

**FACUTAT DE MEDICINA**

**UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA**

Trabajo de investigación correspondiente al máster oficial en  
**“INVESTIGACIÓN CLÍNICA APLICADA EN CIENCIAS DE LA SALUD”**

**INDICES PREDICTIVOS DE FIBROSIS EN LA**  
**DETECCIÓN DEL HIGADO GRASO NO ALCOHÓLICO:**  
**UTILIDAD EN ATENCIÓN PRIMARIA**

**Autor: Carmen Expósito Martínez**

**Directores: Josep Bonet Sol**

**Llorenç Caballeria Rovira**

**Junio de 2013**

---

## **INDICE**

	Página
RESUMEN	4
I. INTRODUCCIÓN	6
1. Definición	7
2. Prevalencia	8
3. Etiología	12
4. Patogenia	14
5. Diagnóstico	16
5.1. Métodos invasivos	17
5.2. Métodos no invasivos	19
5.2.1. Radiológicos	20
5.2.2. Elastográficos	20
5.2.3. Serológicos	22
6. Evolución	31
7. Tratamiento	33
II. OBJETIVOS	35
III. MATERIAL Y METODOS	37
1. Diseño del estudio	38
2. Sujetos del estudio	38
3. Criterios de inclusión	38
4. Criterios de exclusión	38
5. Variables	39
6. Índices no invasivos de fibrosis hepática e HGNA	42

7. Plan de análisis	46
IV. RESULTADOS	47
1. Índices de fibrosis para el diagnóstico del HGNA.	48
2. Índices de fibrosis para la evolución de hepatopatía crónica	51
3. Concordancia entre los índices FLI, HAIR I LAP	52
4. Relación entre los índices FLI, HAIR Y LAP Y EL HGNA según el análisis de regresión logística	53
5. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de los índices FLI, HAIR Y LAP para el diagnóstico de HGNA.	54
V. DISCUSIÓN	55
VI. RESUMEN Y CONCLUSIONES	64
VII. BIBLIOGRAFIA	66



## **RESUMEN**

**Objetivos:** Analizar la utilidad de los índices predictivos de fibrosis (HAIR, FLI y LAP) en la detección de HGNA y la concordancia entre ellos.

**Metodología:** Estudio descriptivo, poblacional, multicéntrico y transversal de individuos sanos entre 17-83 años, procedentes de 25 Equipos de Atención Primaria seleccionados aleatoriamente a partir del Sistema Informático de Atención Primaria (SIAP). A todos los participantes se les realizó una anamnesis, exploración física y analítica general para determinar los índices predictivos de fibrosis junto con una ecografía abdominal.

**Resultados:** Se incluyeron 702 individuos, 58% mujeres, edad media de  $53 \pm 14$  años. Cumplían criterios ecográficos de HGNA 184 individuos (26,29%). La prevalencia de HGNA para cada uno de los índices FLI, HAIR y LAP fue del 46,8%, 68,1% y 56% respectivamente. La concordancia entre los tres índices osciló entre el 63,1% (HAIR frente a FLI), 76,4% (LAP frente a FLI) y el 84,9% (LAP frente a HAIR), con unos índices kappa que fueron del 0,18, 0,5 y 0,25 respectivamente. El índice con mayor sensibilidad fue el  $FLI \geq 60$  con un 84%. La especificidad fue mayor para el HAIR y LAP con un 97% y 91%.

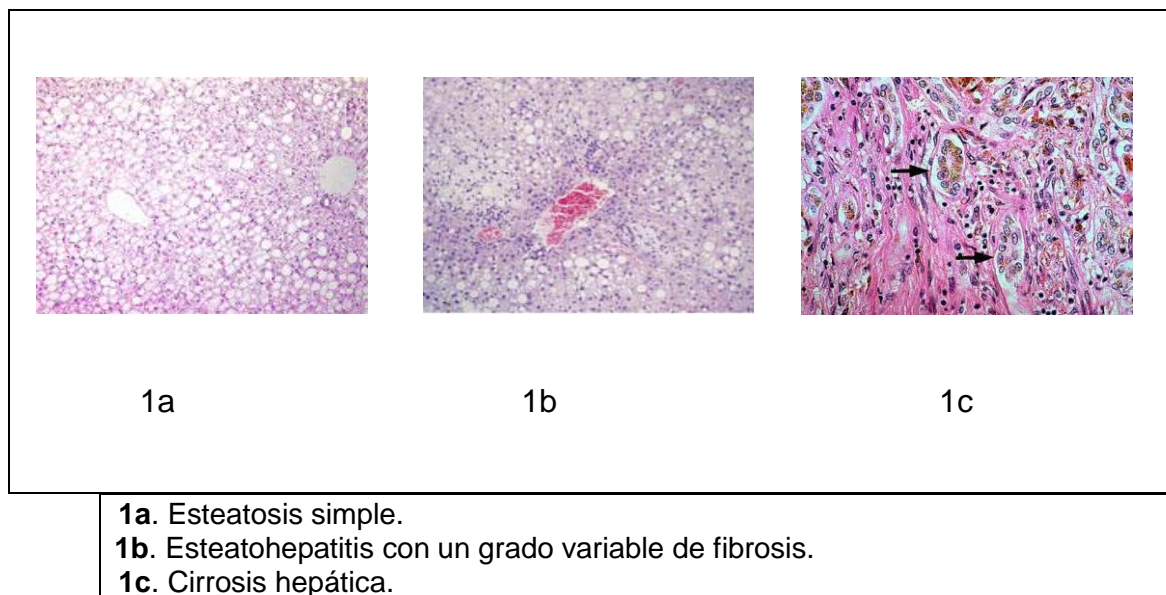
**Conclusiones:** Los marcadores FLI, HAIR y LAP son muy prevalentes y se han mostrado como marcadores independientes para el diagnóstico de HGNA. La falta de concordancia entre estos índices, provoca la obtención de diferentes prevalencias. Sería necesario unificar criterios para obtener un índice más útil para el diagnóstico desde la atención primaria.



I. INTRODUCCIÓN

## 1. DEFINICIÓN

El hígado graso no alcohólico (HGNA), se caracteriza por el depósito de ácidos grasos libres y de triglicéridos en el citoplasma de los hepatocitos, en forma de grandes vacuolas, en pacientes sin un consumo tóxico de alcohol y no asociado a otras enfermedades hepáticas (1-6). Esta terminología fue introducida por el Dr. Ludwig en el año 1980 (1) el cual la definió como “un síndrome clínico patológico que afecta básicamente a personas obesas, mujeres diabéticas, que niegan el consumo de alcohol, pero que presentan unas lesiones hepáticas similares a las producidas por el alcohol”. Es una entidad que engloba un amplio espectro de lesiones que van desde la esteatosis hepática simple, pasando por la esteatohepatitis con cambios necroinflamatorios asociados a un grado variable de fibrosis, que pueden progresar a cirrosis hepática e incluso al hepatocarcinoma (7). (Figura 1)



**Figura 1.** Evolución morfológica de las diferentes lesiones del HGNA.

## 2. PREVALENCIA

La prevalencia del HGNA no es bien conocida y probablemente está infravalorada dado que una parte de los pacientes están asintomáticos, presentan alteraciones biológicas discretas, a la ausencia de marcadores serológicos concretos y a la necesidad de la práctica de una biopsia hepática para el diagnóstico definitivo. De manera que, entre los estudios publicados hasta el momento, existen defectos metodológicos relevantes que introducen sesgos significativos, por un lado por enfocarse a grupos seleccionados de pacientes, en general subpoblaciones hospitalarias de obesos, diabéticos, etc., y por otro lado por utilizar técnicas diagnósticas de imagen, en especial la ecografía que pueden resultar adecuadas para el cribaje de esteatosis pero no para determinar el grado de lesión hepatocelular ni la presencia de fibrosis.

A pesar de todo, el diagnóstico de esta enfermedad es cada vez más frecuente debido al mayor interés que hay hacia ella y a la prevalencia cada vez mayor de obesidad entre la población occidental que ya se manifiesta desde la adolescencia (8). De esta manera, y tal como se describió en un principio que se consideraba que el HGNA era una entidad que afectaba fundamentalmente a mujeres de edad media, obesas y muchas de ellas diabéticas, actualmente se ha comprobado que afecta por igual a ambos sexos y que puede afectar a sujetos más jóvenes incluso en la infancia y adolescencia. Por todo ello, hoy día se puede considerar el HGNA la causa de hepatopatía crónica más frecuente en todo el mundo (9), y además tal como se ha descrito, la prevalencia está aumentando de forma exponencial en todos los países (10). La prevalencia del HGNA varía en función de la población estudiada y del criterio diagnóstico que se ha utilizado (11-13). Los estudios poblacionales



determinan mejor la prevalencia del HGNA en comparación a los estudios basados en series de necropsias, hospitalarias o en estudios basados exclusivamente en pacientes obesos (8, 9, 14-49). En la tabla 1 se resumen los diversos estudios y el método diagnóstico utilizado para conocer la prevalencia del HGNA y la esteatohepatitis (NASH).

**Tabla 1. Prevalencia de HGNA y NASH según los diferentes tipo de estudios**

<b>Autor (año)</b>	<b>Diseño</b>	<b>Método diagnóstico</b>	<b>País</b>	<b>Prev. HGNA (%)</b>	<b>Prev NASH (%)</b>
Nomura (1988)	Poblacional	Ecografía	Japón	14,00	ND
El-Hassan (1992)	Ambulatorio	Ecografía, TAC	Arabia Saudi	10,00	ND
Tominaga (1995)	Examen salud	Ecografía	Japón	3 (niños)	ND
Franzese (1997)	Ambulatorio	Ecografía	Italia	53 (niños obesos)	ND
Lonardo (1997)	Ambulatorio	Ecografía	Italia	20,00	ND
Bellentani (2000)	Poblacional	Ecografía	Italia	16 (sobrepeso) 76 (Obesos)	ND
Omagari (2002)	Ambulatorio	Ecografía	Japón	9,00	ND
Bedogni (2005)	Poblacional	Ecografía	Italia	23,00	ND
Fan (2005)	Poblacional	Ecografía	China	15,00	ND
Jimba (2005)	Examen salud	Ecografía	Japón	29,00	ND
Hamaguchi /2005)	Examen salud	Ecografía	Japón	18,00	ND
Park (2006)	Examen salud	Ecografía	Corea Sur	16,00	ND
Chen (2006)	Poblacional	Ecografía	China	11,50	ND
Zelber-Sagi (2006)	Poblacional	Ecografía	Israel	30,00	ND
Radu (2008)	Hospital	Ecografía	Rumania	20,00	ND
Caballeria (2010)	Poblacional	Ecografía	España	25,80	ND
Browning (2004)	Poblacional	Resonancia	USA	31,00	ND
Patt (2003)	Examen salud	Transaminasas	USA	14 - 21	ND
Clark (2003)	Poblacional	Transaminasas	USA	5,40	ND
Ruhl (2003)	Poblacional	Transaminasas	USA	2,80	ND
De Lusong (2008)	Poblacional	Transas + eco	Filipinas	12,20	ND
Hultcrantz (1986)	Hospital	Biopsia	Suecia	39,00	ND
Lee (1989)	Hospital	Biopsia	USA	ND	9,00
Nonomura (1992)	Hospital	Biopsia	Japón	ND	1,00
Byron (1996)	Hospital	Biopsia	USA	ND	11,00
Daniel (1999)	Hospital	Biopsia	USA	51,00	32,00
Berasain (2000)	Hospital	Biopsia	España	ND	16,00
Lee (2007)	Hospital	Biopsia	Corea	51,40	2,20
Hilden (1977)	Necropsia	Histología	Suecia	24,00	ND
Ground (1982)	Necropsia	Histología	USA	16,00	ND
Wanless (1990)	Necropsia	Histología	Canadá	29,00	6,00
Schwimmer (2006)	Necropsia	Histología	USA	9,6 (niños) 38 (obesos)	3,00
Luyck (1998)	C. Bariátrica	Biopsia	Bélgica	74,00	ND
Silverman (1990)	C. Bariátrica	Biopsia	USA	86,00	36,00
Dixon (2001)	C. Bariátrica	Biopsia	Australia	71,00	25,00
Beymer (2003)	C. Bariátrica	Biopsia	USA	85,00	33,00
Spaulding (2003)	C. Bariátrica	Biopsia	USA	88,00	56,00
Mathurin (2006)	C. Bariátrica	Biopsia	Francia	ND	14,40
Williams (2011)	Hospital	Biopsia	USA	66,40	29,80

ND: No determinado. HGNA: Hígado graso no alcohólicos. NASH: esteatohepatitis

Así y según los diferentes estudios epidemiológicos poblacionales realizados, la prevalencia en occidente se sitúa entre el 20 y el 30% de la población y puede llegar al 70-90% en obesos o diabéticos (50,51). En datos basados en necropsias de la población general se estima que entre el 2 y el 3% cumplen criterios de NASH. Por contra, en países orientales, donde la prevalencia de la entidad era baja, se está experimentando un notable aumento de esta, poniendo de manifiesto la occidentalización en los hábitos y costumbres de estos países, así la prevalencia en China es del 15% y en Japón del 14%. La prevalencia de HGNA en niños es poco conocida aunque se estima entre un 2,6-9,6% y este porcentaje llega al 38-53% en obesos. Es más prevalente en hispanos y centroasiáticos y está prácticamente presente en todos los sujetos con obesidad y diabetes (52). Se prevé que en los próximos años, con el aumento de la obesidad aumente la prevalencia de HGNA (53). En un estudio realizado en Atención Primaria en nuestro país se encontró una prevalencia por criterios ecográficos del 25,8%(49) y los factores que se asociaron de forma independiente a la presencia de HGNA fueron la edad, el sexo masculino, el síndrome metabólico (SM) la resistencia a la insulina (RI) y unos valores elevados de la alaninoaminotransferasa (ALT).

La dificultad de la determinación de la prevalencia del HGNA depende del método empleado para su determinación. La mayoría de estos estudios se han hecho mediante la práctica de una ecografía abdominal (14-27,49), la cual es capaz de detectar la esteatosis de grado moderado o severo con una alta sensibilidad y especificidad siempre que la grasa acumulada en el hígado supere el 33% de su volumen. Para salvar esta dificultad se están utilizando otras técnicas más sensibles como la tomografía axial computerizada (TAC)

(15) o la resonancia magnética simple o con espectroscopia (28) pero estas técnicas son difíciles de aplicar en estudios poblacionales y tienen además un coste económico muy alto. La mejor prueba para hacer el diagnóstico continúa siendo la biopsia hepática, pero en estudios poblacionales no es factible por problemas éticos, dado que la mayoría de los pacientes están asintomáticos, y por el gasto económico que supone. Por otro lado, en amplios estudios poblacionales donde la prevalencia de esteatosis es alta, más de la mitad de los sujetos presentan valores normales de transaminasas, lo que sugiere que aquellos estudios donde se analizan la prevalencia de HGNA según los valores de las transaminasas pueden subestimarla (54).

Estas prevalencias encontradas en todos los estudios, aun difiriendo, como se ha dicho antes, en función del tipo de población de estudio y del método diagnóstico empleado, ponen de manifiesto que es la enfermedad hepática más frecuente en los países occidentales.

### **3. ETIOLOGIA**

Las causas que provocan el HGNA son múltiples y se clasifican en primarias y secundarias. Las primarias, que son las más importantes, están constituidas básicamente por los diferentes componentes que conforman el SM (obesidad, diabetes, dislipemia e HTA), así como por la RI. De manera que el HGNA está íntimamente relacionado con el SM y la RI. En cuanto a las secundarias, menos frecuentes, están relacionadas principalmente con el consumo de ciertos fármacos, trastornos metabólicos, trastornos nutricionales y la exposición a ciertos tóxicos (55).

En la tabla 2 se expone un listado de las diferentes etiologías asociadas al HGNA.

Tabla 2. Etiología del HGNA

<b>Causas primarias:</b>	Resistencia a la insulina, obesidad, diabetes tipo 2, dislipemia, hipertensión arterial.
<b>Causas Secundarias:</b>	
<b>Fármacos:</b>	Amiodarona, aminosalicilatos, corticoides, diltiazem, estrògenos, L-asparginasa, maleato perhexilina, metrotexato, naproxeno, nicardipino, nifedipino, nutrición parenteral total, oxacilina, sulfasalazina, tamoxifeno, tetraciclina, valproato, vitamina A, zidovudina.
<b>Trastornos metabólicos:</b>	Abetalipoproteinemia, lipodistrofia, hipopituitarismo, enf. de Weber-Christian, síndrome de Reye.
<b>Nutricionales:</b>	Cirugía de la obesidad mórbida, desnutrición, pérdida rápida de peso.
<b>Tóxicos:</b>	Tóxicos industriales (petroquímica, fosforados), toxinas procedentes de setas.

En la práctica clínica la mayoría de los pacientes con HGNA presentan obesidad, diabetes tipo 2 (DM 2) o dislipemia como factor etiológico siendo frecuente la asociación de diversos de estos factores (56) y, dentro de éstos, los predictores más importantes de fibrosis son la edad, la obesidad y la DM 2 (6). De hecho se considera al HGNA el componente hepático del SM.

El HGNA se asocia a múltiples factores de riesgo cardiovascular (FRCV), a un aumento del riesgo cardiovascular global (57) y es un factor de riesgo independiente de morbilidad y mortalidad cardiovascular. Hay estudios que lo asocian con un aumento de grosor de la capa íntima y media de la arteria carótida (58), la cual cosa se considera un indicador de arteriosclerosis subclínica. En particular, en aquellos pacientes con HGNA y aumento de la ALT

y la gammaglutamiltransferasa (GGT) se ha documentado una mayor morbimortalidad, independientemente de la presencia de otros FRCV (59) y la enfermedad cardiovascular es la responsable de la muerte de estos pacientes por encima de la propia enfermedad hepática.

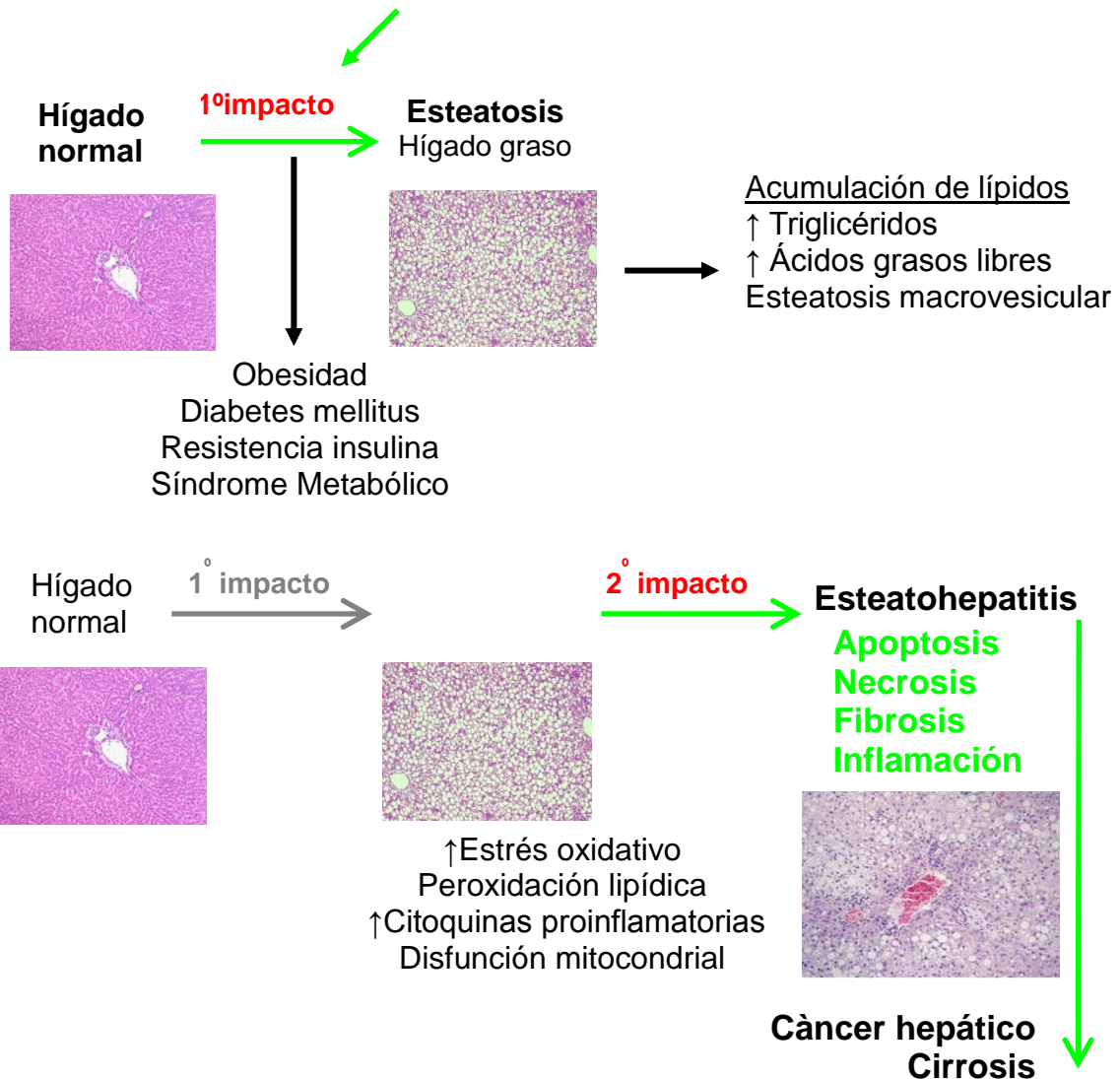
#### **4. PATOGENIA**

Los mecanismos que conducen al desarrollo del HGNA y posteriormente a la aparición de los fenómenos inflamatorios solo se conocen parcialmente, aunque parecen que sean multifactoriales. Su origen y evolución son el resultado de diversos acontecimientos, dietéticos y de estilo de vida que se dan en individuos con una predisposición genética adecuada para producir múltiples alteraciones metabólicas e inmunológicas. La teoría patogenética más aceptada es la del doble impacto propuesta por Day y James en 1998 (60).

Inicialmente, se produce un incremento de los ácidos grasos libres en el suero a causa de una liberación de éstos del tejido adiposo y a un aumento de la RI. Posteriormente, se produce un excesivo aporte de ácidos grasos al tejido hepático que excede las necesidades fisiológicas. Este sería el primer impacto en el desarrollo de la enfermedad hepática por depósito de grasa. Posteriormente se producen fenómenos de peroxidación lipídica, generación de grandes cantidades de radicales libres de oxígeno, liberación de citoquinas y adipocinas y finalmente fibrosis hepática (60, 61).

En la figura 2 se muestra de forma esquemática la teoría del doble impacto.

Teoría de los dos impactos (Day & James, 1998)



**Figura 2.**

La RI, definida como la disminución de la capacidad celular de responder a la acción de la insulina debida a la inflamación crónica asociada a la obesidad, es la alteración metabólica más común asociada a la patogénesis del HGNA (62). En particular la obesidad visceral provoca una inflamación crónica con aumento de factor de necrosis tumoral alfa e interleucina-6 que hacen disminuir la secreción de hormonas antilipogénicas (adiponectina), aumentan el estrés

oxidativo y provocan RI a nivel hepático con acúmulo de grasa en el hígado (63). A medida que aumenta la obesidad aumenta el HGNA.

## **5. DIAGNOSTICO DE HGNA**

La mayoría de los pacientes con HGNA están asintomáticos u oligoasintomáticos, y habitualmente la sospecha diagnóstica se establece ante el hallazgo de una elevación discreta de las enzimas hepáticas, especialmente de la ALT o un cociente ALT/AST superior a 1 (64,65) cuando se solicita una analítica por cualquier motivo o incluso en el curso de un examen de salud rutinario, o bien por la presencia de cambios sugestivos de esteatosis cuando se realiza una ecografía abdominal en estos pacientes que presentan una alteración de la analítica o bien cualquier otro motivo. Otras formas de presentación clínica menos frecuentes son, la presencia de astenia y dolor en el hipocondrio derecho, la presencia de hepatomegalia blanda e indolora en la exploración física de un paciente, alteración discreta de los parámetros bioquímicos de colestasis (GGT y fosfatasa alcalinas) o bien por un aumento de los parámetros del metabolismo del hierro, ya sea la ferritina o el índice de saturación de la transferrina.

Así, para hacer el diagnóstico definitivo de la enfermedad, ante un paciente con la ALT elevada, con signos sugestivos de esteatosis por ecografía en el contexto de un paciente con SM lo primero que se debe de hacer es descartar la presencia de otras enfermedades del hígado, tales como, consumo de alcohol, sustancias tóxicas, hepatopatías víricas, autoinmunes, así como, otras enfermedades metabólicas. Para ello se deben de solicitar parámetros sugestivos de estas enfermedades como la ingesta de alcohol, fármacos y



otras sustancias tóxicas, marcadores virales, metabolismo del hierro, del cobre, déficit de alfa-1-antitripsina, anticuerpos antitissulares, inmunoglobulinas, entre otros.

En caso de descartar otras hepatopatías estaremos ante un paciente que con toda probabilidad tendrá un HGNA. Para ello, deberemos hacer el diagnóstico definitivo. Éste se puede hacer mediante métodos invasivos y métodos no invasivos.

### **5.1. Métodos invasivos**

El mejor método invasivo continúa siendo la biopsia hepática, que permite hacer el diagnóstico de certeza, y establecer el estadiaje del curso evolutivo de la enfermedad en cualquiera de sus fases: esteatosis simple, esteatohepatitis, fibrosis y cirrosis. Para ello, el diagnóstico histológico se basa, tal y como se muestra en la tabla 3, según el índice de actividad y el índice de fibrosis (66,67).

Tabla 3. Clasificación histológica del HGNA

**Esteatosis**

<b>Grado I (leve)</b>	Afectación de < 33% de los hepatocitos
<b>Grado II (moderada)</b>	Afectación del 33 - 66% de los hepatocitos
<b>Grado III (intensa)</b>	Afectación de > 66% de los hepatocitos

**Esteatohepatitis**

***Actividad necroinflamatoria***

<b>Grado I (leve)</b>	Esteatosis < 66% de los hepatocitos, apilotonamiento de algunos hepatocitos de la zona 3, algún foco inflamatorio e infiltrado polinuclear en el lobulillo y sin inflamación portal o leve
<b>Grado II (moderada)</b>	Esteatosis de cualquier grado, marcado apilotonamiento de los hepatocitos, inflamación portal y lobulillar leve o moderada
<b>Grado III (intensa)</b>	Esteatosis, apilotonamiento difuso de los hepatocitos, inflamación e infiltrado polinuclear en la zona 3 e inflamación portal

***Fibrosis***

<b>Estadio I</b>	Fibrosis pericelular/perisinusoidal de la zona 3
<b>Estadio II</b>	Fibrosis pericelular/perisinusoidal de la zona 3 con fibrosis periportal focal o extensa
<b>Estadio III</b>	Fibrosis pericelular/perisinusoidal de la zona 3 con fibrosis portal y puentes de fibrosis
<b>Estadi IV</b>	Cirrosis

Pero a pesar de sus capacidades en el campo de la hepatología, la biopsia hepática presenta diversas limitaciones entre las que destacan:

a) una probabilidad relativamente elevada de error de muestra (puede impedir el diagnóstico de cirrosis hasta en el 15-20% de los casos),

b) una medida relativamente pequeña de la muestra (1 parte de 50.000) que disminuye la sensibilidad de la técnica para el diagnóstico de fibrosis avanzada, de hecho en las muestras de medida pequeña se tiende a subestimar la fibrosis,

c) una morbimortalidad no menospreciable y la escasa aceptación por parte del paciente sobre todo si requiere su repetición,

d) elevado coste económico. Se requiere además unas horas de ingreso hospitalario,

e) obtención de una foto fija, siendo la fibrosis un proceso claramente dinámico.

Por todo ello, a pesar de ser el mejor método para hacer el diagnóstico, la biopsia hepática es un imperfecto “gold estándar”. Además, tal y como se ha comentado esta enfermedad es asintomática, se diagnostica en la atención primaria y éticamente hace difícil plantear la biopsia hepática en estos pacientes.

## **5.2. Métodos no invasivos.**

Entre los métodos no invasivos caben destacar los radiológicos, los elastográficos y los marcadores serológicos ya sean directos o indirectos.

### *5.2.1. Métodos radiológicos*

Entre los radiológicos destaca la ecografía abdominal por su fácil realización, accesibilidad, bajo coste y por la importante información que proporciona. Sin embargo es una técnica muy sensible pero poco específica y su utilidad disminuye si la esteatosis es inferior al 33% del parénquima hepático (68). Otros métodos radiológicos son la TAC y la RMN. Algunos autores han sugerido que ante un paciente con hígado graso se debería confirmar por TAC y mejor con RNM, pero a pesar de ser más sensibles son igualmente poco específicas (69-71).

### *5.2.2. Métodos elastográficos*

La elastografía es el principio físico que cuantifica la rigidez-elasticidad de los tejidos. Hasta la fecha se han descrito 3 métodos elastográficos diferentes. La elastografía hepática transitoria (Fibroscan), el Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) y la resonancia magnética elastográfica (RME).

De todos estos el más conocido entre nosotros y con el que más experiencia se tiene es la elastografía hepática transitoria, que permite estimar de forma no invasiva el grado de tejido fibroso presente en el hígado, lo que podría permitir detectar la existencia de una fibrosis hepática significativa antes de que el paciente desarrollara una cirrosis o de que la cirrosis produzca síntomas (72).

El FibroScan®, nombre del aparato que realiza la elastografía, mide la elasticidad hepática de un cilindro de aproximadamente 1 cm de diámetro por 4 cm de longitud, el cual es 100 veces mayor que la muestra obtenida por biopsia y, por lo tanto, es mucho más representativo de la totalidad del parénquima hepático (73). Este sistema se utiliza ya con éxito para la evaluación de la fibrosis en pacientes con infección crónica conocida por virus de la hepatitis C

(VHC) (74) en donde estudios extensos y diversos metaanálisis sugieren valores en torno a 7,6 y 14,6 kPa para identificar fibrosis significativa y cirrosis, respectivamente. La información sobre su utilidad para la evaluación de la fibrosis en la infección crónica por el virus de la hepatitis B (75), esteatohepatitis (76), esteatosis hepática no alcohólica (77), enfermedad hepática alcohólica (78) y enfermedades de otra etiología es más escasa, pero cada vez hay más datos que apuntan en esta dirección (79). Una de las limitaciones que presenta esta técnica es en los pacientes con HGNA y obesidad importante, ya que está demostrado que un exceso de grasa atenúa la velocidad de propagación de la onda y, para ello, actualmente se están ensayando sondas con mayor capacidad de propagación. El ARFI utiliza una sonda que emite un estímulo acústico guiado por ecografía que hace vibrar el tejido, pudiendo cuantificar su elasticidad (80). Diversos estudios han demostrado una excelente fiabilidad para identificar fibrosis significativa i cirrosis, comparable al Fibroscan (80, 81). Además, el hecho de llevar incorporado una ecógrafo permite seleccionar el punto en donde emitir el impulso, y ello, junto con una mayor intensidad del mismo, permite realizarlo en los pacientes obesos. La RME aplica una onda mecánica sobre toda la superficie hepática y el volumen evaluado es la práctica totalidad del hígado excluyendo el hilio hepático (82) y a pesar de que hay pocos estudios los resultados publicados muestran una excelente fiabilidad diagnóstica para identificar pacientes con diferentes estadios de fibrosis (83) y en la enfermedad grasa del hígado (84).

### 5.2.3. Métodos serológicos

Últimamente se están prodigando los métodos no invasivos serológicos para el diagnóstico de la fibrosis ya sean como determinaciones únicas o en combinación con otros métodos radiológicos o elastográficos. En este sentido, el método ideal para el diagnóstico y estadiaje del daño hepático tendría que ser de fácil ejecución, barato, seguro, exento de efectos adversos, específico, sensible reproducible, independiente de las alteraciones metabólicas, fácil de realizar, no influenciado por la eliminación biliar o urinaria y capaz de reflejar el daño hepático independientemente de la causa que lo origine.

La finalidad última de todos estos marcadores serológicos consiste en aproximar el diagnóstico de la enfermedad hepática crónica y en poder determinar qué pacientes pueden progresar a estadios más avanzados, saber cuáles son los que mejoran después de recibir tratamiento y poder ahorrar biopsias de repetición con todo lo que ello implica.

No disponemos en la actualidad de ningún modelo matemático validado que por datos clínicos o analíticos cuantifique la probabilidad de enfermedad histológica avanzada o la evolución de una fase histológica a otra. No hay investigaciones que examinen posibles factores predictivos de progresividad lesional. Los estudios se han centrado en determinar situaciones que hacen más probable la existencia de una enfermedad hepática avanzada en el momento de la biopsia. Aun así, estos factores también indican una cierta probabilidad pronóstica evolutiva (6).

Una de las patologías donde más se han intentado ensayar y describir nuevos marcadores es la hepatopatía crónica por VHC, dada la magnitud del problema

sanitario y social de esta infección en todo el mundo. Así, en los últimos años se han desarrollado diversos modelos de fibrosis basados en determinaciones serológicas relativamente sencillas que han demostrado su utilidad para valorar el grado de fibrosis hepática en pacientes con VHC (85). Sin embargo, actualmente también se están ensayando en otras hepatopatías (86) y muy especialmente en pacientes con HGNA dada la magnitud del problema que plantea esta enfermedad (87).

### **5.2.3.1. Índices de fibrosis en enfermedad hepática**

#### *5.2.3.1.1. Índice AST/ALT*

El primer test para detectar la presencia de una fibrosis significativa fue un cociente  $AST/ALT > 1$ , que presenta un valor predictivo positivo de la cirrosis del 89% en ausencia de consumo de alcohol, aunque no es útil para predecir los grados leves de fibrosis hepática (88).

#### *5.2.3.1.2. Índice Fibrotest*

Imbert-Bismut et al. desarrollaron uno de los primeros modelos matemáticos para predecir el grado de fibrosis hepática basándose en marcadores bioquímicos indirectos de fibrosis hepática ( $\alpha$ 2-macroglobulina,  $\alpha$ 2-globulina, haptoglobina, apolipoproteína-A1, GGT y bilirrubina total) además de la edad y el sexo y fue denominado Fibrotest (89). 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.

#### *5.2.3.1.3. Índices APRI y Forns*

En el año 2003 se publica el índice APRI (AST y plaquetas) (90) y el índice de Forns (edad, GGT, colesterol, plaquetas y protrombina) (91). Ambos se han validado en numerosos grupos de pacientes y se han comparado con el Fibrotest de manera satisfactoria, aunque este último presente un valor predictivo negativo más elevado (92). APRI y Forns, tienen la ventaja de la sencilla realización, especialmente el test APRI.

#### *5.2.3.1.4. Índice de Sydney*

En pacientes con una hepatitis crónica por VHC se ha demostrado de forma reiterada la existencia de una clara RI, probablemente por el efecto directo del virus sobre la señalización intracelular de la insulina (93). Por este motivo Sud et al., desarrollaron este índice que incluía la edad, AST, colesterol, consumo de alcohol y la RI valorada mediante el homeostatic model assesment (HOMA) (94).

#### *5.2.3.1.5. Índices directos de fibrosis hepática*

Entre estos el de mayor valor predictivo es el ácido hialurónico (95). Existen otros como diferentes péptidos de la matriz extracelular, marcadores de la degradación de la matriz extracelular o precursores del colágeno. Sin embargo ninguno de estos marcadores directos, solos o en combinación, se utilizan en la práctica diaria por la dificultad en su uso rutinario en los pacientes en la primera línea del proceso asistencial, lo cual dificulta la estandarización y la validación en grandes cohortes.



### 5.2.3.2. Índices de fibrosis en el HGNA

En relación al HGNA existe suficiente consenso en que la edad, la obesidad y la DM 2 son los predictores más importantes de fibrosis (6,95-97). Existen diversos estudios que analizan los factores predictivos de lesión hepática avanzada en el momento del diagnóstico en el HGNA. El hecho que la edad igual o superior a 40-50 años, con diferentes puntos de corte en este intervalo (72-77), sea un factor relacionado con la posibilidad de fibrosis avanzada y/o cirrosis parece reflejar que, cuanto más tiempo dure la infiltración grasa, más tiempo está sometido el hepatocito al riesgo de "segundos impactos" (97). Gran interés tiene la creciente prevalencia de obesidad infantil, ya que la aparición de esteatosis hepática en fases iniciales de la vida podría favorecer la evolución a cirrosis en edades más jóvenes. También son factores predictivos de fibrosis contrastados el mayor grado de obesidad y/o de esteatosis hepática (45,74,76,78,79) y la existencia de DM 2 manifiesta y/o resistencia periférica a la insulina (74-76,78,79), lo que puede traducir una mayor intensidad de ciertos mecanismos fisiopatológicos.

Otros índices propuestos, y sobre los que no existe el mismo consenso, son aquellos asociados con el SM como la HTA (79,98) y la hipertrigliceridemia (79), además de las cifras de transaminasas, en especial una ALT superior a dos veces el límite superior de referencia (77,79,99) o un cociente AST/ALT > 1 (72,74,79) que traducen histológicamente un mayor grado de actividad necroinflamatoria hepática (73,77,78,100). Hay controversia sobre determinados aspectos como el género. El género femenino es considerado por algunos como a predictor de enfermedad avanzada (100,101) y protector

para otros (102). Los factores del metabolismo del hierro es uno de los más controvertidos. El 20-60% de los pacientes tienen elevado el valor de ferritina sérica y el 5-20% el índice de saturación de la transferrina (2, 72,77, 100, 103), aunque el índice y la concentración hepática de hierro suelen estar en los límites de la normalidad (2,72,77,103,104). Así pues se ha planteado que el HGNA es la causa más frecuente de hiperferritinemia y/o sobresaturación de la transferrina (56) y que la sobrecarga férrica del hígado se asocia a una hepatopatía más grave (105,106). Sin embargo los datos procedentes de series amplias no han demostrado que exista una relación inequívoca (2, 72, 77,100) y la evidencia disponible en la actualidad sugiere que la hiperferritinemia en el HGNA, al menos en la fase de NASH, es una consecuencia inespecífica de la necroinflamación hepática (107), reflejando su papel como reactante de fase aguda.

#### *5.2.3.2.1. European Liver Fibrosis Panel*

Rosenberg (108) propuso un algoritmo llamado European Liver Fibrosis Panel (ELF) para obtener el grado de fibrosis que incluye la edad, el ácido hialurónico, propeptido aminoterminal del colágeno tipo III y el inhibidor tisular de la metaloproteinasa. Los autores señalan que la aplicación de este algoritmo tiene una buena sensibilidad y especificidad para la detección de fibrosis en estadios 3 y 4 en el HGNA.

#### *5.2.3.2.2. Índice NAFLD Fibrosis Score*

En otro estudio, que también incluye parámetros clínicos habituales de la práctica diaria, Angulo y colaboradores validaron un índice llamado NAFLD

Fibrosis Score que incluye la edad, hiperglicemia, índice de masa corporal (IMC), plaquetas, albúmina y el cociente AST/ALT mediante una fórmula de regresión logística (109). La presencia de un valor bajo, presente en el 61% de los casos, excluyó la existencia de fibrosis significativa en un 93%, con una sensibilidad del 82% y una especificidad del 77%. En cambio, un valor elevado, presente en el 15% de los pacientes, determinó una fibrosis en puente o una cirrosis en un 90% de los casos, con una sensibilidad del 51% y una especificidad del 98%. Estos resultados han sido validados posteriormente por Guha et al. (113). Últimamente se ha postulado que la combinación de los índices NAFLD fibrosis score y el EFL, son más precisos para la fibrosis septal, la fibrosis en puente y la cirrosis (110). Aun así faltan más estudios para poder validar estos hallazgos y confirmar el coste-beneficio de aplicar estos algoritmos.

#### *5.2.3.2.3. Índice NAFLD Fibrometer*

Recientemente ha sido descrito por Cales et al. en Francia en un estudio sobre 235 pacientes con HGNA (111). Este índice incluye, la 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.

#### *5.2.3.2.4. Índice K*

El grupo de Klein (112), tras un análisis multivariante, propusieron el índice K para la estimación de esteatosis simple o cambios necroinflamatorios y/o fibróticos en la hepatopatía del obeso, incluyendo las siguientes variables

(edad, sexo, sobrepeso, ALT y triglicéridos). En un paciente concreto la posibilidad de clasificar adecuadamente es del 73%.

#### *5.2.3.2.5. Índice Angulo*

Angulo et al. (73) encontraron como factores pronósticos la edad, el cociente AST/ALT, la obesidad y la DM 2.

#### *5.2.3.2.6. Índice BAAT*

Ratziu (78) encontró cuatro factores (IMC, edad, cifra de ALT y triglicéridos) para constituir el índice BAAT. La existencia de un valor de 1 presenta una alta sensibilidad pero con una especificidad baja, mientras que los pacientes con un valor de 4 tienen una especificidad del 100% con una baja sensibilidad. El problema de este índice se encuentra en los pacientes con valores intermedios entre 2 y 3.

#### *5.2.3.2.7. Índice BARD*

Recientemente se ha descrito otro índice parecido llamado BARD, descrito por Harrison (113) que incluye el IMC, cociente AST/ALT, y la presencia de 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. En estos casos sería necesaria la práctica de una biopsia hepática para confirmar o no la presencia de una enfermedad hepática avanzada a causa del bajo valor predictivo de la prueba. Incluyen datos clínicos de fácil aplicación y tiene la capacidad de excluir la enfermedad hepática avanzada con una gran precisión, aunque son necesarios más estudios para validar este índice.

#### *5.2.3.2.8. Índice FIB-4*

El FIB-4 se ha propuesto para diagnosticar el grado de fibrosis en los pacientes con VHC. Este índice ha sido propuesto por el grupo francés de Vallet-Pichard (114), y está formado por las plaquetas, ALT, AST y la edad. Los autores compararon este test con el resultado de la biopsia y el Fibrotest. Un índice FIB-4 <1.45 tuvo un valor predictivo negativo de 94,7% para excluir fibrosis severa con una sensibilidad del 74,3%. Un valor de FIB-4 > 3.25, tenía un valor predictivo positivo para confirmar la existencia de un grado importante de fibrosis (F3-F4) del 82,1% con una especificidad del 98.2%. El FIB-4 se correlacionó estrechamente con el FibroTest con un valor del índice <1.45 o >3.25 ( $k = 0.561$ ,  $p < 0.01$ ). Un FIB-4 <1.45 o > 3.25 (64.4% de los casos) fue concordante con el FibroTest en el 92.1% y el 76% respectivamente. Este índice es de fácil aplicabilidad y hasta este momento no se ha estudiado en el HGNA.

#### *5.2.3.2.9. Índice Hair*

Dixon et al. (45) evaluaron pacientes con obesidad mórbida sometidos a cirugía bariátrica y encontraron tres factores pronósticos (HTA, cifra de ALT y RI), que componen el índice HAIR con una sensibilidad del 80% y una especificidad del 85% para el diagnóstico de esteatohepatitis.

#### *5.2.3.2.10. Fatty Liver Index*

Bedogni y colaboradores elaboraron el Fatty Liver Index (FLI) (115) sobre un total de 224 sujetos procedentes del estudio Dionysos con sospecha de sufrir una enfermedad hepática (excluyendo los pacientes con hepatitis B y C) y se

compararon con 287 sujetos sin la sospecha de enfermedad hepática. Este índice está constituido por triglicéridos, IMC, GGT y el perímetro abdominal. La presencia de un FLI <30 excluiría y un FLI > 60 demostraría la presencia de esteatosis hepática. Una limitación importante de este estudio es que el diagnóstico de esteatosis se realizó mediante ecografía hepática.

#### *5.2.3.2.11. Lipid Accumulation Product*

Recientemente, el grupo de Bedogni ha estudiado en la misma serie de enfermos donde se describió el FLI otro marcador llamado lipid accumulation product (LAP). Este marcador, inicialmente se aplicó en un estudio poblacional en Estados Unidos para identificar trastornos cardiometabólicos (116). El LAP está constituido por el perímetro abdominal y los triglicéridos. Como se puede ver, comparte dos de los componentes del FLI. Este marcador fue útil para detectar la esteatosis, concluyendo que puede ser de utilidad a los médicos generalistas para seleccionar a los pacientes a los que se les habría de hacer ecografía hepática y también seleccionar a aquellos individuos para realizar investigación en estudios epidemiológicos (117).

Aunque todos estos estudios sugieren que la determinación de alguno de estos índices o la combinación de algunos de ellos pueden ser de utilidad en el diagnóstico y pronóstico del HGNA, ninguno de ellos ha sido validado en estudios prospectivos y en diferentes poblaciones. El diagnóstico se sigue haciendo mediante biopsia hepática, aunque es cierto que la ecografía, en el caso concreto del HGNA, da una aproximación bastante fiable, sobretodo si se combina con otros marcadores clínicos o analíticos. Aun así, a veces esto no es suficiente. Por esto se buscan marcadores indirectos que ayuden a la

ecografía tanto en el diagnóstico como en el pronóstico de progresión de la enfermedad. Presentan especial interés los índices HAIR, FLI y LAP por su facilidad de aplicación por parte médico de familia, así como su coste económico, al alcance de cualquier sistema sanitario.

## **6. EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD**

La historia natural del HGNA es poco conocida y contradictoria (118,119,120) debido a la poca expresividad clínica de la misma y que existen pocos estudios prospectivos y con control histológico. Estos estudios además, también tienen otras limitaciones como una falta de consenso en definir las lesiones, el poco intervalo de tiempo entre las biopsias cuando se trata de una enfermedad de progresión muy lenta, la tendencia que hay de hacer biopsias a los pacientes más graves, el posible error de muestra de las biopsias, y no proponerse como objetivo final los estandarizados en las investigaciones sobre la historia natural de las enfermedades hepáticas, como son, la tasa de mortalidad global, la de mortalidad por causa hepática, la de necesidad de trasplante y la de desarrollo de hepatocarcinoma.

El HGNA progresa muy lentamente hacia formas más graves como la NASH, cirrosis y en algunos casos incluso hepatocarcinoma y esta progresión se desarrolla al cabo de muchos años o décadas y por ello la historia natural es difícil de analizar con un intervalo relativamente corto en el tiempo. Los pacientes con una esteatosis simple tienen, en general, un buen pronóstico. Así, el estudio danés realizado por Dam-Larsen y colaboradores (121) a través

de 109 pacientes con obesidad mórbida controlados durante unos 17 años, encontraron una incidencia de cirrosis inferior al 1%, y durante el seguimiento la mortalidad debida al HGNA no fue diferente de la mortalidad de la población general. En cambio, pacientes con cirrosis hepática citogenética debido al NASH tienen un peor pronóstico, como se ha demostrado en estudios recientes donde entre un 9-26% de los pacientes murieron entre 4-10 años de seguimiento, siendo la causa de muerte más frecuente la cirrosis hepática (122, 123,124,125,126). Adams et al (122,123) mediante un estudio poblacional demostraron una supervivencia inferior entre las personas que tenían una HGNA en comparación a la población general.

En los últimos años diversos estudios epidemiológicos parecen demostrar que los pacientes con HGNA tienen una mayor prevalencia e incidencia de enfermedad cardiovascular (ECV) que la población general (127). Este hecho es lógico teniendo en cuenta que los pacientes con HGNA tienen muchos FRCV relacionados con el SM, aunque algunos estudios sugieren que el HGNA podría ser un factor de riesgo independiente del SM (128). Por ello, hoy en día ya nadie duda de que el HGNA es el componente hepático del SM (57,129).

Los pacientes con HGNA presentan con frecuencia signos preclínicos de ECV tales como una disfunción endotelial (130), un engrosamiento de la capa íntima-media de las carótidas y un mayor número de placas de arteriosclerosis (131), cambios ecocardiográficos de disfunción diastólica del ventrículo izquierdo y aumento de las estenosis de las arterias coronarias (132). Todos estos cambios se asocian con el grado de esteatosis y con la gravedad de la enfermedad (133).



La frecuencia de ECV y la mortalidad por esta causa son significativamente más altas en los enfermos con HGNA que la población general, siendo la ECV juntamente con la enfermedad hepática las principales causa de muerte en estos pacientes (134). A pesar de ello, se necesitan más estudios con un seguimiento más largo para confirmar o no estos resultados. Lo que sí parece claro es que ante un paciente con HGNA hemos de evitar su progresión y al mismo tiempo estudiar la posible ECV especialmente en la fase de arteriosclerosis subclínica, cuando todavía somos capaces de modificar la evolución de la enfermedad (135).

## **7. TRATAMIENTO DEL HGNA**

Una vez tenemos la certeza de que se trata de un HGNA realizaremos un control y tratamiento de los factores asociados. Actualmente no se dispone de un tratamiento específico para el HGNA, sino que éste consiste en tratar los factores etiológicos causales, tales como la obesidad, la DM 2 y la dislipemia. Sin embargo, es muy importante aplicar una serie de medidas generales, tales como evitar el consumo de alcohol, los fármacos hepatotóxicos y la exposición a tóxicos ambientales causantes de HGNA (136,137). El tratamiento de la obesidad ha mostrado ser eficaz en el HGNA tanto en adultos como en adolescentes. Es importante perder peso, ya que se ha comprobado que esta medida mejora la resistencia a la insulina y reduce la cifra de transaminasas. Consiste en una pérdida progresiva de peso mediante un ejercicio físico moderado y una dieta equilibrada con el objetivo de perder un 10% del peso en los primeros 6 meses a un ritmo de 0,5-1 kg por semana (138,139,140). Una

pérdida de peso rápida mediante una dieta muy estricta es contraproducente, ya que en esta situación se produce una movilización de los ácidos grasos del tejido adiposo al hígado, el cual también se ve privado de proteínas y de otros nutrientes esenciales, todo lo cual produce esteatosis y empeoramiento de las lesiones. En el caso de obesidad mórbida, la cirugía bariátrica también se acompaña de una normalización de las transaminasas y mejoría o desaparición de la esteatosis y mejoría de las lesiones de esteatohepatitis (141,142). Para el tratamiento de la diabetes son útiles los tratamientos que mejoran la RI, tales como las biguanidas (metformina) (143,144) y las tiazolidindionas (pioglitazonas) (145,146). En el caso de las dislipemias son útiles las estatinas en general. Si bien se habían cuestionado por su posible hepatotoxicidad, publicaciones recientes demuestran que pueden utilizarse para el tratamiento del HGNA (147). Paralelamente al mejor conocimiento de la patogenia del HGNA se han propuesto nuevos tratamientos para esta enfermedad. Así, se han ensayado diversos tratamientos con un efecto antioxidante y/o hepatoprotector, con resultados poco concluyentes pero a su vez esperanzadores, dado que los diferentes estudios adolecen de problemas metodológicos que hace que estos resultados se deban tener en cuenta con precaución (148).



**II. OBJETIVOS**

1. Analizar la utilidad de los índices predictivos de fibrosis HAIR, FLI y LAP en la detección de HGNA como método no invasivo.
2. Analizar la concordancia entre ellos.

---

### III. MATERIAL Y MÉTODOS

## **1. DISEÑO DEL ESTUDIO**

Estudio descriptivo de base poblacional, multicéntrico y transversal.

## **2. SUJETOS DE ESTUDIO**

Individuos aparentemente sanos entre 17-83 años, procedentes de 25 de los 27 Equipos de Atención Primaria de la área del Barcelonés Nord i Maresme que dan cobertura a una población de 560.000 habitantes de un entorno urbano y semirural.

Los individuos fueron seleccionados aleatoriamente a partir del Sistema Informático de Atención Primaria (SIAP), que equivale al censo municipal, y estratificados de manera proporcional a la población asignada a cada uno de los equipos participantes en el estudio para asegurar que cada centro estaba apropiadamente representado. Todos los sujetos fueron invitados a participar en el estudio mediante llamadas telefónicas. Estas se realizaron por la misma persona y en aquel momento se les explicaba en qué consistiría el estudio.

## **3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

Población adulta de ambos sexos procedentes de estos centros con edades comprendidas entre los 17 y 83 años que quisieran participar en el estudio y que dieran su consentimiento informado por escrito.

## **4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Consumo de alcohol >30 g/día en hombres y >20g/día en mujeres.
- Presencia de una enfermedad hepática crónica conocida.

- Presencia del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B ó la presencia de anticuerpos frente el virus de la hepatitis C.
- Sujetos que presentaban condiciones o patologías que podían dificultar la recogida de datos y el seguimiento del estudio, como enfermedades incapacitantes, deterioro cognitivo, pacientes institucionalizados o sujetos sin residencia fija en el territorio de cualquier equipo participante en el estudio.
- Sujetos que no dieran el consentimiento informado por escrito.

## **5. VARIABLES**

Se revisaron las historias clínicas de todos los participantes y se les realizó una anamnesis exhaustiva y exploración física completa. Se les realizaron una analítica y ecografía abdominal en un término máximo de tres meses después de la visita.

5.1. Variables sociodemográficas: Edad, género, ocupación laboral, nivel de estudios y municipio de residencia.

5.2. Datos de la Historia Clínica:

- Antecedentes personales de enfermedad hepática, litiasis biliar, intervenciones quirúrgicas.
- Presencia de comorbilidad: Obesidad y sobrepeso, DM 2, dislipemia y HTA.
- Consumo de alcohol. Detallando los años de ingesta, tipo de bebida y cantidades ingeridas en unidades de bebida estándar, diferenciando el consumo durante la semana o durante los fines de semana. Se consideró

abstemio aquel sujeto que no consumía alcohol. La unidad de bebida estándar (UBE) equivale a 10 g de alcohol.

- Consumo de tabaco. Tipo de tabaco. Consumo de cigarros por día. En caso de abstinencia, tiempo de la misma.
- Consumo habitual de fármacos durante los últimos 6 meses.

### 5.3. Exploración física:

- Datos antropométricos: Peso, talla, obesidad abdominal e IMC. La medida de la obesidad abdominal se hizo mediante la determinación de las circunferencias de cintura y cadera utilizando una cinta métrica (se considera circunferencia de la cintura al perímetro de la zona abdominal intermedia entre el último arco costal y la cresta ilíaca medida en un plano horizontal y circunferencia de cadera a la obtenida en el plano de máximo relieve de los músculos glúteos). El IMC se calculó según la fórmula clásica de peso (kg) / altura (m)<sup>2</sup>.
- Medida de la tensión arterial. Se determinó con el sujeto en sedestación con un tensiómetro automático validado OMRON. Se realizaron tres determinaciones, separadas entre sí por dos minutos, y se aceptó como presión arterial final la media de las dos últimas medidas excluyendo la primera.

### 5.4. Determinaciones analíticas:

- Se realizó una determinación analítica en sangre tras 12 horas de ayuno que incluyó: Hemograma, recuento y fórmula leucocitaria, plaquetas, glicemia, hemoglobina glicosilada, urea, creatinina, ácido



úrico, colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), AST, ALT, GGT, fosfatasas alcalinas, antígeno de superficie del virus de la hepatitis B y anticuerpos contra el virus de la hepatitis C. Los valores de corte de las diferentes variables estudiadas se consideraron según los parámetros habituales del laboratorio de referencia, que es único para todos los centros participantes.

- Niveles de insulina basal mediante el método de inmunoquimioluminiscencia.
- Determinación de la RI mediante el método HOMA.  
$$\text{HOMA} = \frac{[\text{glicemia (mmol/L)} \times \text{insulina (mU/L)}]}{22.5}$$

Se considera RI si el valor del HOMA es superior o igual a 3.8.
- Se recogió una muestra de la primera orina de la mañana para la determinación de la microalbuminuria.

5.5. Diagnóstico del SM según los criterios diagnósticos del Adult Treatment Panel III del National Cholesterol Education Program (ATPIII-NCEP) (149):

- perímetro abdominal  $\geq$  a 102 cm en los hombres y  $\geq$  a 88 cm en las mujeres.
- HTA  $\geq$  135/85 mmHg o tratamiento previo de la hipertensión
- glicemia basal  $\geq$  110 mg/dl o tratamiento de la diabetes mellitus;
- cHDL  $<$  40 mg/dl en hombres o  $<$  50 mg/dl en mujeres o tratamiento previo
- triglicéridos  $\geq$  150 mg/dl o tratamiento previo.

Para hacer el diagnóstico según este criterio se necesitan tres o más de estos componentes.

#### 5.6. Ecografía abdominal.

La variable resultante es el diagnóstico ecográfico de esteatosis hepática. Y fue realizado mediante la práctica de una ecografía hepática según los criterios estándares aceptados por la American Gastroenterology Association (150). En el presente estudio y a causa de la extensión de nuestra área de influencia las ecografías se realizaron en cada uno de los cuatro centros de radiología de referencia que disponemos. En total fueron cuatro los radiólogos participantes y entre ellos consensuaron los criterios para el diagnóstico de esteatosis. Ninguno de ellos tenía conocimiento de los resultados clínicos ni analíticos de los sujetos. El aparato utilizado fue idéntico en cada uno de los centros de referencia. Los criterios adoptados fueron un aumento de la ecogenicidad hepática tomando como referencia la ecogenicidad renal, la presencia de atenuación y la falta de diferenciación del refuerzo periportal y de la pared vesicular a causa de la gran hiperecogenicidad del parénquima.

### **6. ÍNDICES NO INVASIVOS DE FIBROSIS HEPÁTICA Y HGNA**

Se escogieron aquellos en los que tanto las variables clínicas como analíticas estaban al alcance de la mayoría de los profesionales y aquellos de los que disponíamos de todas las variables.

## 6.1 ÍNDICES UTILIZADOS PARA EL DIAGNÓSTICO DEL HGNA:

### ➤ Índice HAIR

Se calcula con las siguientes variables: HTA, RI i ALT > 40 UI/L.

Un valor entre 0-1 indica la no presencia de HGNA y un valor de 2-3 indica HGNA.

### ➤ Fatty Liver Index

Este incluye: Triglicéridos, IMC, GGT y el perímetro abdominal, y se calcula según la fórmula:

$$FLI = \left( \frac{e^{0.953 \cdot \log_e(\text{triglicéridos}) + 0.139 \cdot \text{IMC} + 0.718 \cdot \log_e(\text{GGT}) + 0.053 \cdot \text{perímetro abdominal} - 15.745}}{1 + e^{0.953 \cdot \log_e(\text{triglicéridos}) + 0.139 \cdot \text{IMC} + 0.718 \cdot \log_e(\text{GGT}) + 0.053 \cdot \text{perímetro abdominal} - 15.745}} \right) * 100$$

FLI < 30 no HGNA; FLI ≥ 60 HGNA; FLI entre 30-60 indeterminado.

### ➤ Lipid Accumulation Product

Incluye: perímetro de cintura y triglicéridos.

LAP hombres = (circunferencia de cintura-65) x triglicéridos

LAP mujeres = (circunferencia de cintura-58) x triglicéridos

Valores LAP en hombres < 4 y LAP en mujeres < 4.4 no HGNA

Valores LAP en hombres ≥ 4 y LAP en mujeres ≥ 4.4 HGNA

## 6.2. ÍNDICES UTILIZADOS PARA LA EVOLUCIÓN DE FIBROSIS HEPÁTICA:

### ➤ Cociente AST/ALT

AST/ALT < 1 característico de HGNA. Si es >1 puede indicar fibrosis o progresión de la enfermedad.

### ➤ Índice APRI

Está formado por el cociente AST/plaquetas. Se calcula mediante la fórmula:

$$\text{APRI} = [(\text{AST}/\text{LSN})/\text{plaquetas (10}^9/\text{L)}] \times 100$$

LSN: Límite superior de la normalidad (35 UI/L)

Un valor < 0.5 no fibrosis y un valor > 1.5 fibrosis. Entre 0,5-1,5 indeterminado.

### ➤ Índice FORNS

Está formado por la edad, GGT, colesterol y plaquetas y se calcula mediante la fórmula:

$$7.811 - 3.131 \times \ln [\text{plaquetas (10}^9/\text{L)}] + 0.781 \times \ln [\text{GGT (IU/L)}] + 3.467 \times \ln [\text{edad (años)}] - 0.014 \times [\text{colesterol (mg/dl)}].$$

Un valor < 4.21 no fibrosis y > 6.90 fibrosis. Entre 4,21-6.90 indeterminado.

➤ Índice BARD

Incluye las variables: IMC, cociente AST/ALT y la diabetes mellitus.

BARD= IMC > 28 kg/m<sup>2</sup> (1 punto), AST/ALT >0.8 (2 puntos) y diabetes (1 punto).

Puntuación entre 0-1 no fibrosis y entre 2-4 fibrosis.

➤ Índice BAAT

Que incluye: IMC, edad, ALT y triglicéridos.

BAAT= IMC > 28 kg/m<sup>2</sup> (1 punto), edad > 50 años (1 punto), ALT ≥ dos veces el valor normal (1 punto) y triglicéridos > 150 mg/dl (1 punto).

Puntuación entre 0-1 no fibrosis, 2-3 indeterminado y 4 fibrosis.

➤ Índice FIB-4

Este incluye: edad, AST. Plaquetas y ALT. Se calcula según la fórmula:

FIB-4= [edad (años) x AST (IU/L) / plaquetas (10<sup>9</sup>/L x ALT(IU/L)<sup>1/2</sup>]

FIB-4 < 1.45 no fibrosis y FIB-4 > 3.25 fibrosis. Entre 1.45-3.25 indeterminado.

**Tabla 4. Resumen de los diferentes scores y sus componentes**

MARCADORES	COMPONENTES
<b>Diagnósticos de HGNA</b>	
<b>HAIR</b>	HTA, ALT, RI
<b>FLI</b>	IMC, GGT, Triglicéridos, perímetro abdominal
<b>LAP</b>	perímetro abdominal, triglicéridos
<b>Evolutivos de HGNA</b>	
<b>Cociente AST/ALT</b>	AST, ALT
<b>APRI</b>	AST, plaquetas
<b>FORNS</b>	edad, GGT, colesterol, plaquetas
<b>BARD</b>	IMC, AST, ALT, DM 2
<b>BAAT</b>	IMC, edad, ALT, triglicéridos
<b>FIB-4</b>	edad, AST, ALT, plaquetas

## 7. PLAN DE ANÁLISIS

Los datos se presentan en frecuencias y porcentajes cuando se trata de variables categóricas, media y desviación estándar cuando se trata de variables continuas con una distribución aproximadamente simétrica y mediana y rango intercuartílico para variables continuas no simétricas. Se usó la prueba de chi cuadrado para comparar variables categóricas y la t de Student para comparar dos medias, empleando pruebas no paramétricas si la distribución de las variables lo exigía. La concordancia entre los diferentes scores se midió con el índice kappa. Se midió la asociación entre HGNA y cada score mediante modelos de regresión logística univariante. Para el cálculo de la sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo de los distintos scores respecto al HGNA se utilizó esta última como “gold estándar”. Todas las pruebas estadísticas efectuadas se han realizado se han realizado con una significación del 5% y han sido bilaterales. Se usó el paquetes estadístico Stata v11 para el análisis de los datos.



#### **IV. RESULTADOS**

Se incluyeron 702 individuos, 409 mujeres (58%) y 293 hombres (42%). La edad media fue de 53±14 años con un rango de edad de 17 a 83 años. En la tabla 5 se describen detalladamente las características de la muestra.

Tabla 5. Descripción de la muestra

	Hombres		Mujeres		TOTAL		p
	n=293		n=409		n=702		
	n	%	n	%	n	%	
<b>Edad</b> (años) [Media (DE)]	53,0	(14.5)	53,6	(13.7)	53,4	(14.0)	0,572
<b>Hábito tabáquico</b>							<0.001
Nunca fumador	116	39,6%	273	66,7%	389	55,4%	
Ex-fumador	86	29,4%	53	13,0%	139	19,8%	
Fumador	91	31,1%	83	20,3%	174	24,8%	
<b>Obesidad</b>							<0.001
Infrapeso/Normal (IMC<25 Kg/m <sup>2</sup> )	70	23,9%	140	34,2%	210	29,9%	
Sobrepeso (25≥IMC<30 Kg/m <sup>2</sup> )	159	54,3%	153	37,4%	312	44,4%	
Obeso (IMC≥30 Kg/m <sup>2</sup> )	64	21,8%	116	28,4%	180	25,6%	
<b>Perímetro de cintura</b> (cm) [Media (DE)]	94,8	(13.0)	89,1	(14.1)	91,5	(13.9)	<0.001
<b>Presión arterial sistólica</b> (mmHg) [Media (DE)]	131	(13.2)	124	(13.8)	127	(14.1)	<0.001
<b>Presión arterial diastólica</b> (mmHg) [Media (DE)]	81,3	(9.08)	78,2	(9.07)	79,5	(9.20)	<0.001
<b>Glucemia</b> (mg/dl) [Media (DE)]	107	(27.1)	101	(25.0)	104	(26.0)	0,003
<b>c-HDL</b> (mg/dl) [Media (DE)]	49,1	(10.8)	59,2	(14.1)	55	(13.8)	<0.001
<b>Triglicéridos</b> (mg/dl) [Mediana (rango intercuartílico)]	111	(80-147)	92	(72-131)	98	(75-142)	<0.001
<b>Microalbuminuria</b> (mg/g) [Mediana (rango intercuartílico)]	3,0	(2.4-9.0)	3,0	(3.0-6.0)	3,0	(2.7-7.0)	0,666
<b>Resistencia a la insulina</b> (HOMA≥3.8)	40	13,9%	45	11,2%	85	12,2%	0,3
<b>Hígado graso no alcohólico</b> (HGNA)	99	33,8%	85	20,8%	184	26,2%	<0.001

Cumplían criterios ecográficos de HGNA 184 individuos representando una prevalencia de 26,29%.

### 1. ÍNDICES DE FIBROSIS PARA EL DIAGNÓSTICO DEL HGNA

La prevalencia de HGNA para cada uno de los índices FLI, HAIR y LAP fue del 46,8%, 68,1% y 56% respectivamente. Se encontraron diferencias significativas (p<0.001) entre los individuos en relación a si tenían o no HGNA según cada uno de los índices, tal como se muestra en la tabla 6.



Tabla 6. Prevalencia de cada score y relación con HGNA.

Score	HGNA				Total (n=702)		p <sup>c</sup>
	No(n=518)		Sí(n=184)		n	% <sup>b</sup>	
	n	% <sup>a</sup>	n	% <sup>a</sup>	n	% <sup>b</sup>	
<b>FLI</b>							<0.001
<30	253	93,0%	19	7,0%	272	38,7%	
30-60	150	70,1%	64	29,9%	214	30,5%	
≥60	115	53,2%	101	46,8%	216	30,8%	
<b>HAIR</b>							<0.001
0-1	503	76,8%	152	23,2%	655	93,3%	
2-3	15	31,9%	32	68,1%	47	6,7%	
<b>LAP</b>							<0.001
<exp(4 o 4.4) <sup>d</sup>	470	79,3%	123	20,7%	593	84,5%	
≥exp(4 o 4.4)	48	44,0%	61	56,0%	109	15,5%	

<sup>a</sup> Porcentaje de columnas (prevalencia de HGNA para cada valor de los scores).

<sup>b</sup> Porcentaje de filas (prevalencia de cada valor de los scores).

<sup>c</sup> p valor de un test de independencia de chi cuadrado (o exacto de Fisher cuando el número de observaciones esperadas en alguna casilla<5).

<sup>d</sup>logaritmo neperiano(LAP) menor que 4 en hombres o menor que 4.4 en mujeres.

El 93% de los sujetos con un índice FLI inferior a 30 no tenían HGNA y solo un 7% de los sujetos con HGNA tenían un índice FLI inferior a 30. De los pacientes con un FLI indeterminado (entre 30 y 60) el 70% no presentaban HGNA. Estas diferencias fueron significativas (p<0.001).

Respecto al HAIR, el 93% del total de los sujetos tenían un índice HAIR entre 0 y 1 de los que solo un 76,8% no tenían HGNA. Entre los sujetos con HGNA el 82,6% tenían un índice entre 0-1 y el 17,4% tenían un valor entre 2-3. Estas diferencias también fueron significativas (p<0.001).

Respecto al índice LAP, el 84,5% de los sujetos tenían un valor del logaritmo neperiano inferior a 4 en los hombres y de 4,4 en las mujeres, y de ellos el 79,3% no tenían HGNA. En cambio entre los sujetos con HGNA el 66,8% presentan un índice LAP inferior a 4 en hombres y de 4,4 en mujeres, y el

33,2% presentan un índice LAP superior a 4 en hombres y de 4,4 en mujeres (p<0.001).

Dado que el marcador HAIR es específico en las personas con obesidad y en la nuestra muestra hubo un porcentaje muy elevado de personas obesas, se hizo un análisis específico de este marcador y la relación con el diagnóstico de HGNA. El HAIR se calculó según un IMC < 30 y un IMC ≥ 30. En la tabla 7 se muestran los resultados y se puede observar que hubo una relación significativa entre el HAIR y el HGNA, mucho más significativa en el caso de los pacientes con un IMC ≥ 30.

Tabla 7. Prevalencia del score HAIR y relación (HGNA) según obesidad.

Score	HGNA						p <sup>c</sup>
	No(n=518)		Sí(n=184)		Total (n=702)		
	n	% <sup>a</sup>	n	% <sup>a</sup>	n	% <sup>b</sup>	
<b>HAIR (en IMC&lt;30)</b>							0,003
0-1	413	81,8%	92	18,2%	505	96,7%	
2-3	9	52,9%	8	47,1%	17	3,3%	
<b>HAIR (en IMC≥30)</b>							<0.001
0-1	90	60,0%	60	40,0%	150	83,3%	
2-3	6	20,0%	24	80,0%	30	16,7%	

IMC: índice de masa corporal.

El 25,64% de los sujetos era obesos (IMC superior o igual a 30) y de ellos el 71,93% tenían un índice HAIR entre 0 y 1. De los que tenían HGNA y eran obesos el 80% tenían un índice HAIR entre 2 y 3. El 60% de los obesos con HAIR entre 0 y 1 no tenían HGNA, siendo estas diferencias significativas (p<0.003).

Entre los sujetos con IMC<30 y HGNA el 50% tenía un HAIR entre 0 y 1 y el 4,3% entre 2 y 3.

## 2. ÍNDICES DE FIBROSIS PARA LA EVOLUCIÓN DE HEPATOPATIA CRÒNICA

En la tabla 8 se muestran las prevalencias de los diferentes índices de fibrosis para evaluar la evolución de las enfermedades hepáticas. Todos se relacionaron significativamente con HGNA excepto FIB-4.

Tabla 8. Prevalencia de cada score para la evolución de HGNA

HGNA							
Score	No(n=513)		Sí(n=183)		Total (n=696)		p <sup>c</sup>
	n	% <sup>a</sup>	n	% <sup>a</sup>	n	% <sup>b</sup>	
<b>APRI</b>							0,031
=<0,5	495	96,49%	169	92,35%	664	95,40%	
0,5-1,5	17	3,31%	14	7,65%	31	4,45%	
≥1,5	1	0,19%	0	0,0%	1	0,14%	
<b>AST/ALT</b>							<0,001
= <1	249	48,54%	142	77,60%	391	56,18%	
>1	264	51,46%	41	22,40%	305	43,82%	
<b>BAAT</b>							<0,001
0-1	359	69,98%	64	34,97%	423	60,78%	
2-3	154	30,02%	118	64,48%	272	39,08%	
4	0	0,0%	1	0,55%	1	0,14%	
<b>BARD</b>							<0,001
0-1	66	12,87%	55	30,05%	121	17,39%	
2-4	447	87,13%	128	69,95%	575	82,61%	
<b>FIB4</b>							0,895
<1,45	399	77,78%	140	76,50%	539	77,44%	
1,45-3,25	112	21,83%	42	22,95%	154	22,13%	
>3,25	2	0,39%	1	0,55%	3	0,43%	
<b>FORNS</b>							<0,001
<4,21	337	65,69%	64	34,97%	401	57,61%	
4,21-6,90	166	32,36%	112	61,20%	278	39,94%	
>6,90	10	1,95%	7	3,83%	17	2,44%	

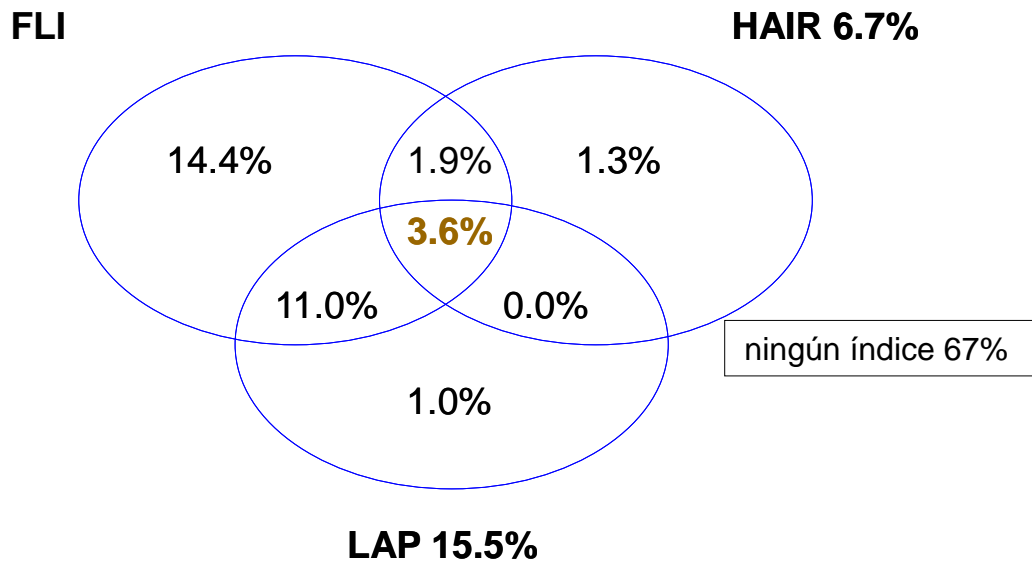
<sup>a</sup> Porcentaje de columnas (prevalencia de HGNA para cada valor de los scores).

<sup>b</sup> Porcentaje de filas (prevalencia de cada valor de los scores).

<sup>c</sup> p valor de un test de independencia de chi cuadrado (o exacto de Fisher cuando el número de observaciones esperadas en alguna casilla<5).

### 3. CONCORDANCIA ENTRE LOS ÍNDICES FLI, HAIR I LAP

Un 3,6% de los individuos presentaban los tres índices positivos, 12,8% tenían dos índices positivos y un 16,7% presentaban un índice positivo tal y como muestra la figura 3. Del total de la muestra un 33% tenían algún índice positivo y un 67% no presentaban ningún marcador, con un índice Kappa para los tres marcadores a la vez de 0,28.



**Figura 3:** Concordancia entre los diferentes índices de fibrosis

La concordancia entre los tres índices osciló entre el 63,1% (HAIR frente a FLI), 76,4% (LAP frente a FLI) y el 84,9% (LAP frente a HAIR), con unos índices kappa que fueron del 0,18, 0,5 y 0,25 respectivamente, tal y como se muestra en la tabla 9.

Tabla 9.

FLI	HAIR				kappa
	0-1		2-3		
	n	%	n	%	
<30	270	99,3%	2	0,7%	<b>0,18</b>
30-60 <sup>a</sup>	207	96,7%	7	3,3%	
≥60	178	82,4%	38	17,6%	
<b>concordancia (%)</b>					<b>63,1%</b>

<sup>a</sup> Está fila está excluida en el cálculo de kappa y de la concordancia.

FLI	LAP				kappa
	<exp(4 o 4.4) <sup>b</sup>		≥exp(4 o 4.4)		
	n	%	n	%	
<30	271	99,6%	1	0,4%	<b>0,50</b>
30-60 <sup>a</sup>	208	97,2%	6	2,8%	
≥60	114	52,8%	102	47,2%	
<b>concordancia (%)</b>					<b>76,4%</b>

<sup>a</sup> Está fila está excluida en el cálculo de kappa y de la concordancia.

<sup>b</sup>logaritmo neperiano(LAP) menor que 4 en hombres o menor que 4.4 en mujeres.

HAIR	LAP				kappa
	<exp(4 o 4.4) <sup>a</sup>		≥exp(4 o 4.4)		
	n	%	n	%	
0-1	571	87,2%	84	12,8%	<b>0,25</b>
2-3	22	46,8%	25	53,2%	
<b>concordancia (%)</b>					<b>84,9%</b>

<sup>a</sup>logaritmo neperiano(LAP) menor que 4 en hombres o menor que 4.4 en mujeres.

#### 4. RELACIÓN ENTRE LOS ÍNDICES FLI, HAIR Y LAP Y EL HGNA SEGÚN EL ANÁLISIS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA.

La prevalencia de los diferentes índices según el análisis univariante de regresión logística con el HGNA como variable dependiente fue del 46,8%, en

el caso de FLI (OR:3,42, IC95%:2,61-4,47) ( $p < 0.001$ ), del 56,0% en el LAP (OR:4,86, IC95%:3,17-7,44) ( $p < 0.001$ ) y 68,1% en el HAIR OR:7,06, IC95%:3,72-13,38) ( $p < 0.001$ ), tal y como se puede observar en Tabla 10.

Tabla 10. Odds ratio (OR) de tener HGNA para cada score.

Score	HGNA				$p^a$	OR <sup>b</sup>	IC95% <sup>b</sup>		$p^b$
	Sí		No						
<b>FLI</b>	n	%	n	%	<0.001	3,42	2,61	4,47	<0.001
<30	19	7,0%	253	93,0%					
≥60	101	46,8%	115	53,2%					
<b>HAIR</b>	n	%	n	%	<0.001	7,06	3,72	13,38	<0.001
0-1	152	23,2%	503	76,8%					
2-3	32	68,1%	15	31,9%					
<b>LAP</b>	n	%	n	%	<0.001	4,86	3,17	7,44	<0.001
<exp(4 o 4.4) <sup>d</sup>	123	20,7%	470	79,3%					
≥exp(4 o 4.4)	61	56,0%	48	44,0%					

<sup>a</sup> p-valor de un test de chi cuadrado.

<sup>b</sup> Odds ratio (OR), su intervalo de confianza al 95% (IC95%) y p-valor de un modelo univariado de regresión logística con HGNA como variable dependiente.

<sup>d</sup> logaritmo neperiano(LAP) menor que 4 en hombres o menor que 4.4 en mujeres.

##### 5. SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VALOR PREDICTIVO POSITIVO (VPP) Y VALOR PREDICTIVO NEGATIVO (VPN) DE LOS INDICES FLI, HAIR Y LAP PARA EL DIAGNÓSTICO DE HGNA.

Se estudió la sensibilidad, especificidad, VPP y VPN de los índices FLI, HAIR y LAP en el HGNA. El índice con mayor sensibilidad fue el FLI  $\geq 60$  con un 84%, mientras que los otros dos presentaron menor sensibilidad, 17% HAIR 2-3 y 33% LAP  $\geq 4$  en hombres y 4,4 en mujeres. La especificidad fue del 69% según el FLI  $< 30$ , del 97% con un valor del HAIR 0-1 y del 91% del LAP  $< 4$  en hombres y  $< 4,4$  en mujeres. Los VPP fueron del 47% FLI, 68% HAIR y 56% LAP. Los VPN fueron del 93% del FLI, 77% HAIR i 79% LAP. Los resultados se muestran en la tabla 11.

**Tabla 11. Sensibilidad, especificidad y valores predictivos de FLI, HAIR Y LAP respecto a HGNA.**

	S <sup>c</sup>	E <sup>c</sup>	VPP <sup>c</sup>	VPN <sup>c</sup>
<b>FLI</b> <30 ≥60	84%	69%	47%	93%
<b>HAIR</b> 0-1 2-3	17%	97%	68%	77%
<b>LAP</b> <exp(4 o 4.4) <sup>d</sup> ≥exp(4 o 4.4)	33%	91%	56%	79%

<sup>c</sup> Para el cálculo de la sensibilidad (S), especificidad (E) y valores predictivos positivo (VPP) y negativos (VPN) se usa HGNA como gold standard.

<sup>d</sup> logaritmo neperiano(LAP) menor que 4 en hombres o menor que 4.4 en mujeres.



## V. DISCUSIÓN



El HGNA es una entidad muy prevalente en los países occidentales y va en aumento en los países más orientales como consecuencia del aumento de la obesidad y de los cambios de hábitos en estas sociedades. Actualmente se considera la enfermedad hepática crónica más prevalente, por lo que existe un interés creciente en su detección precoz y en la detención de la evolución a fases más avanzadas. Dado que el diagnóstico hasta ahora se establece mediante biopsia y con la idea de desarrollar métodos no invasivos para el diagnóstico y control evolutivo de la enfermedad hepática, diferentes autores han propuesto una serie de marcadores serológicos, o una combinación de estos con esta finalidad. Actualmente hay índices directos que utilizan marcadores que miden la fibrosis hepática y que requieren de determinaciones complejas que solo están al alcance de centros especializados y otros llamados indirectos que pueden ser utilizados de manera más sencilla. También se utilizan pruebas de imagen, entre ellas la ecografía más universalmente implantada y utilizada, pero últimamente el uso de la elastografía transitoria, como ya se ha comentado, va adquiriendo cada vez más interés entre los investigadores para valorar el grado de fibrosis hepática y ver su evolución. El objetivo de desarrollar todos estos métodos es facilitar la práctica diaria del clínico y ahorrar de forma repetida biopsias hepáticas en los enfermos.

En este trabajo se intentó valorar si los índices descritos y diseñados hasta ahora para valorar el grado de fibrosis hepática, inicialmente en la hepatopatía crónica por el virus de la hepatitis C, podían servir para hacer el diagnóstico del HGNA. Algunos de estos índices no se han podido analizar, bien por falta de algún parámetro en la muestra de estudio o por la imposibilidad de hacer su determinación fuera del ámbito hospitalario.

En concreto, para realizar el diagnóstico de HGNA se encontraron tres índices: HAIR, FLI y LAP. El índice HAIR fue descrito en población obesa por Dixon (45), el índice FLI por Bedogni (115) y el LAP descrito inicialmente por Kahn como índice de riesgo cardiovascular y posteriormente por el grupo de Bedogni (117), en la misma población donde se estudió FLI, como marcador para diagnosticar el HGNA. Ni en la literatura científica ni en nuestro país hemos encontrado ningún estudio de base poblacional para estudiar la utilidad de estos índices. En el presente trabajo se ha observado una relación entre los índices analizados y el HGNA, en especial con los marcadores específicos de diagnóstico HAIR, FLI y LAP.

En la línea propuesta, recientemente se han publicado los resultados de un estudio donde se evalúa la utilidad de los índices de fibrosis para descartar la presencia de fibrosis en pacientes con HGNA (151). Se estudiaron 145 pacientes diagnosticados de HGNA mediante la práctica de una biopsia hepática y se determinó los índices cociente AST/ALT, APRI, BARD, FIB-4 y el NAFLD fibrosis score. Las conclusiones a las que llegaron estos autores fueron que estos índices podían excluir de forma fiable la presencia de fibrosis en pacientes con HGNA y que su uso podía evitar la realización de biopsia hepática en más de dos terceras partes de los pacientes. Dados estos resultados es necesario encontrar índices fáciles de utilizar y que sirvan tanto para el diagnóstico como para excluir la presencia de fibrosis y que sea útil al clínico para seleccionar los casos a derivar a la medicina especializada.

El índice HAIR sirve para ver qué enfermos con HGNA, especialmente con obesidad pueden desarrollar una esteatohepatitis no alcohólica. Unos valores

superiores a 2 pueden indicar la presencia de esteatohepatitis. En este estudio se quiso observar la prevalencia y relación entre este marcador y la presencia de HGNA. Tal como indican los resultados la prevalencia fue del 68,08% con una relación OR:7,06 (IC95%:3,72-13,38). Cuando se separaron los pacientes en función del IMC inferior o superior a 30, la prevalencia de este marcador continuó siendo alta, especialmente en el grupo con IMC mayor a 30, manteniendo su significación en ambos grupos. Esta buena relación puede ser debida al elevado porcentaje de individuos que había tanto con obesidad como con sobrepeso en nuestra serie.

El FLI es un algoritmo diseñado por el grupo de Bedogni (115) para dar una herramienta de utilidad para diagnosticar a los pacientes con HGNA. Este índice incluye el IMC, el perímetro abdominal, los triglicéridos y la GGT, con unos valores que van de 0 a 100. Un FLI inferior a 30 excluye la presencia de HGNA y un valor superior o igual a 60 indica la presencia de HGNA. En el modelo final no fueron factores independientes ni la edad, ni el sexo ni el consumo de alcohol. El hecho de que el consumo de alcohol no se asociase a la presencia de esteatosis junto con el hecho de que el IMC y el perímetro abdominal se asocien de forma clara con la esteatosis da pie a la hipótesis de que la obesidad es la principal responsable de la actual epidemia de esteatosis hepática (5,7,19). La insulina fue un factor de riesgo independiente, siendo el segundo más importante después del IMC y por tanto se puede afirmar que la insulina es un factor de riesgo independiente de esteatosis en la población general (152). Curiosamente el perímetro abdominal no era un factor predictivo cuando en el mismo modelo se incluía la insulina, aunque al final fue un factor fuertemente asociado a la esteatosis. Este hecho es difícil de entender porque

ya es conocida la asociación entre el perímetro abdominal y la RI, pero se observó que en este estudio el IMC se relaciona de manera similar a la RI (153,154). Tanto la GGT como los triglicéridos fueron factores independientes tal y como se había confirmado en estudios previos (155). Los autores concluyen que este índice puede ser útil para seleccionar a los pacientes a quienes se les ha de practicar una ecografía abdominal, se les ha de recomendar cambios en el estilo de vida para detener la enfermedad o que regrese y que podría ser útil a la hora de diseñar estudios poblacionales, necesarios por otro lado para validar este índice.

En el presente estudio, este índice diagnosticó de forma significativa a los sujetos con HGNA en casi la mitad de los que fueron estudiados, de manera que la prevalencia fue del 46,8 % (OR:3,42, IC95%:2,61-4,47). La importancia de su utilidad, a parte de su eficacia es la presencia de unos factores fácilmente aplicables a todos los niveles y puede ser una herramienta útil en el futuro.

Más recientemente el grupo de Bedogni en la misma serie de enfermos han estudiado un nuevo índice para diagnosticar el HGNA. Este se llama LAP (117) que inicialmente fue descrito por Kahn (116) como un marcador de riesgo cardiovascular. Cada vez hay más evidencias de la relación entre el HGNA y la enfermedad cardiovascular. El motivo de esta asociación no es del todo conocido, si bien se especulan algunas hipótesis. En primer lugar, si esta asociación es consecuencia de compartir diversos factores de riesgo cardiovascular o bien el HGNA contribuye a la presencia de la enfermedad cardiovascular independientemente de estos factores de riesgo. En segundo

lugar si el riesgo cardiovascular aumenta por el hecho de tener HGNA o si es necesaria la presencia de cambios inflamatorios como la esteatohepatitis como paso necesario para estimular la ateromatosis (156). De todas maneras la estrecha correlación entre el HGNA, la obesidad abdominal y la RI hace difícil precisar la relación causal entre el HGNA y la enfermedad cardiovascular. En este contexto el estudio RISC (157) evalúa la asociación entre el HGNA, la RI, la enfermedad cardíaca coronaria y la presencia inicial de arteriosclerosis en un estudio multicéntrico formado por 1307 sujetos procedentes de 19 centros europeos libres de presentar comorbilidades como la diabetes, hipertensión arterial y enfermedad cardiovascular. El diagnóstico de HGNA fue mediante FLI superior o igual a 60 y además estos valores altos se relacionaron con un incremento del riesgo cardiovascular, de la RI y de la presencia de arteriosclerosis mediante la determinación del grosor de la capa íntima de la carótida. Más recientemente el FLI también ha demostrado ser un predictor de incidencia de diabetes en un seguimiento de 9 años en el estudio Francés llamado the French Data from an Epidemiological Study on the Insulin Resistance Syndrome Study (D.E.S.I.R.) (158).

El índice LAP incluye el perímetro abdominal y la determinación de triglicéridos y comparte estos dos parámetros con el índice FLI. El estudio llevado a cabo por Kanh en el 2005 demostró que este índice era superior al IMC en detectar algunos factores de riesgo cardiovascular y la diabetes (116, 159). El índice LAP predice todas las causas de mortalidad (160) y actualmente está siendo evaluado por su capacidad de predecir la incidencia de enfermedades cardiovasculares.

El grupo de Bedogni encontró que el índice LAP (117) diagnosticaba bien los pacientes con esteatosis hepática y que este índice mejoraba cuando se incluía el sexo de manera que para un mismo valor los hombres tenían una probabilidad de padecer estosis más severa. En el presente estudio la tendencia fue al revés.

La asociación entre LAP, esteatosis hepática y enfermedad cardiovascular (116,159) puede ser parcialmente explicada por presentar un mecanismo fisiopatológico común. El perímetro abdominal, además de ser un factor de riesgo cardiovascular reconocido (161), es un parámetro que mide la grasa visceral que es la forma más abundante de grasa ectópica y que se piensa que juega un papel relevante en la RI y la lipotoxicidad (162,163). Así numerosos estudios confirman que la obesidad potencia la mayor parte de FRCV (164-165) y es un factor de riesgo independiente de complicaciones cardiovasculares (164,166). El tejido adiposo, a través de la síntesis de hormonas e interleucinas que conllevan a un aumento del estrés oxidativo, es capaz de producir una disfunción endotelial, activar factores pro-inflamatorios y aumentar la actividad simpática, favoreciendo así la formación de lesiones ateroscleróticas. La existencia del eje hígado-vaso sanguíneo ha sido recientemente hipotizado para explicar la asociación entre el HGNA y la enfermedad cardiovascular (167) y recientes publicaciones sugieren que la esteatosis puede ser uno de los mejores parámetros asociados con el riesgo cardiometabólico (168,169). Por otro lado, también a nivel renal, la disfunción endotelial conduce a un aumento primario de las resistencias vasculares periféricas provocando la disfunción renal que clínicamente se traduce en la presencia de algún grado de albuminuria (sea macro o micro) o disminución del

filtrado glomerular (164). También el SM es un factor de riesgo independiente para la presencia de disfunción renal (164). La enfermedad renal crónica (ERC) y la microalbuminuria se relacionan con un mayor número de componentes de SM presentes. Al igual que en el HGNA, existe una relación clara entre ERC y SM para la arteriosclerosis subclínica y además este efecto es sinérgico (170). La RI, por tanto, es el defecto metabólico asociado a las tres entidades y al igual que en el HGNA, la edad, DM 2 y la obesidad son los factores más importantes relacionados con la ERC. La asociación entre la ERC y el HGNA ha ganado más atención recientemente dado que ambas condiciones comparten similares factores de riesgo cardiometabólicos y tienen mecanismos patogénicos comunes (171,172,173,174), pero es necesario seguir investigando para aclarar si la asociación entre ERC y HGNA se debe simplemente a factores de riesgo compartidos, o si el HGNA, por sí mismo, influye en el desarrollo de ERC través de varios procesos, incluyendo la liberación hepática de mediadores inflamatorios aumentando el estrés oxidativo, hipercoagulabilidad y dislipemia aterogénica causada por el HGNA y su asociación con la resistencia a la insulina (175).

Los triglicéridos están elevados en presencia de RI y de dislipemia y están reconocidos también como un factor de riesgo cardiovascular (176). El índice LAP puede ser de valor por tanto para el reconocimiento de los pacientes propensos a tener RI junto con el depósito de grasa ectópica en los tejidos no hepáticos.

En el presente estudio el LAP fue un índice útil para el diagnóstico del HGNA. Así su prevalencia fue del 56% siendo su relación con el HGNA significativa (OR: 4,86, IC95%:3,17-7,44). Al igual que en el caso del FLI su utilidad recae

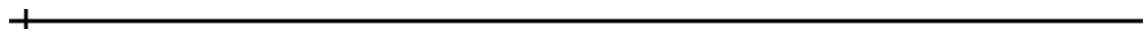
en que son marcadores muy sencillos de utilizar y su determinación también puede ayudar a diagnosticar el HGNA sin necesidad de hacer ecografías.

Se analizaron el grado de concordancia entre los diferentes marcadores y la mejor de ellas fue entre FLI y LAP como era de esperar con un porcentaje del 76,4% y un índice Kappa de 0,50.

Se estudió la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo. En el caso del FLI los valores fueron del 84, 69, 47 i 93% respectivamente. En caso de confirmarse estos resultados (VPN alto i VPP moderado) puede ser un buen método para el diagnóstico del HGNA. En cambio los otros dos índices tenían menor sensibilidad, mayor especificidad con unos menores VPN y unos valores algo más altos del VPP, muestran que pueden ser unos buenos índices aunque no tan importantes como en el caso del FLI.

Por tanto y según los resultados FLI es un excelente índice para el diagnóstico de los enfermos con HGNA y la importancia de realizar este diagnóstico, lo más precoz posible, está en el papel que juega el HGNA como factor de riesgo cardiovascular. Su sencillez en los parámetros clínicos y analíticos que utiliza está al alcance de todos los facultativos. Esto puede abrir las puertas a futuros índices que vayan en la misma dirección.





## **VI. RESUMEN Y CONCLUSIONES**

1. El HGNA es una entidad muy prevalente en los países occidentales y va en aumento en los países más orientales.
2. Actualmente se considera la enfermedad hepática crónica más prevalente, por lo que existe un interés creciente en su detección precoz.
3. El "gold estándar para su diagnóstico es la biopsia hepática, pero debido a sus limitaciones se están ensayando otros métodos como los marcadores serológicos.
4. Los índices FLI, HAIR y LAP se han mostrado como marcadores independientes para el diagnóstico de HGNA, aunque todos excepto FIB-4 se relacionan con HGNA.
5. La falta de concordancia entre los diferentes índices, provoca la obtención de diferentes prevalencias según el método utilizado. Es necesario unificar criterios para obtener un índice útil para el diagnóstico en un sector amplio de la población.
6. La obesidad, el SM y la resistencia a la insulina son entidades asociadas de manera independiente al HGNA, así como la edad y el sexo masculino.
7. Después de consultar la literatura actual y demostrada la relación entre el HGNA y la enfermedad cardiovascular por un lado y la ERC y la enfermedad cardiovascular por otro, deja abierta la hipótesis de la posible conexión entre ambas entidades (ERC y HGNA) que ha de dar lugar a futuras líneas de investigación.



## VII. BIBLIOGRAFIA

1. Ludwig J, Viggiano TR, McGuill DB, Ott BGJ. Nonalcoholic steatohepatitis. Mayo Clinic experiences with a hithertounnamed disease. *Mayo Clinic Proc.* 1980;55:434-438.
2. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology.* 1994;107:1103-1109.
3. Caballeria LI, Toran P, Auladell M.A, Pera G. Esteatosis hepática no alcohólica. *Aten Primaria.* 2008;40:419-24.
4. Bellentani S, Tiribelli C, Saccoccio G, Sodde M, Fratti N, De Martin C, et al. Prevalence and chronic liver disease in the general population of northern Italy: the Dionysos study. *Hepatology.* 1994;20:1442-1449.
5. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology.* 1999;116:1413-1419.
6. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD single topic conference. *Hepatology.* 2003;37:1202-1219.
7. Wong VW, Wong GL, Choi PC, Chan AW, Li MK, Chan H, et al. Disease progression of nonalcoholic fatty liver disease: a prospective study with paired liver biopsies at 3 years. *Gut.* 2010;59:969-974.
8. Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: The Dionysos Nutrition and Liver Study. *Hepatology.* 2005;42:44-52.
9. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. *Am J Gastroenterol.* 2003;98:960-967.
10. Lazo M, Clark JM. The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease: a global perspective. *Semin Liver Dis.* 2008;28:339-350.
11. Adams LA, Lindor KD. Nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Epidemiol.* 2007;17:863-869.
12. Ong JP, Younossi ZM. Epidemiology and natural history of NAFLD and NASH. *Clin Liver Dis.* 2007;11:1-16.
13. Angulo P. GI epidemiology: nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007;25:883-889.
14. Nomura H, Kashiwagi NS, Hayashi J, Kajiyama W, Tani S, Goto M. Prevalence of fatty liver in a general population of Okinawa, Japan. *Jpn J Med.* 1988;27:521-528.

15. El-Hassan AY, Ibrahim EM, al-Mulhim FA, Nabhan AA, Chammas MY. Fatty infiltration of the liver: analysis of prevalence, radiological and clinical features and influence on patient management. *Br J Radiol.* 1992;65:774-778.
16. Tominaga K, Kurata JH, Chen YK, Fujimoto E, Miyagawa S, Abe I, Kusano Y. Prevalence of fatty liver in Japanese children and relationship to obesity. An epidemiological ultrasonographic survey. *Dig Dis Sci.* 1995;40:2002-2009.
17. Franzese A, Vajro P, Argenziano A, Puzziello A, Lannucci MP, Saviano MC, et al. Liver involvement in obese children. Ultrasonography and liver enzyme levels at diagnosis and during follow-up in an Italian population. *Dig Dis Sci.* 1997;42:1428-1432.
18. Lonardo A, Bellini M, Tartoni P, Tondelli E. The bright liver syndrome. Prevalence and determinants of a "bright" liver echopattern. *Ital J Gastroenterol Hepatol.* 1997;29:351-356.
19. Bellentani S, Saccoccio G, Masutti F, Crocè LS, Brandi G, Sasso F, et al. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Ann Intern Med.* 2000;132:112-117.
20. Omagari K, Kadokawa Y, Masuda JL, Egawa I, Sawa T, Hazama H, et al. Fatty liver in non-alcoholic non-overweight Japanese adults: incidence and clinical characteristics. *J Gastroenterol Hepatol.* 2002;17:1098-1105.
21. Fan JG, Zhu J, Li XJ, Chen L, Li L, Dai F, et al. Prevalence of and risk factors for fatty liver in a general population of Shanghai, China. *J Hepatol.* 2005;43:508-514.
22. Chen CH, Huang MH, Yang JC, Nien CK, Yang CC, Yeh YH, Yueh SK. Prevalence and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population of Taiwan: metabolic significance of nonalcoholic fatty liver disease in nonobese adults. *J Clin Gastroenterol.* 2006; 40:745-752.
23. Zelber-Sagi S, Nitzan-Kaluski D, Halpern Z, Oren R. Prevalence of primary non-alcoholic fatty liver disease in a population-based study and its association with biochemical and anthropometric measures. *Liver Int.* 2006; 26:856-863.
24. Jimba S, Nakagami T, Takahashi M, Wakamatsu T, Hirota Y, Iwamoto Y, Wasada T. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with impaired glucose metabolism in Japanese adults. *Diabet Med.* 2005;22:1141-1145.
25. Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, Nakagawa T, Taniguchi H, Fujii K, et al. The metabolic syndrome as a predictor of non-alcoholic fatty liver disease. *Ann Int Med.* 2005;143:722-728.
26. Park SH, Jeong WK, Kim SH, Kim HJ, Park DI, Cho YK, et al. Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease among Korean adults. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006;21:138-143.

27. Radu C, Grigorescu M, Crisan D, Lupsor M, Constantin D, Dina L. Prevalence and associated risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in hospitalized patients. *J Gastrointest Liver Dis.* 2008; 17:255–260.
28. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: Impact of ethnicity. *Hepatology.* 2004; 40:1387–1395.
29. Patt CH, Yoo HY, Dibadj K, Flynn J, Thuluvath PJ. Prevalence of transaminase abnormalities in asymptomatic, healthy subjects participating in an executive health-screening program. *Dig Dis Sci.* 2003;48:797-801.
30. Ruhl CE, Everhart JE. Determinants of the association of overweight with elevated serum alaninaminotransferase activity in the United States. *Gastroenterology.* 2003;124:71-79.
31. Hultcrantz R, Glaumann H, Lindberg G and Nilsson LH. Liver investigation in 149 asymptomatic patients with moderately elevated activities of serum aminotransferases. *Scand J Gastroenterol.* 1986;21:109-113.
32. Lee RG. Nonalcoholic steatohepatitis: a study of 49 patients. *Hum Pathol.* 1989;20:594-598.
33. Nonomura A, Mizukami Y, Unoura M, Kobayashi K, Takeda Y, Takeda R. Clinicopathologic study of alcohol-like liver disease in non-alcoholic steatohepatitis and fibrosis. *Gastroenterol Jpn.* 1992;27:521-528.
34. Byron D, Minuk GY. Clinical hepatology: profile of an urban, hospital-based practice. *Hepatology.* 1996;24:813-815.
35. Daniel S, Ben-Menachem T, Vasudevan G, Ma CK, Blumenkehl M. Prospective evaluation of unexplained chronic liver transaminase abnormalities in asymptomatic and symptomatic patients. *Am J Gastroenterol* 1999;94:3010-3014.
36. Berasain C, Betes M, Panizo A, Ruiz J, Herrero JL, Civeira MP, Prieto J. Pathological and virological findings in patients with persistent hypertransaminasaemia of unknown aetiology. *Gut.* 2000;47:429-435.
37. Lee JY, Kim KM, Lee SG, Yu E, Lim YS, Lee HC, et al. Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in potential living liver donors in Korea: A review of 589 consecutive liver biopsies in a single center. *J Hepatol.* 2007;47:239-244.
38. A De Lusong MA, Labio E, Daez L, Gloria V. Non-alcoholic fatty liver disease in the Philippines: Comparable with other nations? *World J Gastroenterol.* 2008;14:913-917.

39. Hilden M, Christoffersen P, Juhl E, Dalgaard JB. Liver histology in a "normal" population examinations of 503 consecutive fatal traffic casualties. *Scand J Gastroenterol.* 1977;12:593-597.
40. Ground KE. Liver pathology in aircrew. *Aviat Space Environ Med.* 1982;53:14-18.
41. Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology.* 1990;12:1106-1110.
42. Schwimmer J, Deutsch R, Kahen T, Lavine JE, Stanley C, Behling C. Prevalence of fatty liver in children and adolescents. *Pediatrics.* 2006;118:1388.
43. Luyck FH, Desai C, Thiry A, Dewé W, Scheen AJ, Gielen JE, Lefèbvre PJ. Liver abnormalities in severely obese subjects: effect of drastic weight loss after gastroplasty. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1998;22:222-226.
44. Silverman JF, O'Brien KF, Long S, Leggett N, Khazanie PG, Pories WJ, et al. Liver pathology in morbidly obese patients with and without diabetes. *Am J Gastroenterol.* 1990;85:1349-1355.
45. Dixon JB, Bhathal PS, O'Brian PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology.* 2001;121:91-100.
46. Beymer C, Kowdley KV, Larson A, Edmonson P, Dellinger EP, Flum DR. Prevalence and predictors of asymptomatic liver disease in patients undergoing gastric bypass surgery. *Arch Surg.* 2003;138:1240-1244.
47. Spaulding L, Trainer T, Janiec D. Prevalence of non-alcoholic steatohepatitis in morbidly obese subjects undergoing gastric bypass. *Obes Surg.* 2003;13:347-349.
48. Mathurin P, Gonzalez F, Kerdraon O, Leteurtre E, Arnalsteen L, Hollebecque A, et al. The evolution of severe steatosis after bariatric surgery is related to insulin resistance. *Gastroenterology.* 2006;130:1617-1624.
49. Caballería L, Pera G, Auladell MA, Torán P, Muñoz L, Miranda D, et al. Prevalence and factors associated with the presence of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population in Spain. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology.* 2010;22:24-32
50. Marchesini G, Moscatiello S, Di Domizio S, Forlani G. Obesity-associated liver disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:suppl 1: S74-80.
51. Rector RS, Thyfault JP, Wei Y, Ybdah JA. Non-alcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome: An update. *World J Gastroenterol.* 2008;14:185-192.

52. Bellentani S. Epidemiology and natural history of non-alcoholic liver disease (NAFLD). *Annals of Hepatology*. 2009; 8(1);S4-S8.
53. Baumeister SE, Völzke H, Marschall P, John U, Schmidt CO, Flessa S, et al. Impact of fatty liver disease on health care utilization and costs in a general population: a 5-year observation. *Gastroenterology*. 2008;134:85 – 94.
54. Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, Andreoletti M, Colli A, Vanni E, et al. Risk of severe liver disease with in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: a role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology*. 2008;48:792-798.
55. Caballería J, Rodés J. Esteatohepatitis no alcohólica. *Med Clin (Barc)*. 2003;120:670-675.
56. Pagano C, Pacini G, Musso G, Gambino R, Mecca F, Depetris, et al. Non-alcoholic steatohepatitis, insulin resistance and metabolic syndrome. Further evidence for an etiologic association. *Hepatology*. 2002;35:367-372.
57. Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and non-alcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic and clinical implication. *Hepatology*. 2010;51:679-689.
58. Targher G, Chonchol M, Zoppini G, Abaterusso C, Bonora E. Risk of chronic kidney disease in patients with non-alcoholic fatty liver disease: Is there a link? *Journal of Hepatology*. 2011;54:1020–1029.
59. Bhatia L, Curzen N, Calder P, Byrne C. Non-alcoholic fatty liver disease: a new and important cardiovascular risk factor? *European Heart Journal*. 2012;33:1190–1200.
60. Day CP, James OFW. Steatohepatitis: a tale of two “hits”? *Gastroenterology*. 1998;114:842-844.
61. Jou J, Choi SS, Diehl AM. Mechanisms of disease progression in nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis*. 2008;28:370-379.
62. Bugianessi E, McCullough A, Marchesini G. Insuline resistance: A metabolic pathway to chronic liver disease. *Hepatology*. 2005;42:987-1000.
63. Almeda P, Cuevas D, Aguilar CA. Metabolic Syndrome and non alcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatology*. 2009;8:suppl s18-s24
64. Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *N Engl J Med*. 2000;342:1266-1271.
65. Torres DM, Harrison SA. Diagnosis and therapy of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2008;134:1682-1698.



66. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Desuing and validation of a histologic scoring system for NAFLD. *Hepatology*. 2005;41:1313-1321.
67. Brunt EM, Janney CG, DiBisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*. 1999;94:2467-2474.
68. Dasarathy S, Dasarathy J, Khyami A, Joseph R, Lopez R, McCullough AJ. Validity of real time ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis: a prospective study. *J Hepatol*. 2009;51:1061-1067.
69. Jacobs JE, Birbaum BA, Shapiro MA, Langlotz CP, Slosman F, Rubesin SE, Horii SC. Diagnostic criteria for fatty infiltration of the liver on contrast-enhanced helical CT. *AJR Am J Roentgenol*. 1998;171:659-664.
70. Oliva MR, Mortelet KJ, Segatto E, Glickman JN, Erturk SM, Ros PR, Silverman SG. Computed tomography features of nonalcoholic steatohepatitis with histopathologic correlations. *J Comput Assist Tomogr*. 2006;30:37-43.
71. Mehta SR, Thomas EL, Bell JD, Johnston DG, Taylor-Robinson SD. Non-invasive means of measuring hepatic fat content. *World J Gastroenterol*. 2008;14:3476-3483.
72. McCullough AJ. Natural history of nonalcoholic steatohepatitis. En: Arroyo V, Forns X, García-Pagán JC, editors. *Progress in the treatment of liver diseases*. Barcelona: Ars Medica;2003. p. 219-225.
73. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 1999;30:1356-1362.
74. García-Monzón C, Martín-Pérez E, Lo Iacono O, Fernández-Bermejo M, Majano PL, Apolinario A, et al. Characterization of pathogenic and prognostic factors of nonalcoholic steatohepatitis associated with obesity. *J Hepatol*. 2000;33:716-724.
75. Shimada M, Hashimoto E, Kaneda H, Noguchi S, Hayashi N. Nonalcoholic steatohepatitis: risk factors for liver fibrosis. *Hepatol Res*. 2002;24:429-438.
76. Marceau P, Biron S, Hould FS, Marceau S, Simard S, Thung SN, et al. Liver pathology and the metabolic syndrome X in severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:1513-1517.
77. Angulo P, Alba LM, Petrovic LM, Adams LA, Lindor KD, Jensen MD. Leptin, insulin resistance, and liver fibrosis in human NAFLD. *J Hepatol*. 2004;41:943-949.
78. Ratziu V, Giral P, Charlotte F, Bruckert E, Thibault V, Theodorou I, et al. Liver fibrosis in overweight patients. *Gastroenterology*. 2000;118:1117-1123.

79. Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology*. 1990;12:1106-1110.
80. Palmeri ML, Wang MH, Rouze NC, Abdelmalek MF, Guy CD, Moser B, et al. Noninvasive evaluation of hepatic fibrosis using acoustic radiation force-based shear stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2011;55:666-72.
81. Rizzo L, Calvaruso V, Cacopardo B, Alessi N, Attanasio M, Petta S, et al. Comparison of Transient Elastography and Acoustic Radiation Force Impulse for Non-Invasive Staging of Liver Fibrosis in Patients With Chronic Hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 2011;106:2112-20.
82. Rouviere O, Yin M, Dresner MA, Rossman PJ, Burgart LJ, Fidler JL, Ehman RL. MR elastography of the liver: preliminary results. *Radiology*. 2006;240:440-8.
83. Huwart L, Sempoux C, Salameh N, Jamart J, Annet L, Sinkus R, et al. Liver fibrosis: noninvasive assessment with MR elastography versus aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index. *Radiology*. 2007;245:458-66.
84. Chen J, Talwalkar JA, Yin M, Glaser KJ, Sanderson SO, Ehman RL. Early detection of nonalcoholic steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease by using MR elastography. *Radiology*. 2011;259:749-56.
85. Martinez SM, Fernández-Varo G, González P, Sampson E, Bruguera M, Navasa M, et al. Assessment of liver fibrosis before and after antiviral therapy by different serum marker panel in patients with chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;33:138-48.
86. Poynard T, Ngo Y, Munteanu M, Thabut D, Ratziu V. Noninvasive Markers of Hepatic Fibrosis in Chronic Hepatitis B. *Curr Hepat Rep*. 2011;10:87-97.
87. Dowman JK, Tomlinson JW, Newsome PN. Systematic review: the diagnosis and staging of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;33:525-40.
88. Williams, AL, Hoofnagle JH. Ratio of serum aspartate to alanineaminotransferase in chronic hepatitis. Relationship to cirrhosis. *Gastroenterology*. 1988;95:734-739.
89. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet*. 2001;357:1069-1075.
90. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalffleish JD, Martero JA, Conjeevaram HS, et al. A simple non-invasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38:518-526.

91. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, Aponte J, Quinto L, Martinez-Bauer E, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology*. 2002;36:986-992.
92. Calvez S, Thabut D, Messous D, Munteanu M, Ratziu V, Imbert-Bismut F, et al. The predictive value of FibroTest vs APRI for the diagnosis of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2004;39:862-863.
93. Kawaguchi T, Yoshida T, Harada M, Hisamoto T, Nagao Y, Ide T et al. Hepatitis C virus down-regulates insulin receptor substrates 1 and 2 through up-regulation of suppressor of cytokine signaling 3. *Am J Pathol*. 2004;165:1499-1508.
94. Sud A, Hui JM, Farrell GC, Bandara P, Kench JG, Fung C, et al. Improved prediction of fibrosis in chronic hepatitis using measures of insulin resistance in a probability index. *Hepatology*. 2004;39:1239-1247.
95. Kelleher TB, Afdhal N. Assessment of fibrosis in clinical practice. In: Update in treatment of liver disease. In: Arroyo V, Navasa M, Forns X, Bataller R, Sánchez-Fueyo A, Rodés J, editors. Barcelona: Grupo Ars XXI de Comunicación; 2005. p 463-474.
96. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2002;346:1221-1231.
97. Sanyal AJ. AGA technical review on nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002;123:1705-1725.
98. Younossi ZM, Gramlich T, Matteoni CA, Boparai N, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004;2:262-265.
99. Willner JR, Waters B, Patil SR, Reuben A, Morelli J, Riely CA. Ninety patients with nonalcoholic steatohepatitis: insulin resistance, familial tendency and severity of disease. *Am J Gastroenterol*. 2001;96:2957-2961.
100. Harrison SA, Hiyashi P. Clinical factors associated with fibrosis in 102 patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2002;36:412A.
101. Chitturi S, Weltman M, Farrell GC, McDonald D, Kench J, Liddle C, et al. HFE mutations, hepatic iron, and fibrosis: ethnic-specific association of NASH with C282Y but not with fibrotic severity. *Hepatology*. 2002;36:142-149.
102. Harrison SA, Torgerson S, Hayashi PH. The natural history of non-alcoholic fatty liver disease: a clinical histopathological study. *Am J Gastroenterol*. 2003;98:2042-2047.
103. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. *Am J Gastroenterol*. 2003;98:960-967.

104. Bugianesi E, Manzini P, D'Antico S, Vanni E, Longo F, Leone N et al. Relative contribution of iron burden, HFE mutations, and insulin resistance to fibrosis in nonalcoholic fatty liver. *Hepatology*. 2004;39:179-187.
105. Pérez-Aguilar F, Benlloch S, Berenguer M. Estudio de pacientes remitidos por elevación de la ferritina y/o saturación de la transferrina: importancia del hígado graso no alcohólico. *Gastroenterol Hepatol*. 2004;27:508-514.
106. George DK, Goldwurm S, MacDonald GA, Cowley LL, Walker NI, Ward PJ, et al. Increased hepatic iron concentration in nonalcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis. *Gastroenterology*. 1998;114:311-318.
107. Bonkovsky HL, Jawaid Q, Tortorelli K, LeClair P, Cobb J, Lambrecht RW, et al. Non-alcoholic steatohepatitis and iron: increased prevalence of mutations of the HFE gene in nonalcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*. 1999;31:421-429.
108. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, et al. for European Liver Fibrosis Group. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology*. 2004;127:1704-1713.
109. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, et al. The NAFLD fibrosis score: a non-invasive System that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*. 2007;45:846-854.
110. Guha IN, Parkes J, Roderick P, Chattopadhyay D, Cross R, Harris S, et al. Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: Validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. *Hepatology*. 2008;47:455-460.
111. Cales P, Laine F, Boursier J, Deugnier Y, Moal V, Oberti F, et al. Comparison of blood tests for liver fibrosis specific or not to NAFLD. *J Hepatol*. 2009;50:165-173.
112. Klain J, Fraser D, Goldstein J, Peiser J, Avinoah E, Ovnat A, et al. Liver histology abnormalities in the morbidly obese. *Hepatology*. 1989;10:873-876.
113. Harrison SA, Oliver D, Arnold HL, Gogia S, Neuschwander-Tetri BA. Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease. *Gut*. 2008;57:1441-1447.
114. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, et al. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. Comparison with liver biopsy and FibroTest. *Hepatology*. 2007;46:32-36.
115. Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, et al. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol*. 2006;6:33-38.

116. Kahn HS. The "lipid accumulation product" performs better than the body mass index for recognizing cardiovascular risk: a population-based comparison. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2005;5:26.
117. Bedogni G, Kahn HS, Bellentani S, Tiribelli C. A simple index of lipid over accumulation is a good marker of liver steatosis. *BMC Gastroenterology*. 2010;10:98.
118. Teli MR, James OFW, Burt AD, Bennet MK, Day CP. The natural history of non-alcoholic fatty liver disease: a follow-up study. *Hepatology*. 1995;22:1714-1719.
119. Day CP. Natural history of NAFLD: remarkably benign in the absence of cirrhosis. *Gastroenterology*. 2005;129:375-378.
120. Sanyal AJ, Banas C, Sargeant C, Luketic VA, Sterling RK, Stravitz RT, et al. Similarities and differences in outcomes of cirrhosis due to non-alcoholic steatohepatitis and hepatitis C. *Hepatology*. 2006;43:682-689.
121. Dam-Larsen S, Franzmann M, Andersen IB, Christoffersen P, Sørensen TI, Becker U, et al. Long term prognosis of fatty liver: risk of chronic liver disease and death. *Gut*. 2004;53:750-755.
122. Adams LA, Lymp JF, Sauver JST, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, Angulo P. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology*. 2005;129:113-121.
123. Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, Angulo P. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol*. 2005;42:12-14.
124. Elkstedt M, Franzen LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology*. 2006;44:865-873.
125. Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, et al. The Fatty Liver index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol*. 2006;6:33-38.
126. Ong JP, Pitts A, Younossi ZM. Increased overall mortality and liver-related mortality in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2008;49:608-612.
127. Targher G, Marra F, Marchesini G. Increased risk of cardiovascular disease in nonalcoholic fatty liver disease: casual effect or epiphenomenon? *Diabetologia*. 2008;51:1947-1953.
128. Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, Nagata C, Takeda J, Sarui H, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is a novel predictor of cardiovascular disease. *World J Gastroenterol*. 2007;13:1579-1584.

129. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002;346:1221-1231.
130. Villanova N, Moscatiello S, Ramilli S, Bugianesi E, Magalotti D, Vanni E, et al. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk profile in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005;42:473-480.
131. Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2010;363:1341-1350.
132. Golland S, Shimoni S, Zornitzki T, Knobler H, Azoulay O, Lutaty G, et al. Cardiac abnormalities as a new manifestation of nonalcoholic fatty liver disease: echocardiographic and tissue Doppler imaging assessment. *J Clin Gastroenterol*. 2006;40:949-55.
133. Bonapace S, Perseghin G, Molon G, Canali G, Bertolini L, Zoppini G, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with left ventricular diastolic dysfunction in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2012;35:389-95.
134. 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. *Annals of Medicine*. 2011;43:617-649.
135. Ampuero J, Romero-Gómez M. Influencia de la enfermedad por hígado graso no alcohólico en la enfermedad cardiovascular. *Gastroenterol Hepatol*. 2012;35:585-593.
136. Suzuki A, Lindor K, St. Saver J, Lymp J, Mendes F, Muto A, et al. Effect of changes on body weight and lifestyle in NAFLD. *J Hepatol*. 2005;43:1060-1066.
137. Bellentani S, Dalle Grave R, Suppini A, Marchesini G. Fatty Liver Italian Network. Behavior therapy for nonalcoholic fatty liver disease : the need for a multidisciplinary approach. *Hepatology*. 2008;47:46-54.
138. Gasteyger C, Larsen TM, Vercruysse F, Astrp A. Effect of a dietary-induced weight loss on liver enzymes in obese subjects. *Am J Clin Nutr*. 2008;87:1141-1147.
139. St. George A, Bauman A, Johnston A, Farrell G, Chey T, George J. Independent effects of physical activity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2009;50:68-76.
140. Lazo M, Solga SF, Horska A, Bonekamp S, Diehl AM, Brancati FL, et al. Effect of a 12-month intensive lifestyle intervention on hepatic steatosis in adults with type 2 diabetes. *Diabetes care*. 2010;33:2156-2163.

141. Mathurin P, Hollebecque A, Arnalsteen L, Buob D, Leteurtre E, Caiazzo R, et al. Prospective study of the long-term effects of bariatric surgery on liver injury in patients without advanced liver disease. *Gastroenterology*. 2009;137:532-540.
142. Chavez-Tapia NC, Tellez-Avila FI, Barrientos-Gutierrez T, Mendez-Sanchez N, Lizardi-Cervera J, Uribe M. Bariatric surgery for nonalcoholic steatohepatitis in obese patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;1:CD007340.
143. Bugianesi E, Gentilcore E, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, et al. A randomized controlled trial of metformin vs vitamin E or prescriptive diet in NAFLD. *Am J Gastroenterol*. 2005;100:1082-1090.
144. Loomba R, Lutchman G, Kleiner DE, Ricks M, Feld JJ et al. Clinical trial: pilot study of metformin for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;29:172-182.
145. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM, et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2010; 362:1675-1685.
146. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34:274-285.
147. Chatrath H, Vuppalanchi R, Chalasani N. Dyslipidemia in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Seminars in Liver Disease*. 2012;32:22-29.
148. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The Diagnosis and Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology*. 2012;55:2005-2023.
149. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285:2486-2492.
150. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002;123:745-750.
151. McPherson S, Stewart SF, Henderson E, Burt AD, Day CP. Simple non-invasive fibrosis scoring systems can reliably exclude fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Gut*. 2010;59:1265-1269.
152. Bugianesi E, McCullough A, Marchesini G. Insulin resistance : A metabolic pathway to chronic liver disease. *Hepatology*. 2005;42:987-1000.

153. Farin HM, Abbasi F, Reaven GM. Body mass index and waist circumference correlate to the same degree with insulin-mediated glucose uptake. *Metabolism*. 2005;54:1323-1328.
154. Reaven GM. The metabolic syndrome: is this diagnosis necessary? *Am J Clin Nutr*. 2006;83:1237-1247.
155. Durnin JV, Womersley J. Total body fat, calculated from body density, and its relationship to skinfold thickness in 571 people aged 12-72 years. *Proc Nutr Soc*. 1973;32:45A.
156. Targher G, Day CP and Bonora E, Eisk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2010;363:1341-1350.
157. Gastaldelli A, Kozakova M, Højlund K, Flyvbjerg A, Favuzzi A, mitrakou A, Balkau B and The Risc Investigators. Fatty liver is associated with insulin resistance, risk of coronary heart disease, and early atherosclerosis in a large european population. *Hepatology*. 2009;49:1537-1544.
158. Balkau B, Lange C, Vol S, Fumeron F, Bonnet F, Study Group TD. Nine-year incident diabetes is predicted by fatty liver indices: the French D.E.S.I.R. study. *BMC Gastroenterology*. 2010;10:56.
159. Kahn HS. The lipid accumulation product is better than BMI for identifying diabetes: a population-based comparison. *Diabetes Care*. 2006;29:151-153.
160. Ioachimescu AG, Brennan DM, Hoar BM, Hoogwerf BJ. The lipid accumulation product and all-cause mortality in patients at high cardiovascular risk: a PreCIS database study. *Obesity (Silver Spring)*. 2010;18:1836-1844.
161. Ross R, Berentzen T, Bradshaw AJ, Janssen I, Kahn HS, Katzmarzyk PT, et al. Does the relationship between waist circumference morbidity and mortality depend on measurement protocol for waist circumference? *Obes Rev*. 2008;9:312-325.
162. Cusi K. Role of insulin resistance and lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Sci*. 2009;13:545-563.
163. Targher G, Marra F, Marchesini G. Increased risk of cardiovascular disease in non-alcoholic fatty liver disease: causal effect or epiphenomenon? *Diabetologia*. 2008;51:1947-1953.
164. Cordero A, Moreno J, Alegría E. Hipertensión arterial y síndrome metabólico. *Rev Esp Cardiol Supl*. 2005;5:38D-45D.
165. Guallar-Castellón P, Banegas JR, García MJ, Gutiérrez-Fisac JL, López E, Rodríguez-Artalejo F. Asociación de la enfermedad cardiovascular con el sobrepeso y la obesidad en España. *Med Clin (Barc)*. 2002;118:616-8.



166. Stevens J, Cai J, Pamuk E, Williamson DF, Thun MJ, Wood JL. The effect of age on the association between body-mass index and mortality. *N Engl J Med.* 1998;338:1-7.
167. Perseghin G. Viewpoints on the way to a consensus sessions: where does insulin resistance start? The liver. *Diabetes Care.* 2009;32 (Suppl2):S164-S167.
168. Albu JB, Heilbronn LK, Kelley DE, Smith SR, Azuma K, Berk ES, et al. Metabolic changes following a 1-year diet and exercise intervention in patients with type 2 diabetes. *Diabetes.* 2010;59:627-633.
169. Hwang JH, Stein DT, Barzilai N, Cui MH, Tonelli J, Kishore P, Hawkins M. Increased intrahepatic triglyceride is associated with peripheral insulin resistance: in vivo MR imaging and spectroscopy studies. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;293:E1663-E1669.
170. Landecho M, Colina I, Huerta A, Fortuño A, Zalba G, Beloqui O. Connection Between the Early Phases of Kidney Disease and the Metabolic Síndrome. *Rev. Esp. Cardiol.* 2011;64(5):373–378.
171. Targher G, Chonchol M, Zoppini G, Abaterusso C, Bonora E. Risk of chronic kidney disease in patients with non-alcoholic fatty liver disease: Is there a link? *Journal of Hepatology.* 2011;54:1020–1029.
172. Lerman L, Lerman A. The Metabolic Syndrome and Early Kidney Disease: Another Link in the Chain?. *Rev Esp Cardiol.* 2011;64:358-360.
173. Yasuji Arase, Fumitaka Suzuki, Mariko Kobayashi, Yoshiyuki Suzuki. The Development of Chronic Kidney Disease in Japanese Patients with Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Intern Med.* 2011;50:1081-1087.
174. Targher G., Bertolini L, Rodella S, Lippi G, Zoppini G, Chonchol M. Relationship between Kidney Function and Liver Histology in Subjects with Nonalcoholic Steatohepatitis *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5:2166–2171.
175. Go A, Chertow G, Fan D, McCulloch C, Hsu Chi-yuan. Chronic Kidney Disease and the Risks of Death, Cardiovascular Events, and Hospitalization. *N Engl J Med.* 2004;351:1296-305.
176. Loria P, Lonardo A, Targher G. Is liver fat detrimental to vessel?: intersections in the pathogenesis of NAFLD and atherosclerosis. *Clin Sci (Lond).* 2008;115:1-12.