desarrollen las lesiones de depósito de grasa a nivel hepático (Nkontchou G, 2010). Pero además, se ha comprobado que la resistencia a la insulina se correlaciona con un incremento en el riesgo de fallecimientos debidos a insuficiencia hepática y con trasplantes de hígado así como con factores que muestran el déficit de función hepática como el alargamiento de tiempo de protrombina y el descenso de plaquetas (Mattews DR, 1985).

Otros dos estudios han mostrado como la resistencia a la insulina es un factor que contribuye a que en la cirrosis hepática de diversa etiología se desarrollen descompensaciones como la hipertensión portal con aparición de varices esofágicas, aumento del tamaño hepático y descenso del número de plaquetas (Camma C, 2009), (Erice E, 2012).

La participación de otros factores que inducen estrés oxidativo como la peroxidación lipídica, la disfunción mitocondrial y la producción anormal

de citocinas hará que se establezcan procesos inflamatorios con la participación de lesiones de inflamación por polinucleares, lesión del hepatocitos y estimulación de las células estrelladas originando la formación de fibrosis.

En la Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica la evolución de los pacientes con esteatosis difiere de la que presentan los pacientes con esteatohepatitis por lo que el estudio histológico es todavía considerando como el "patrón oro" actual en el diagnóstico de la enfermedad.

Entre los 55 pacientes del presente estudio se pudo realizar estudio histológico en 48. En los 7 pacientes restantes, en 3 no se realizó análisis histológico por muestras no válidas y en los otros 4 pacientes no se llegó a practicar cirugía por diversos motivos por lo que no se disponía de tejido hepático.

En los resultados de los 48 pacientes biopsiados, 47 tenían Enfermedad Grasa del Hígado y de ellos 29 esteatosis, 18 esteatohepatitis y 1 paciente con histología normal.

Los porcentajes de esteatosis y de NASH encontrada entre nuestros pacientes son similares a los publicados por otros grupos de estudio.

Campos GM et al, encuentran esteatohepatitis en el 32% de los 200 pacientes que estudia con OM (Campos GM1, 2008). En el estudio de Chisholm J y colaboradores encuentran que en 68 de un total de 370 pacientes con OM presentaban lesiones de Esteatohepatitis (18,37%) y que la RI, la elevación de transaminasas y Bilirrubina total predecían a la aparición de este tipo de lesión hepática (Chisholm J, 2012).

Ribeireiro T et al encuentran entre sus pacientes con OM un 78% de lesiones grasa en hígado y de ellas 16% esteatohepatitis (Ribeireiro T, 2011). Segovia R et al entre 152 pacientes con OM sólo encuentran un 14% sin daños histológicos hepáticos (Segovia R, 2008).

Por otra parte cada vez más se valora la posibilidad que ciertas determinaciones en sangre periférica podrían diferenciarnos los tipos de Enfermedad Hepática Grasa lo que haría que se pudiera evitar la realización de estudio histológico hepático mediante biopsia hepática en los pacientes con OM y ser sustituidos por métodos diagnósticos no invasivo (Shen J 2012).

Para poder diferenciar esteatosis del NASH se han tenido en cuenta un gran número de factores diferenciales tales como: sexo, índice cintura-cadera, diabetes, hipertensión arterial, elevaciones de transaminasas, ferritina, glucemia, insulina, hemoglobina glicosilada, resistencia a insulina, colesterol y triglicéridos (Thaler, 1962).

Entre nuestros pacientes con esteatohepatitis hemos encontrado valores más elevados de: índice cintura-cadera, T4 tirosina, HOMA, insulina, colesterol, triglicéridos y hemoglobina glicosilada que en los que aparecía sólo esteatosis simple.

Sin embargo otros parámetros que se han referido como posibles inductores de esteatohepatitis como leptina y adiponectina por diversos autores (Nobili V 2006),(Lemoine M 2009) no se han comportado de forma diferente entre los pacientes con Esteatosis y NASH de nuestro grupo.

Al igual que Bugianesi y colaboradores creemos que estas enzimas hepáticas no tienen especial importancia en el desarrollo de la severidad de las lesiones hepáticas, aunque quizás esta apreciación se debe también a la diversidad de los grupos incluidos en estos estudios (obesidades de diversas etiologías, dislipemia, diabetes y otros) (Bugianesi 2005).

Los test de laboratorio incluidos para evaluar a pacientes con sospecha de EHGNA comprenden: alanina amino transferasa (ALT), aspartato amino transferasa (AST), fosfatasa alcalina, gamma glutamil transpeptidasa, albumina, tiempo de protrombina, recuento leucocitos, hematíes y plaquetas (Wieckowska A, 2008).

Hace más de 10 años se observó como la resistencia a insulina, la hipertensión arterial y la elevación de ALT eran factores independientes de predicción de esteatohepatitis. El grupo de estudio de Dixon primero y dos años después el de Beymar y colaboradores encuentran que la DM pero no el índice de masa corporal se asociaba con desarrollo de lesiones tipo NASH (Dixon JB, 2001), (Beymar C, 2003).

Palekar et al proponen un modelo clínico para distinguir la esteatosis simple de la esteatohepatitis y que incluía: edad, sexo, AST, índice de masa corporal, insulina en ayunas, ALT, resistencia a insulina e hipertensión arterial, indicando, que la existencia de al menos alteración en tres de estos factores eran predictivos de esteatohepatitis con sensibilidad y especificidad entorno al 70% (Palekar NA, 2006).

Otros estudios proponen que la presencia, entre los pacientes con Obesidad Mórbida de elevación de AST y DM predicen la existencia de NASH mientras que si se asocia la elevación de ALT y hemoglobina glicosilada se puede apreciar el mayor desarrollo de fibrosis hepática (Gholam PM, 2007).

Al mismo tiempo Poynard y colaboradores desarrollan en 2006 un nuevo predictor (Nashtest) a partir de 13 parámetros unos clínicos (edad, sexo, talla, peso, etc) y otros analíticos (triglicéridos, colesterol, apolipoproteína A1, haptoglobina, transaminasas (ALT–AST), GGT, Bilirrubina Total e Indirecta, alfa-2 macroglobulina) para el diagnóstico de esteatohepatitis entre los pacientes con EGHNA (Poynard T, 2006).

Entre estos sistemas quizá el más utilizado ha sido el desarrollado por Angulo et al para el diagnóstico de la fibrosis entre los pacientes con enfermedad por depósitos grasos incluyendo en su sistema 6 variables diferentes tales como edad, hiperglucemia, índice de masa corporal, plaquetas, albumina y relación de GOT/GPT (Angulo P, 2007).

Todos estos intentos para encontrar sistemas de diagnóstico alternativos no han encontrado el consenso necesario.

En la actualidad la introducción de nuevos estudios con determinaciones de adiponectina, leptina, interleucinas y citoqueratina así

como el del factor de crecimiento fibroblástico-21 hace que se valoren nuevas combinaciones diagnósticas que nos permitan diferenciar pacientes con esteatohepatitis entre el total de pacientes con Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica (Gallego-Duran R, 2013).

Algunas interleucinas se encuentran entre los factores que se vienen investigando ya que pueden intervenir en el desarrollo no sólo de la esteatosis sino en las lesiones hepatocitarias y en el desarrollo de fibrosis (Arteaga 2013).

Abiru S et al observan que la interleucina-6 se muestra con valores mas elevados entre sus 23 pacientes con esteatohepatitis que entre los 21 pacientes con esteatosis y, éstos también muestran valores superiores que los 18 sujetos del grupo control (Abiru S, 2006).

Esta elevación de IL-6 en pacientes con NASH ha sido también comprobado en la Obesidad mórbida por Garcia-Galiano (Garcia-Galiano D, 2007).

La producción de la interleucina-6 principalmente por las células inmunes, las células endoteliales y los adipocitos también puede ser originada en los hepatocitos. En estudios, tanto in vitro como in vivo, se describe la acción de la IL-6 inhibiendo la acción de la insulina y produciendo un incremento de la neoglucogénesis, la hiperglicemia y hiperinsulinemia compensatoria.

Esto hace pensar que, aunque la grasa subcutánea puede ser lugar de formación de IL-6, también el hígado influiría en la inducción de la resistencia a insulina (Carter-Kent Ch, 2008).

Vecchiet y su grupo de trabajo estudian la implicación de la interleucina-18, no sólo en el desarrollo del NASH, sino también en otras enfermedades hepáticas en especial las producidas por virus C de la Hepatitis.

En su estudio observan que la IL-18 muestra valores más elevados entre los pacientes con infección por virus C y con Enfermedad Hepática

Grasa No Alcohólica que en el grupo control por lo que indican la posibilidad de utilizar la IL-18 como un marcador de enfermedad hepática (Vecchiet J, 2005).

Más recientemente Tapan S et al, no encuentran diferencias entre los niveles de IL-18 entre 65 pacientes con NASH y 31 pacientes con esteatosis (Tapan S, 2010).

En nuestro estudio los valores de interleucinas IL-6 y IL-18 mostraron valores estadísticamente más elevados comparativamente entre los pacientes con NASH que en los que sólo presentaron esteatosis o que los presentados en el grupo control.

Sin embargo, al aplicar los métodos de estudio para los distintos tipos de lesiones medidos con el NAFLD Scoring System, observamos que la IL-6 se correlaciona con el global de lesiones, con la fibrosis y con las lesiones de hepatocitos mientras que la IL-18 sólo mostraba correlación con la fibrosis.

Estos datos implicarían a la IL-6 en la mayoría de las lesiones que se observan en la esteatohepatitis y en especial con las lesiones de los hepatocitos mientras que la IL-18 intervendría solamente cuando las diversas lesiones desencadenan el estímulo de las células estrelladas con la producción de fibrosis.

Los estudios sobre un neoepitope de la Cytokeratin-18 (CK-18) conocido como M30-CK18 hacen que puede ser valorado como un biomarcador de Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica (Chen J 2013).

Diversos autores han mostrado que los fragmentos de CK-18 resultantes de la muerte celular se comportan como un factor independiente de NASH (Diab DL 2008).

En un estudio multicéntrico realizado por Feldstein et al, se señala que este marcador sería potencialmente útil como método diagnóstico de esteatohepatitis previo a la cirugía de la OM (Feldstein AE 2009),(Diab DL, 2008).

Con anterioridad Woekowska et al, habían establecido la especificidad y sensibilidad de este marcador en la predicción del diagnóstico de esteatohepatitis y que las dos formas solubles de la citoqueratina extracelular (antígeno M30 y M65) podían ser útiles como marcadores de apoptosis hepatocitaria aplicadas a pacientes con distintas formas de Enfermedad Hepática Grasa del Hígado No Alcohólica y servían para el diagnóstico de las formas más graves de la enfermedad como el NASH, comparativamente con esteatosis simple y/o pacientes sin lesiones (Woekowska A, 2006),(Yilmaz Y, 2007).

Recientemente se han publicado dos metanálisis, uno sobre test no invasivos para el diagnóstico de la severidad de la enfermedad hepática del grupo de investigación de Musso y el papel de la citokeratina-18 en el diagnóstico de la esteatohepatitis y otro el de Chen definiendo la importancia de la citokeratina-18 como test no invasivos en el diagnóstico de la esteatohepatitis (Musso G, 2011), (Chen J, 2013).

En un total de 10 estudios que incluían 838 pacientes se observó que si bien la CK-18 total tiene escaso poder diagnóstico, la detección de los fragmentos de la misma puede ser de especial ayuda para la identificación de esteatohepatitis.

En nuestro estudio los valores de CK-18 se mostraron más elevados entre los pacientes con EGHNA que entre el grupo control. Cuando sólo incluíamos a los pacientes con OM los valores más elevados los presentaban los sujetos con NASH comparativamente con los que solo tenían esteatosis simple y al aplicar el NASH scoring system hemos podido valorar las alteraciones de los fragmentos de citokeratina-18 según las lesiones histológicas y hemos podido comprobar la relación de este parámetro, tanto con las lesiones inflamatorias, las lesiones de los hepatocitos y el avance de la fibrosis.

En la última década se han publicado diversos estudios que analizan los posibles mecanismos que conducen a la inflamación, apoptosis y el estí-

mulo de las células estrelladas. Dichas células proliferan en los focos de necrosis hepatocelular e influyen en la formación de diversos factores como el Factor de crecimiento fibroblástico-21, el factor de crecimiento plaquetario, factor de crecimiento transformador tipo beta, el factor de crecimiento hepatocitario entre otros y que actúan de forma pro-fibrogénica o por el contrario como potentes inhibidores de la activación de las células estrelladas.

En los últimos años, se viene valorando la influencia que puede tener el Factor de Crecimiento Fibroblástico-21 (FCF-21) en el desarrollo de la Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica (García-Pajares F, 2010).

Estos mismos estudios esclarecen que el FCF-21 se había mostrado como un componente que se encuentra aumentado en estados de resistencia a la insulina y por tanto puede jugar un papel en la patogenia de la regulación de la resistencia a la insulina de la glucosa hepática y del metabolismo lipídico (Nishimura T 2000). Sin embargo los estudios sobre su influencia en la EHGNA no surgen hasta el año 2010 en el que recoge diversas publicaciones sobre esta relación (Chen J, 2013).

Se observa que los pacientes con EHGNA muestran valores más elevados del FCF-21 que su grupo de sujetos normales y lo consideran como un potencial biomarcador de esta enfermedad (Chavez AO, 2009),(Li H , 2010).

Otros autores encuentran también este incremento del FCF-21 que no varía cuando se someten los sujetos a diversos tipos de ayuno por lo que consideran que la nutrición no modifica los valores de dicho factor (Dushay J 2010). También se ha mostrado que este incremento de FCF-21 en EHGNA representa un factor predictivo independiente en la Enfermedad Grasa (Yilmaz I 2010).

Estos estudios sobre el FCF-21 muestran también que el índice de masa corporal, la glucemia en ayunas, ácido úrico y la actividad física interviene también en las concentraciones en sangre periférica de esta proteína (Cuevas-Ramos D 2010).

En los últimos años han propuesto la administración del FCF-21 en animales de experimentación como una nueva terapéutica de la Enfermedad Hepática Grasa no Alcohólica al mejorar la homeostasis de lípidos y carbohidratos (ZhuSI, 2013),(Emanuelli B, 2014).

Nuestros resultados en la obesidad mórbida describen que el FCF 21 no sólo se encuentra más elevado entre los sujetos con EHGNA sino que los pacientes con NASH muestran también valores más elevados que los pacientes con Esteatosis Simple.

Además observamos que el FCF-21 se correlaciona no sólo con el índice cintura/cadera, HOMA, colesterol, hemoglobina glicosilada y la CK-18 sino que también lo hace con el grado de Fibrosis Hepática.

7. CONCLUSIONES:

1- La gran mayoría de los pacientes con Obesidad Mórbida presentan Enfermedad Grasa del Hígado no Alcohólica.

2- En un tercio de los pacientes las lesiones histológicas del hígado se corresponden con Esteatohepatitis.

3- Además de la Enfermedad Hepática Grasa no Alcohólica los pacientes con Obesidad Mórbida presentan con frecuencia otro tipo de comorbilidades siendo las más frecuentes diabetes, hipertensión arterial, dislipemias, trastornos respiratorios e hipotiroidismo.

4- Los pacientes con NASH, comparativamente con los que presentaban esteatosis simple, mostraron valores más elevados del índice cintura/cadera, T4, HOMA, insulina, colesterol, triglicéridos y Hb glicosilada.

5- Las interleucinas 6 y 18 tienen valores más elevados entre los pacientes con Enfermedad Hepática Grasa no Alcohólica que entre el grupo control, También estos mediadores presentan valores superiores en NASH que en las de la esteatosis simple.

6- La citokeratina-18 se incrementa entre los pacientes con lesiones hepáticas más avanzadas y sus valores se correlacionan con el total de las lesiones de los hepatocitos y la fibrosis.

7- Así mismo El Factor de Crecimiento Fibroblástico-21 aparecen con valores más elevados entre los pacientes con esteatohepatitis que entre los que sólo tienen esteatosis y su incremento se correlaciona positivamente con el grado de fibrosis hepática.

8- Por último, la determinación de interleucina IL-6, IL-18, CK-18 y FCF-21 puede orientar sobre el diagnóstico de las formas más graves de Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica, el NASH y por lo tanto podrían ser utilizadas como marcadores no invasivos, tanto en el diagnóstico como en la valoración de la evolución de la EHGNA, y ello con el objetivo de evitar la biopsia hepática en este tipo de paciente.

8. BIBLIOGRAFÍA:

- Abiru S. 2006. «Serum cytokine and soluble cytokine receptor levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis.» *Liver Int* 2006;26: 39-4.
- Abu-Shanab, A; M Quigley Eamonn. 2010. «The role of the gut microbiota in nonalcoholic fatty liver disease.» *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* 7, 691-701.
- Adams LA, Talwalkar JA . 2006. «Diagnostic evaluation of non-alcoholic fatty liver disease.» *J Clin Gastroenterol.* 2006 Mar;40 Suppl 1:S34-8.
- Alberti, P. 2005. «The metabolic syndrome a new worldwide definition.» *Lancet.*2005; 366:1059-62.
- Alkhoury N, C Carter-Kent, AM Feldstein. 2011. «Apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease: diagnostic and therapeutic implications.» *Rev Gastroenterology hepatology* April 2011.
- Alwis NM, Day P. 2008. «Non-alcoholic fatty liver disease: The mist gradually clears.» *Journal of Hepatology* 48 (2008) S104–S112.
- Angulo, P. 2002. «Nonalcoholic fatty liver disease.» *N Engl J Med* 2002; 346: 1221-31.
- Angulo P, Hui JM, Marchesini G, y Bugianesi E. 2007. «The NALFD fibrosis score: a noninvasive System that identifies Liver fibrosis in patients with NALFD.» *Hepatology* 2007, 45: 846-54.
- Anty R, Ianneli A, Patourauc, L, y Bonnafous. 2010.«A new composite model including metabolic síndrome, alanine aminotransferase and cytokeratin-18 for the diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis in morbidly obese patient.» *Alimentar Pharmacol Ther* 2010, 32:1315-22.

Aranceta J, Pérez Rodrigo C, Serra Majem LI, Ribas L, Quiles Izquierdo J, Vioque J et al. 1996. «Prevalencia de la obesidad en España. Informe preliminar.» *Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO). Barcelona 1996.*

Aranceta-Bartrina J, Serra-Manjem LI, Foz-Sala M, Moreno-Esteban B, Grupo Colaborativo SEEDO. 2005. «Prevalencia de obesidad en España.» *Med Clin (Barc) 2005; 125(12):460-6.*

Arriazabalaga JJ, Calañas-Continente A, Vidal J et al. 2003. «Guía práctica clínica para el manejo del sobrepeso y la obesidad en personas adultas. Grupo de Trabajo sobre Obesidad de la SEEN.» *Endocrinol Nutr 2003; 50 (Supl 4):1-38.*

Arteaga I, Buezo I, Expósito C, Pera G, Rodríguez L et al. 2014. «Non-invasive markers of fibrosis in the diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease.» *Gastroenterol Hepatol. 2014;37:503-10.*

Ascaso JF, Romero P, Real JT et al. 2001. «Insulin resistance quantification by fasting insulin plasma values and HOMA index in a non-diabetic population.» *Med Clinica Vol. 117. Núm. 14. 03 Noviembre 2001.*

Ascha MS, Hanouneh IA, Lopez R, Tamini TA, Feldstein AF, Zein NN. 2010. «The incidence and risk factors of hepatocellular carcinoma in patients with non alcoholic steatohepatitis.» *Hepatology, 2010 51:1972-8.*

Ataseven H, Yildirim MH, Yalniz M, Bahcecioglu IH, Celebi S, Ozercan IH. 2005. «The value of ultrasonography and computerized tomograph in estimating the histopathological severity of nonalcoholic steatohepatitis.» *Acta Gastroenterol Belg 2005; 68: 221-5.*

- Auwerx J, Staels B. 1998. «Leptin» *Lancet* 1998; 351:737-42.
- Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA. 1994. «Nonalcoholic steatohepatitis: An expanded clinical entity.» *Gastroenterology* 1994; 107:1103-1109.
- Bäckhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JL. 2007. «Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice.» *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104 (3): 979-84.-7.
- Banting, Williams. 1869. «A letter on corpulence addressed to the public.» *Harrison. London.*
- Barbany M, Foz M. 2002 «Obesidad: concepto, clasificación y diagnóstico. Anales Sistema Sanitario Navarra 2002;25.» (supl 1): 7-16.
- Basterra-Gortari FJ, Beunza JJ, Bes-Rastrollo M, Toledo E, García-López M, Martínez-González MA. 2011. «Tendencia creciente de la prevalencia de obesidad mórbida en España: de 1,8 a 6,1 por mil en 14 años.» *Rev Esp Cardiol.* 2011; 64 (5):424-6.
- Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Castiglione A, Croce L, Tiribelli C et al. 2007. «Incidence and natural course of fatty liver in the general population: The Dionysos Study.» *Hepatology* 2007;46:1387- 91.
- Berzigotti A, Agrquadies JG. 2013. «Impact of obesity and insulin-resistance on cirrosis and portal hypertension.» *Gastroenterol Hepatol* 2013;36:527-33.
- Beymar C, Kowdeley KV, Larson A, Admonson P, Dellinger EP and Flum DR. 2003. «Prevalence and predictors os asytmomatic liver disease in patients undergoing bypass surgery.» *Arch Surg* 2003,138:1240-4.

- Biggs, Noah. 1651. «Notes and Events.» *Dorothy M. Schullian Editor*.
- Björntorp P. 1997. «Obesity.» *Lancet* 1997; 350:423-426.
- Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. 2001. «Liver biopsy.» *N Engl J Med* 2001;344:495–500.
- Bray G, Bouchard C, James WPT. 1998. «Definitions and proposed current classification of obesity» *Handbook of obesity. New York. Marcel Dekker* 1998,p 31-40.
- Bray, GA. 1990. «Obesity: Historical development of scientific and cultural ideas.» *Int J Obes Relat Metab Disord* 1990;14:909-926.
- Bray, GA. 2012. «Medical consequences of obesity » *Clin. Endocrinol. Metab.* 89 (6): 2583–9.
- Brown PJ, Konner MP.1987 «An anthropological perspective in Human Obesity » *Annals of the New York Academy of Sciences, Vol. 499. Nueva York,1987; 29-46.*
- Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH. 2004. «Relevance of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity.» *Hepatology* 2004,40:1387-95.
- Brunt EM, Janney CG, Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. 1999. «Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions.» *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2467-74.
- Brunt EM, Tiniakos DG. 2005. «Pathological features of NASH.» *Front Biosci* 2005; 10:1475-1484.

- Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Belt P, Neuschwander-Tetri BA, y NASH Clinical Research Network (CRN). 2011. «Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings.» *Hepatology* 2011 Mar; 53(3) : 810-20.
- Brunt EM. 2012. «Histological assessment of nonalcoholic fatty liver disease in adults and children.» *Clin Liver Dis* 2012;1:108-111.
- Bugianesi E, Pagotto U, Manini R, Vanni E, Gastaldelli A, de Lasio R, Gentilcore E, Natale S, Cassader M, Rizzetto M. 2005. «Plasma adiponectin in nonalcoholic fatty liver is related to hepatic insulin resistance and hepatic fat content, not to liver disease severity.» *Clin Endocr Metab* 2005 ;90: 3498-04-3504.
- Burt AD, Mutton A, Day CP. 1998. «Diagnosis and interpretation of steatosis and steatohepatitis.» *Semin Diagn Pathol.* 1998 Nov;15 4 : 246-58.
- Caballería L, Pera G, Auladell MA, et al 2010 «Prevalence and factors associated with the presence of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population in Spain.» *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 24–3.
- Cabrerizo L, Rubio MA, Ballesteros MD, Moreno C. 2008. «Complicaciones asociadas a la Obesidad.» *Rev Esp Nutr Comunitaria* 2008;14(3):156-162.
- Caldwell SH, Hespeneide EE. 2002. «Subacute liver failure in obese women.» *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2058-62.
- Camma C, Petta S, Di MV, Bronte F, Ciminnisi S, Licata G et al. 2009. «Insulin resistance is a risk factor for esophageal varices in hepatitis C virus cirrosis.» *Hepatology* 2009,29:195-203.

- Campos GM, Bambha K, Vittinghoff E, Rabl C, Posselt AM, Ciovica R et al. 2008. «A clinical scoring system for predicting nonalcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients.» *Hepatology* 2008 47, 1916-23.
- Canbakan B, Tahan V, Balci H, Hatemi I, Erer B, Ozbay G, Sut N, Hacibekiroglu M, Imeryuz N, Senturk H. 2008. «Leptin in nonalcoholic fatty liver disease.» *Ann Hepatol* 2008,7:249-5.
- Cales P, Lainez F. 2009. «Comparison of blood tests for liver fibrosis specific or not to NAFLD. » *J Hepatol.*2009;50:165-173.
- Carey E. Carey WE. 2010. «Pruebas no invasivas para el diagnóstico de enfermedad hepática, fibrosis y cirrosis» *Cleveland Clinic Journal of Medicine.*» 2010 77(8) ;519.
- Carter-Kent Ch, Zein NN, Feldsteins AE. 2008. «Cytokines in the pathogenesis of fatty liver and disease progression to steatohepatitis: implications for treatment.» *Am J Gastroenterol* 2008, 103:1036-104.
- Castera L, Forns X, Alberti A. 2008. «Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography» *J Hepatol.* 2008; 48:835-47.
- Castera L, Vergniol J, Foucher J, Se Bail B. 2005. «Prospective comparison of transient elastography, fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C.» *Gastroenterol* 2005; 128: 343- 50.
- Chalasani N, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. 2012. «The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Disease, and American College of Gastroenterology.» *Gastroenterology* 2012;142:1592-1609.

- Charles Joseph Singer, Edgar. 1962. «A short history of medicine.» *Ashworth Underwood. Oxford University Press, 1962.*
- Chavez AO, Molina-Carrion M, Abdul-Ghani MA,Filli F, Defronzo RA,Tripathi D. 2009. «Circulating fibroblast growth factor-21 is elevated in impaired glucose tolerance and type 2 Diabetes and correlates with muscle and hepatic insulin resistance.» *Diabetes Care 2009,32:1542-46.*
- Chen J, Zhu Y, Zheng Q, Jiang J. 2014. «Serum cytokeratin-18 in the diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis: A meta-analysis.» *Hepatol Res.2014 Aug;44(8):854-62.*
- Cheung O, Sanyal AJ. 2010. «Recent advances in nonalcoholic.» *Curr Opin Gastroenterol 2010;26:202-8.*
- Chisholm J, Seki Y, Toouli J, Stahl J, Collins J, Kow L. 2012. «Serologic predictors of nonalcoholic steatohepatitis in a population undergoing bariatric surgery.» *Surg Obes Relat Dis. 2012,8:416-2.*
- Chitturi S, Farrell G, Frost L, Kriketos A, Lin R, Fung C, Liddle C, Samarasinghe D, George J. 2002. « Serum leptin in NASH correlates with hepatic steatosis but not fibrosis: a manifestation of lipo-toxicity?.» *Hepatology 2002; 36:403- 409.*
- Chon YE, Jung KS, Kim SU, Park JY, Park YN, Kim do Y, Ahn SH, Chon CY, Lee HW, Park Y, Han KH. 2014. «Controlled attenuation parameter (CAP) for detection of hepatic steatosis in patients with chronic liver diseases: a pro-spective study of a native Korean popula.» *Liver Int 2014 Jan;34(1):102-9.*
- Choudhury J, Sanyal AJ. 2004. «Clinical aspects of fatty liver disease.» *Semin Liver Dis. 2004,24:349-62.*

- Ciorba, M. 2012. «A gastroenterologist's guide to probiotics.» *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012 Sep;10(9): 960-8.
- Civera M, Urios A, Garcia-Torres ML, Ortega J, Martinez-Valls J, Cassinello N, del Olmo JA, Ferrandez A, Rodrigo JM, Montoliu C. 2010. «Relationship between insulin resistance, inflammation and liver cell apoptosis in patients with severe obesity.» *Diabetes Metab Res Rev*. 2010 Mar;26(3):187-92.
- Clark J, Brancati F, Diehl A. 2003. «The prevalence and etiology of elevated amino-transferase levels in the United States.» *Am J Gastroenterol* 2003;98: 960-7.
- Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. 2002. «Nonalcoholic fatty liver disease.» *Gastroenterology* 2002;122:1649–57.
- Clark JM, Diehl AM. 2003. «Defining non-alcoholic liver disease: implications of epidemiological studies.» *Gastroenterology* 2003; 124: 248-50.
- Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. 2012. «The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view.» *Cell* 2012; 148 (6): 1258-70. 2.
- Cobbold JFL, Patel D, Taylor-Robinson SD. 2012. «Assessment of inflammation and fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease by imaging based techniques» *J Gastroenterol Hepatol* 2012 :27:1281-1292.
- Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, Caro JC. 1996. «Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans.» *N Engl J Med*. 1996;334:292-295.

- Copeland, AR. 1986. «Accidental non-commercial aircraft fatalities: the 7-year metro-dade county experience from 1977-1983.» *Forensic Sci Int.* 1986,31:13-20.
- Copeland KC, Silverstein J, Moore KR, et al. 2013. «Management of newly diagnosed type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) in children and adolescents.» *Pediatrics.* 2013 Feb;131(2):364-82
- Creutzfeldt W, Frerichs H, Sickinger K. 1970. *Progress in liver diseases. Vol. III. London: William Heinemann Med Books Ltd; 1970. p. 371-407.*
- Csendes P, Paolinelli P, Busel D. 2004. «Hígado graso: ultrasonografía y su correlación anatomopatológica.» *Revista Chilena de Radiología.* Vol. 10 N° 2, año 2004; 50-52.
- Cuevas-Ramos D, Almeda-Valdes P, Gomez-Perez FJ, Meza-Arana CE, Crus-Bautista I, Arellano Campos O et al. 2010. «Daily physical activity, fasting glucose, acide uric, and body mas index are independent factors associated with serum fibroblast growth factor 21 level.» *Eur J Endocrinol* 2010,163: 469-77.
- Cynthia L. Ogden. 2007. «The Epidemiology of Obesity.» *Gastroenterology Volume 132, Issue 6, Pages 2087–2102, May 2007.*
- Cynthia L. Ogden, Ph.D., y Margaret D. Carroll. 2012. «Prevalence of Obesity in the United States, 2009–2010.» *NCHS Data Brief No. 82 January 2012.*
- D'Alembert J, Diderot D. 1751-1772. «L'Encyclopédie ou Dictionnaire raisonné des sciences, des arts et des métiers.» 1751-1772.
- Dannenberg AL, Burton DC, Jackson RJ. 2004. «Economic and environmental costs of obesity: the impact on airlines.» *American journal of preventive medicine* 2004 27 (3): pp. 264.

Day CP, James O. 1998. «Steatohepatitis: a tale of two "hits"?.» *Gastroenterology*. 1998 Apr;114(4):842-5.

Declaración Mundial de Helsinki de la Asociación Médica. 1983. 35ª *Asamblea Médica Mundial Venecia (Italia) Octubre de 1983*. «Recommendations guiding medical physicians in biomedical research involving human subjects.» *JAMA* 1997; 277:925-6. Octubre de 1983.

DeNoon, Daniel J. 2008. «Fatty Liver Disease: Genes Affect Risk.» *WebMD*. 2008 Sept. 26.

Diab DL, Yerian L, Schauer P, Kashyap SR, Lopez R, Hazen SL and Feldstein AE. 2008. «Cytokeratin 18 fragment levels as a noninvasive biomarker for nonalcoholic steatohepatitis in bariatric surgery patients.» *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008 Nov;6(11):1249-54.

Diccionario Etimológico RAE. 2001. *Real Academia Española de la lengua Diccionario de la lengua española (DRAE)*. 22.ª edición. 2001.

Diehl AM, Goodman Z, Ishak KG. 1988. «Alcohollike liver disease in nonalcoholics. A clinical and histologic comparison with alcohol-induced liver injury.» *Gastroenterology* 1988; 95: 1056-62.

Diehl AM, Li ZP, Lin HZ, Yang SQ. 2005. «Cytokines and the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis.» *Gut*. 2005;54:303-6.

Diehl, AM. 2005. «Nonalcoholic steatohepatitis pathogenesis.» *Progress in the treatment of liver diseases*. Barcelona: Ars Medica editors. 2005.

Dixon JB, Bhathal PS, O'Brien PE. 2001. «Nonhalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in de severely obese.» *Gastroenterology* 2001,121:91-100.

- Dowman JK, Tomlinson JW, Newsome PN. 2010. «Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease.» *QJM* 2010;103:71-83.
- Dowman JK, Tomlinson JW, Newsome PN. 2012. «The diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease: authors' reply.» *Aliment Pharmacol Ther* 2012;35:205-206.
- Dushay J, Chui PC, Gopalakrishnan GS, Varela-Rey M, Crawley M, Fisher FM et al. 2010. «Increased fibroblast growth factor 21 in obesity and non-alcoholic fatty liver disease.» *Gastroenterology* 2010, 139: 456-463.
- Eknoyan, Garabed. 2008. «Adolphe Quetelet (1796-1874) "the average man and indices of obesity".» *In: Nephrol. Dial. Transplant.* 2008 23 (1): 47-51.
- Emanuelli B, Vienberg SG, Smyth G, Cheng C, Stanford KI, Arumugam M et al. 2014. «Interplay between FGF21 and insulin action in the liver regulates metabolism.» *J Clin Invest* 2014,124:515-27.
- Erice E, Llop E, Berzigotti A, Abraldes JG, Conget I, Seijo S et al. 2012. «Insulin resistance in patients with cirrhosis and portal hipertensión.» *Am. J. Physiol Gastroentest.Liver Physiol.*2012,302:G1458-65.
- Escudero A, Rodriguez F, Serra MA, del Olmo JA, Aparisi L, Wassel A, Rodrigo JM. 2009. «Resultados tras 1000 exploraciones con Fibroscan.» *Gastroenterología y Hepatología* 2009.
- Falck-Ytter Y, Younossi ZM, Marchesini G, McCullough AJ. 2001. «Clinical features and natural history of nonalcoholic steatosis syndromes.» *Sem Liv Dis* 2001;21:17-26.
- Fan JG, Farrell GC. 2009 «Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China.» *J Hepatol* 2009; 50: 204–10.

- Feldstein AE, Wieckowska A, Lopez Ar, Liu YC, Zein NN, McCullough AJ. 2009. «Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers of nonalcoholic steatohepatitis: a multicenter validation study.» *Hepatology* 2009, 50:1072-8.
- Felipo V, Urios A, García-Torres ML, El Mili N, del Olmo JA, Civera M, Ortega J, Ferrandez A, Martínez-Valls J, Cassinello N, Montoliu C. 2013. «Alterations in adipocytokines and cGMP homeostasis in morbid obesity patients reverse after bariatric surgery.» *Obesity (Silver Spring)*. 2013 Feb;21(2):229-37.
- Finkelstein EA, Fiebelkorn IA, Wang G. (2003). «National medical spending attributable to overweight and obesity: how much, and who's paying? .» *Health Aff (Millwood)*. 2003 Jan-Jun; Suppl Web Exclusives: W3-219-26.
- Fong DG, Nehra V, Lindor KD, Buchman AI (2000). «Metabolic and nutritional considerations in nonalcoholic fatty liver.» *Hepatology* 2000; 32: 3-10.
- Foz, M. 1999. «La Declaración de Milán.» *Med Clin (Barc)* 1999;113:494-5.
- Foz, M. 2000. «El reto sanitario de la obesidad en Atención Primaria.» *El Médico* 2000.
- Foz, M. 2002. «Una nueva llamada internacional para la lucha contra la obesidad.» *Form Cont Nutr Obe* 2002;5:153-156.s.
- Furetière A, (1619-1688) «Dictionnaire universel, contenant généralement tous les mots françois tant vieux que modernes, et les termes de toutes les sciences et des arts.» 1619-1688.
- Gallego-Duran R, Ampuero J, Funuyet J, Romero-Gomez M. 2013. «Esteatohepatitis alcohólica y no alcohólica: ¿Quiénes son los pacientes y que podemos hacer por ellos?.» *Gastroenterol Hepatol* 2013,36:587-69.

- Gambino R, Cassader M, Pagano G. 2011. «Meta-analysis: Natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity.» *Annals of Medicine* 2011;43(8):617-49.
- Garcia-Galiano D, Sanchez-Garrido MA et al. 2007. «Il-6 and IGF-1 are independent pronostic factors of liver steatosis and non-alcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients.» *Ober Surg* 2007;17:493-503.
- Garcia-Pajares F, Caro-Paton, A. 2010. «Factor de crecimiento hepatocitario (HGF) : ¿predicador de evolución y de respuesta al tratamiento de la hepatitis C.» *Rev Esp Enfer Dig* 2010,102:349-351.
- Gholam PM, Flancbau L, Machan JT, Charney DA, Kotler DP. 2007. «Nonalcoholic fatty liver disease in severely obese subjects.» *Am J Gastroenterol* 2007, 102:399-40.
- Gonzales Ca, Pera G, Agudo A, Amiano et al. 2000. «Factors associated with the accumulation of abdominal fat estimated with anthropometric indexes.» *Med Clin (Barc)* 2000 Mar 25; 114(11):401-6.
- Grattagliano I, Portincasa P, Palmieri VO, Palasciano G. 2007. «Managing nonalcoholic fatty liver disease: recommendations for family physicians.» *Can Fam Physician* 2007; 53: 857-63.
- Grinner P, Mayewski P, Mushlin A, Greenland P. 1981. «Selection and interpretation of diagnostic test and procedures principals and applications.» *Ann Inter Med* 1981; 94: 559.
- Grundy SM, Brewer HB, Cleeman JI, Smith SC, Lenfant C, for the Conference Participants. 2004. «Definition of metabolic syndrome.» *Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definiton Scientific Issues Circulation.* 2004; 109:433-8.

- Gual A, Contel M, Segura L, Ribas A, Colom J .2001. «El ISCA (Interrogatorio Sistematizado de Consumos Alcohólicos), un nuevo instrumento para la identificación precoz de bebedores de riesgo.» *Med Clin* 2001; 117: 685-689.
- Guha IN, Parkes J, Roderick PR, Harris S, Rosenberg WM. 2006. «Non-invasive markers associated with liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease.» *Gut. Nov 2006; 55(11): 1650–1660.*
- Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Obesidad. 2012. «WGO Practice Guideline. Obesity.» *J Journal of Clinical Gastroenterology* 2012;46:555-61. doi: 10.1097/
- Harrison SA, Kadakia S, Lang KA. 2002. «Non-alcoholic steatohepatitis: What we know in the new millenium.» *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2714-24.
- Harrison SA, Oliver D, Arnold HL et al. 2008. «Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease. » *Gut. 2008;57:1441-1447.*
- Herruzo, JA Solís. 2006. «Indicaciones actuales de la biopsia hepática.» *Rev Esp Enferm Dig* 2006, 98:122-129.
- Hipocrates de Cos «Aforismos y Sentencias.» *Editorial Gredos ed.* 2001.
- Hipócrates. 2007. «Tratados Hipocraticos.» *Editorial Gredos ed.* 2007 *Madrid.*
- Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J.2004. «Beyo and insulin resistance in NASH: TNF-alpha or adiponectin ?.» *Hepatology* 2004 40:46-54.

- Imajo K, Yoneda M, Ogawa Y, Wada K, Nakajima A. 2014. «Microbiota and nonalcoholic steatohepatitis.» *Semin Immunopathol.* 2014 Jan; 36 (1) :115-32.
- Iríbar-Diéguez IK, Villas-Miguel B, Herrero-Velázquez S. 2006. «Estudio descriptivo de pacientes diagnosticados de esteatosis hepática no alcohólica relacionada con la obesidad.» *Aten Primaria* 2006 ; 37 (7) :418.
- Itoh S, Tsukada Y, Motomure Y, Ichinoe A. 1979. «Five patients with nonalcoholic diabetic cirrhosis.» *Acta Hepatogastroenterol* 1979; 26: 90-7.
- Jarrar MH, Baranova A, Collantes R, Ranard B, Stepanova M, Bennett C, Fang Y, Elariny H, Goodman Z, Chandhoke V, Younossi ZM. 2007. «Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease.» *Aliment Pharmacol Ther.* 2008 Mar 1;27(5):412-21. Epub 2007 Dec 10.
- Jeffcoale, W. 1998. «Obesity is a disease: food for thought.» *Lancet* 1998;351:903-904.
- Jover, E. 1997. «Índice cintura/cadera. Obesidad y riesgo cardiovascular.» *An Med Intern* 1997; 14: 1-2.
- Kamada Y, Tamura S, Kiso S, Matsumoto H et al. 2003. «Enhanced carbón tetrachloride induced liver fibrosis in mice lacking adiponect.» *Gastroenterology* 2003, 125:1796-807.
- Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Furuta M, Araki-Sasaki R et al. 2001. «Homeostasis model assessment is a reliable indicator of insulin resistance during follow-up of patients with type 2 diabetes.» *Diabetes Care* 2001; 24: 362-5.

- Kim KM, Choi W, Park SH, Yu E. 2007. «Diagnosis of hepatic steatosis and fibrosis by transient elastography in asymptomatic healthy individuals: a prospective study of living related potential liver donors».» *J Gastroenterol* 2007;42:51 382-8.
- Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M. 2005. «Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease.» *Hepatology* 2005,41,1313-21.
- Lazo M, Clark JM. 2008. «The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease: a global perspective.» *Semin Liver Dis* 2008;28:339-50.
- Lamster, Mark *Master of Shadows: The Secret Diplomatic Career of the Painter Peter Paul Rubens*, Random House Incorporated, 2010, p. 40-58.
- Lemoine M, Ratziu V, Kim M, Maachi M, Wendum D, Paye F, Bastard JP, Poupon R, Housse. 2009. «Serum adipokine levels predictive of liver injury in non-alcoholic fatty liver disease.» *Liver Int.* 2009 Oct; 29(9): 1431-8.
- Leshan RL, Björnholm M, Münzberg H, Myers MG Jr. 2006. «Leptin receptor signaling and action in the central nervous system.» *Obesity* 2006; 14:208S-212S.
- Li H, Fang Q, Gao F, Fan J, Zhou J, Wang X et al. 2010. «Fibroblast growth factor 21 levels are increased in nonalcoholic fatty liver disease patients and are correlated with hepatic triglyceride.» *J Hepatol* 2010,53:97-103.
- Lieber, CM. 1993. «Alcoholic liver disease.» *Semin Liver Dis* 1993; 13:105-108.
- Liu, YC. 1998. «La histopatología de la enfermedad hepática alcohólica. En: McCullough AJ, editor. Enfermedad hepática alcohólica.» *Clin Liver Dis* 1998; 2: 753-63.

Lluch P, Torondel B, Medina P, Segarra G, Del Olmo JA, Serra MA, Rodrigo JM. (2004). «Plasma concentrations of nitric oxide and asymmetric dimethylarginine in human alcoholic cirrhosis.» *J Hepatol.* 2004 Jul;41(1):55-9.

Lombaerde, P. 2002. «The Reception of P.P. Rubens's 'Palazzi di Genova' during the 17th Century in Europe: Questions and Problems.» *Brepols Publishers* 2002.

Loomba R, Sirlin CB, Schwimmer JB, Lavine JE. 2009. «Advances in pediatric nonalcoholic fatty liver disease.» *Hepatology* 2009; 50 (4): 1282-93.» *Hepatology.* 2009; 50(4):1282-93.

Ludwig J, Viggiano RT, McGill DB. 1980. «Nonalcoholic steatohepatitis Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease.» *Mayo Clin Proc* 1980; 55: 342-8.

Macias-Rodriguez RU, Torre A. 2009. «Pathophysiology of non-alcoholic steatohepatitis. An insulin resistance overview.» *Rev Invest Clin* 2009; 61:161-7.

Maddox GL, Liederman V. 1969. «Overweight as a social disability with medical implications.» *J Med Educ* 1969;44:214-220.

Maeda N, Shimomura I, Kishida K. 2002. «Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/acrp30.» *Nat med* 2002, 8:731.

Marañón, G. 1936. «Gordos y flacos.» 3ª ed. Madrid: Espasa Calpe 1936.

Marchesini G, Moscatiello S, Di Domizio S, Forlani G. 2008. «Obesity-associated liver disease.» *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:S74-S80.

- Martí-Bonmati L. 1999. «Imagin test for the diagnosis of metabolic diseases.» *Gastroenterol Hepatol* 1999; 22:25-26.
- Martín MA, Saracíbar E, Santamaría A, Arranz E, Garrote JA, Almaraz A, del Olmo ML, García-Pajares F, Fernández-Orcajo P, Velicia R, Blanco Quirós A, Caro-Patón A. 2008. «Interleukin 18 (IL-18) and other immunological parameters as markers of severity in acute pancreatitis.» *Rev Esp Enferm Dig.* 2008 Dec; 100(12):768-73.
- Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T et al. 1999. «Non-alcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity.» *Gastroenterology* 1999;116: 1413.
- Mattews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner DC. 1985. «Homeostasis model assesment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man.» *Diabetologia*, 1985,28:412-9.
- Mazza, C. 2012. «Obesidad en pediatría: Panorama Actual.» *SAOTA Obesidad*,2012; 12 (1):28-30.
- Miller AM, Wang H, Bertola A, Park O, Horiguchi N, Ki SH, Yin S, Lafdil F, Gao B. 2001.«Inflammation-associated interleukin6/signal trasducer and activator of transcription 3 activation ameliorates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in interleukin-10-deficient mice.» *Hepatology* 2001, 54:846-56.
- Mittendorfer B, Magkos F, Fabbrini E, Mohammed BS, Klein S. 2009. «Relationship between body fat mass and free fatty acid kinetics in men and women.» *Obesity* 2009;17:1872–1877.
- Morris-Stiff G, Feldstein AE. 2010. «Fibroblas growth factor 21 as a biomarker for NALFD: integrating pathobiology into clinical practice.» *J Hepatol* 2010, 53:795-6.

- Motta M, Bennati E, Ferlito L, Passamonte M, Malaguarnera M. I. 2008. «Insulin-resistance (IR) in older age.» *Arch Gerontol Geriatr* 2008; 46: 203-9.
- Moyiminiyi OA, Abdella NA, Al Arouj M, Ben Nakhi A. 2007. «Adiponectin, insulina resistance an clinical expresión of the metabolic síndrome inpatients with type 2 diabetes.» *Int J Obes* 2007;31:213-20.
- Mraz M, Bartlova M, Lacinova Z, Michalsky D, Kasalicky M, Haluzikova D, Matoulek M, Dostalova I, Humenanska V, Haluzik M.2009. «Serum concentrations and tissue expression of a novel endocrine regulator fibroblast growt factor 21 in patients with type 2 diabetes.» *Clin Endocrinol* 2009, 71:369-75.
- Muniyappa,R. 2008. «"Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage".» *Am J Physiol Endocrinol Metab* 294 (1): (2008).
- Muratore C, Craxi A. 2009. «Non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis: the present and the future.» *Dig Liver Dis.* 2009;41:615–25.
- Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. «Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity.» *Ann Med* 2011, 43: 617-49.
- Myers RP, et al. 2012. «Feasibility and diagnostic performance of the FibroScan XL probe for liver stiffness measurement in overweight and obese patients.» *Hepatology* 2012;55(1):199-208.
- Myers RP et al. 2010. «Transient elastography for the noninvasive assessment of liver fibrosis: a multicentre Canadian study.» *Can J Gastroenterol* 2010;24(11):661-70.

- Nacional Cholesterol Education Program (NCEP) 2002. «Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults .» *Circulation*. 2002; 106: 3143-3421.
- Newschwander-Tetri BA, Caldwell SH. 2003. «Nonalcoholic steatohepatitis summary of an AASLD single topic conference.» *Hepatology* 2003 ; 37: 1202-19.
- Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, Pettersson S 2012. «Host-gut microbiota metabolic interactions.» *Science* 2012; 336 (6086): 1262-7.
- Nishimura T, Na-katake Y, Konishi M, Itoh N. 2000 «Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver.» *Biochim Biophys Acta*. 2000 Jun 21; 1492(1):203-6.
- Nkontchou G, Bastard JP, Ziol M, Aout M, Cosson E, Ganne-Carrie N et al. 2010. « Insulin resistance, serum leptin and adiponectin levels and outcomes of viral hepatitis C cirrosis.» *J. Hepatol* 2010,53:827-33.
- Nobili V, Manco M, Ciampalini P, Diciommo V, Devito R, Piemonte F, Comparcola D, Guidi R, Marcellini M. 2006 «Leptin, free leptin index, insulin resistance and liver fibrosis in children with non-alcoholic fatty liver disease.» *Eur J Endocrinol* 2006 Nov; 155(5):735-43.
- Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. 2000. «Cytokine signaling regulation of the immune response in normal and critically ill states.» *Crit Care Med* 2000; 28 (Suppl):N3-12.
- Ocón J, Pérez Naranjo S, Gimeno S, Benito P y García Hernández R. 2005. «Eficacia y complicaciones de la cirugía bariátrica en el tratamiento de la obesidad mórbida.» *Nutr. Hosp.* (2005) XX (6) 409-414 .

- Ogden C, Yanovski S, Carroll M, Flegal K. 2007.«The epidemiology of obesity.» *Gastroenterology*. 2007;132:2087-102.2.
- OMS 2004. «Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. Ginebra (Suiza).» *Organización Mundial de la Salud*, 2004.
- OMS. 2014. «Obesidad y sobrepeso.» *Nota descriptiva; 311 Julio 2014*.
- OMS «Guías para la formación e instrucciones prácticas 3-4-15 .» *Sección 4: Guía para las mediciones físicas (Step 2)*.
- Oneta CM, Dufour JF. 2002. «Non-alcoholic fatty liver disease: treatment options based on pathogenic considerations.» *Swiss Med Wkly* 2002; 132: 493-505
- Ortega J, Cassinello N, Baltasar A, Torres AJ. 2012. «Recommendations for the peri-operative management of bariatric surgery patients, results of a national survey.» *Cir Esp*. 2012 Jun-Jul; 90(6):355-62.
- Ostbye T, Dement JM, Krause KM. 2007. «Obesity and workers' compensation: results from the Duke Health and Safety Surveillance System .» *Arch. Intern. Med*. 167(8): pp. 766-73.
- Palekar NA, Naus R, Larson SP, Ward J, Harrison SA. 2006. «Clinical model for distinguishing nonalcoholic steatohepatitis from simple steatosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease.» *Liver Int* 2006,26: 151-6.
- Parkes J, Roderick P, Harris S, Day C, Mutimer D, Collier J, Lombard M, Alexander A and Rosenberg W. 2010 «Enhanced Liver Fibrosis (ELF) test can predict clinical outcomes in patients with chronic liver disease. » *Gut* 2010, 59(9), 1245-1251.

- Pessayre D, Mansouri A, Fromenty B. 2002. «Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis . Mitochondrial dysfunction in steatohepatitis » *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002 ; 282: G193 -G199.
- Petta S, Muratore C, Craxi A. 2009. «Nonalcoholic fatty liver disease pathogenesis: the present and the future.» *Dig Liver Dis.* 2009;41:615–25.
- Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C, Deretzi G. 2011. «The potential adverse role of leptin resistance in nonalcoholic fatty liver disease: a hypothesis based on critical review of the literature.» *J Clin Gastroenterol.* 2011; 45:50.
- Poorvi Desai, Prasanna Tamarapu Parthasarathy, Lakshmi Galam, Richard Lockey ,Narasaiah Kolliputi. 2013. «A new role for inflammasomes: sensing the disturbances in non-alcoholic fatty liver disease.» *Front Physiol.* 2013; Jul 1, 4: 156.
- Portincasa P, Grattagliano I, Palmieri VO, Palasciano G. 2005. « The emerging problem of nonalcoholic steatohepatitis (NASH).» *Rom J Gastroenterol* 2005;14:43-51.
- Portincasa P, Grattagliano I, Lauterburg BH, Palmieri VO,Palasciano G, Stellaard F. 2006. «Liver breath tests non-invasively predict higher stages of non-alcoholic steatohepatitis.» *Clin Sci (Lond)* 2006; 111: 135-143.
- Poynard T, Ratziu V, Charlotte F, Messous D, Munteanu M, Imbert-Bismut F et al. 2006. «Diagnostic value of biochemical markers (NashTest) for de prediction of non alcoholic steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease.» *BMC Gastroenteroly* 2006; Non 10,6:34.

- Puneet, PM. 2013. Definiciones, factores de riesgo y pruebas diagnósticas en la enfermedad por hígado Graso No Alcohólico. *Clinical Liver Disease Volume 2, Issue S4, pages S48–S52.*
- Puerto Sarmiento, FJ. 1996. «*La obesidad en la historia.*» Historia de la Ciencia y de la Técnica. Ed. Akal 1996.
- Quetelet, A. 1870. «*Anthropométrie, ou Mesure des différentes facultés de l'homme.*» Bruselas 1870.
- Ratziu V, Bonyhay L, Di MV, Charlotte MF, Cavallero L, Sayegh-tainturier MH et al. 2002. «Survival, liver failure and hepatocellular carcinoma in obesity-related cryotigenic cirrosis.» *Hepatology* 2002, 35,1485-93.
- Raul A, Marano R. 2012. «Obesidad. Un enfoque sistémico.» *Types, Research, Health & Medicine* Published by: G5 on Apr 30, 2012.
- Rey, Alain. «Antoine Furetière. Un précurseur des Lumières sous Louis XIV.» *Francofonía* 2008, n.17 p. 347-349.
- Ribeireiro T, Swain J, Sarr M, Kendrick M, Que F, Sanderson S, Krishnan A, Viker K, Watt K, Charlton M. 2011. «NAFLD and insulin resistance do not increase the risk of postoperative complications among patients undergoing bariatric surgery a prospective analysis.» *Obes Surg.* 2011;21(3):310-5.
- Rodriguez Hernandez H, Lara Miranda S, Rangel martinez MV, Gonzalez Luis J, Sanchez Anguiano L y Martinez Aguilar G.4. 2002. «Analysis of liver biopsy experience in a regional hospital.» *Rev. Invest Clin* 2002, 54:139-4.
- Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, Hubscher S, Roskams T, Pinzani M, Arthur MJ (2004). «Serum markers detect the

- presence of liver for fibrosis: a cohort study.» European Liver Fibrosis Group. *Gastroenterology*. 2004;127:1704-1713.
- Rosmorduc, O, Fartoux L. 2012. «HCC and NASH: How strong is the clinical demonstration?.» *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, Volume 36, Issue 3, June 2012, Pages 202–20.
- Ruhl CE, Everhart JE. 2003. «Determinants of the association of overweight with elevated serum alanine aminotransferase activity in the United States.» *Gastroenterology* 2003;124:71-79.
- Rumack C, Wilson S, Charboneau W. 1998. «Diagnostic ultrasound.» *Mosby; 1998, second edition; Pag. 110-14.*
- Sacks G, Hall KD, McPherson K, Finegood DT, Moodie ML, et al. 2011. «The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments.» *Lancet* 2011;378:804–14.
- Salas-Salvadó J, Rubio M A, Barbany M. Grupo Colaborativo de la SEEDO. 2007. « Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica.» *Med Clin (Barc)* 2007; 128 (5): 184-196.
- Sanctorius, Santorio (1561-1636) «Ars de statica in medicina.» (1561-1636).
- Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, et al. 2003. «Transient elastography: a new non-invasive method for assessment of hepatic fibrosis.» *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1705–1713.
- Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB. 2001. «Nonalcoholic steatohepatitis: Association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities.» *Gastroenterology* 2001;120:1183-1192.
- Saxena NK, Ikeda K, Rockey DC, Friedman SL, Anania FA 2002. «Leptin in Hepatic Fibrosis: Evidence for Increased Collagen Production in

- Stellate Cells and Lean Littermates of Ob/Ob Mice.» *Hepatology* 35:762, 2002.
- Schauer PR, Ikramuddin,S. 2001.«Laparoscopic surgery for morbid obesity.» *Surg Clin N Am* 2001; 81:1145-79.
- Scorletti E, Calder PC, Byrne CD. Non-alcoholic fatty liver disea. 2011. «Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk: metabolic aspects and novel treatments.» *Endocrine* 2011;40:332-343.
- Sebastiani G, Alberti A. 2006. «Non-invasive fibrosis biomarkers reduce but not substitute the need for liver biopsy.» *World J Gastroenterol* 2006;12:3682–3694.
- SEEDO 1996. «Consenso Español 1995 para la evaluación de la obesidad y para la realización de estudios epidemiológicos. Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad.» *Med Clin (Barc)*. 1996;107:782-7.
- Segovia R, Camara R, del Olmo M, Ponce J, Navas S, Piñon F. 2008. «Non-alcoholic steatohepatitis in Morbid Obesity: prevalence and relation with metabolic Syndrome.» *Obes Surg* 2008,18:432-33.
- Seidell, JC. 2000. «Obesity, insulin resistance and diabetes: a world wide epidemic.» *Br J Nutr* 2000; 83(Suppl. 1): 55-8.
- Serra-Manjem LI, Ribas Barba L, Aranceta-Bartrina J, Pérez Rodrigo C, Saavedra Santana P, Peña Quintana L. 2003. «Obesidad infantil y juvenil en España. Resultados del estudio Enkid (1998-2000).» *Med Clin (Barc)* 2003;121:725-32.
- Serviddio G, Sastre J, Bellanti F, Viña J, et al. 2008. «Mitochondrial involvement in non-alcoholic steatohepatitis.» *Molecular Aspects of Medicine* 2008; 29: 22-35.

Shen J, Chan HL, Wong GL, Choi PC, Chan AW, Chan HY, Chim AM, Yeung DK, Chan FK, Woo J, Yu J, Chu WC, Wong VW. 2012. «Non-invasive diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis by combined serum biomarkers.» *J Hepatol.* 2012 Jun; 56(6):1363-70.

- Sheth SG, Gordon FD, Chopra S. 1997.«Nonalcoholic steatohepatitis.» *Ann Intern Med* 1997; 126: 137-45.
- Silverman JF, O'Brien KF, Long S, Leggett N, Khazanie PG, Pories WJ, Norris HT, Caro JF. 1990. «Liver pathology in morbidly obese patients with and without diabetes.» *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 1349-55.
- Sjogren H, Eriksson A, Ostrom M. 1996. «Role of disease in initiating the crashes of fatally injured drivers.» *Accid Anal Prev* 1996,28:307-14.
- Solga SF, Diehl AM. 2003. «Non-alcoholic fatty liver disease: lumenliver interactions and possible role for probiotics.» *J Hepatol* 2003;38: 681-687.
- Solis Herruzo, JA, García Ruíz.I ,Perez Carreras.M ,Munoz Yague,MT. 2006. «Non-alcoholic fatty liver disease: From insulin resistance to mitochondrial dysfunction.» *Rev. esp. enferm. dig.* 2006, vol.98, n.11, pp. 844-874.
- Soltys K, Dikdan G, Koneru B. 2001. «Oxidative Stress in Fatty Livers of Obese Zucker Rats: Rapid Amelioration and Improved Tolerance to Warm Isquemia with Tocopherol.» *Hepatology* 2001, Jul; 34 (1) :13-8.
- Swinburn BA. 2011. «The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments.» *Lancet* 2011;378:804.
- Tapan S, Dogru T, Kara M, Ercin CN, Kilciler G, Genc H, Sertoglu E, Acikel C, Kilic S, Karslioglu Y, Kurt I, Erbil MK. 2010. «Circulating levels of interleukin-18 in patients with non-alcoholica fatty liver disease.» *Scand J Clin Lab Invest.* 2010 Oct; 70(6) :399-403.
- Targher G, Bertolini L, Rodella S, et al. 2008. «NASH predicts plasma inflammatory biomarkers independently of visceral fat in men.» *Obesity (Silver Spring)* 2008;16:1394-9.

- Thaler, H. 1962. «Die Fettleber, ihre Ursachen und Begleitkrankheiten.» *Dtsch med Wschr* 1962; 87: 1049-55.
- Tilg H, Moschen A. 2010. «Evolution of inflammation in Non alcoholic Fatty Liver Disease: The multiple Parallel Hits Hypothesis.» *Hepatology* 2010; 52: 1836-1846.
- Tilg H, K. A. (2011). «Gut microbiome, obesity, and metabolic dysfunction.» *J Clin Invest* 2011; 121 (6): 2126-32.
- Torres DM, Harrison SA. 2008. «Diagnosis and therapy of nonalcoholic steatohepatitis.» *Gastroenterology* 2008; 134: 1682–1698.
- Turnbaugh PJ, Klein K, Gordon JI. 2006. «Human gut microbes associated with obesity.» *Nature* 444: 21-28. 25.2006.
- Vague, J. 1947. «La diferénciation sexuelle, facteur déterminant des formes de l'obésité.» *Presse Médical* 1947; 55: 339-340.
- Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B. 2007. «FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. Comparison with liver biopsy and FibroTest.» *Hepatology*. 2007;46:32-36.
- Vecchiet J, Falasca K, Cacciatore P, Zingariello P, Dalesandro M, Marinopicollo M et al. 2005. «Association between plasma interleukin-18 levels and liver injury in chronic hepatitis C virus and non-alcoholic liver disease.» *Ann Clin Lab Sci* 2005; 35:415-22.
- Vigarello, G. 2011. «La metamorfosis de la grasa. Historia de la obesidad , desde la Edad Media al siglo XX.» *Barcelona* 2011.

- Vuppalanchi R, Chalasani N. 2009. « Nonalcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis: selected practical issues in their management.» *Hepatology* 2009;49:306-317.
- Wanless IR and Lentz, JS. 1990. «Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: and autopsy study with analysis of risk factors.» *Hepatology* 1990,12:1106-10.
- Werswater JD, Fainer D. 1958. «Liver impairment in the obesity.» *Gastroenterology* 1958; 34: 686-93.
- Wieckowaska A, Zein NN, Zein NN, Erian LM, y McCullough AJ, Feldstein AE, Lopez AR. 2006. «In vivo assessment of liver cell apoptosis as a novel biomarker of disease severity in non-alcoholic fatty liver disease.» *Hepatology* 2006; 44: 27-33.
- Wieckowska A, W. 2008. «Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease: invasive versus noninvasive.» *Semin Liver Dis* 2008,28:386-95.
- Williams C, Stengel J, Harrison S et al. 2011. «Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis Among a Largely Middle-Aged Population Utilizing Ultrasound and Liver Biopsy: A Prospective Study.» *Gastroenterology* 2011, 140(1): 124-131.
- Williams, A. H. (1998). «Relationship to cirrhosis. Ratio of serum aspartate to alanineaminotransferase in chronic hepatitis.» *Gastroenterology*. 1988;95:734-739.
- Wilson SR, Rosen IE, Chin-Sang HB, et al. 1982. «Fatty infiltration of the liver: An imaging challenge.» *J Can Assoc Radiol* 1982; 33: 227-232.

- Woekowska A, Zein NN, Yerian LM, Lopez AR, McCullough AJ and Feldstein AE. 2006. «In vivo assesmente of liver cell apoptosis as a novel biomarkker of disease severity in nonalcoholic fatty liver disease.» *Hepatology* 2006,44:23-33.
- Wu GD, CJ. 2011. «Linking longterm dietary patterns with gut microbial enterotypes.» *Science* 2011; 334 (6052): 105-8.
- Wu HJ, WE. 2012. «The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity.» *Gut Microbes*. 2012 Jan-Feb;3(1):4-14.
- Yan J, Xie W, Ou WN, Zhao H. 2013. «Epidemiological survey and risk factors of fatty liver disease of adult residents, Neijing (China).» *J Gastroenterol Hepatol* 2013,28:1654-9.
- Yilmaz I, Eren F, Yonai O, Kurt R, Aktas B, Celikel CA et al. 2010. «Increased serum FGF21 levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease.» *Eur J Clin Invest* 2010, 40 :887-92.
- Yilmaz Y, Dólar E, Ulukaya E, Akgoz S, Keskin M, Keyici M et al. 2007. «Soluble forms of extracelular cytokeratin 18 may differentiate sumple steatosis from nonalcoholic steatoheaptitis.» *World J Gastroenterol* 2007, 13:837-4.
- Zelman, S. 1952. «The liver in obesity.» *Arch Intern Med* 1952; 90: 141-56.
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leo Friedman JM. 1994. « Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue.» *Nature*. 1994 Dec 1; 372(6505):425-32.
- Zhang Y, Scarpance PJ. 2006. «The role of leptin in leptin resistance and obesity.» *Physiol Behav*. 2006;88:249-56.

Zhu S, Baker S, Gill, C, Liu W.2013. «Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: A connection between endogenous alcohol and NASH.» *Hepatology. Volume 57, Issue 2, pages 601–609, February 2013.*

Zhu SI, Zhang ZY, Ren GP, Ye XL, Ma L, Yu D et al. 2013. «Therapeutic effect of fibroblast growth factor 21 on NAFLD in MSG - iR mice and its mechanism.» *Yao Xue Xue Bao 2013,48:1778-84.*