



**Universitat**  
de les Illes Balears

**TESIS DOCTORAL**  
**2022**

**INTERVENCIÓN EN PACIENTES CON ENFERMEDAD POR  
HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO (EHGNA) Y SÍNDROME  
METABÓLICO A TRAVÉS DE DIETA Y ACTIVIDAD FÍSICA  
PERSONALIZADAS Y VALORACIÓN DE SU EVOLUCIÓN**

**Lucía Ugarriza Hierro**





**Universitat**  
de les Illes Balears



**TESIS DOCTORAL**  
**2022**

**Programa de Doctorado en Nutrición y Ciencias de los Alimentos**

**INTERVENCIÓN EN PACIENTES CON ENFERMEDAD POR  
HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO (EHGNA) Y SÍNDROME  
METABÓLICO A TRAVÉS DE DIETA Y ACTIVIDAD FÍSICA  
PERSONALIZADAS Y VALORACIÓN DE SU EVOLUCIÓN**

**Lucía Ugarriza Hierro**

**Director: Josep Antoni Tur Marí**

**Director: José María Gámez Martínez**

**Tutor: Josep Antoni Tur Marí**

**Doctora por la Universitat de les Illes Balears**

La candidata a Doctora

Firmado:  
**Lucía Ugarriza Hierro**

Con el beneplácito de los directores

Firmado:  
**Dr. Josep Antoni Tur Marí**  
*Catedrático de Universidad*  
*Área de Fisiología*

Firmado:  
**Dr. José María Gámez Martínez**  
*Profesor Asociado*  
*Área de Medicina*





**Universitat**  
de les Illes Balears

Dr. Josep Antoni Tur Marí, de Universitat de les Illes Balears

DECLARO:

Que la tesis doctoral que lleva por título *Intervención en pacientes con enfermedad por hígado graso no alcohólico (EHGNA) y síndrome metabólico a través de la dieta y actividad física personalizadas y valoración de su evolución*, presentada por Lucía Ugarriza Hierro ha sido dirigida bajo mi supervisión y que cumple con los requisitos necesarios para optar al título de Doctor.

Y para que quede constancia de ello firmo este documento.

Firma

Palma de Mallorca, \_\_ de \_\_\_\_\_ del 2022





**Universitat**  
de les Illes Balears

Dr. José María Gámez Martínez, de Universitat de les Illes Balears

DECLARO:

Que la tesis doctoral que lleva por título *Intervención en pacientes con enfermedad por hígado graso no alcohólico (EHGNA) y síndrome metabólico a través de la dieta y actividad física personalizadas y valoración de su evolución*, presentada por Lucía Ugarriza Hierro ha sido dirigida bajo mi supervisión y que cumple con los requisitos necesarios para optar al título de Doctor.

Y para que quede constancia de ello firmo este documento.

Firma

Palma de Mallorca, \_\_ de \_\_\_\_\_ del 2022





“La ciencia y la vida cotidiana no pueden y no deben ser separadas”  
Rosalyn Franklyn



A Aita y Ama  
“Non gogoa, han zangoa”



La presente tesis doctoral se enmarca dentro del Programa de Doctorado en Nutrición y Ciencias de los Alimentos (RD99/2011) de la Universitat de les Illes Balears (UIB). El estudio está situado dentro del ensayo FLIPAN (Prevención y Reversión de la Enfermedad del Hígado Graso No Alcohólico en Pacientes Obesos con Síndrome Metabólico por Dieta Mediterránea y Actividad Física), llevado a cabo por el grupo de investigación Nutrición Comunitaria y Estrés Oxidativo (NUCOX), integrado en el Instituto Universitario de Investigación en Ciencias de la Salud (IUNICS) y el Departamento de Biología Fundamental y Ciencias de la Salud de la Universidad de la UIB, y dentro del Instituto de Investigación en Salud de las Illes Balears (IdISBa); y por el Departamento de Fisiología y Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Nutrición de la Universidad de Navarra, Pamplona.

La tesis se ha podido realizar gracias a la financiación de la Fundació La Marató TV3 (proyecto ref. 201630.10); Instituto de Salud Carlos III a través del Fondo de Investigación para la Salud (Proyectos PI14/00636, PI17/01827, PI20/00456 y CIBEROBN CB12/03/30038, y Proyecto Intramural CIBER OBN18PI03), Departamento de Salud del Gobierno de Navarra (61/2015), y Govern de les Illes Balears (Subvención de apoyo a grupos de investigación nº 35/2011 y 23/2012), que están cofinanciados por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional; Acción EU-COST CA16112; y Becas IDISBA (FOLIUM, PRIMUS, SYNERGIA y LIBERI).





## **Agradecimientos**

Agradezco de manera sincera y profunda a todas las personas que han hecho posible este trabajo, y que han mostrado su implicación en este proyecto. Quiero agradecer la aportación de sus ideas, de sus conocimientos, de su tiempo y su compromiso con el arduo trabajo que es la investigación.

A mis directores de tesis Dr. Josep Antoni Tur Marí y Dr. José M<sup>a</sup> Gámez Martínez. Gracias Pep por tu apoyo entusiasta y académico, por tu confianza a lo largo de este difícil camino.

A todo el equipo humano que forma el Grupo de Investigación en Nutrición Comunitaria y Estrés Oxidativo (NUCOX) de la UIB, personas con gran talento pero sobre todo con gran calidad humana.

A todos los médicos de familia, sobre todo a ellas. Compañeras que desempeñan su trabajo en condiciones muy difíciles en los últimos tiempos, que además son madres, cuidadoras, investigadoras, docentes...profesionales comprometidas con la salud.

A mis pacientes, los residentes de familia y los estudiantes de la facultad de medicina por su estímulo constante.

A Laura, amiga, compañera, talento infinito.

A mis hermanos, dena zara, nire memoria, nire orain, nire aterpea eta nire ihesa. Eskerrik asko izateagatik eta emateagatik.

A Mateo, Marina y Mercedes, sou la meva inspiració, gràcies per treure la meva millor versió.

A Pere, “Bamboo ets tu “







# ÍNDICE

<b>Resumen</b>	<b>11</b>
<b>Resum</b>	<b>15</b>
<b>Summary</b>	<b>19</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>23</b>
<b>1. La Enfermedad del Hígado Graso No Alcohólico</b>	<b>25</b>
<b>1.1 Fisiología Hepática</b>	<b>26</b>
<b>1.2 Patogenia EHGNA</b>	<b>30</b>
1.2.1 Evolución de la EHGNA	30
1.2.2 Enfermedad Cardiovascular	34
1.2.3 Mortalidad	35
<b>1.3 Patogenia y fisiopatología de EHGNA</b>	<b>37</b>
1.3.1 Resistencia a la insulina	37
1.3.2 Disfunción del tejido adiposo	39
1.3.3 Dieta y estilo de vida	42
1.3.4 Microbiota intestinal	44
1.3.6 Estrés oxidativo	48
<b>1.4 Asociación de EHGNA con enfermedades y factores de riesgo</b>	<b>50</b>
1.4.1 Síndrome metabólico	50
1.4.2 Diabetes Mellitus	52
1.4.3 Enfermedad renal crónica	52
<b>1.5 Diagnóstico de EHGNA</b>	<b>54</b>
1.5.1 Biopsias y estadios hepáticos	55
1.5.2 Técnicas de imagen para la evaluación de la EHGNA	57
1.5.2.1 Ecografía	57
1.5.2.2 Tomografía Computerizada	58
1.5.2.3 Resonancia Magnética	58
1.5.2.4 Elastografía	59
<b>1.6 Estrategias de manejo de la EHGNA</b>	<b>60</b>
1.6.1 Farmacoterapia	60
1.6.2 Estrategias sobre hábitos de vida	66
<b>1.7 Epidemiología de la EHGNA</b>	<b>69</b>
1.7.1 Incidencia	69
1.7.2 Prevalencia	70
<b>2.- Síndrome Metabólico</b>	<b>71</b>
<b>2.1 Diagnóstico del Síndrome Metabólico</b>	<b>71</b>
2.1.1 Criterios para el diagnóstico	72
<b>2.2 Constituyentes del Síndrome Metabólico</b>	<b>73</b>

2.3 La Obesidad _____	76
2.4 Insulinorresistencia. Intolerancia a la glucosa _____	77
2.5 Hipertensión arterial _____	78
2.6 Dislipemia aterogénica _____	79
2.7 Estado inflamatorio _____	79
2.8 Estado protrombótico _____	80
3. Hígado graso y mujer _____	81
3.1 Prevalencia EHGNA en mujeres _____	81
3.2 EHGNA en edad reproductiva versus menopausia _____	81
3.3 Menopausia y riesgo cardiovascular _____	84
<b>4.-Dieta y EHGNA _____</b>	<b>86</b>
4.1 Situación epidemiológica: Obesidad, sobrepeso y EHGNA _____	86
4.2 Reducción Calórica _____	89
4.3 Restricción de macronutrientes específicos _____	90
4.4 Dieta como herramienta terapéutica _____	93
<b>5.-Actividad Física y EHGNA _____</b>	<b>95</b>
5.1 Relación AF y EHGNA _____	95
5.2 La Actividad aeróbica y EHGNA. _____	96
5.3 Fuerza Muscular y EHGNA. _____	98
5.4 Ejercicio físico en pacientes con EHGNA y limitaciones físicas. _____	100
5.4.1 Entrenamiento híbrido _____	100
5.4.2 Entrenamiento de aceleración _____	101
5.5 Frecuencia, intensidad y duración óptimas del ejercicio. _____	102
<b>6.-Manejo y detección de la EHGNA en Atención Primaria. _____</b>	<b>104</b>
6.1 Importancia de la AP en la EHGNA. _____	104
6.2 Sospecha clínica de EHGNA _____	105
6.3 Algoritmo de manejo de la EHGNA en Atención Primaria _____	106
6.4 Cribado poblacional _____	108
<b>II. JUSTIFICACION _____</b>	<b>111</b>
<b>III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS _____</b>	<b>115</b>
<b>Hipotesis _____</b>	<b>117</b>

<i>Objetivo principal</i> _____	<b>117</b>
Objetivos específicos _____	<b>117</b>
<b>IV. MÉTODO</b> _____	<b>119</b>
<b>1. El Proyecto FLIPAN.</b> _____	<b>121</b>
1.1 Descripción del estudio y objetivos. _____	<b>121</b>
1.2 Población de estudio, reclutamiento y asignación de grupo. _____	<b>121</b>
1.2.1 Criterios de inclusión _____	<b>122</b>
1.2.2. Criterios de exclusión _____	<b>123</b>
1.3 Ética y Consentimiento informado _____	<b>130</b>
1.4 Estrategias de Intervención _____	<b>130</b>
1.4.1 Intervención dietética _____	<b>131</b>
1.4.2 Intervención de Actividad física _____	<b>134</b>
1.5 Evaluaciones y Medidas _____	<b>136</b>
1.5.1 Evaluación dietética _____	<b>136</b>
1.5.1.1 Diario de autoinforme de 72 horas _____	<b>137</b>
1.5.1.2 Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (FFQ) _____	<b>137</b>
1.5.1.3 Cuestionario de adherencia a la Dieta Mediterránea _____	<b>138</b>
1.5.2 Evaluación de la Actividad Física _____	<b>139</b>
1.5.3 Medidas Antropométricas y presión sanguínea _____	<b>141</b>
1.5.4 Pruebas de imagen del hígado _____	<b>142</b>
1.5.4.1 Ultrasonografía y evaluación de fibrosis _____	<b>142</b>
1.5.4.2 Resonancia Magnética _____	<b>143</b>
1.5.4.3 Evaluación de la sobrecarga hepática de hierro _____	<b>144</b>
1.5.5 Muestras biológicas y procedimientos de laboratorio _____	<b>144</b>
<b>2. Tamaño de la muestra</b> _____	<b>146</b>
3. Aleatorización _____	<b>147</b>
4. Análisis estadístico _____	<b>147</b>
<b>V. RESULTADOS</b> _____	<b>149</b>
<b>VI. DISCUSIÓN</b> _____	<b>179</b>
<b>VII. CONCLUSIONES</b> _____	<b>199</b>
<b>VIII. REFERENCIAS</b> _____	<b>203</b>



## ABREVIATURAS

AACE	Sociedad americana de endocrinología clínica
AASLD	Asociación estadounidense para el estudio de las enfermedades hepáticas
AF	Activitat física
AGNE	Ácidos grasos no esterificados
ALT	Aminotransferrasa
ANOVA	Análisis de la varianza
APRI-BMI	Modelo no invasivo a partir de modelos de plaquetas
ATPIII	Adult treatment panel
CHC	Carcinoma hepatocelular
CPK	Creatinfosfoquinasa
CRN	Red de investigación clínica de EHNA
DC	Dieta convencional
DIOS	Síndrome de sobrecarga del hierro dismetabólica
DM-AF	Dieta mediterránea con actividad física
DM-AFC	Dieta mediterránea con alta frecuencia de comidas
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNL	Lípidos de novo
DNL	Lipogénesis hepática de novo
ECA	Ensayo clínico aleatorizado
ECV	Enfermedad cardiovascular
eGFR	Funcion renal
EGIR	Grupo europeo para el estudio de la resistencia a la insulina
EHGNA	Enfermedad por hígado graso no alcohólico
EHNA	Esteatohepatitis no alcohólica
ERC	Enfermedad renal crónica
ESLD	Estadio final de enfermedad hepática
FFA	Ácidos grasos libres
FFQ	Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos
GEPT	Gasto energético diario total
GGT	Glutamiltansferrasa
GI	Gastrointestinales
GLA	Eje intestino hígado
GLM	Modelos lineales generalizados

GWAS	Genome wide association
H-MRS	Espectrografía de resonancia magnética de proton
HC	Circunferencia de cadera
HCC	Hepato carcinoma
HGNA	Hígado graso no alcohólico
HHC	Hemacromatosis hereditaria
HOMA-IR	Modelo homeostático para la resistencia a la insulina
HSL	Lipasa sensible a hormonas
HTA	Hipertensión arterial
IDF	International diabetes federation
IHTG	Triglicéridos intra hepatico
IMC	Indice de masa corporal
IUNICS	Instituto universitario de investigación clinica y sanitaria
MCH	Hemoglobina corpuscular media
MCHC	Concentración de hemoglobina corpuscular
MET	Equivalente metabolico
MetDiet	Dieta mediterranea
MMR	Tasa de mortalidad
MPV	Volumen plaquetario medio
NC	Circunferencia de cuello
OMS	Organización mundial de la salud
PA	Presión arterial
PAI-1	Inhibidor del activador del plasminógeno
PCR	Proteina c reactiva
PDFF	Imágenes paramétricas de la fracción grasa
PDW	Ancho de distribución de plaquetas
RAAS	Sistema renina angiotensina aldosterona
RDW	Ancho de distribución de los glóbulos rojos
RI	Resistencia a la insulina
RM	Ressonância magnética
ROI	Region de interés
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SMet	Síndrome metabólico
SWM	Medición de ondas de corte
T&G	Indice de trigliceridos glucosa
TAG	Triglicerol
TC	Tomografía computerizada
TG	Triglicéridos
TMR	Tasa metabolica basal
TNF-a	Factor de necrosis Tumoral



TSH	Hormona estimulante del tiroides
UIB	Universidad de las Islas Baleares
UNAV	Universidad de navarra
VAI	Indicador de la grasa visceral
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
VMF	Vasodilatación medida por flujo
VO2max	Volumen máximo de oxígeno
WC	Circunferencia de cintura





**Universitat**  
de les Illes Balears

# **INTERVENCIÓN EN PACIENTES CON ENFERMEDAD POR HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO (EHGNA) Y SÍNDROME METABÓLICO A TRAVÉS DE DIETA Y ACTIVIDAD FÍSICA PERSONALIZADAS Y VALORACIÓN DE SU EVOLUCIÓN**

Tesis doctoral, Lucía Ugarriza Hierro, Grupo de Investigación en Nutrición Comunitaria y Estrés Oxidativo, Universitat de les Illes Balears-IUNICS, IDISBA y CIBEROBN, Palma.

## **Resumen**

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) es actualmente la causa más común de enfermedad hepática en el mundo occidental y afecta hasta al 30% de la población. Se ha convertido en una de las causas más frecuentes de hepatopatía crónica y de función hepática alterada en países industrializados y se prevé un incremento de su incidencia en los próximos años anunciándose como la principal causa de trasplante hepático en un futuro próximo.

Se caracteriza por el depósito de grasa en los hepatocitos y es una enfermedad inflamatoria hepática de carácter crónico que engloba un espectro de patologías que van desde la acumulación simple de grasa o esteatosis hepática, hasta fases finales de la enfermedad como la cirrosis, pasando por la esteatohepatitis no alcohólica y la fibrosis.

Su prevalencia aumenta con la edad, la obesidad y está asociada con la presencia de síndrome metabólico y el aumento de mortalidad cardiovascular y neoplasias.

Se trata por todo lo anterior de un problema relevante de salud pública en las sociedades occidentales, cuyo tratamiento fundamental radica en el cambio de estilo de vida, fundamentalmente a través de dieta y actividad física.

De aquí deriva el objetivo principal de esta tesis que es evaluar el papel de la intervención personalizada, tanto dietética como de actividad física, para modificar el depósito de grasa y la progresión de la EHGNA en pacientes con obesidad y síndrome metabólico; utilizando la imagen y diferentes scores de fibrosis para evaluar el impacto de dicha intervención en los participantes.

La muestra del estudio incluye a 155 pacientes, mujeres y hombres de entre 40 y 60 años, con sobrepeso/obesidad que presentan al menos tres de los principales rasgos del síndrome metabólico y un diagnóstico de enfermedad de hígado graso no alcohólico por ultrasonido y corroborado por resonancia magnética. Es un ensayo clínico aleatorizado prospectivo multicéntrico.

La muestra se aleatorizó en tres grupos de intervención; dieta convencional, dieta mediterránea con alta frecuencia de comidas y dieta mediterránea con actividad física personalizada. Se programaron seis visitas para cada paciente, con el registro de numerosas variables, y estrecha monitorización de los participantes, centrándose esta tesis, en resultados de imagen, antropometría, bienestar psicológico, severidad del síndrome metabólico y datos indirectos de fibrosis hepática, todo ello desde una perspectiva de género.

La muestra es muy homogénea, sin observarse diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres, o menopaúsicas y no menopaúsicas de forma basal. Tienen en común un punto de partida de actividad física por debajo de lo recomendado para su rango de edad y una aleatorización por grupos de intervención muy homogénea.

Los resultados muestran que, independientemente del grupo de intervención, del sexo y de la situación hormonal, todos los participantes mejoran al año en la mayoría de parámetros y que aquellos que más mejoran sus resultados de elastografía medidos en kpa son aquellos que más han mejorado los triglicéridos en ayunas, el

índice HOMA y el score de fibrosis. Y que aquellos que más han mejorado su score de fibrosis tras la intervención, presentan mejoras significativas respecto al resto en los resultados de la elastografía. También observamos que los pacientes con menor score de severidad del síndrome metabólico tienen grados de esteatosis más leves medidos por ecografía y elastografía y que aquellos con peores scores de severidad del síndrome metabólico, tienen resultados peores en ecografía y en elastografía.

Al tratarse de una patología de presentación asintomática o de hallazgo casual en la mayoría de las ocasiones, es importante sospecharla para abordarla de forma precoz. El uso de diferentes scores y técnicas de imagen no invasivas aparecen como herramientas indispensables para el clínico, y su inclusión de forma generalizada en la práctica clínica parece indispensable para su manejo.

Palabras clave: EHGNA, intervención, dieta, actividad física, severidad Smet, score fibrosis, ecografía, elastografía.





**Universitat**  
de les Illes Balears

# **INTERVENCIÓ EN PACIENTS AMB MALALTIA DE FETGE GRAS NO ALCOHÒLIC (EHGNA) I SÍNDROME METABÒLICA MITJANÇANT DIETA I ACTIVITAT FÍSICA PERSONALITZADES I VALORACIÓ DE LA SEVA EVOLUCIÓ**

Tesi doctoral, Lucía Ugarriza Hierro, Grup de Recerca en Nutrició Comunitària i Estrès Oxidatiu, Universitat de les Illes Balears-IUNICS, IDISBA i CIBEROBN, Palma.

## **Resum**

La malaltia del fetge gras no alcohol·lic (MFGNA) és actualment la causa més comuna de malaltia hepàtica al món occidental i afecta fins al 30% de la població. S'ha convertit en una de les causes més freqüents d'hepatopatia crònica i de funció hepàtica alterada en països industrialitzats i es preveu un increment de la seva incidència els propers anys anunciant-se com la principal causa de trasplantament hepàtic en un futur proper.

Es caracteritza pel dipòsit de greix als hepatòcits i és una malaltia inflamatòria hepàtica de caràcter crònic, que engloba un espectre de patologies que van des de l'acumulació simple de greix o esteatosi hepàtica, fins a fases finals de la malaltia com la cirrosi, passant per la esteatohepatitis no alcohol·lica i la fibrosi.

La prevalença augmenta amb l'edat, l'obesitat i està associada amb la presència de síndrome metabòlica i l'augment de mortalitat cardiovascular i neoplàsies.

Es tracta per tot això d'un problema rellevant de salut pública a les societats occidentals, i el tractament fonamental rau en el canvi d'estil de vida, fonamentalment a través de dieta i activitat física.

D'aquí deriva l'objectiu principal d'aquesta tesi que és avaluar el paper de la intervenció personalitzada, tant dietètica com d'activitat física, per modificar el dipòsit de greix i la progressió de la malaltia del fetge gras no alcohòlic en pacients amb obesitat i síndrome metabòlica; utilitzant la imatge i diferents scores de fibrosi per avaluar l'impacte de la intervenció en els participants.

La mostra de l'estudi inclou 155 pacients, dones i homes d'entre 40 i 60 anys, amb sobrepès/obesitat que presenten almenys tres dels trets principals de la síndrome metabòlica i un diagnòstic de malaltia del fetge gras no alcohòlic per ultrasò i corroborat per ressonància magnètica. És un assaig clínic aleatoritzat prospectiu multicèntric.

La mostra es va aleatoritzar en tres grups d'intervenció; dieta convencional, dieta mediterrània amb alta freqüència de menjars i dieta mediterrània amb activitat física personalitzada. Es van programar sis visites per a cada pacient, amb el registre de nombroses variables, i estreta monitorització dels participants, centrant-se aquesta tesi en resultats d'imatge, antropometria, benestar psicològic, severitat de la síndrome metabòlica i dades indirectes de fibrosi hepàtica, tot això des d'una perspectiva de gènere.

La mostra és molt homogènia, sense observar-se diferències estadísticament significatives entre homes i dones, o menopàusiques i no menopàusiques de manera basal. Tenen en comú un punt de partida d'activitat física per sota del que es



recomana per al seu rang d'edat i una aleatorització per grups d'intervenció molt homogènia.

Els resultats mostren que, independentment del grup d'intervenció, del sexe i de la situació hormonal, tots els participants milloren l'any en la majoria de paràmetres i que aquells que més milloren els seus resultats d'elastografia en kpa són aquells que més han millorat els triglicèrids en dejú, l'índex HOMA i l'score de fibrosi. I que aquells que més han millorat el resultat de fibrosi després de la intervenció, presenten millores significatives respecte a la resta en els resultats de l'elastografia. També observem que els pacients amb menor resultat de severitat de síndrome metabòlic tenen graus d'esteatosi més lleus mesurats per ecografia i elastografia i que aquells amb scores de síndrome metabòlic pitjors, tenen resultats pitjors en ecografia i elastografia.

Com que es tracta d'una patologia de presentació asimptomàtica o de troballa casual en la majoria de les ocasions, és important sospitar-la per abordar-la de manera precoç. L'ús de diferents scores i tècniques d'imatge no invasives apareixen com a eines indispensables per al clínic, i la seva inclusió de forma generalitzada a la pràctica clínica sembla indispensable per al seu maneig.

Paraules clau: MFGNA, intervenció, dieta, activitat física, severitat Smet, score fibrosi, ecografia, elastografia.





**Universitat**  
de les Illes Balears

# **INTERVENTION ON PATIENTS WITH NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE (NAFLD) AND METABOLIC SYNDROME BY CUSTOMIZED DIET AND PHYSICAL ACTIVITY AND EVALUATION OF ITS EVOLUTION**

PhD Thesis, Lucía Ugarriza Hierro, Research Group on Community Nutrition and Oxidative Stress, University of the Balearic Islands-IUNICS, IDISBA and CIBEROBN, Palma.

## **Summary**

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is currently the most common cause of liver disease in the western world, affecting up to 30% of the population.

It has become one of the most frequent causes of chronic liver disease and altered liver function in industrialized countries and its incidence is expected to increase in the coming years, announcing itself as the main cause of liver transplantation in the near future.

It is characterized by the deposition of fat in hepatocytes and it is a chronic inflammatory liver disease that encompasses a spectrum of pathologies that range from simple accumulation of fat or hepatic steatosis, to final stages of the disease such as cirrhosis, including non-alcoholic steatohepatitis and fibrosis.

Its prevalence increases with age, obesity and is associated with the presence of metabolic syndrome and increased cardiovascular mortality and cancer.

For all of the above, it is a relevant public health problem in western societies, whose fundamental treatment lies in changing lifestyles through diet and physical activity fundamentally . From here derives the main objective of this thesis, which is to evaluate the role of personalized intervention, both dietary and physical activity, to

modify fat deposits and the progression of non-alcoholic fatty liver disease in patients with obesity and metabolic syndrome; using the image and different fibrosis scores to assess the impact of said intervention on the participants.

The study sample includes 155 patients, women and men between 40 and 60 years old, with overweight/obesity who present at least three of the main features of the metabolic syndrome and a diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease by ultrasound and corroborated by magnetic resonance imaging. It is a multicenter prospective randomized clinical trial.

The sample was randomized into three intervention groups; conventional diet, mediterranean diet with high frequency of meals and mediterranean diet with personalized physical activity.

Six visits were scheduled for each patient, with the registration of numerous variables, and close monitoring of the participants, focusing this thesis on imaging results, anthropometry, psychological well-being, severity of the metabolic syndrome and indirect data of liver fibrosis, all from a gender perspective.

The sample is very homogeneous, with no statistically significant differences observed between men and women, or menopausal and non-menopausal at baseline. They have in common a starting point of physical activity below that recommended for their age range and a very homogeneous randomization by intervention groups.

The results show that, regardless of the intervention group, gender and hormonal status, all participants improve after one year in most parameters and that those who most improve their elastography results in kPa are those who have most improved fasting triglycerides, the HOMA index and the fibrosis score. And that those who have improved their fibrosis score the most after the intervention, show significant

improvements compared to the rest in the results of the elastography. We also observed that patients with lower metabolic syndrome severity scores have milder degrees of steatosis measured by ultrasound and elastography and that those with worse metabolic syndrome scores have worse results in ultrasound and elastography. As it is a pathology with asymptomatic presentation or a casual finding in most cases, it is important to suspect it in order to address it early.

The use of different scores and non-invasive imaging techniques appear to be essential tools for the clinician, and their widespread inclusion in clinical practice seems essential for their management.

Keywords: NAFLD, intervention, diet, physical activity, Smet severity, fibrosis score, ultrasound, elastography.



# I. INTRODUCCIÓN





# 1. La Enfermedad del Hígado Graso No Alcohólico

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) es actualmente la causa más común de enfermedad hepática en el mundo occidental y afecta hasta al 30% de la población (1). La EHGNA se ha convertido en una de las causas más frecuentes de hepatopatía crónica y de función hepática alterada en países industrializados (2-7)

Se caracteriza por un depósito de grasa en los hepatocitos y es una enfermedad inflamatoria hepática de carácter crónico que engloba un espectro de patologías que van desde la acumulación simple de grasa o esteatosis hepática, hasta fases finales de la enfermedad como la cirrosis, pasando por la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) y la fibrosis (8-12).

La EHGNA es, por tanto, una enfermedad inflamatoria hepática, de carácter crónico y de gran relevancia en la actualidad por su fuerte asociación con enfermedades de incidencia creciente como la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2. (13)

La EHGNA está fuertemente asociada con la obesidad, especialmente la obesidad visceral y la resistencia a la insulina, con tasas de prevalencia que alcanzan el 57-98% entre los obesos y el 69% entre los diabéticos (14,15). De hecho, la EHGNA se considera la manifestación hepática del síndrome metabólico (SMet) (16). Es por ello que la morbilidad de la EHGNA va más allá de la patología hepática.

Debido a la creciente prevalencia de la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) en todo el mundo, se prevé que la EHGNA se convierta en la indicación más común para el trasplante de hígado en un futuro próximo, lo que representa una carga de enfermedad significativa (17).

La esteatosis hepática se revela como una situación compleja, eminentemente metabólica, en la que se simultanean procesos metabólicos aparentemente contradictorios, así como estrés oxidativo, estrés de retículo endoplasmático, disfunción mitocondrial y descenso en la expresión de genes de supervivencia. En buena medida, en su base se sitúan señales extrahepáticas, como las producidas en una situación de resistencia periférica a la insulina asociada a un aumento de la masa adiposa y de ácidos grasos libres sistémicos, e internas, causantes de un desajuste de las funciones glucostática y lipidostática del hígado y de una mayor vulnerabilidad a otras agresiones(13).

Por todo lo anterior, es fundamental que los médicos especialistas en atención primaria, endocrinología y otras especialidades médicas sean conscientes de los efectos de esta patología a largo plazo, no solo a nivel hepático, y se trabaje para la identificación temprana de la EHGNA y consecuentemente se pueda intervención y adecuada sobre la misma ayudaría a mejorar su evolución.

## **1.1 Fisiología Hepática**

El hígado es un órgano crítico en el ser humano, responsable de una gran variedad de funciones que ayudan y participan en el metabolismo, en la inmunidad, la digestión, secreción de bilis, metabolismo de bilirrubina, funciones vasculares y hematológicas, metabolismo de hormonas, metabolismo de nutrientes como carbohidratos, grasas y proteínas, desintoxicación metabólica y almacenamiento de minerales y vitaminas (18,19). Supone el 2% del peso total del adulto. Tiene un aporte dual de sangre, desde la vena porta (75%) y desde la arteria hepática (25%).

El hígado, además de las funciones antes mencionadas, es un órgano fundamental en los procesos metabólicos. Dicha función metabólica está controlada por la insulina y otras hormonas metabólicas.

Con respecto al metabolismo energético en el hígado, después de la ingesta de alimentos, estos se digieren en el tracto gastrointestinal (GI) y se degradan en monosacáridos y disacáridos, ácidos grasos y aminoácidos, todos ellos serán absorbidos en el torrente sanguíneo y el hígado los metaboliza para proporcionar energía para el funcionamiento normal. En el estado posprandial, el exceso de glucosa se transforma en glucógeno a través del proceso de glucogénesis y / o se convierte en ácidos grasos o aminoácidos en el hígado. Los ácidos grasos libres se esterifican con glicerol-3-fosfato para generar triglicéridos (TG) en los hepatocitos. Luego, los TG se almacenan en el hígado o se liberan a la circulación como partículas de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Por último, los aminoácidos se metabolizan para proporcionar energía o se utilizan para sintetizar proteínas, glucosa, grasas y otras moléculas bioactivas (20,21).

En un estado de ayuno, el cuerpo inicialmente depende de las reservas hepáticas de glucógeno para descomponerse en glucosa a través de la glucogenólisis y liberarse en el torrente sanguíneo para ser utilizado por los tejidos periféricos y el cerebro. A medida que se prolonga el estado de ayuno y se agotan las reservas de glucógeno, los hepatocitos utilizan lactato, piruvato, glicerol y aminoácidos para sintetizar nueva glucosa a través de la gluconeogénesis. Una vez que se interrumpe el ayuno, la gluconeogénesis continuará reemplazando las reservas de glucógeno agotadas. El hígado absorbe nuevamente el exceso de glucosa resultante y lo convierte en TG y ácidos grasos para su almacenamiento a largo plazo. La insulina actúa como un regulador de la producción de glucosa hepática controlando la supresión de la gluconeogénesis y la glucogenólisis y estimulando la glucólisis. La insulina también

estimula la lipogénesis, responsable de la síntesis de ácidos grasos a partir de acetil-coenzima A en el hígado (20,21).

La glucosa es convertida en piruvato a través de la glicolisis en el citoplasma y el piruvato es oxidado en la mitocondria para generar ATP a través del ciclo TCA y la fosforilación oxidativa. Como hemos comentado, en el estado postprandial los productos de la glicolisis se usan para sintetizar ácidos grasos mediante DNL. Los ácidos grasos de cadena larga se incorporan a los hepatocitos en forma de triglicéridos, fosfolípidos y/o ésteres de colesterol. Estos lípidos complejos se almacenan en gotitas de lípidos y en estructuras membranosas, o son secretadas a la circulación en forma de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Durante el ayuno, el hígado secreta glucosa a través de la glucogenólisis y la gluconeogénesis. Si el ayuno es prolongado, la gluconeogénesis hepática es la primera fuente de producción endógena de glucosa. El ayuno también promueve la lipólisis en el tejido adiposo, que resulta en la liberación de ácidos grasos no esterificados que serán convertidos en cuerpos cetónicos a nivel de la mitocondria hepática a través de la beta oxidación y cetogénesis. Los cuerpos cetónicos proporcionan el combustible metabólico a los tejidos extrahepáticos.

El metabolismo energético hepático está estrechamente regulado por señales neuronales y hormonales. El sistema simpático estimula la gluconeogénesis, mientras que el parasimpático suprime la gluconeogénesis hepática. La insulina estimula la glicolisis y la lipogénesis pero suprime la gluconeogénesis, y el glucagón contrarresta la acción insulínica. Existen múltiples factores de transcripción, coactivadores (CREB, FOXO1, ChREBP, SREBP, PGC-1 $\alpha$ , y CRTC2) que controlan la expresión de enzimas que catalizan algunos pasos clave del metabolismo, y por tanto que controlan el metabolismo energético en el hígado (20).

Tras todo lo anteriormente expuesto, el metabolismo de la energía hepática es un mecanismo estrictamente controlado y la disfunción de la señalización y el metabolismo hepáticos pueden promover la resistencia a la insulina, DM2 y EHGNA (20). Debido a la resistencia selectiva a la insulina hepática, una condición recientemente reconocida, la insulina no regula la gluconeogénesis debido a la pérdida de los receptores de insulina específicos de los hepatocitos y, al mismo tiempo, continúa estimulando la lipogénesis, lo que lleva a hiperglucemia, intolerancia a la glucosa, DM2, dislipidemia metabólica y exceso. almacenamiento hepático de TG, que en consecuencia están estrechamente relacionados con la EHGNA (22-24).

Los individuos con resistencia a la insulina también tienen una síntesis de glucógeno muscular considerablemente deteriorada y desvían grandes proporciones de energía ingerida hacia la lipogénesis de novo hepática (DNL), que contribuye a la patogénesis de la EHGNA a través de una síntesis de TG aumentada y excesiva. A su vez, se secretan grandes cantidades de VLDL y aumentan los niveles plasmáticos de TG, lo que perpetúa el estado de resistencia a la insulina (25).

Por lo tanto, la acción aberrante de la insulina hepática puede dar lugar al escenario clásico de DM2 de hiperglucemia, hiperinsulinemia e hipertrigliceridemia, que posiblemente conduce a EHGNA, lo que explica por qué la EHNA a menudo se refiere a la manifestación hepática del SMe (26).

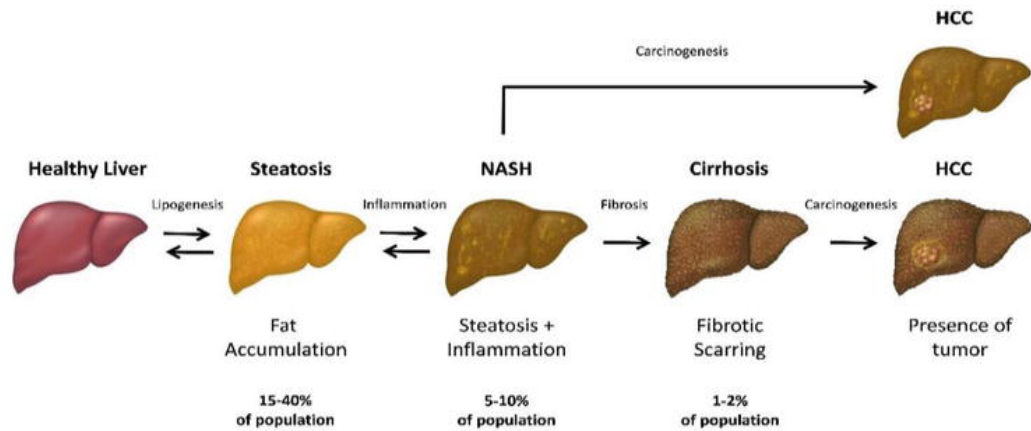
## **1.2 Patogenia EHGNA**

### **1.2.1 Evolución de la EHGNA**

La esteatosis hepática es una situación reversible mientras que la esteatohepatitis no lo es (27) esto hace que ese tránsito sea un punto sin retorno para el progreso de la enfermedad. Por ello es fundamental, conocer cuáles son los mecanismos implicados en la instauración del hígado graso y cuáles son los procesos y agentes que se ven afectados por la acumulación grasa que hacen al hepatocito vulnerable.

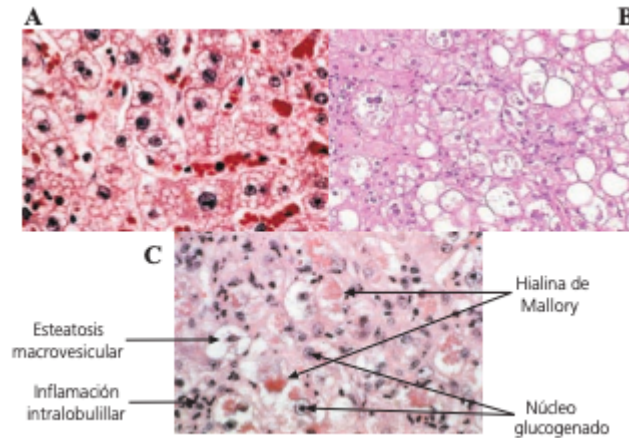
Estudios epidemiológicos revelan que entre el 30 y el 97% de los individuos con EHGNA son obesos (28) y el 60-90% de los pacientes con obesidad mórbida presentan alguna de las características histológicas de la EHGNA (29). Un estudio encuentra que un 80% de los individuos obesos presentan hígado graso, un 33% inflamación portal, un 24% fibrosis y un 3% cirrosis (30). Buena parte del conocimiento sobre esta enfermedad procede de estudios en animales con obesidad, ya sea de origen dietético o genético.

La EHGNA engloba un amplio espectro histopatológico que van desde la esteatosis con inflamación inespecífica (denominada colectivamente hígado graso no alcohólico - HGNA), esteatohepatitis (EHNA), fibrosis hepática, cirrosis, enfermedad hepática en etapa terminal (ESLD) y HCC (31) (Figura 1).



**Figura 1:** EHGNA, Espectro de progresión de la enfermedad (Fuente: *Sherif Z.A.*, 2019) (31)

La EHNA es una complicación necroinflamatoria de una esteatosis hepática crónica cuyas principales características histológicas son la esteatosis macrovesicular y los infiltrados inflamatorios de leucocitos polimorfonucleares y/o neutrófilos (Fig.2C). También se pueden encontrar cuerpos de Mallory, núcleos glucogenados, degeneración hepatocitaria balonizante y aumento de la muerte celular (32-34). Esta inflamación crónica del hígado provoca el desarrollo de distintos grados de fibrosis, principalmente, en zonas perivenosas y perisinusoidales de la zona 3 del acino hepático (35), distorsionando la arquitectura hepática. En las etapas finales de EHGNA la fibrosis puede degenerar en cirrosis (36) y hepatocarcinoma (37,38).



**Figura 2.** Imágenes histológicas representativas de esteatosis hepática (A) microvesicular y (B) macrovesicular y (C) de esteatohepatitis. En (C) se señalan las principales características histológicas. (Fuente: *Buqué et al, 2008.*) (15).

Generalmente, la EHGNA es una enfermedad de progresión lenta, que no culmina en ESLD en la mayoría de los pacientes, sin embargo, los pacientes con EHGNA tienen un riesgo de mortalidad significativamente mayor en comparación con la población general emparejada por edad y sexo y podrían morir por enfermedad cardiovascular (ECV). o cáncer no hepático, antes de sufrir una muerte relacionada con el hígado (39-42).

Los primeros estudios sugirieron que HGNA era una enfermedad benigna con una probabilidad muy baja de progresar a formas más avanzadas de EHGNA (43). Por otro lado, la evidencia posterior basada en estudios de biopsias hepáticas emparejadas de pacientes con HGNA basal sugiere que, aunque la HGNA parece progresar más lentamente que la EHNA podría no ser tan benigna como se creía inicialmente (44). Una revisión sistemática y un metanálisis de 11 estudios de cohortes que incluyeron un total de 411 pacientes con EHGNA comprobada por biopsia (150 con EHGNA y 261 con EHNA), encontró que los pacientes con EHGNA y fibrosis en estadio 0 al inicio del estudio progresaron a fibrosis en etapa 1 durante un período de tiempo de 14,3 años (intervalo de confianza (IC) del 95%:



9,1–50,0 años). En comparación, los pacientes con EHGNA y fibrosis en estadio 0 al inicio del estudio progresaron a fibrosis en estadio 1 durante un período de 7,1 años (IC del 95%: 4,8–14,3 años) (45).

Al contrario de HGNA, la evolución de EHNA se ha investigado extensamente. Se ha estimado que el 59% de los pacientes que presentan EHGNA progresan a EHNA (46) y que, a su vez, el 37,6% de los pacientes con EHNA progresan más a fibrosis avanzada durante un seguimiento medio de 5,3 años (47). Además, como se estima en un metanálisis de Younossi et al (46), 1 de cada 5 pacientes que progresan a fibrosis, desarrollan rápidamente cirrosis en el seguimiento. Es discutible si la EHNA predice la fibrosis avanzada, ya que no hay evidencia de que ni la gravedad de la inflamación en la EHNA ni la puntuación de actividad de la EHNA sean factores de riesgo de fibrosis progresiva, ya que los pacientes con EHGNA y sin esteatohepatitis también pueden desarrollar la enfermedad. No obstante, la EHNA grave fue frecuente en las biopsias repetidas de pacientes con progresión de la enfermedad (48,49).

Se ha estimado que la progresión a cirrosis y ESLD se produce en el 25% y el 7% de los pacientes con EHNA, respectivamente (42,50).

La obesidad, la DM2, la ECV, la edad y la inflamación hepática basal son predictores de fibrosis avanzada y cirrosis en pacientes con EHNA (47,51-53).

El CHC es la principal causa de muerte por cáncer relacionada con la obesidad en los EE. UU., donde entre el 4 y el 22% de los casos de CHC se atribuyen a EHGNA (54). En pacientes con EHNA, el riesgo de CHC y mortalidad relacionada con el hígado es mayor que en pacientes con esteatosis simple (razón de posibilidades (OR) 5,7), y aumenta aún más cuando EHNA es concomitante con fibrosis avanzada (OR 10,0) (55,56). No obstante, según una revisión sistemática, las cohortes con EHNA

y cirrosis concomitante tuvieron la mayor incidencia acumulada de CHC, que osciló entre el 2,4% en 7 años y el 12,8% en 3 años (57).

### **1.2.2 Enfermedad Cardiovascular**

La enfermedad del hígado graso no alcohólico comprende una serie de lesiones hepáticas histológicamente similares a las inducidas por el alcohol, en personas con un consumo del mismo muy escaso o nulo. La importancia de la EHGNA radica en su alta prevalencia en el mundo occidental y, desde el punto de vista hepático, en su progresiva evolución, como ya hemos comentado, desde esteatosis a esteatohepatitis, cirrosis y cáncer de hígado.

Durante la última década se ha observado que la EHGNA da lugar a un incremento del riesgo cardiovascular con aceleración de la arteriosclerosis y de los eventos a ella vinculados, principal causa de su morbimortalidad (58).

La ECV es la causa más común de muerte en pacientes con EHGNA. Un metanálisis que incluyó a más de 34.000 individuos de 16 estudios observacionales prospectivos y retrospectivos mostró que durante una mediana de seguimiento de 6,4 años, los pacientes con EHGNA tenían un mayor riesgo de ECV mortal y / o no mortal que aquellos sin EHGNA (OR 1,64; IC del 95%: 1,26-2,13) (59). El estudio también mostró que el riesgo aumentaba a medida que avanzaba la EHGNA (OR 2,58; IC del 95%: 1,78 a 3,75). En consecuencia, en un estudio a largo plazo de 229 pacientes con EHGNA comprobada por biopsia, en comparación con la población de referencia, la EHGNA tenía un mayor riesgo de ECV (índice de riesgo (HR) 1,55, IC 1,11-2,15,  $p=0,01$ ), así como con mayor riesgo de CHC (HR 6,55, IC 2,14-20,03,  $p=0,001$ ), enfermedades infecciosas (HR 2,71, IC 1,02-7,26,  $p=0,046$ ) y cirrosis (HR 3,2, IC 1,05-9,81,  $p=0,041$ ). En comparación con la población de referencia, los pacientes con fibrosis en estadio 3-4, tenían una mayor mortalidad general y por

ECV (HR 3,3, IC 2,27-4,76,  $p < 0,001$ ; HR 4,36, IC 2,29-8,29,  $p < 0,001$ ; respectivamente) (60).

Los pacientes con EHGNA, tanto adultos como en edad pediátrica, suelen cumplir criterios diagnósticos de síndrome metabólico (p.e obesidad abdominal, hipertensión, dislipemia aterogénica, e hiperglucemia disglucemia) y, por ello, tienen múltiples factores de riesgo para enfermedad cardiovascular.

Cuando son comparados con sujetos control, que no tienen EHGNA, los pacientes con enfermedad por hígado graso no alcohólico presentan una vasodilatación mediada por flujo (VMF) alterada y el grosor intima-media carotideo aumentado (dos marcadores muy fiables de aterosclerosis subclínica) que son independientes de la obesidad y de otros factores de riesgo establecidos. Aunque algunos estudios recientes reportan que no hay una asociación significativa entre EHGNA y grosor intima.media carotideo o la calcificación de la arteria carótida (cuantificada por tomografía) una revisión sistemática y metaanálisis de siete estudios transversales que incluyeron 3497 sujetos confirmaron que la EHGNA diagnosticada por ecografía está fuertemente asociada con un aumento del engrosamiento de la intima.media carotidea y con una prevalencia aumentada de placas ateroscleróticas. En un estudio de 2006 se encontró que el grosor de la íntima media de la arteria carótida era mayor en pacientes con EHNA, intermedia en pacientes con esteatosis y baja en los controles sanos agrupados por edad y sexo (61).

### **1.2.3 Mortalidad**

Después de la ECV, el cáncer no hepático y las complicaciones relacionadas con el hígado, es decir, ESLD y HCC, son respectivamente la segunda y tercera causas

principales de muerte en EHGNA. En general, los pacientes con EHGNA tienen tasas de mortalidad significativamente mayores en comparación con la población emparejada por edad y sexo (39-42). Un metanálisis reciente confirmó el aumento del riesgo de mortalidad por todas las causas en los pacientes con EHGNA en comparación con los que no lo tenían (HR 1,34, IC del 95%: 1,17-1,54). La asociación fue independiente de la edad, el sexo, la duración del seguimiento, el índice de masa corporal (IMC), la DM2, el tabaquismo o la hipertensión arterial (HTA) (62).

El predictor más fuerte del aumento de la mortalidad en la EHGNA es el desarrollo y la gravedad de la fibrosis (40,60,63). Dulai et al (63) investigaron el riesgo de mortalidad por todas las causas y relacionada con el hígado en un metanálisis que incluyó más de 70 estudios. En comparación con los pacientes con EHGNA sin fibrosis, los pacientes con EHGNA con fibrosis concomitante tenían un mayor riesgo de mortalidad por todas las causas y la tasa de mortalidad aumentaba en cada etapa de la fibrosis, de modo que en la etapa 1 la tasa de mortalidad era de 1,58 (IC del 95%: 1,19-2,11), mientras que en la etapa 4 la tasa de mortalidad aumentó a 6,40 (IC del 95%: 4,11-9,95). Para la mortalidad relacionada con el hígado, la MRR aumentó exponencialmente: de 1,41 (IC del 95%: 0,17-11,95) para el estadio 1 a 42,30 (IC del 95%: 3,51-510,34) para el estadio 4.

El riesgo de desarrollar cáncer diferente a CHC en pacientes con EHNA no se halla bien definido. Un grupo de investigadores italianos publicó un metanálisis de estudios observacionales para cuantificar la magnitud de la asociación entre la enfermedad del hígado graso no alcohólico y el riesgo de cánceres extrahepáticos. Este gran metanálisis sugiere que la EHGNA está asociada con un riesgo moderadamente mayor a largo plazo de desarrollar cáncer durante una mediana de casi 6 años (especialmente cánceres gastrointestinales, cáncer de mama y cánceres

ginecológicos). Se requiere más investigación para descifrar el vínculo complejo entre NAFLD y el desarrollo del cáncer (64).

La EHNA puede evolucionar a fibrosis avanzada, cirrosis y CHC, con una mortalidad del 10-12% a los 10-15 años del diagnóstico 2. Las comorbilidades de los pacientes con EHGNA condicionan su supervivencia, teniendo como denominador común la RI y el SMet (65-69), de forma que la principal causa de muerte de estos pacientes es la enfermedad coronaria (70-76), seguida de las neoplasias extrahepáticas y la asociada a CH.

### **1.3 Patogenia y fisiopatología de EHGNA**

La patogenia de la EHGNA se explicó inicialmente como un modelo de "doble impacto" (77). El "primer golpe", fuertemente influenciado por la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina, involucró la acumulación de lípidos en los hepatocitos. Esta etapa inicial de acumulación de triglicéridos hepáticos haría al hígado más vulnerable a los muchos factores que constituyeron el "segundo golpe", y que promovieron una lesión hepatocelular sostenida, reconocida como EHNA y fibrosis. Hoy en día, dicho modelo se ha vuelto obsoleto y ha dado lugar a una hipótesis más compleja de "golpes múltiples" que considera la interacción de múltiples agresiones responsables de la lesión tisular y la progresión de la enfermedad (78). Estos impactos incluyen resistencia a la insulina, disfunción del tejido adiposo, factores de dieta y estilo de vida, desequilibrios de la microbiota, así como factores genéticos y estrés oxidativo (78,79).

#### **1.3.1 Resistencia a la insulina**

La resistencia a la insulina (RI) definida como una respuesta biológica alterada de sus tejidos efectores (hígado, músculo y tejido adiposo), y que se refleja por unos

niveles plasmáticos superiores a 20 $\mu$ U/ml de insulina, se relaciona con eventos cardiovasculares y progresión del EHGNA (80).

La resistencia a la insulina, se entiende como el desajuste en la capacidad de la insulina para regular el metabolismo de glucosa y lípidos. Normalmente es un defecto temprano y crucial asociado con la obesidad y la DMT2 (81-83), así como con otros desórdenes del metabolismo (84-88). La etiología de la resistencia a la insulina no se conoce completamente, pero está demostrado que hay una fuerte asociación entre resistencia a la insulina y un excesivo acúmulo de lípidos ectópico, fuera del tejido adiposo, particularmente en la musculatura y en el hígado (82,89,90). Este fenómeno juega un papel clave en la desregulaciones metabólicas de EHGNA, que inician y agravan la acumulación de grasa hepática.

En la EHGNA la sensibilidad a la insulina se reduce en todos los niveles: a nivel del músculo esquelético, del hígado y del tejido adiposo, lo que lleva a un aumento de los niveles de glucosa plasmática, que a su vez estimula las células  $\beta$  pancreáticas, provocando una liberación compensatoria de insulina (91). La resistencia a la insulina también se caracteriza por un aumento de la gluconeogénesis hepática y una captación de glucosa alterada concomitante por el músculo esquelético, y por DNL (lípidos de novo) y citocinas inflamatorias del tejido adiposo periférico, que contribuyen al almacenamiento hepático excesivo y la progresión de la esteatosis hepática (22,25,92). La obesidad abdominal y la resistencia a la insulina también desempeñan un papel crucial en la reducción de los niveles circulantes de adiponectina, lo que afecta tanto a la gluconeogénesis como a la lipogénesis hepática (93).

Numerosos estudios experimentales demuestran que la RI se asocia con el estrés del retículo y estrés oxidativo que inducen fosforilación en serina y treonina del receptor

de la insulina, lo que reduce la efectividad de la cascada de señales de la insulina, como se ha demostrado en pacientes con obesidad mórbida y EHGNA (69).

### **1.3.2 Disfunción del tejido adiposo**

La función principal del tejido adiposo es almacenar los ácidos grasos y liberarlos a través de la lipólisis en ayunas. Los lípidos se almacenan principalmente como depósitos de grasa subcutáneos; sin embargo, cuando la capacidad de almacenamiento alcanza sus límites, el exceso de grasa se almacena intraabdominalmente (visceral) y en el hígado (94). Un aumento de la grasa visceral es de particular importancia en la patogenia de la resistencia a la insulina, EHGNA, EHNA y ECV (95-97). El tejido adiposo no es inerte, como se creía tradicionalmente, ahora se reconoce como un órgano endocrino importante, que secreta hormonas (adipocinas), como adiponectina y leptina, y citocinas, como interleucina-6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), responsable de la patogenia de la resistencia a la insulina y la inflamación crónica observada en la obesidad, NAFLD y su progresión a NASH y cirrosis (95,98).

El tejido adiposo es una fuente fundamental de señales moleculares que regulan la acción de la insulina (28); destaca el TNF- $\alpha$  (12,28), la IL-6 (99), la resistina (100), los ácidos grasos (2), la leptina (101), la adiponectina (101) y el inhibidor del activador del plasminógeno (100). Múltiples evidencias señalan que el TNF- $\alpha$  es la adipocitocina responsable del desarrollo de la resistencia a la insulina al desajustar de alguna forma la fosforilación cruzada del receptor (12). Dada la alta producción de TNF- $\alpha$  en individuos obesos y que el tejido adiposo visceral tiene una producción de TNF- $\alpha$  mayor que el tejido adiposo subdérmico (12), cabe esperar mayor resistencia a la insulina y hepatoesteatosis en individuos con obesidad troncal (102). Además, se ha encontrado que pacientes con EHGNA presentan un polimorfismo

en el promotor del TNF- $\alpha$  asociado con resistencia a la insulina (103-105) y una mayor cantidad del transcrito de esta citocina en hígado y tejido adiposo (106).

En la resistencia periférica a la insulina, la insulina no es capaz de revertir la activación de la lipasa sensible a hormonas (HSL) provocada por la hipoglucemia (107), liberándose AGL desde el tejido adiposo al torrente sanguíneo sin regular (8). En pacientes obesos en situación postprandial (9) o con EHGNA (30,108). se han visto concentraciones séricas elevadas de ácidos grasos y glicerol de origen adiposo (12) Los AGL bloquean la señal intracelular de la insulina en el propio tejido adiposo (2), pero además estimulan junto con la hiperglucemia la secreción de insulina por las células  $\beta$  del páncreas (109) provocando hiperinsulinemia (8) y, si el páncreas se agota, entonces aparecería DMT2. Es frecuente que pacientes con DMT2 presenten elevados niveles séricos de AGL (30), resistencia a la insulina e hiperinsulinemia causados por TNF- $\alpha$  (12).

Pero un nivel sérico alto de AGL puede afectar al metabolismo de lípidos en otros tejidos (30), por ejemplo, evitando la activación de la lipoprotein lipasa (LPL) de músculo esquelético (30), que impediría la metabolización de las lipoproteínas ricas en triglicéridos -QM y VLDL-, aumentando su tiempo de permanencia en la circulación y con ello los niveles de triglicéridos asociados. La hipertrigliceridemia es uno de los factores más comúnmente asociados a la resistencia periférica a la insulina y a EHGNA, que se puede agravar si además aumenta la producción hepática de VLDL, como se ha descrito en algunos casos (30).

La leptina tiene un papel importante en el equilibrio energético, la regulación del apetito y la prevención de la acumulación de grasa ectópica y también se secreta proporcionalmente según la masa de tejido adiposo (110). En EHGNA los niveles de leptina circulante son más altos que en los controles, y en EHNA, son más altos que en EHGNA El efecto del aumento de los niveles circulantes de leptina sobre la



EHGNA y la EHNA es controvertido: en modelos animales, en las primeras etapas de la EHGNA, la leptina podría tener un papel protector al prevenir la acumulación de grasa hepática; por otro lado, en etapas avanzadas de la enfermedad promueve la inflamación y la fibrosis (111).

La adiponectina tiene efectos antiinflamatorios, sensibilizantes a la insulina y antiaterogénicos (112). En la EHGNA tiene un efecto beneficioso potencial al estimular la oxidación de los ácidos grasos en los hepatocitos, al disminuir la gluconeogénesis y la lipogénesis de novo (DNL) y al prevenir la fibrosis. En pacientes obesos, cuando la esteatosis simple progresa a EHGNA, los niveles circulantes de adiponectina disminuyen, posiblemente activando la inflamación y la fibrosis (111).

Las citocinas proinflamatorias IL-6 y TNF- $\alpha$  aumentan en la obesidad y disminuyen después de la pérdida de peso (113,114). Además, el tejido adiposo subcutáneo y visceral de pacientes con EHGNA y EHNA tiene una expresión aumentada de genes inflamatorios en comparación con pacientes obesos sin afectación hepática. La activación de genes inflamatorios se correlaciona con la progresión de EHGNA a EHNA y fibrosis (115).

Podemos decir que la lipotoxicidad por ácidos grasos libres saturados subyace a la inducción de resistencia insulínica. Los estudios realizados en células humanas primarias hepáticas, en líneas tumorales establecidas hepáticas y en modelos experimentales apuntan a que la presencia de ácidos grasos libres saturados, como los ácidos caprílico (8:0) y palmítico (16:0), generan estrés del retículo y lesión hepatocelular (67,68). La administración de ácidos grasos monoinsaturados como el ácido oleico (18:1), aunque incrementa el contenido de triglicéridos, reduce el estrés celular y la muerte hepatocelular.

### **1.3.3 Dieta y estilo de vida**

La calidad de la dieta y la ingesta calórica pueden contribuir tanto a la fisiopatología de la EHGNA como a su progresión a etapas más avanzadas. Se debe recomendar reducir la ingesta calórica a todos los pacientes con EHGNA y sobrepeso/obesidad (A1).

En un pequeño estudio de 18 sujetos sanos, comer al menos dos comidas a base de comida rápida al día durante un período de 4 semanas resultó en un aumento significativo en el peso corporal, los niveles séricos de alanina aminotransferasa (ALT) y el contenido de grasa hepática medido por espectroscopia de resonancia magnética (MRS) (de  $1,1 \pm 1,9\%$  a  $2,8 \pm 4,8\%$ ) (116). Las grasas saturadas y los azúcares simples serían los responsables del aumento del riesgo de EHGNA (117).

Los ácidos grasos saturados de cadena larga, que provienen principalmente de fuentes animales y que se producen en el hígado a partir de azúcares de la dieta, tienen una tendencia significativamente mayor a inducir resistencia a la insulina, esteatosis hepática e inflamación en comparación con las grasas poliinsaturadas (118,119). Además, las grasas monoinsaturadas, que son los principales tipos de grasas en una dieta mediterránea típica (MedDiet), pueden proteger de la EHGNA y de la resistencia a la insulina incluso sin pérdida de peso (120).

Sabemos que la dieta mediterránea mejora la sensibilidad a la insulina y ha demostrado que consigue una reducción significativa de la esteatosis de hasta el 39%, comparado con un 7% con una dieta baja en grasas y alta en hidratos de carbono (121). Este beneficio se postula que es debido al contenido en aceite de oliva (como ácido graso monoinsaturado) independiente del contenido calórico de la dieta, además del aumento de omega-3, fruta, vegetales, fibra y reducción de grasas saturadas, hidratos de carbono simples, bebidas azucaradas y alimentos procesados ricos en fructosa, grasas trans y alcohol (122).

Los carbohidratos simples también se han asociado con probabilidades significativamente más altas de desarrollar EHGNA e inflamación hepática a través de DNL (lipogénesis de novo ) (123,124). La ingesta elevada de fructosa se ha asociado directamente con DNL hepático, EHGNA y fibrosis (125-127), mientras que la reducción de la fructosa en la dieta conduce a una mejora en EHGNA (128-130).

El comportamiento sedentario y la inactividad física se han asociado con EHGNA en varios estudios. Un estudio transversal coreano en pacientes con EHGNA observó que a medida que aumentaba el tiempo sentado, la razón de prevalencia de EHGNA también aumentaba [razones de prevalencia (IC del 95%) para NAFLD comparando 5-9 y  $\geq 10$  horas / día de tiempo sentado con  $< 5$  h / día fueron 1,04 (1,02-1,07) y 1,09 (1,06-1,11), respectivamente ( $p < 0,001$ )]. Se vió también que la actividad física mínima redujo el riesgo en un 6% en comparación con el grupo inactivo (131). En comparación con los controles sanos, las personas con EHGNA caminan menos y son más sedentarias (132,133).

La sarcopenia, asociada a la inactividad, se asocia también con un mayor riesgo de EHGNA y enfermedad hepática progresiva, independientemente de la resistencia a la insulina y la obesidad (134,135). La resistencia a la insulina, a su vez, puede conducir a la pérdida de masa muscular y al aumento de la cantidad de grasa muscular, que se correlacionan con el contenido de grasa en el hígado. El músculo esquelético es también un órgano endocrino que secreta mioquinas, posiblemente participando en la fisiopatología de la EHGNA (136).

La elección de la dieta debe ser personalizada y basada en las comorbilidades y las preferencias del paciente. Se recomienda el consumo habitual de café con cafeína en pacientes con EHGNA. El consumo del mismo ha sido asociado con la mejora histológica del daño hepático también por otras etiologías.

En cuanto al estilo de vida podemos decir que en términos epidemiológicos, el estilo de vida, es el conjunto de comportamientos o actitudes que desarrollan las personas, tanto saludables como nocivas para la salud. En los países desarrollados, los estilos de vida poco saludables causan numerosas enfermedades, entre ellas la EHGNA (137). Patología emergente y en continuo crecimiento, directamente relacionada con hábitos de vida poco saludables como el sedentarismo y/o dieta inadecuadas. Dentro del llamado triángulo epidemiológico causante de enfermedad, el estilo de vida estaría incluido dentro del factor huésped. El triángulo epidemiológico describe el modelo tradicional de aparición de enfermedades, mediante tres componentes, el huésped susceptible, agente externo y el ambiente que reúne al huésped y al agente externo.

En los países desarrollados se da la paradoja de que la mayoría de las enfermedades son producidas por los estilos de vida de su población, y sin embargo los recursos sanitarios se desvían hacia intentar curar estas enfermedades, en lugar de destinar más recursos económicos en la promoción de la salud y prevención de las enfermedades. En el caso de la EHGNA, este es el paradigma, ya que como veremos, la intervención más eficaz para frenar su evolución o revertir su evolución es la intervención con dieta y ejercicio y la política sanitaria más eficiente sería el diagnóstico temprano para poder intervenir precozmente y prevenir la evolución a fibrosis o a CHC.

### **1.3.4 Microbiota intestinal**

El microbioma humano incluye 10-100 billones de microorganismos, la mayoría bacterias intestinales, que sobrepasan en mucho el número de células de nuestro organismo (138,139). La diversidad del microbioma se clasifica en alfa y beta según se refiera a la diversidad en una misma muestra o entre diferentes muestras

respectivamente (140). La mayoría de los estudios hasta la fecha se han centrado en el componente bacteriano del microbioma. El grupo más común de entre las bacterias son Bacteroidetes y Firmicutes, mientras que el Archaea predominante es Euryarchaeota (141). Sin embargo, es probable que organismos no bacterianos como archaeal residentes, hongos y poblaciones de virus puedan tener también protagonismo, principalmente en sus interacciones con el resto del microbioma. El cómo se desarrolla el microbioma desde el nacimiento podría tener implicaciones clínicas importantes a largo plazo en la EHGNA. Contribuyentes importantes del desarrollo del microbioma, incluyendo la microbiota de la leche materna, están influenciados por el entorno de la madre y su estilo de vida, quizás para preparar al niño para las condiciones en las que ha nacido y el entorno que le espera. La vida temprana del bebé es un periodo crítico para las interacciones metabólicas entre los microorganismos huéspedes, así el tipo de nacimiento, el tipo de alimentación y el uso precoz de antibióticos son factores que condicionarán el microbioma del niño.

El término disbiosis, se refiere a la alteración del microbioma normal del intestino. La disbiosis puede ocurrir como resultado de una gran variedad de situaciones como factores ambientales, inmunológicos y/ o factores del huésped como alteraciones en la vía biliar, el pH gástrico o dismotilidad intestinal. Cada vez hay más evidencia de la relación existente entre la disbiosis y la patología hepática, e incluso en el rol que la disbiosis juega en la aparición y desarrollo de la EHGNA y otros trastornos metabólicos relacionados. Aunque también está claro el posible papel clave de la disbiosis en otras enfermedades, como por ejemplo colitis ulcerosa y la colangitis esclerosante primaria (142), enfermedades que presentan en común la desregulación entre intestino e hígado.

Estudios realizados en ratones sugerirían que la alteración y tratamiento de la microbiota podría ser útil a la hora de mejorar la insulina resistencia en humanos y

consecuentemente podría ser también de beneficio en el tratamiento de la EHGNA (143). Es igualmente importante que la disbiosis pudiera afectar directamente al tejido adiposo, influenciando los niveles de adipocinas, citoquinas pro y anti inflamatorias y la oxidación grasa, que podría tener efectos en el hígado (144).

La composición de la microbiota intestinal es muy individual y se sabe que regula la homeostasis del tracto GI, el metabolismo y el sistema inmunológico del huésped (145). Cada vez hay más pruebas que apoyan la implicación de la microbiota intestinal en la patogenia y la progresión de la EHGNA, a través del llamado eje intestino-hígado (GLA) (146,147). El GLA es una relación bidireccional entre el tracto gastrointestinal y el hígado: en una dirección, el hígado recibe la mayor parte de su suministro de sangre de la vascularización intestinal, quedando así expuesto a toxinas y nutrientes, la microbiota misma y sus subproductos (148-150). En la otra dirección, el tracto GI recibe, a través del conducto biliar, un producto hepático en forma de ácido biliar. Debido a su estrecha relación, los cambios en la permeabilidad intestinal y / o la microbiota intestinal pueden afectar al hígado (150). El aumento de la permeabilidad intestinal y el sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado se encuentran con frecuencia en la EHGNA y parecen correlacionarse con la gravedad de la enfermedad (78,151). Los mecanismos por los cuales la microbiota intestinal puede promover la EHGNA son varios e incluyen: 1) aumento de la producción y absorción de ácidos grasos de cadena corta en el intestino; 2) metabolismo alterado de la colina en la dieta por la microbiota; 3) metabolismo de los ácidos biliares alterado por la microbiota; 4) mayor suministro de etanol derivado de la microbiota al hígado; 5) alteraciones de la permeabilidad intestinal y liberación de endotoxinas; 6) interacción entre dieta específica y microbiota (78,147). La dieta afecta fuertemente la composición y la calidad de la microbiota intestinal, sin embargo, es posible que no lo haga sola. El GLA también podría contribuir a los cambios de la microbiota intestinal, independientemente de la composición de la dieta (152).

### 1.3.5 Genética

Cada vez hay más datos que apuntan a que la carga genética contribuye a la variación en el contenido graso del hígado (152). En un estudio en gemelos realizado en Dinamarca, se sugiere que la heredabilidad de las concentraciones séricas de ALT sería entre 33-48% independientemente del BMI y del consumo de OH. Este hallazgo se ha confirmado en una cohorte finlandesa de 313 gemelos donde la heredabilidad de las concentraciones de ALT eran del 55% (153). En el Dallas Heart Study, el contenido de grasa hepática se midió cuantitativamente usando <sup>1</sup>H-MRS, y se realizó el estudio genético conocido como genome-wide association (GWAS) donde se observó que el rs738409 SNP en el gen PNPLA3 está fuertemente asociado con el contenido de grasa elevado en hígado ( $p=3.4 \times 10^{-4}$  en Europeos Americanos,  $p=7.5 \times 10^{-9}$  en Afro Americanos, y  $p=2.0 \times 10^{-10}$  en hispanos (65). Las otras 9228 variantes genéticas analizadas no estaban significativamente asociadas con el contenido de grasa hepático (65).

La EHGNA hemos visto que se explica principalmente por factores ambientales; sin embargo, los factores genéticos como hemos visto, pueden influir en la respuesta a la ingesta calórica excesiva a largo plazo, el estrés oxidativo o la producción y actividad de citocinas, y a determinar la progresión de la enfermedad. Varios estudios han identificado los genes involucrados en la EHGNA, pero solo dos de ellos se han identificado repetidamente: la fosfolipasa 3 similar a la patatina (PNPLA3), expresada en el hígado y el tejido adiposo, y el miembro 2 de la superfamilia transmembrana 6 (TM6SF2), expresado en el hígado (154).

Una variante genética en PNPLA3, el alelo I148M, está asociada con la inflamación y la fibrosis por acumulación de grasa hepática. En comparación con los no portadores, los portadores de esta variante tenían un contenido de grasa hepática un

73% mayor y un riesgo 3,2 veces mayor de actividad necroinflamatoria y fibrosis (78,155). El polimorfismo I148M puede explicar el 5,3% de la varianza genética total atribuida a EHGNA [89]. En la población general, su prevalencia es de alrededor del 30-50% y, curiosamente, es más alta entre los hispanos y más baja entre los africanos, lo que corresponde a las diferencias étnicas en la prevalencia de EHGNA (156,157).

Una variante del gen TM6SF2, el rs58542926 se ha asociado con niveles elevados de ALT y aspartato transaminasa (AST), y con niveles reducidos de colesterol VLDL (77). En un estudio de casos y controles de pacientes con EHGNA, la variante se asoció con fibrosis hepática avanzada (158).

### **1.3.6 Estrés oxidativo**

En los últimos años, el estrés oxidativo ha surgido como una posible causa principal de la acumulación de grasa en el hígado y las especies reactivas de oxígeno (ROS) pueden desempeñar un papel en el desarrollo de la fibrosis.

En pacientes con EHNA se ha encontrado disfunción mitocondrial, anomalías ultraestructurales (159,160), menor actividad de los complejos de la cadena respiratoria (161,162), fosforilación oxidativa deficiente, una capacidad para sintetizar ATP menor, un descenso en la concentración de ATP intracelular (163) lo que compromete la respuesta de la célula ante cualquier tipo de daño celular (164) y daño en el DNA mitocondrial (165). Las anomalías ultraestructurales no se han observado en pacientes con esteatosis simple (165). De una forma muy simplista, se puede considerar que las causas de una menor capacidad de producir ATP son dos: a) la interrupción o bloqueo de la cadena respiratoria en cualquier punto, lo que provoca una reducción en el transporte de electrones de todos los complejos anteriores, que se verán forzados a donar los electrones a la molécula de oxígeno; y



b) la disipación del gradiente de protones a ambos lados de la membrana mitocondrial interna que impulsa a la ATP sintasa.

Los mecanismos de estrés oxidativo más frecuentemente descritos en la EHGNA incluyen, como hemos mencionado, la disfunción mitocondrial, el estrés del retículo endoplásmico y la sobrecarga de hierro, que también se han relacionado con la resistencia a la insulina, la obesidad y la DM2 (166).

La relación firme entre la resistencia a la insulina y el HGNA ya ha quedado establecida y como afirman Pérez-Aguilar et al. (167), se puede afirmar que sólo en un grupo de pacientes con HGNA se detecta sobrecarga de hierro. La propia resistencia a la insulina podría estar detrás de parte de estas sobrecargas férricas (168,169).

Sabemos que un tercio de los pacientes con EHGNA desarrollan el síndrome de sobrecarga de hierro dis metabólica (DIOS), cuya patogénesis es desconocida. Se ha detectado que la producción de la hepcidina (péptido regulador del hierro), está alterada en la EHGNA pero no está claro por qué (170).

En EHGNA con o sin sobrecarga ferrica, la hepcidina serica y el HAMP mRNA en hígado se correlacionan con la sobrecarga de hierro pero no con el grado de esteatohepatitis y estado lipídico. Así, se puede afirmar, que el sindorme de sobrecarga de hierro dismetabolica (DIOS) que se observa en la EHGNA no está provocada por una alteración en la síntesis de la hepcidina.

En aproximadamente un tercio de los pacientes con EHGNA se ha observado un leve aumento en la acumulación de hierro en el hígado, no relacionado con la hemocromatosis hereditaria (HHC), y una hiperferritinemia moderada en el contexto del SMet (171,172). Esta afección, como hemos comentado, se ha denominado “síndrome de sobrecarga dismetabólica de hierro (DIOS)” y puede influir

significativamente en la progresión de la EHGNA a una lesión hepática más avanzada (172).

El exceso de hierro se asocia con estrés oxidativo y la producción de ROS, citocinas proinflamatorias y profibróticas, que pueden potenciar el desarrollo de EHNA (173). Así mismo, la hiperferritinemia se ha descrito como un marcador temprano de resistencia a la insulina (174,175).

## **1.4 Asociación de EHGNA con enfermedades y factores de riesgo**

### **1.4.1 Síndrome metabólico**

Se ha observado que los pacientes con síndrome metabólico tienen más probabilidades de presentar EHGNA y EHNA independientemente de la DM2, en comparación con aquellos sin síndrome metabólico (16,176-178). La relación entre síndrome metabólico y EHGNA se explica en gran medida por la obesidad abdominal y la resistencia a la insulina (179). Una revisión reciente de Lonardo et al. (180) resume los hallazgos de 15 estudios que, en conjunto, sugieren que la EHGNA precede a varias manifestaciones del síndrome, posiblemente mediados por la resistencia a la insulina y puede ayudar a explicar por qué, en un estudio japonés de seguimiento de 3 años los sujetos con resistencia a la insulina y EHGNA tenían 1,6 veces más probabilidades de desarrollar DM2 que los pacientes con resistencia a la insulina pero sin EHGNA (181).

La dislipidemia tiene una prevalencia global combinada del 69% en pacientes con EHGNA y del 72% en EHNA. En concreto, la hipertrigliceridemia tiene una prevalencia global combinada del 41% en la EHGNA y del 83% en la EHNA (46). La dislipidemia es tanto un factor de riesgo como una consecuencia de la EHGNA,

y puede explicar el mayor riesgo de ECV característico de la EHGNA (181). La dislipidemia en la EHGNA está relacionada con un aumento de la captación hepática de FFA o también conocidos como ácidos grasos no esterificados, un aumento de la secreción hepática de VLDL y TG a través de lipogénesis hepática de novo o DNL y una eliminación desregulada de las lipoproteínas de la circulación (181,182). La desregulación del metabolismo de las lipoproteínas en la EHGNA es una manifestación de lipotoxicidad, inflamación y disfunción mitocondrial causada por acumulación de grasa hepática; de hecho, a medida que la enfermedad progresa a estadios más avanzados, también aumenta la gravedad de la dislipidemia (183).

A nivel mundial, la prevalencia global combinada de HTA en EHGNA y EHNA es del 39% y 68%, respectivamente (46). Además, aproximadamente el 50% de los pacientes con HTA tienen EHGNA. Una vez más, EHGNA e HTA tienen una relación bidireccional, donde la EHGNA puede influir en el desarrollo de HTA y la HTA puede conducir a una enfermedad hepática más grave (184) y contribuir en gran medida al aumento del riesgo de eventos cardiovasculares y cerebrovasculares en la población con EHGNA. Los estudios sobre la asociación de HTA y EHGNA son limitados, sin embargo, un metaanálisis reciente que prueba su asociación, se concluyó que la EHGNA está asociada con HTA de nueva aparición, y que la HTA está relacionada con el desarrollo de EHGNA y con su progresión a estadios más avanzados. Según el metanálisis, la resistencia a la insulina y la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) pueden ser el vínculo entre las dos condiciones (185). Curiosamente, en un estudio transversal de pacientes hipertensos con EHGNA comprobada por biopsia, la terapia con inhibidores de RAAS combinados con un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) o un bloqueador del receptor de angiotensina (BRA) se asoció con fibrosis hepática menos avanzada en comparación el grupo de control (186).

### **1.4.2 Diabetes Mellitus**

La prevalencia global combinada global de DM2 en EHGNA y EHNA es del 23% y 44%, respectivamente (46). Por otro lado, aproximadamente el 70% de los pacientes con DM2 tienen EHGNA (186), y cuando su perfil metabólico empeora, existe una tendencia a que la EHGNA progrese a EHNA y fibrosis (187).

El estudio longitudinal de Ekstedt y cols. (42), mostró que en una cohorte de 129 adultos suecos con EHGNA comprobada por biopsia y niveles elevados de transaminasas séricas, la prevalencia de DM2 y tolerancia alterada a la glucosa pasó del 8,5% al inicio del estudio al 80% al final del mismo tras un período de 14 años. Además, en los pacientes con EHNA, el riesgo de desarrollar DM2 fue aproximadamente tres veces mayor que en aquellos con esteatosis simple durante el período de seguimiento. De manera similar, en un estudio de seguimiento de 5 años, hubo una correlación positiva entre el grado de EHGNA y el desarrollo de DM2, incluso después de ajustar por factores de riesgo comunes (188).

Una vez que la DM2 y la EHGNA están presentes, se ha sugerido que esta última se convierte en un predictor independiente de la progresión de la EHGNA a fibrosis avanzada (187,189,190). Los pacientes con DM2 tienen EHGNA más grave y una mayor prevalencia de EHNA y fibrosis en comparación con aquellos sin DM2 (191).

### **1.4.3 Enfermedad renal crónica**

La ERC se define como una reducción estimada de la filtración glomerular (eGFR), o microalbuminuria o proteinuria. La ERC a menudo afecta a personas con factores de riesgo metabólicos ya conocidos, los cuales incluyen hipertensión y DM. Existen nuevos estudios donde se revela que la EHGNA está asociada independientemente

con el incremento en la prevalencia de ERC, por lo que los pacientes con EHGNA parecen tener mayores rangos de ERC comparado con los pacientes sin EHGNA (192).

Por otro lado, se reportó en 11.469 adultos estadounidenses que no existe mayor riesgo para ERC en pacientes diagnosticados con EHGNA mediante ultrasonido, después de la remisión del SMet (193).

Sin embargo, la evidencia reciente de un estudio de cohorte en adultos sin ERC confirmó que la EHGNA se asoció con un mayor riesgo de desarrollo de ERC. Además, se documentó que la EHGNA puede afectar negativamente la función renal, y es posible que los pacientes deban ser controlados cuidadosamente de la función renal por el riesgo incrementado de daño renal a largo plazo (194).

Debido a esto, se recomienda el cribado de ERC con evaluación anual de eGFR y microalbuminuria en pacientes con EHGNA. Actualmente se sugiere que la EHGNA es un marcador de ERC. La lipotoxicidad subyacente, el estrés oxidativo y la inflamación crónica en la EHGNA son considerados contribuyentes importantes de la patogénesis de la ERC mediante la activación de las vías de inflamación, promoción de la disfunción endotelial, niveles alterados de la fetuinaA y adiponectina, y la sobrerregulación de las moléculas de adhesión, además de la aterogénesis incrementada. Desafortunadamente, en la mayoría de los estudios que muestran esta asociación no se utilizó biopsia renal, por lo que no se sabe si la EHGNA está asociada con un tipo histológico particular de ERC. La adiponectina y la fetuinaA son mediadores de RI y ligandos clave entre la obesidad, la enfermedad hepática y la enfermedad renal. La fetuinaA es un promotor de RI; secretada por el hígado, regula la producción de adiponectina por el tejido adiposo. Los niveles bajos de adiponectina se correlacionan con microalbuminuria y proteinuria. El mecanismo

parece ser la disminución en la proteína quinasa activada por AMP<sup>5</sup> en los podocitos, que resulta en albuminuria (195).

La función renal alterada y el aumento de las concentraciones de albúmina en orina son factores de riesgo bien conocidos de ECV (196). La prevalencia comunicada de ERC en EHGNA oscila entre el 20 y el 50%, en comparación con el 5-30% en pacientes sin EHGNA (197). En un metanálisis reciente que incluyó 20 estudios (9 longitudinales y 11 transversales para un total de 29282 participantes), la progresión de la EHGNA se asoció con la gravedad de la ERC, definida como una tasa de filtración glomerular estimada (TFGe) <60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> o proteinuria. Específicamente, la EHGNA se asoció con un mayor riesgo de ERC prevalente e incidente (OR 2,12; IC del 95%: 1,69-2,66; HR 1,79; IC del 95%: 1,65-1,95; respectivamente), incluso después de ajustar por factores de riesgo significativos. Un análisis más detallado también reveló que, independientemente de la DM2 y otros factores de riesgo, la EHGNA se asoció con una mayor prevalencia e incidencia de ERC que la esteatosis simple (OR 2,53; IC del 95%: 1,58-4,05; HR 2,12; IC del 95%: 1,42-3,17; respectivamente); y que la fibrosis avanzada se asoció con una mayor prevalencia e incidencia de ERC que la fibrosis no avanzada (OR 5,20; IC del 95%: 3,14-8,61; HR 3,29; IC del 95%: 2,30-4,71; respectivamente) (198).

## **1.5 Diagnóstico de EHGNA**

La EHGNA generalmente no causa ningún síntoma, aunque algunos pacientes pueden quejarse de fatiga y debilidad inespecíficas, o un vago dolor abdominal en el lado derecho. En muchas ocasiones se llega al diagnóstico de forma casual tras la realización de una prueba de imagen por otro motivo.

El diagnóstico de EHGNA en cualquier parte del espectro, se basa en las siguientes características clave (199):

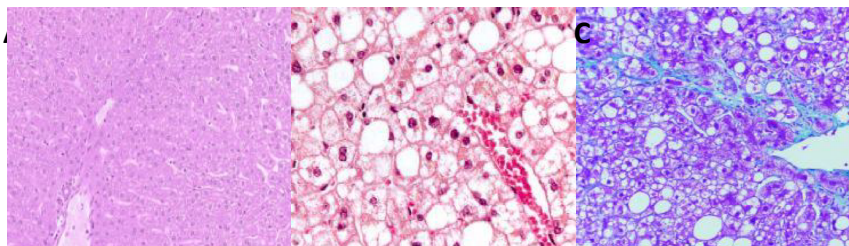
- 1) Características histopatológicas, de las cuales la presencia de daño hepático graso es esencial.
- 2) Rigurosa exclusión del alcohol como causa de la enfermedad ( $\leq 20$  g/día mujeres y  $\leq 30$  g/d hombres).
- 3) Exclusión rigurosa de otras formas de enfermedad hepática crónica.

A la mayoría de los pacientes se les diagnostica EHGNA después de realizar pruebas de función hepática por otras razones médicas. Normalmente, los resultados demuestran un aumento anormal de AST, ALT, gamma glutamil transferasa (GGT) y, ocasionalmente, aumento de la fosfatasa alcalina en presencia de MetS. Aunque los niveles elevados de enzimas hepáticas no están relacionados con la gravedad de la enfermedad, es probable que una prueba de función hepática anormal persistente prediga la EHGNA (190,200,201).

### **1.5.1 Biopsias y estadios hepáticos**

El *gold standard* para diagnosticar la EHGNA y determinar el estadio de la enfermedad es realizar una biopsia de hígado (20) (Figura 3). Sin embargo, la realización de este procedimiento en todos los pacientes con sospecha de EHGNA es un tema controvertido por razones prácticas, económicas y de seguridad (202), ya que se trata de un procedimiento invasivo y no exento de riesgos. Según la Asociación Estadounidense para el Estudio de Enfermedades Hepáticas (AASLD) (203), la biopsia hepática debe restringirse a los pacientes que se beneficiarían más del diagnóstico. Por otro lado, la Asociación Europea para el Estudio de la Enfermedad Hepática recomienda la biopsia hepática en todos los sujetos de cirugía

bariátrica y como criterio de valoración en todos los ensayos clínicos (204). Al realizar una evaluación histológica, es posible determinar el estadio de la enfermedad y, por lo tanto, distinguir entre EHNA, lesiones con o sin potencial de progresión y fibrosis (202).



**Figura 3:** Biopsias de hígado mostrando: (A) Hígado normal, (B) Hígado graso, y (C) Hígado fibroso.  
(Fuente: <https://pathologypics.com>)

En 1999, Brunt y col. (205) desarrollaron un sistema de clasificación y estadificación semicuantitativa que proporcionó una herramienta unificada estándar para informar de las lesiones histopatológicas de la EHNA y la fibrosis. Los parámetros considerados fueron esteatosis, inflamación lobulillar y portal y abombamiento; y los estadios fueron leve (estadio 1), moderado (estadio 2) y severo (estadio 3). La estadificación de la fibrosis se basó en patrones de fibrosis que reflejan su progresión y remodelación arquitectónica.

En 2005, la Red de Investigación Clínica de EHNA (CRN) publicó un sistema revisado que se denominó “Puntuación de actividad de EHGNA (NAS)” (Tabla 1). El NAS es la suma de las puntuaciones de cada categoría o lesión: esteatosis (0-3), inflamación lobulillar (0-3) y abombamiento (0-2), por lo que van de 0 a 8. Fibrosis, como en el caso anterior sistema, se mantiene separado de otras características (206).



**Tabla 1:** EHNA CRN – EHGNA sistema de score.

Grado de Steatosis Grasa hepática %)	inflamación Lobular (foci per 200 x field)	Células hepáticas balonizadas (núm de hepatocitos balonizados)
<b>0:</b> < 5	<b>0:</b> Ninguno	<b>0:</b> Ninguno
<b>1:</b> 5-33	<b>1:</b> < 2	<b>1:</b> Algunos
<b>2:</b> 34-66	<b>2:</b> 2-4	<b>2:</b> Muchos
<b>3:</b> > 66	<b>3:</b> > 3	

Adaptado de *Nalbantoglu I.L. et al, 2014 (202)*

## 1.5.2 Técnicas de imagen para la evaluación de la EHGNA

### 1.5.2.1 Ecografía

La ecografía es el método diagnóstico de la EHGNA más utilizado debido a su bajo coste, seguridad, inocua, nada invasivo, y accesible. Las características ecográficas de la esteatosis hepáticas son el aumento de la ecogenicidad (hiperecogenicidad hepática) generando el llamado “hígado brillante”, la pérdida de definición de estructuras profundas (como diafragma, vasos, segmentos posteriores hepáticos) (207).

Tiene algunas limitaciones como menor precisión para esteatosis leve, obesidad mórbida y variabilidad interobservador (subjetividad).

Podemos afirmar por tanto que la ecografía es la prueba de elección en la evaluación inicial de los pacientes con sospecha de esteatosis hepática.

La severidad de la EHGNA se puede clasificar en una escala de 4 grados: normal (grado 0), leve (grado 1), moderado (grado 2), y severo (grado 3) [208-210]. La precisión de la ecografía será mayor cuando el porcentaje de depósito graso supera el 20%, por eso en esteatosis leves la precisión disminuye (207). Por otro lado, la fibrosis hepática también puede aumentar la ecogenicidad y reducir la precisión de la prueba en el diagnóstico (211).

### **1.5.2.2 Tomografía Computerizada**

La Tomografía Computerizada (TC) tiene una sensibilidad de 82% y una especificidad del 100 % para diagnosticar esteatosis hepática cuando el contenido de grasa es mayor o igual al 30 %. Igual que ocurre con la ecografía, la TC es más exacta cuando se diagnostican esteatosis grado 2-3 que no las leves. Aunque es un método rápido y no operador dependiente, se debe tener en cuenta la radiación a la que se expone al paciente.

La evaluación se realiza sin contraste ya que esto permite una evaluación más cuantitativa de la atenuación hepática. El grado de disminución de la atenuación hepática es el mejor determinante del grado de contenido de grasa hepática. Dicha atenuación se mide en unidades Hounsfield (Hus).

### **1.5.2.3 Resonancia Magnética**

Múltiples estudios concluyen que la resonancia magnética es el método diagnóstico por imagen más sensible para la detección de grasa intrahepática, siendo superior a la ecografía y la TC (208-210). Además se ha encontrado muy buena correlación

entre RM e histología en pacientes con EHGNA y puede detectar esteatosis con sólo un 3% de contenido graso (208-210); pero lo más interesante de esta técnica es que la evaluación de esteatosis hepática se hace de forma objetiva utilizando un biomarcador de concentración de tejido graso estandarizado basado en la RM, el llamado *proton density fat fraction* (PDFF) (imágenes paramétricas de la fracción grasa) que define la cantidad de grasa hepática dividiendo el número de protones unidos a la grasa entre el número total de protones en el hígado, siendo un índice cuantitativo y reproducible.

#### **1.5.2.4 Elastografía**

Los métodos de diagnóstico por imagen que hemos comentado, como la ecografía, la TC y la RM pueden evaluar la esteatosis hepática, ninguno de ellos puede evaluar la fibrosis y la EHNA. El método más fiable para su diagnóstico sería la biopsia hepática, pero es un método invasivo y no exento de complicaciones, por lo que la elastografía está emergiendo como un método fiable para la evaluación no invasiva de la fibrosis y la EHNA, mediante la medición de la elasticidad del tejido hepático. Dicha elasticidad se mide mediante la velocidad de una onda por ecografía y/o RM. Para ecografía existen distintas técnicas, la elastografía transitoria (FibroScan), la de onda supersónica y la de radiación acústica (ARFI), siendo la primera la más utilizada. Este tipo de técnicas han demostrado alta exactitud para diferenciar entre fibrosis hepática severa de fibrosis leve, son sensibilidad de 88.9% a 100% y especificidad de 75 a 100%, puede detectar por tanto cirrosis con alta exactitud pero la precisión disminuye en los estadios de menor fibrosis. Pero, como la rigidez del hígado no se correlaciona con el grado de inflamación, no se puede evaluar EHNA sin fibrosis (212-216).

## **1.6 Estrategias de manejo de la EHGNA**

La prevalencia e incidencia de la EHGNA a nivel mundial son variables dependiendo de la población estudiada. Los datos son muy diversos debido a que el diagnóstico depende del método y criterio utilizado. Se estima que en EEUU la prevalencia en la población general varía del 3 al 23 %. En población latina la prevalencia evaluada por ecografía hepática fué de 15% en México y en Brasil, entre mujeres obesas, 33%. Sabemos que durante la última década la EHGNA ha ido aumentando, pero sin embargo todavía son escasos los datos sobre los factores que puedan predecir su progresión clínica, lo que limita la disponibilidad de intervenciones terapéuticas efectivas (49,217).

### **1.6.1 Farmacoterapia**

La enfermedad del hígado graso no alcohólico, EHGNA, es una enfermedad dinámica, altamente prevalente y que ocurre en todo el espectro de edad y puede conducir a cirrosis y carcinoma hepatocelular. Su historia natural, el desarrollo de esteatohepatitis no alcohólica, EHNA y fibrosis, es muy variable, y puede presentar variaciones por diferentes circunstancias; ya sean endógenas, de la propia persona, como por ejemplo, la genética, microbiota; y/o exógenas, por ejemplo, tipo de nutrición, ingesta de alcohol, actividad física, consumo de tabaco y además puede fluctuar con el tiempo.

La complejidad de su fisiopatología se refleja en la multitud de dianas farmacológicas en desarrollo.

Actualmente no hay tratamientos aprobados por la Administración de Drogas y Alimentos de los EE. UU. (FDA) para NAFLD, ni por la Agencia Europea del Medicamento; sin embargo, este es un campo de investigación activa. Las farmacoterapias investigadas se dirigen predominantemente a la señalización de ácidos biliares, la resistencia a la insulina y el manejo de lípidos dentro del hígado, dirigidas a distintas dianas terapéuticas como se puede observar en la Figura 4.

Tres fármacos han pasado a ensayos de fase III para los que se dispone de resultados. De ellos, el ácido obeticólico es el único agente que demuestra ser prometedor según los análisis intermedios del ensayo REGENERATE (218). El ácido obeticólico mostró una reducción de la fibrosis en adultos con esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) que tomaron 25 mg al día durante 18 meses (n=931, reducción de la fibrosis en un 25% frente a un 12% con placebo,  $p<0,01$ ). Actualmente hay ensayos que investigan el agonista del receptor  $\beta$  de la hormona tiroidea MGL-3196 y también están disponibles los resultados de ensayos de fase II prometedores en adultos con EHNA y en ellos se han investigado agentes, incluido el factor de crecimiento de fibroblastos FGF19 análogo NGM282, el agonista de GLP1 liraglutida, el análogo de FGF21 Pegbelfermin, el inhibidor del cotransportador de sodio y glucosa 2 Empagliflozin, el inhibidor de cetohexocinasa PF-06835919, el inhibidor de acetil-coenzima A carboxilasa GS-0976 y el antagonista del receptor de quimiocinas Cenicriviroc. Los ensayos clínicos completados y en curso enfatizan la necesidad de una comprensión más matizada de los fenotipos de los subgrupos dentro de NAFLD que pueden responder a un enfoque individualizado de la farmacoterapia (218).

Hasta ahora los tratamientos más estudiados han sido:

- Metformina, es una biguanida que se ha estudiado en EHGNA tanto adultos como edad pediátrica. Se ha visto que mejora el perfil analítico de las

transaminasas y mejora la insulino resistencia pero desgraciadamente no tiene un impacto significativo en la histología hepática (218).

- Tiazolidinediona, la pioglitazona se ha estudiado en adultos con EHNA (con o sin DM2), y es superior a placebo reduciendo la inflamación y la fibrosis. Mejora la acción de la insulina en DM2 mediante la activación del receptor PPAR- $\gamma$  que modula la transcripción de genes implicados en el metabolismo lipídico (219). En la EHGNA modula la distribución del tejido adiposo y reduce el acúmulo de grasa hepática y adiposa, además mejora la histología en la EHNA (219-222). Pero presenta algunas limitaciones de su seguridad respecto al aumento de fracturas en ancianos y riesgo de cáncer de vejiga.
- Otros antidiabéticos, como la Liraglutida (GLP 1) parece que reducen la esteatosis y mejoran la fibrosis hepática (223,224), de todas formas, de acuerdo a la AASLD, todavía hay poca evidencia y es prematuro considerar las GLP1 como tratamiento para la EHGNA/EHNA (203).
- Vitamina E, esta vitamina antioxidante, eliminadora de radicales libres, se ha demostrado superior que el placebo mejorando la histología de la EHNA. Se considera que el estrés oxidativo está implicado en la progresión de EHNA y fibrosis (225,226). Se sabe que disminuye la actividad de las aminotransferasas séricas, reduce la esteatosis, la inflamación y la distensión abdominal, pero no mejora la fibrosis en pacientes con EHNA sin DM2 (227-229). La evidencia sobre la vitamina E en pacientes con DM2 aún es escasa, y la AASLD no recomienda dicho tratamiento en personas con DM2 coexistente (203). Además, la preocupación con la vitamina E se refiere a la seguridad a largo plazo, ya que en un gran ensayo controlado aleatorio (ECA) publicado en 2011, 400 UI/día de vitamina E en forma de acetato de rac- $\alpha$ -tocoferilo aumentó significativamente el riesgo de cáncer de próstata como en

comparación con el placebo (aumento absoluto de 1,6 por 1000 años-persona de uso de vitamina E) (230). Por lo tanto, la vitamina E tampoco se recomienda en personas sin EHNA y fibrosis y en aquellas con antecedentes personales o familiares de cáncer de próstata (231).

- Otros, como pre/pro bióticos y ácidos omega 3. Los primeros mejoran los niveles de transaminasas y otros marcadores metabólicos pero no hay suficientes estudios que apoyen su recomendación de forma universal.
- Los ácidos grasos omega 3 han sido estudiados extensamente y aunque desde un punto de vista de reducción de la esteatosis parece que son efectivos, sin embargo no tienen ningún impacto sobre la inflamación y la fibrosis.

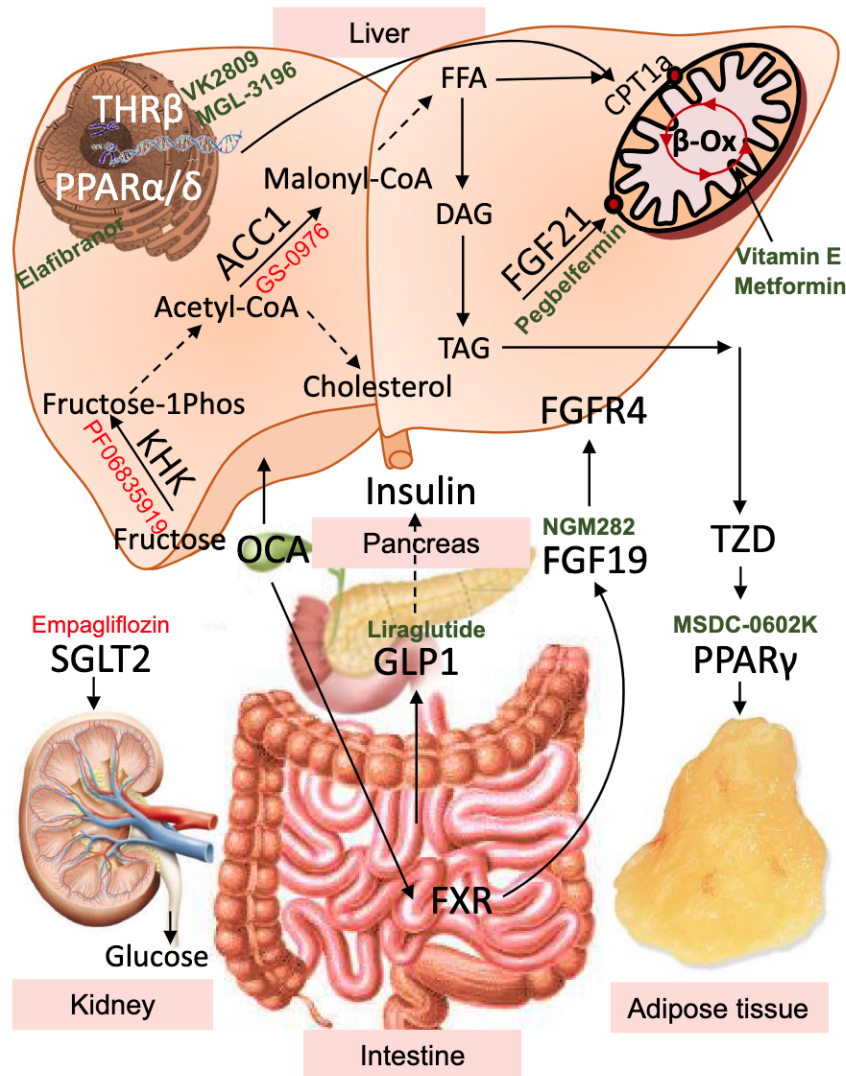


Figura 4: Vías específicas de tejido diana a las que se dirigen las nuevas farmacoterapias. Las nuevas terapias, bajo investigación, para el tratamiento de la EHGNA se dirigen a las vías metabólicas en el hígado y otros tejidos. La fructosa metabolizada en el hígado apoya la lipogénesis de novo. PF-06835919 se dirige a la cetohecoxinasa (KHK), la enzima limitante de la velocidad del metabolismo de la fructosa. La conversión de acetyl-CoA a malonil-CoA por acetyl-CoA carboxilasa (ACC) es el primer paso comprometido en la lipogénesis. La malonil-CoA es un inhibidor de la carnitina palmitoiltransferasa 1 alfa, la enzima limitante del metabolismo de los ácidos grasos. GS-0976 es un inhibidor de ACC, por lo que previene la lipogénesis y aumenta la oxidación de ácidos grasos. Sin embargo, el aumento de la reserva de acetyl-CoA puede servir como sustrato para la síntesis de colesterol. Una vez que la grasa se produce en el hígado, se puede oxidar en las mitocondrias para generar energía. El Elacibránor es un proliferador de peroxisomas activado agonista de los receptores alfa/delta (PPAR  $\alpha/\delta$ ) que aumenta la oxidación de ácidos grasos. MGL-3196 y VK2809 son receptores beta de la hormona tiroidea THR- $\beta$ ) agonistas que aumentan la transcripción de genes para regular al alza la oxidación de ácidos grasos mitocondriales. El análogo del factor de crecimiento de fibroblastos 19 (FGF19) NGM282 y Pegbelfermin, así como el FGF21 humano PEGilado, funcionan en el hígado y otros tejidos a través del receptor del factor de crecimiento de fibroblastos 4 (FGFR4) para aumentar la utilización de glucosa y la oxidación de ácidos grasos. Mientras que FGF21 se produce en el hígado, FGF19 se produce en el intestino a través de la activación de FXR. El ácido obeticólico (OCA) es un ácido biliar semisintético que es un agonista de FXR muy potente en el hígado y el intestino. La activación de FXR en el hígado puede disminuir la conversión de colesterol en ácidos biliares, por lo que un efecto secundario común de OCA es el aumento del colesterol sérico. Los lípidos



producidos en el hígado, pero no oxidados, pueden excretarse del hígado para ser utilizados o almacenados en otros órganos, como el tejido adiposo.

Las tiazolidinedionas (TZD) son agonistas de PPAR gamma (PPAR  $\gamma$ ) que aumentan el almacenamiento de ácidos grasos en los adipocitos. Como tales, crean un sumidero para que el exceso de grasa del hígado se deposite en el tejido adiposo; por lo tanto, también pueden causar aumento de peso. MSDC-0602K es un agonista de PPAR $\gamma$  de segunda generación que tiene menos efectos secundarios sistémicos. La liraglutida es un análogo de la hormona péptido 1 similar al glucagón (GLP-1), secretada por el intestino, que aumenta la secreción de insulina estimulada por la glucosa. También disminuye el vaciamiento gástrico, lo que conduce a una disminución del apetito y pérdida de peso. La empagliflozina es un inhibidor de la proteína transportadora de sodio-glucosa 2 (SGLT-2) que actúa en el riñón para evitar la reabsorción de glucosa, lo que lleva a la pérdida de calorías a través de la glucosuria. Los agonistas están en color VERDE mientras que los antagonistas están en ROJO. Fuente: Attia et al, (218).

Los cambios en la dieta, la pérdida de peso y el aumento de la actividad física son actualmente la terapia de primera línea para los pacientes con EHGNA y EHNA. El tratamiento farmacológico concomitante tiene como objetivo tratar las comorbilidades metabólicas como la obesidad, la resistencia a la insulina, la DM2, la dislipemia y la hipertensión. La farmacoterapia destinada a la enfermedad hepática y la prevención de daño adicional debería iniciarse sólo después del fracaso de un programa de pérdida de peso y con una EHNA comprobada por biopsia con fibrosis concomitante en estadio  $\geq 2$  (F2) (56,203).

En resumen, el tratamiento con fármacos debe restringirse a los pacientes con esteatohepatitis y fibrosis significativa que no consiguen resolución de la esteatohepatitis después de una intervención con dieta y ejercicio físico durante un año.

De acuerdo con las pautas de práctica basadas en la evidencia para el manejo de EHNA/EHGNA publicadas en los EEUU, Japón y Europa, la pioglitazona y la vitamina E son las únicas farmacoterapias recomendadas para EHNA comprobada por biopsia, aunque como hemos comentado previamente, aún no se ha establecido la eficacia y seguridad a largo plazo (203,232-234).

## **1.6.2 Estrategias sobre hábitos de vida**

El único abordaje efectivo para la EHGNA/EHNA es a través de la prevención de los factores de riesgo asociados a ella, mediante modificaciones del estilo de vida y el tratamiento estricto de las comorbilidades metabólicas subyacentes (235-236). Es necesario y esencial tratar de forma precoz los factores de riesgo asociados con EHGNA, para prevenir la progresión de la enfermedad y para intentar la regresión del hígado graso o la EHNA ya establecida (203,233,234).

Sabemos que la pérdida de peso global mejora las características histopatológicas de la enfermedad. En un metanálisis que incluyó ocho ECA, de los cuales cuatro se sometieron a histología posterior al tratamiento, una pérdida de peso de al menos el 5% del peso corporal mejoró la esteatosis hepática, mientras que una pérdida de peso de más del 7% también mejoró la EHNA pero no modificó la fibrosis (237). Se mostraron resultados similares en un estudio prospectivo de 12 meses que incluyó a 261 pacientes sometidos a biopsias hepáticas pareadas, donde cuanto mayor era la pérdida de peso, más significativa era la mejoría en la histopatología, incluidas todas las características de EHNA y fibrosis (238). Sin embargo, la desventaja en los estudios sobre la pérdida de peso es el nivel de adherencia, donde solo alrededor de la mitad de los pacientes logran la pérdida de peso deseada dentro de la duración del estudio (237,238).

Concomitantemente con la pérdida de peso, la calidad y composición de la dieta también podría desempeñar un papel crucial en la prevención de EHGNA.

Se recomienda una dieta baja en calorías ya que, en general, el aporte de energía de la dieta es el factor de mayor influencia en la cantidad de grasa en el hígado, independientemente de si esta viene de una elevada ingesta de grasas o de carbohidratos (80). Respecto a la composición cualitativa de la dieta, las proporciones recomendadas son 50-60% de carbohidratos y 20-25% de lípidos. La

dieta mediterránea respeta estas proporciones y podría ser la dieta recomendada para el control del EHGNA. Sin embargo, no está asociada a una pérdida de peso significativa. En pacientes insulino dependientes hay que tener especial cuidado, ya que se ha demostrado una asociación significativa entre un índice glicémico de la dieta  $\geq 58$  y el desarrollo de esteatosis hepática (239).

Dado que el estrés oxidativo y la inflamación se han citado entre los mecanismos implicados en EHGNA (225,226,240), los alimentos que contienen componentes bioactivos, antioxidantes y antiinflamatorios, deben tenerse en cuenta al diseñar una dieta nutricionalmente adecuada para pacientes con EHGNA. La dieta mediterránea proporciona ingestas adecuadas de antioxidantes, fibra, ácidos grasos insaturados y es baja en grasas saturadas y proteínas animales, y se ha demostrado que previene y mejora las ECV, MetS y T2DM (241). La dieta mediterránea parece ser particularmente atractiva como una posible estrategia dietética para EHGNA, sin embargo, la cantidad de estudios es muy limitada y solo unos pocos estudios ofrecen datos emparejados sobre resonancias magnéticas o biopsias.

En un ensayo cruzado de 6 semanas que incluyó a 12 pacientes sin DMT2 con EHGNA, se demostró que, incluso sin pérdida de peso, la esteatosis evaluada por espectroscopia de resonancia magnética de protón (H-MRS) se redujo significativamente en el grupo de dieta mediterránea en comparación con el grupo de control que se sometió a una dieta baja en grasas/ alta en carbohidratos ( $39\% \pm 4\%$  versus  $7\% \pm 3\%$ , respectivamente) (120). Por otro lado, otro estudio en 49 sujetos con EHGNA diagnosticada con H-MRS, asignados al azar a dieta mediterránea ó a dieta baja en grasas, la esteatosis y las enzimas hepáticas se redujeron significativamente en ambos grupos y no se observaron diferencias en la semana 12. Además, en este caso, la reducción de la grasa hepática se logró en ausencia de una pérdida de peso significativa (243).

En cuanto al ejercicio, un metanálisis reciente que incluye 17 ECA que utilizan H-MRS o biopsia hepática para la medición del contenido de TG intrahepático (IHTG), muestra que, independientemente de la pérdida de peso, el ejercicio reduce el IHTG, sin embargo, los beneficios se duplican cuando se produce la pérdida de peso. Además, la reducción absoluta de IHTG fue significativamente mayor en los pacientes con mayor pérdida de peso (244).

Los datos sobre la evaluación de la combinación de dieta y ejercicio de entrenamiento en los resultados de EHGNA son muy limitados y rara vez utilizan resultados histopatológicos. Si se considera la pérdida de peso, la combinación de dieta y ejercicio da como resultado una mayor pérdida de peso en comparación con la dieta sola (245). Los estudios sobre el efecto combinado de la dieta y el ejercicio en las características de EHGNA muestran que la dieta y el ejercicio dieron como resultado una mayor mejora de los factores de riesgo de EHGNA (246) y el contenido de grasa hepática medido por H-MRS (247) en comparación con la dieta o el ejercicio solos. En el estudio de biopsia pareada más grande realizado hasta el momento, después de 52 semanas de dieta y ejercicio, la pérdida de peso se asoció con mejores características histológicas de EHNA. La mejoría más grande se observó con una pérdida de peso de más del 10% del peso corporal, mostrando las tasas más altas de reducción de esteatosis, resolución de EHNA y regresión de fibrosis (238).

## 1.7 Epidemiología de la EHGNA

### 1.7.1 Incidencia

La enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA) es la causa más frecuente de hepatopatía crónica en nuestro medio y se prevé un incremento de su incidencia en los próximos años en relación al aumento de la obesidad y el síndrome metabólico.

Hay pocos estudios que estimen la incidencia de la EHGNA, ya que todavía no disponemos de biomarcadores no invasivos y las biopsias de hígado son poco prácticas para realizar estudios poblacionales, así la mayoría de los estudios de los que disponemos están basados en diagnósticos ecográficos, con las limitaciones que este conlleva. Los estudios basados en el diagnóstico de RM, aunque son mucho más fiables que los anteriores, son todavía escasos debido al coste del mismo y a la disponibilidad limitada de dicho equipamiento (247).

En un estudio basado en ultrasonido que siguió a 11 448 sujetos durante 5 años, 1418 (12,39%) desarrollaron hígado graso (248). En otro estudio comunitario basado en ultrasonido con una mediana de seguimiento de 7 años, la incidencia de EHGNA aumentó 5 veces, de 62 por 100.000 persona/año a 329 por 100.000 persona-año (249). En un estudio asiático que utilizó MRS, la incidencia de hígado graso fue del 13,5% durante un período de 3 a 5 años (250). En un metanálisis de 237 estudios de Asia (18 estudios incluidos para el análisis de incidencia), utilizando diferentes métodos de diagnóstico, la tasa de incidencia anual combinada de EHGNA fue de 50,9 casos por 1000 años-persona (IC del 95%: 44,8–57,4). En pacientes con EHGNA, la incidencia anual de CHC fue de 1,8 casos por 1000 años-persona (IC del 95%: 0,8 a 3,1) y la tasa de mortalidad general fue de 5,3 muertes por 1000 años-persona (IC del 95%: 1,5 a 11,4) (251).

### **1.7.2 Prevalencia**

Los datos respecto a la prevalencia de EHGNA varían en función de la población estudiada (edad, sexo, raza, comorbilidades), de las diferencias geográficas y de los métodos diagnósticos utilizados. La mayoría de datos sobre la prevalencia de EHGNA proceden de estudios que han usado técnicas no invasivas, especialmente ecografía o resonancia magnética (RM) (252,253). La prevalencia de EHGNA en estudios que lo han evaluado únicamente mediante ecografía varía entre el 17 y el 46%. En España, la prevalencia estimada mediante estudios poblacionales es del 25,8% y el grado de fibrosis significativa, estimada mediante la combinación secuencial de elastografía de transición y biopsia hepática, es del 2,8% en la población general (254,255). Los resultados de un metaanálisis muy reciente que ha analizado un total de 86 estudios de 22 países con una muestra de más de 8 millones de individuos muestran una prevalencia global de EHGNA del 25%.

Como hemos comentado las variaciones geográficas van desde el 30 % en Oriente Medio y América del Sur, a la menor en África que se estima en el 13% (46) También Europa registra datos de prevalencia de hasta el 24% (256).

Es de destacar que la prevalencia de EHGNA en pacientes con DM2 es casi el doble en comparación con la población general. En un metanálisis se documentó que el 55,5% (IC 95% 47,3–63,7) de los pacientes con DM2 padece EHGNA y que la prevalencia es más alta en Europa (68,0% [IC 95% 62,1–73,0]) (257).

## 2.- Síndrome Metabólico

### 2.1 Diagnóstico del Síndrome Metabólico

El síndrome metabólico (SMet) es un conjunto de factores de riesgo metabólicos y cardiovasculares con una gran prevalencia (tabla 2), que predice la diabetes y enfermedades cardiovasculares (ECV) mejor que cualquiera de sus componentes de forma individual.

**Tabla 2.** Distribución de la prevalencia de Síndrome metabólico por decenios de edad

Edad (años)	SMet% (IC95%)			p
	Hombres	Mujeres	Total	
25-34	25 (14%) (8,9-19,1)	10 (4,4%) (1,7-7)	35 (8,6%) (5,9-11,3)	
35-44	69 (22,3%) (17,7-27)	40 (11,0%) (7,8-14,3)	109 (16,2%) (13,5-19)	<0,001
45-54	115 (38,6%) (33,1-44,1)	66 (20,8%) (16,3-25,2)	181 (29,4%) (25,8-33)	
55-64	107 (44,6%) (38,3-50,9)	128 (48,9%) (42,8-54,9)	235 (46,8%) (42,4-51,2)	
65-74	112 (55,7%) (48,9-62,6)	137 (63,1%) (56,7-69,6)	249 (59,6%) (54,9-64,6)	
75-79	55 (60,4%) (50,4-70,5)	87 (68%) (59,9-76,1)	142 (64,8%) (58,5-71,2)	
Total	438 (36,7%) (34,1-39,3)	468 (30,9%) (28,5-33,2)	951 (33,6%) (31,8-35,3)	<0,001

Fuente: Ascascosa et al. (258)

La última definición del síndrome metabólico por la International Diabetes Federation (IDF) incluye la obesidad abdominal definida por circunferencia de cintura aumentada ( $\geq 94$  cm en hombres y  $\geq 80$  cm en mujeres) y dos o más de las

siguientes características: presión sanguínea elevada, glucosa en ayunas elevada, o concentraciones de triglicéridos elevados, o HDL bajo (258).

### 2.1.1 Criterios para el diagnóstico

Existen diversos criterios diagnósticos, siendo los más conocidos los propuestos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (259) (Tabla 3) y por el (EGIR) (260), ambos en 1999, y por el ATP III del National Cholesterol Education Program en 2001 (261). Posteriormente, han surgido las recomendaciones de la American Association of Clinical Endocrinologists (262), con el fin de tratar de identificar los factores o circunstancias propicias para detectar la RI. Recientemente, la International Diabetes Federation ha establecido unos criterios en los que la obesidad visceral es una condición sine qua non para el diagnóstico (31).

**Tabla 3.** Criterios de diagnóstico del Síndrome metabólico según diferentes organizaciones

<b>OMS (1999)</b>	<p>Presencia de Diabetes, Glucemia basal alterada, Intolerancia glucídica o insulinoresistencia captación de glucosa &lt;25%, tras Clamp euglicémico-hiperinsulinémico. Además 2 o más de los factores:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- IMC &gt;30 y/o índice cintura/cadera &gt;0,9 en (varones) o &gt;0,85 (mujeres)</li> <li>-Triglicéridos &gt;150mg/dl y/o cHDL&lt;35mg/dl (varones) o &lt;39mg/dl (mujeres)</li> <li>-Presión arterial &gt;140/90 mmHg</li> <li>-Microalbuminuria &gt;20 ug/min o albumina/creatinina &gt;30mg/gr</li> </ul>
<b>EGIR (1999)</b>	<p>Presencia de insulinoresistencia (insulinemia basal &gt; percentil 75), en población no diabética. Además 2 o más de estos factores:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Perímetro de cintura &gt;94 (varones) o &gt;80 (mujeres)</li> <li>-Triglicéridos &gt;175mg/dl y/o cHDL&lt;40mg/dl o tratamiento específico</li> <li>-Presión arterial &gt;140/90 mmHg o tratamiento específico</li> <li>-Glucemia basal &gt;110mg/dl (No diabetes)</li> </ul>
<b>ATPIII (2001)</b>	<p>Presencia de 3 o más de estos factores:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Perímetro de cintura &gt;102cm (varones) o &gt;88cm (mujeres)</li> <li>-Triglicéridos &gt;150mg/dl</li> <li>-cHDL &lt;40mg/dl (varones) o &lt;50mg/dl (mujeres)</li> <li>-Presión arterial &gt;130/85mmHg</li> <li>-Glucemia basal &gt;110mg/dl</li> </ul>



---

**AACE**

## Historia Clínica

Diagnóstico de enfermedad cardiovascular, hipertensión arterial, ovario poliquístico, hígado graso no alcohólico o acantosis nigricans

Historia familiar de diabetes tipo 2, hipertensión arterial o enfermedad cardiovascular. Hoistoria de diabetes gestacional o intolerancia glucídica. Etnia no caucásica. Estilo de vida sedentario. Edad >40 años. Parametros alterados:

-IMC >25 y/o cintura >102cm (varones) o 88cm (mujeres)

-Triglicéridos >150mg/dl

-cHDL <40mg/dl (varones) o 50mg/dl (mujeres)

-Presión arterial >130/85mmHg

-Glucemia basal >110-125mg/dl o glucemia a las 2 horas tras sobrecarga oral de glucosa: 140-200mg/dl (No diabetes)

---

**IDF**

Obesidad central (definida porperímetro de cintura >94cm para varones europeos y >80 para mujeres europeas. Además 2 o mes de los siguientes factores:

-Triglicéridos >150mg/dl o tratamiento específico de esta alteración lipídica

-cHDL <40mg/dl (varones o <50mg/dl (mujeres) o tratamiento específico para esta altración lipídica

-Presión arterial sistólica >130mmHg o presión artrial diastólica >85mmHg o tratamiento hipertensión diagnosticada previamente

-Glucemia basal >100mg/dl o diabetes tipo 2 diagnosticada previamente

---

cHDL (Colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad). EGIR(Grupo Europeo para el estudio de la resistencia a la insulina). ATPIII(Adult Treatment Pannel). AACE (sociedad Americana de Endocrinología Clínica). IDF (Federación Internacional de diabetes).

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos de OMS, EGIR ATPIII, AACE, IDF. (259-262)

## 2.2 Constituyentes del Síndrome Metabólico

La obesidad y la resistencia a la insulina son los componentes claves del síndrome metabólico.

La obesidad, en especial la abdominal, se asocia estrechamente con todos los componentes del síndrome metabólico. El tejido adiposo es la fuente de moléculas potencialmente patógenas que producen alteraciones en el perfil lipídico, hipertensión arterial e insulinoresistencia, así como a un estado proinflamatorio reconocido clínicamente por el aumento de la concentración plasmática de proteína

C reactiva (PCR). De esta forma y aunque la susceptibilidad genética es esencial, el síndrome metabólico es infrecuente en ausencia de obesidad e inactividad física.

La Resistencia a la Insulina (RI) se ha considerado como el hecho central en la patogenia del síndrome metabólico y el nexo de unión entre los distintos elementos que la componen, si bien los mecanismos que regulan esta relación no están claros. La naturaleza de la asociación entre RI y cada uno de los componentes del síndrome metabólico parece ser heterogénea, ya que alguno de ellos, como la obesidad, se regula de forma independiente de la RI; otros como la dislipemia aterogénica y el estado proinflamatorio se asocian fuertemente, y la relación no es tan potente con la hipertensión arterial o el estado protrombótico.

Los términos SMet y RI se han empleado en ocasiones de forma indistinta, pero no son sinónimos, sino que se trata de diferentes enfoques de la misma situación clínico patológica. La RI es un estado fisiopatológico que favorece la aparición de varias alteraciones que se relacionan con mayor riesgo de ciertas enfermedades. Así la RI no desemboca en los factores de riesgo o enfermedades relacionadas con el SMet y estos pueden aparecer, así mismo en ausencia de RI.

El concepto de SMet es una aproximación clínica, es la asociación de determinados factores de riesgo que llevan al desarrollo de eventos cardiovasculares y que reconocen como nexo patogénico la presencia de RI, es una herramienta diagnóstica para inducir cambios en el estilo de vida y reducir el riesgo de aparición de enfermedad cardiovascular y diabetes.

La relación entre los factores de riesgo y la RI puede estar modulada por la edad y por factores genéticos.

El concepto de síndrome de RI, como hemos comentado, no debe ser homologado al de SMet. Partiendo de una alteración en la actividad insulínica en diferentes órganos, la RI comprendería un conjunto de fenómenos entre los que se incluirían

las complicaciones cardiovasculares. Se trataría de una concepción más amplia, de carácter más fisiopatológico que clínico-diagnóstico, así que es un elemento más del SMet (Tabla 4).

**Tabla 4.** Síndrome de insulinoresistencia

---

Diabetes mellitus tipo 2
Enfermedad cardiovascular (síndrome metabólico)
Hipertensión arterial esencial
Ovario poliquístico
Hígado graso no alcohólico
Apnea obstructiva del sueño
Neoplasias (mama, próstata, colon, entre otras)

---

Los componentes definitorios del SMet son la obesidad, la dislipemia aterogénica, la hipertensión y la RI-intolerancia a la glucosa (tabla 5).

**Tabla 5.** Elementos constituyentes del síndrome metabólico

---

Obesidad abdominal
Dislipemia aterogénica
Insulinoresistencia/intolerancia glucídica
Hipertensión arterial
Estado proinflamatorio
Estado protrombótico

---

Otros componentes asociados son el estado proinflamatorio y el estado protrombótico. Estos factores adicionales son consecuencia de alteraciones fisiopatológicas, estableciéndose tres potenciales elementos patogénicos en el SMet: la obesidad y las alteraciones del tejido adiposo, la RI y las alteraciones del metabolismo, y las modificaciones moleculares (moléculas de origen hepático, vascular e inmunitario, cambios hormonales, inflamación).

### **2.3 La Obesidad**

La obesidad contribuye a la aparición de hipertensión arterial, al descenso del HDL, y al aumento de los triglicéridos, así como a la aparición de RI. La obesidad abdominal se correlaciona mejor con estos factores de riesgo metabólicos.

Parece que, junto con el aumento de la grasa corporal, el depósito de predominio abdominal o visceral lo que se acompaña fundamentalmente de un efecto aterogénico (263).

Cuando se consideran los elementos integrantes del SM, algunos autores, excluyen del conjunto la obesidad, a la que consideran un elemento causal de las otras alteraciones (dislipemia, alteración metabolismo glucosa, hipertensión arterial, estado proinflamatorio y protrombótico) (263,264).

El tejido adiposo visceral, fundamentalmente, libera una serie de mediadores que estimulan la aparición de estas alteraciones, como los ácidos grasos no esterificados (AGNE), las citocinas, la resistina, la adiponectina, la leptina y el inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1). En este sentido, el exceso de AGNE y citocinas induciría la aparición de RI (265).

La mayoría de los individuos con un índice de masa corporal (IMC) >30 presentan hiperinsulinemia posprandial y una relativamente baja sensibilidad a la insulina (265). La obesidad visceral no sólo no es una consecuencia, sino que puede estar en la etiopatogenia de la RI-hiperinsulinemia y favorecer su aparición (266). En poblaciones como las del sur de Asia, hay una notable RI incluso con un IMC<25, lo cual puede explicar el exceso de prevalencia de diabetes tipo 2 y de enfermedad cardiovascular (265). La fuerte conexión entre la obesidad y los factores de riesgo ha llevado al Adult Treatment Panel III (ATPIII) a definir el SM esencialmente como una agrupación de complicaciones metabólicas acompañantes de la obesidad (265).

## **2.4 Insulinorresistencia. Intolerancia a la glucosa**

La insulinresistencia o resistencia a la insulina (RI) se encuentra en el centro del desarrollo de los componentes del SMet, y parece propiciar la aparición de complicaciones cardiovasculares (267). La permanencia de dicha condición en el tiempo, más el fracaso de la célula beta pancreática, origina con el tiempo la intolerancia glucídica o la aparición de diabetes mellitus tipo 2, que es también un factor de riesgo independiente para la aparición de complicaciones cardiovasculares. La RI y el hiperinsulinismo consecuente, son causa directa en mayor o menor medida de diversos factores de riesgo metabólicos, véase la hipertrigliceridemia, el descenso de cHDL, la hipertensión arterial o la hiperglucemia. Pero, así y todo, el SMet podría haberse producido ya hasta años antes de la detección de las alteraciones del metabolismo de la glucosa (265).

Sabemos que cuanto mayor es la cifra de glucemia en ayunas, mayor probabilidad de desarrollar DMT2. No está claro que la alteración de la glucosa en ayunas, término propuesto por la ADA para valores de glucemia en ayunas de 110 a 125 mg/dl, identifique a los individuos con RI, ya que puede no asociarse a ella (266).

Sin embargo, la intolerancia a la glucosa está más claramente asociada a la RI, pues es un parámetro 3 veces más sensible para identificar a los individuos insulinoresistentes. Los resultados del estudio DECODE (268) indican que la prueba de tolerancia a la glucosa es superior a la de glucemia en ayunas para identificar a los pacientes con RI y predecir así el riesgo cardiovascular.

## **2.5 Hipertensión arterial**

La hipertensión arterial se asocia de forma significativa con la obesidad y ocurre más comúnmente en personas que presentan resistencia a la insulina. Es por ello, que se suele considerar que la hipertensión arterial es un factor de riesgo metabólico, y aunque algunos investigadores consideran que la hipertensión es menos metabólica que otros componentes del SM, se ha decidido su inclusión como un componente de éste (265). Aunque está claro que es el factor menos relacionado con la RI y con los demás componentes del SM, que están sometidos a múltiples influencias. Meigs et al. (269) han comprobado en análisis factorial de los componentes del SM como éstos se agrupan en varios *clusters*, encontrando la hipertensión en asociación simple con la obesidad.

Entre los individuos hipertensos existe una alta prevalencia de RI y más interesante aún es observar que los familiares de primer grado de pacientes hipertensos esenciales presentan cierto grado de resistencia a la insulina, al compararlos con un grupo control. Por otro lado, no más del 50% de los individuos hipertensos esenciales tienen RI, pero son estos últimos los que se encuentran en la categoría superior de riesgo de enfermedad cardiovascular (266).

## **2.6 Dislipemia aterogénica**

La dislipemia aterogénica, incluye alteraciones en el perfil lipídico entre las que se encuentran la hipertrigliceridemia, la disminución del cHDL (en particular HDL2), la presencia de lipoproteínas de baja densidad (LDL) pequeñas y densas, la elevación de apolipoproteína B e hiperlipemia posprandial (270). La dislipemia aterogénica del SMet es probablemente el factor más estrechamente relacionado con la RI y con el riesgo cardiovascular. La presencia de cHDL bajo e hipertrigliceridemia, se asocia fuertemente con el aumento de partículas LDL pequeñas y densas y la acumulación posprandial de lipoproteínas remanentes ricas en triglicéridos, hechos ambos directamente relacionados con un aumento del riesgo cardiovascular (266).

## **2.7 Estado inflamatorio**

En estos pacientes se puede detectar el estado proinflamatorio, por la elevación de citocinas, como el factor de necrosis tumoral alfa ( $\text{TNF}\alpha$ ) y la interleucina (IL) (271), así como reactantes de fase aguda, como la PCR y el fibrinógeno. De entre los múltiples mecanismos que elevan la PCR, la obesidad, lo consigue porque el exceso de tejido adiposo libera citocinas inflamatorias que pueden originar mayores concentraciones de PCR (265, 272).

Así que el SM esté asociado a marcadores inflamatorios, parece probado, hallándose entre otras, las siguientes alteraciones: aumento plasmático de PCR, citocinas proinflamatorias (IL-6 y  $\text{TNF}\alpha$ ), amiloide sérico A y moléculas de adhesión, junto con disminución de la adiponectina y la IL-10 (273). Ridker et al. (274), en el seguimiento de una cohorte de 14.179 mujeres durante 8 años, constatan una relación directa entre el número de componentes del SM y la tasa de PCR, la cual se convierte a su vez en un importante predictor de la incidencia de complicaciones

cardiovasculares. Se ha propuesto modificar los criterios diagnósticos para el SM incluyendo entre ellos los valores de PCR altos (273). No obstante, esta elevación se presenta con frecuencia en pacientes que tienen 3 o más criterios diagnósticos entre los cuales es habitual la presencia de RI, y por tanto la PCR elevada pudiera no ser independiente de ésta (275).

## **2.8 Estado protrombótico**

Se denomina así al estado con tendencia a disminuir el proceso fibrinolítico y favorecer la coagulación. Las alteraciones responsables de ambos serían, por un lado la disminución de la fibrinólisis parece estar inhibida por un aumento del PAI-1 y la coagulación, que se ve favorecida por un incremento de fibrinógeno, de la actividad del factor de von Willebrand y del factor VIII coagulante. También es posible hallar un aumento de actividad del factor VII durante la hipertrigliceridemia postprandial. Se ha visto que pacientes con SMet presentan concentraciones significativamente más altas de PAI-1 y de fibrinógeno que la población sana, y la fibrinólisis alterada conlleva un aumento de riesgo de enfermedad cardiovascular (276). El fibrinógeno, es un reactante de fase aguda semejante a la PCR, aumenta en respuesta a un estado de citocinas elevadas. De este modo, el estado protrombótico y proinflamatorio pueden estar metabólicamente interconectados.



## **3. Hígado graso y mujer**

### **3.1 Prevalencia EHGNA en mujeres**

La prevalencia de la enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) en mujeres está aumentando en todo el mundo. Las mujeres en edad reproductiva tienen tasas más bajas de EHGNA en comparación con los hombres; sin embargo, esta protección se pierde después de la transición a la menopausia cuando la prevalencia de EHGNA en mujeres posmenopáusicas se vuelve similar o supera a la de sus homólogos masculinos de la misma edad (277).

### **3.2 EHGNA en edad reproductiva versus menopausia**

Un estudio investigó la incidencia de EHGNA en mujeres según su estado hormonal, vió que la incidencia era mayor en menopáusicas 7.5% que en postmenopausicas 6.1%, comparadas con premenopáusicas. De todas formas, el estado de postmenopausia estaba asociado con un riesgo mayor de EHGNA en una variable pero en el análisis multivariante ajustado por edad, síndrome metabólico y ganancia de peso. La incidencia de EHGNA en mujeres en tratamiento hormonal sustitutorio 5.3% era mayor que en las premenopausicas 3.5% pero menor que en las menopausicas 7.5% (278).

Un estudio multicéntrico con 5408 mujeres sanas que habían sido histerectomizadas, asignaba de forma aleatoria tamoxifeno (un inhibidor estrogénico) o placebo durante 5 años, el estudio mostró que el tamoxifeno estaba asociado con mayor riesgo de desarrollar EHGNA/EHNA sobre todo en mujeres con sobrepeso u obesidad (278).

Por otro lado, en un pequeño ensayo clínico aleatorizado doble ciego y con placebo, que contaba con 50 mujeres DMT2, mostró que la terapia hormonal sustitutoria que

contenía dosis bajas de estradiol y noretisterona reducía significativamente los niveles de enzimas hepáticas en sangre, en relación a una reducción en el depósito de grasa hepático.

En general, los resultados obtenidos de estudios epidemiológicos longitudinales han mostrado un papel clave en la ganancia de peso, la presencia de síndrome metabólico, y sus rasgos únicos como factores predictores del desarrollo de EHGNA. Algunos estudios han encontrado que el sexo masculino estaba asociado con EHGNA incidental independientemente de la edad y de factores metabólicos, incluso dos estudios asiáticos han informado de un papel específico de la edad según el sexo y el estado reproductivo en la modulación del riesgo de EHGNA incidente (278).

Otro estudio mostró que la edad era un predictor independiente para desarrollar EHGNA solo en mujeres y el otro informó que la edad aumentaba el riesgo de EHGNA incidente en mujeres premenopáusicas pero no en mujeres posmenopáusicas. La prevalencia, a pesar de que estudios preliminares informaron de un mayor riesgo de EHGNA en las mujeres, ahora hay gran cantidad de evidencia que respalda la idea de que la prevalencia de EHGNA es mayor en hombres que en mujeres y que existen diferencias específicas de sexo en relación con la edad (278).

Los estudios epidemiológicos, clínicos y experimentales en curso indican un mayor riesgo de EHGNA y tasas más altas de fibrosis hepática grave en mujeres posmenopáusicas en relación con las mujeres premenopáusicas, y que las mujeres mayores con EHGNA experimentan una mayor mortalidad que los hombres (277).

Las investigaciones realizadas en modelos animales ovariectomizados demuestran una relación causal entre la deficiencia de estrógenos y una mayor susceptibilidad al desarrollo de hígado graso y esteatohepatitis, aunque como ya hemos comentado previamente, los factores dietéticos pueden exacerbar esta compleja relación. Los

hallazgos hasta hoy sugieren que se necesita una mejor comprensión de la interacción entre el estado menopáusico, las comorbilidades metabólicas y los esteroides sexuales en la patogenia de la EHGNA. Además, los mecanismos que subyacen a la diferencia en el riesgo de EHGNA entre mujeres posmenopáusicas y premenopáusicas siguen sin entenderse por completo (277).

En estudios con animales y humanos, hemos observado que el sexo femenino está protegido contra el dismetabolismo gracias a la capacidad de los individuos jóvenes para romper los ácidos grasos en cuerpos cetónicos y no generar exceso de lipoproteína de muy baja densidad (VLDL)-triacilglicerol y a su capacidad, sexo-dependiente del oscurecimiento del tejido adiposo blanco, convirtiendolo en pardo, que es grasa más fácilmente “utilizable” (278). El envejecimiento ovárico facilita tanto el desarrollo de esteatosis hepática como la progresión fibrótica de la enfermedad hepática en modelos experimentales animales. El déficit de estrógeno, al potenciar los cambios inflamatorios hepáticos, acelera la progresión de la enfermedad en un modelo dietético de esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) que se desarrolla en modelos de ratones ovariectomizados alimentados con una dieta rica en grasas.

En los seres humanos, la EHGNA afecta con más frecuencia a los hombres como hemos comentado; y las mujeres premenopáusicas están igualmente protegidas de desarrollar EHGNA como lo están de las enfermedades cardiovasculares. Se esperaría que la menarquia temprana, asociada con la activación de estrógenos, produjera protección contra el riesgo de EHGNA. Sin embargo, se ha sugerido que la menarquia temprana puede conferir un mayor riesgo de EHGNA en la edad adulta, siendo el exceso de adiposidad el principal culpable de esta asociación. La edad fértil puede estar asociada con una lesión e inflamación de los hepatocitos más grave, pero también con un menor riesgo de fibrosis hepática en comparación con los hombres

y el estado posmenopáusicos. Más tarde en la vida, la senescencia ovárica está fuertemente asociada con esteatosis severa y EHNA fibrosante, que pueden ocurrir en mujeres posmenopáusicas. Se considera que la deficiencia de estrógenos es responsable de estos hallazgos a través del desarrollo del síndrome metabólico posmenopáusicos. Teóricamente, la suplementación con estrógenos podría, proteger contra el desarrollo y la progresión de EHNA, como lo sugieren algunos estudios que exploran el efecto de la terapia de reemplazo hormonal en mujeres posmenopáusicas, pero el impacto variable de diferentes hormonas sexuales en EHNA (es decir, el efecto proinflamatorio de la progesterona) debe ser evaluado y considerado cuidadosamente (278).

### **3.3 Menopausia y riesgo cardiovascular**

Existen diferencias biológicas fundamentales en las mujeres que modifican el riesgo de sufrir una enfermedad cardiovascular, tanto en lo que se refiere a su debut como en sus manifestaciones, presentándose con un abanico de síntomas diferentes y más amplio que en el sexo masculino, no siendo tan frecuente la presentación típica.

La menopausia temprana (aquella que se produce antes de los 45 años) se ha relacionado con la aparición de eventos cardiovasculares precoces.

JAMA Cardiology publicó un meta-análisis que se centraba en la relación existente entre la menopausia (envejecimiento reproductivo o senescencia ovárica) y el envejecimiento cardiovascular. En dicho trabajo, se revisaron 32 estudios con más de 300.000 mujeres. Los investigadores compararon a las mujeres que tenían menos de 45 años al inicio de la menopausia con las que sí que la tenían a partir de 45 años, menopausia precoz versus menopausia normal, En general, el riesgo cardiovascular pareció ser un 50 por ciento más alto en las mujeres que tenían menos de 45 años al

inicio de la menopausia, es decir en aquellas que habían sufrido una menopausia precoz (por cualquier motivo). La menopausia temprana también aumentaba el riesgo de muerte cardiovascular y muerte por todas las causas. A pesar de estos datos y tendencias, el estudio no consiguió mostrar una asociación entre la menopausia y el riesgo de accidente cerebrovascular (279).

Este estudio sólo descubrió una asociación, no una conexión causal, entre la menopausia temprana y el riesgo cardiovascular y riesgo de muerte. Por ello, es muy importante que la mujer conozca esta realidad para incrementar las medidas preventivas que serían, además de evitar el tabaco, evitar los factores de riesgo cardiovascular que ya hemos comentado previamente como el control de glucemia, perfil lipídico y tensión, así como llevar una dieta adecuada y ejercicio físico regular.

## 4.-Dieta y EHGNA

### 4.1 Situación epidemiológica: Obesidad, sobrepeso y EHGNA

El principal problema en la mayoría de los pacientes con EHGNA es el sobrepeso u obesidad y la resistencia a la insulina subyacente. Por lo tanto, parece lógico que el consejo dietético sería la piedra angular de la terapia para estos pacientes.

Las sociedades occidentales llevan un estilo de vida mucho más sedentario que sus antepasados y que otras civilizaciones menos desarrolladas, probablemente en relación a los cambios debidos al nuevo modelo socioeconómico. Teniendo en cuenta las diferencias en el tamaño corporal, nuestro gasto energético por kilogramo de peso corporal se ha estimado en un 40% menor al de nuestros antepasados prehistóricos (280).

Estimaciones actuales sugieren que 7 de cada 10 adultos son inactivos o carecen de condición física adecuado, y esta falta de ejercicio combinado con los cambios dietéticos, ha contribuido a la epidemia mundial de obesidad y la enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) (281).

Según el estudio ENPE (282), la prevalencia de sobrepeso estimada en la población adulta española (25–64 años) es del 39,3% (intervalo de confianza del 95% [IC95%], 35,7-42,9%); la de obesidad general, del 21,6% (IC95%, 19,0-24,2%), el 22,8% (IC95%, 20,6-25,0%) entre los varones y el 20,5% (IC95%, 18,5-22,5%) entre las mujeres, y aumenta con la edad. La prevalencia de obesidad abdominal se estima en el 33,4% (IC95%, 31,1-35,7%), mayor entre las mujeres (el 43,3%; IC95%, 41,1-45,8%) que entre los varones (el 23,3%; IC95%, 20,9-25,5%), y también aumenta con la edad.

La prevalencia de sobrepeso y obesidad está aumentando de forma alarmante a nivel mundial, afectando a más de 50% de la población adulta en la Unión Europea y

triplicando el número de obesos en los últimos veinte años. Debido a este gran aumento, la obesidad se ha convertido en una gran amenaza para todo el mundo, siendo un factor de riesgo mayor para enfermedades cardiovasculares y factor causal de otros factores de riesgo cardiovascular como la hipertensión, diabetes mellitus y dislipemias, aumentando así la morbimortalidad de estos individuos. Tiene además asociación con alteraciones a otros niveles como puede ser el SAOS, la Esteatosis hepática no alcohólica, aumento del riesgo de complicaciones durante la gestación, asociación con la osteoartritis y el cáncer entre otras.

El exceso de peso confiere mayor riesgo de muerte prematura y menor esperanza de vida, por lo que es necesario un abordaje multidisciplinar enfocado primeramente a la pérdida de peso (282).

La mayoría de los pacientes con EHGNA tienen sobrepeso u obesidad y tienen insulino resistencia y probablemente leptina resistencia que resulta en un metabolismo energético desregulado. La regulación de la glucosa y el metabolismo lipídico implica una interacción compleja entre el tejido adiposo, el músculo esquelético y el hígado. La EHGNA conlleva un aumento de la entrada de ácidos grasos libres (FFA) al hígado como resultado de la ingesta de grasas en la dieta y el aumento de la lipólisis en el tejido adiposo que es resistente a la insulina, aumento de la lipogénesis hepática de novo (DNL), disminución de la oxidación de FFA; y disminución de la exportación de triacilglicerol (TAG) desde el hígado en forma de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). El mayor contribuyente a la esteatosis hepática en pacientes con EHGNA es el aumento de la entrada de FFA al hígado (60%), seguido de DNL (<26%) (283).

Los hábitos dietéticos y de ejercicio de los pacientes con NAFLD varían en función de la etnia, la geografía y la cultura. Sin embargo, no es sorprendente que los datos disponibles muestren consistentemente que la ingesta calórica es significativamente

mayor en pacientes con NAFLD que en individuos sin evidencia de hígado graso (284).

En los EE. UU, La ingesta de jarabe de maíz de alta fructosa ha aumentado dramáticamente en los últimos los últimos 20 años (285) y puede contribuir a la desregulación en el metabolismo energético observado en pacientes con EHGNA.

Las dietas altas en fructosa en humanos están asociadas con un aumento de ingesta calórica, aumento de peso, aumento de la masa grasa y aumento de la presión arterial después de sólo 10 semanas (286).

Musso et al, estudiaron la ingesta dietética de 25 pacientes con EHNA durante un período de 7 días, en comparación con 25 pacientes de la misma edad, índice de masa corporal (IMC) y controles emparejados por sexo (287). Se encontró que los pacientes con EHNA tenían dietas más altas en grasas saturadas y colesterol y más bajo en grasas poliinsaturados, fibra y vitaminas antioxidantes C . E. Cortez-Pinto et al. (288), también demostró que los pacientes con EHNA registraban dietas más altas en grasas monoinsaturadas, así como en ácidos grasos n-6.

Los datos tanto en animales como in vitro sugieren que los FFA saturados y trans-insaturados aumentan la resistencia a la insulina mientras que los FFA poliinsaturados ejercen el efecto opuesto (289).

Los FFA poliinsaturados también podrían tener un efecto directamente anti esteatósico mediante la inhibición del exceso de SREBP-1 y la actividad de unión ADN de SREBP-1.48 En relación con la activación de ChREBP por la glucosa, dos estudios han informado recientemente de una asociación entre el contenido de carbohidratos en la dieta y la gravedad de la EHGNA (290).

Podemos deducir por la discusión previa que una dieta para reducir peso sería esperable que tuviera efectos beneficiosos sobre la EHGNA.



## 4.2 Reducción Calórica

Uno de los primeros estudios prospectivos para evaluar el efecto de la pérdida de peso inducida por la dieta en la patología hepática se realizó en 1970 por Drenick et al. En este ensayo, se evaluaron tres programas diferentes de pérdida de peso en 41 pacientes con obesidad severa (291). La mayoría de los pacientes fueron tratados o bien con ayuno prolongado o una dieta de 500 kcal/día. Los pacientes perdieron una media de 40,9 kg durante el ayuno prolongado durante una media de 71 días y 59,5 kg durante un promedio de 5 meses en el brazo de ingesta baja en calorías.

Repetidas biopsias hepáticas mostraron mejoría de la esteatosis hepática, en 14 pacientes que fueron capaces de mantener la pérdida de peso durante un promedio de 17 meses, se realizó otra biopsia posterior que mostró normalización de la histología en nueve pacientes y anomalías mínimas en los cinco restantes (291). Una pequeña cohorte retrospectiva posterior de pacientes obesos demostró una reducción de peso del 10% lograda con una dieta de 600-800 kcal/día para una media de 16 meses dio como resultado una mejora en las enzimas hepáticas y disminución de la hepatoesplenomegalia; sin embargo, no fueron realizadas biopsias hepáticas de seguimiento (292).

**Tabla 6.** Beneficios potenciales de dietas restrictivas en pacientes con EHGNA.

Efecto Principal	Resultado
-Reducción de acidos graos libres en Hgado	-Disminución del Triacylglicerol -Disminución de la insulina hepática -Disminución de Especies reactivas de oxígeno
-Mejora de la sensibilidad insulínica extrahepática	-Disminución de inflamación de hepatocitos -Disminución de lipogénesis de unión al elemento regulador del esteroI (SREBP-1) -Incremento de la exportación de VLDL
-Disminución de la inflamación	-Disminución de Fibrosis -Disminución de citocinas proinflamatorias -Incremento de la sensibilidad leptínica (SOCS-1) -Incremento de la Adinopectina

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad

Fuente: <http://gut.bmj.com/>

### 4.3 Restricción de macronutrientes específicos

El papel dual de los lípidos y los carbohidratos como proveedores de sustratos para la síntesis hepática de lípidos y activadores del SREBP-1 y los factores de transcripción ChREBP han impulsado estudios orientados a examinar su restricción específica en combinación con dietas de restricción de calorías en pacientes con EHGNA. El efecto de una dieta baja en grasas (3%) reducida en calorías (ingesta

diaria 1200 kcal/día) fue estudiado por Petersen et al., en ocho pacientes con EHNA. Un Promedio de pérdida de peso del 8 % se asoció con una reducción del 81% en el contenido de lípidos intrahepáticos medidos por resonancia magnético de protones espectroscopia (MRS) (293). La sensibilidad insulínica también mejoró, y el contenido de triglicéridos hepáticos, la glucosa plasmática en ayunas y el colesterol total descendieron significativamente.

Westerbacka et al., examinaron el efecto de una dieta isocalórica baja en grasas (16%) seguida de una dieta isocalórica rica en grasas (56%) en contenido de lípidos hepáticos determinado por MRS, en 10 mujeres obesas no diabéticas (294). La dieta baja en grasas condujo a una disminución del 20% en el contenido de lípidos hepáticos que fue seguida por un aumento del 35% en la dieta alta en grasas. Los últimos datos que informan que las dietas cetogénicas bajas en carbohidratos (<20 g/día) se asocian con una mayor pérdida de peso y un mejor perfil lipídico que las dietas bajas en grasas (295).

Tendler et al., realizaron una prueba piloto de 6 meses de duración con una dieta baja en carbohidratos en cinco pacientes con EHNA obesos (296). Vieron que una reducción de peso media de 12,8 kg se asoció con una mejora significativa en esteatosis hepática e inflamación, y una tendencia hacia una mejoría en la fibrosis.

Existe un estudio dietético dirigido específicamente a pacientes con EHNA comprobada por biopsia (297). En este estudio abierto, 16 pacientes con EHNA recibieron una dieta de 40–45 % de carbohidratos complejos/fibra, 35–40 % de grasas (principalmente grasas monoinsaturadas o poliinsaturadas) y 15–20 % de proteínas durante 12 meses, El objetivo era la reducción de peso y la mejora de la sensibilidad a la insulina. De los 15 pacientes que se sometieron a biopsias repetidas, nueve tenían mejoría histológica y seis permanecieron estables. Los pacientes que

habían mejorado habían perdido significativamente más peso (7%) que los pacientes estables.

Analizando el total de los datos recogidos, podemos afirmar que una dieta para inducir una pérdida de peso cercana al 10% del peso corporal sería eficaz para mejorar los parámetros metabólicos asociados con a la EHGNA, incluyendo perfiles de lípidos y resistencia a la insulina, así como aminotransferasas plasmáticas y, lo que es más importante, las características histopatológicas de EHNA, incluidas la esteatosis y la necrosis inflamatoria. Obviamente, se necesitan más estudios para determinar si la pérdida de peso mantenida durante un período de tiempo más largo equivale a una mejora de la fibrosis en pacientes con EHNA.

A día de hoy no se ha llegado a un consenso sobre el balance de nutrientes más apropiado en la dieta para pacientes con EHGNA. Una dieta baja en carbohidratos procesados puede lograr una pérdida de peso más rápida, pero este efecto es probablemente mitigado a largo plazo (298).

El exceso de alimentos, particularmente en forma de hidratos de carbono complejos, el aumento del consumo de fructosa y de grasas saturadas, combinado con un estilo de vida sedentario han contribuido a la epidemia de obesidad, metabolismo desregulado y EHGNA.

Cada vez hay más conocimiento sobre las consecuencias patológicas de las malas elecciones dietéticas y la falta de ejercicio sobre el tejido adiposo, el músculo esquelético y el hígado, lo que ayudará a establecer pautas más específicas para la elección de los nutrientes más adecuados, los regímenes de ingesta idóneos y la prescripción de ejercicio que mejorarán la vías metabólicas y, en última instancia, disminuirán la incidencia y severidad de EHGNA.

Por ahora parece que las dietas encaminadas a una reducción de la ingesta total de energía diaria, basada en un nivel bajo de carbohidratos procesados, o de macronutrientes bajos en grasa, encaminadas a lograr una reducción de peso del 10%, mejorará anomalías tanto metabólicas como histopatológicas en una diversidad de pacientes con EHGNA.

#### **4.4 Dieta como herramienta terapéutica**

Como hemos comentado previamente, parece que las intervenciones destinadas a mejorar la dieta son las de mayor impacto en la evolución de la EHGNA, con potencial incluso para revertir cambios histológicos y la sensibilidad de la insulina en tejidos.

Habitualmente las intervenciones en el estilo de vida para el control de peso, se enfocan en un principio, en la promoción del balance energético negativo a través de la disminución de la ingesta calórica, ya que se ha demostrado consistentemente que la restricción calórica produce pérdida de peso entre las personas con sobrepeso (299). Pero, la mayoría de las personas con sobrepeso no son capaces de mantener la pérdida de peso conseguida y la adherencia a largo plazo a los programas habituales de pérdida de peso es muy pobre (300).

Un factor que podría tener un impacto directo en la adherencia a largo plazo a los cambios en la dieta, es el entorno alimentario "tóxico" o poco saludable actual en los países industrializados, que es abundante en alimentos ricos en grasas y calorías, fácilmente accesibles, económicos y sabrosos (301). Este entorno, en el que las opciones nutricionales saludables son limitadas, puede aumentar el desafío de mantener los cambios dietéticos a largo plazo (302).

Los cambios fisiológicos que se experimentan durante la dieta, podrían interactuar aún más con este ambiente tóxico; las personas cuando están a dieta, a menudo experimentan una mayor sensibilidad a los alimentos más sabrosos (303), y más específicamente a las sustancias dulces y saladas (304).

La evidencia adicional indica que las personas obesas tienen una mayor sensibilidad al procesamiento sensorial de la ingesta de alimentos (305), hecho preocupante ya que la sensibilidad a las propiedades gratificantes del gusto y del olfato están relacionados con la ingesta excesiva y la preferencia por alimentos ricos en grasas y azúcar (306).

La interacción de estos cambios fisiológicos en combinación con la exposición constante a un entorno alimentario poco saludable prácticamente garantiza la falta de adherencia a las dietas (307,308). Por tanto, la correcta entrevista motivacional previo al inicio de la intervención dietética, la exploración de los posibles obstáculos percibidos por el paciente para su realización, el diseño de la dieta personalizado, el estudio del entorno del paciente y los frecuentes controles y seguimiento por profesionales sanitarios, serán factores esenciales para conseguir que la dieta sea una herramienta terapéutica efectiva.

## **5.-Actividad Física y EHGNA**

### **5.1 Relación AF y EHGNA**

Se ha demostrado que la actividad física regular tiene una relación positiva entre los niveles de actividad física (AF) y el riesgo de desarrollar hígado graso no alcohólico. El aumento de la AF se asocia con una disminución del riesgo de EHGNA en adultos, lo que se ha observado consistentemente en estudios de casos y controles de cohortes. Esta asociación pareció operar de forma lineal en función de la dosis-respuesta en adultos y se mantuvo estadísticamente significativa después de ajustar los factores de riesgo convencionales de EHGNA, lo que sugiere que la AF puede ser un factor protector independiente contra EHGNA (309).

Por otro lado, vivir un estilo de vida sedentario puede conducir al desarrollo de obesidad y resistencia a la insulina, factores que luego pueden predisponer al síndrome metabólico (310). La Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 2002, lo definió como "la poca agitación o movimiento" En términos de gasto energético, se considera una persona sedentaria cuando en sus actividades cotidianas no aumenta más del 10 por ciento la energía que gasta en reposo (metabolismo basal) El tiempo sedentario se define como períodos prolongados de inactividad y falta de movimiento, como mirar televisión, dormir o estar sentado (311).

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) aproximadamente un 60% de la población a nivel mundial, no realiza suficiente actividad física, lo que se denomina sedentarismo. Se considera uno de los principales factores de riesgo de mortalidad.

Muchos estudios previos que han evaluado el comportamiento sedentario en pacientes con EHGNA se basaron en datos subjetivos, principalmente encuestas, para llegar a sus conclusiones en cambio, Hallsworth et al. (312) midieron

objetivamente el grado de inactividad física y el tiempo sedentario en pacientes con EHGNA. Proporcionaron dispositivos portátiles a todos los participantes, que midieron el nivel de actividad y el gasto de energía en el transcurso de siete días. Como era de esperar, los pacientes con EHGNA informaron tener períodos más largos de tiempo sedentario, menos gasto de energía y menos tiempo para caminar y tiempo activo que los individuos sanos. Si bien los pacientes con EHGNA tenían en promedio una imagen de resonancia magnética (IRM) y un peso más altos, no se pudo hacer una comparación con respecto al grado de esteatosis hepática o resistencia a la insulina entre el caso y el control debido a que solo los pacientes con EHGNA recibieron evaluación de laboratorio.

Gerber et al. (313) recopilaron datos de la Encuesta Nacional de Examen de Salud y Nutrición de 2003-2004 y 2005-2006 para examinar 3 grupos: solo EHGNA, EHGNA más diabetes y controles sanos. Se evaluó la diferencia en la actividad física entre los grupos mediante el uso de monitores de actividad especialmente diseñados. Se encontró que los pacientes con EHGNA eran menos activos físicamente, tenían más tiempo de sedentarismo y tenían una prevalencia modesta de diabetes. Ninguno de los estudios ofreció una intervención de ejercicio per sé, pero es importante señalar que además de alentar el ejercicio formal (150 minutos semanales de actividad física moderada o vigorosa), minimizar el tiempo sedentario puede ser otro enfoque para minimizar los efectos nocivos de la EHGNA.

## **5.2 La Actividad aeróbica y EHGNA.**

Sullivan et al. (314), buscaron examinar la relación entre el ejercicio aeróbico y los niveles de lípidos hepáticos, con la hipótesis de que el ejercicio aeróbico de intensidad moderada no solo reduciría el contenido de triglicéridos en el hígado, sino que disminuiría la tasa de secreción de triglicéridos y de lipoproteínas de baja



densidad (VLDL-TG) por el hígado. Dieciocho pacientes se dividieron en el grupo de ejercicio, que requería ejercitarse a un nivel de consumo máximo de oxígeno ( $VO_2\text{max}$ ) del 45 % al 55 % durante 16 semanas con sesiones de 30 a 60 minutos realizadas 5 veces por semana.

No hubo un componente dietético en ninguno de los grupos del estudio, y se les dijo a los pacientes de grupo control que continuaran con sus actividades diarias. Los pacientes se sometieron a una prueba de Resonancia magnética de protones (H-MRS) antes y después de la intervención para evaluar el contenido de triglicéridos de sus hígados, y se sometieron a un estudio con trazador de isótopos para determinar si las tasas de secreción de VLDL habían mejorado. Después de la intervención, la concentración del contenido de triglicéridos intrahepáticos en el grupo de ejercicio disminuyó significativamente ( $>10\%$ ), sin cambios significativos en la composición corporal o el peso. La reducción de los triglicéridos hepáticos también se correlacionó con una reducción de la ALT sérica. El ejercicio no tuvo un efecto significativo sobre las tasas de secreción de VLDL-TG o VLDL-apoB100 ni sobre la concentración plasmática de lípidos. Si bien el estudio evaluó a un pequeño número de pacientes, los resultados refuerzan la evidencia que sugiere que el ejercicio con un nivel de intensidad moderado tiene un impacto modesto en el grado de esteatosis hepática en pacientes con EHGNA.

Oh et al. (315) estudiaron cómo una dieta reglamentada junto con ejercicio aeróbico puede mejorar la esteatosis hepática y varios parámetros antropométricos, como la adiposidad visceral y subcutánea, en comparación con la dieta sola. Cincuenta y dos hombres obesos con EHGNA realizaron dieta sola o dieta más ejercicio aeróbico que consistía en caminar o trotar durante 90 minutos tres veces por semana a una frecuencia cardíaca máxima  $>40\%$ . La dieta era de 1680 kcal/día y los pacientes

llevaban diarios de alimentos, se reunían con dietistas y asistían a sesiones de educación en grupo.

El grupo de dieta y ejercicio experimentó una mayor mejora en los marcadores séricos inflamatorios, así como una mayor reducción de la esteatosis hepática, la adiposidad visceral y subcutánea y la resistencia a la insulina en comparación con los pacientes que solo hicieron dieta. La aptitud cardiorrespiratoria, medida por el VO<sub>2</sub>max, mejoró en ambos grupos, pero en mayor grado en la cohorte de dieta y ejercicio combinados.

Además, hubo una correlación significativa entre el volumen de ejercicio (medido por el cambio en el número de pasos) y el grado de reducción de la esteatosis, lo que sugiere que una mayor duración del ejercicio produce una diferencia apreciable en los marcadores de función hepática.

Por lo tanto, la dieta junto con el ejercicio tiene un mayor beneficio general que la dieta sola en la mejora del hábito corporal y los marcadores de inflamación y estrés oxidativo en pacientes con EHGNA.

### **5.3 Fuerza Muscular y EHGNA.**

El ejercicio de fuerza puede ser más factible para ciertos subgrupos de pacientes con EHGNA, particularmente para aquellos con mala condición cardiorrespiratoria o aquellos que tienen sobrepeso y no pueden, debido a su constitución corporal, tolerar o participar en un trabajo de condición física aeróbica.

Hallsworth et al. (316) examinaron el efecto del trabajo de fuerza muscular sin pérdida de peso en pacientes con EHGNA con estilos de vida sedentarios, definidos como menos de 60 minutos de actividad vigorosa al día. El estudio no incluyó intervención dietética y se desconocía la dieta de los participantes. Después de ocho

semanas de un programa de ejercicio estructurado dirigido a varios grupos musculares y con un aumento progresivo en la cantidad de carga, los investigadores encontraron que incluso en aquellos pacientes que no bajaron de peso, el grupo de ejercicios de Fuerza muscular tuvo una reducción significativa en la esteatosis hepática así como una mejora en el control glucémico y la oxidación de lípidos. Tanto en el grupo de control como en el de Fuerza muscular, el IMC se mantuvo relativamente estable y no hubo cambios significativos en la ALT o los lípidos. Así, en EHGNA, es posible lograr una mejoría en la esteatosis hepática, la resistencia a la insulina y la oxidación de lípidos sin perder peso. Por lo tanto, los pacientes con limitaciones funcionales o mala condición cardiorrespiratoria que pueden tener dificultades con las demandas del ejercicio aeróbico aún pueden beneficiarse del entrenamiento de Fuerza muscular.

Zelber-Sagi et al. (317) buscaron investigar el efecto del entrenamiento de fuerza muscular en EHGNA en la reducción de la esteatosis hepática, medido por ultrasonido y el índice hepatorenal, una relación que compara la ecogenicidad del hígado y el riñón para cuantificar el grado de esteatosis hepática. Esta forma de ejercicio se comparó con los ejercicios de estiramiento (flexibilidad) en casa (318). Los pacientes del grupo de tratamiento completaron un programa de tres meses compuesto por ejercicios de Fuerza muscular con el objetivo de aumentar progresivamente la intensidad de la carga. Los entrenamientos fueron autocontrolados y evitaron específicamente el ejercicio aeróbico.

El grupo de estiramiento recibió ejercicios de Amplitud de movimiento articular dirigidos a ocho grupos musculares diferentes; el estiramiento se realizó tres días a la semana. No hubo restricciones dietéticas, y al inicio y al final de la intervención los pacientes proporcionaron información sobre su ingesta nutricional, los autores informaron que hubo una reducción significativa para el grupo de fuerza muscular

en el índice hepatorenal (11% frente a 3,5%), una reducción significativamente mayor en la adiposidad hepática y abdominal, así como una disminución en la ferritina sérica y el colesterol en comparación con el grupo de estiramiento. Por lo tanto, el ejercicio de Fuerza muscular no solo es un complemento importante del ejercicio aeróbico en el tratamiento de la esteatosis, sino que parece ayudar a mitigar los aspectos del entorno inflamatorio, que se cree que contribuyen a la patogenia de la enfermedad cardiovascular y la esteatohepatitis progresiva entre los pacientes con EHGNA.

## **5.4 Ejercicio físico en pacientes con EHGNA y limitaciones físicas.**

### **5.4.1 Entrenamiento híbrido**

Hay un subgrupo de pacientes con EHGNA en los que el ejercicio aeróbico moderado o intenso, o de fuerza muscular es excepcionalmente difícil (obesidad mórbida, incapacitados o postrados en cama, ancianos o aquellos con otras comorbilidades que limitan la movilidad). Las formas más rigurosas de ejercicio también pueden ser inseguras para que las completen los pacientes. El entrenamiento híbrido consiste en la contracción muscular voluntaria simultánea y la estimulación eléctrica (EENM) del grupo muscular opuesto.

Kawaguchi et al. (319) examinaron la eficacia del entrenamiento híbrido para mejorar las consecuencias metabólicas de EHGNA. En este estudio, los pacientes realizaron ejercicios de flexión y extensión de rodilla. El entrenamiento híbrido no requiere que el paciente esté de pie, por lo que estos ejercicios se pueden realizar en la cama y podrían ser potencialmente beneficiosos para los pacientes con poca movilidad. Los 35 pacientes inscritos recibieron 12 semanas de asesoramiento nutricional. Se aconsejó a los pacientes del grupo de control que consumieran menos

del 25% de las calorías totales provenientes de grasas y que consumieran una dieta de 25-30 kcal/kg por peso corporal ideal. Los del grupo híbrido tuvieron 24 sesiones de ejercicio en total, dos veces por semana durante 12 semanas. Hubo una disminución significativa en el peso corporal, la grasa corporal, la ALT sérica, la esteatosis hepática y la resistencia a la insulina. No hubo efecto sobre los lípidos séricos o la tasa metabólica basal.

El ejercicio de baja intensidad, como el entrenamiento híbrido, es prometedor para los pacientes con EHGNA que están debilitados por su enfermedad u otras comorbilidades.

#### **5.4.2 Entrenamiento de aceleración**

Otro tipo de ejercicio que se puede utilizar en pacientes relativamente inmóviles es el entrenamiento de aceleración.

El entrenamiento de aceleración es un nuevo método de entrenamiento que proporciona un efecto de estimulación física en los músculos esqueléticos al aumentar la aceleración gravitacional con vibración. Los participantes mantienen poses particulares o realizan movimientos dinámicos para activar las fibras musculares y aumentar la resistencia y la fuerza muscular.

Oh et al. (320) estudiaron el efecto del entrenamiento de aceleración en pacientes obesos con EHGNA que previamente lidiaron con la pérdida de peso en otro estudio. Para este estudio se eligieron dieciocho pacientes obesos con EHGNA que habían completado un programa de asesoramiento de 12 semanas para cambios en el estilo de vida sin experimentar una mejora en las enzimas hepáticas o la esteatosis. El programa de ejercicios consistía en entrenamiento de aceleración y utilizaba vibraciones tridimensionales de todo el cuerpo en una plataforma especial. No hubo

una dieta específica para este estudio; sin embargo, los pacientes recibieron educación dietética y mantuvieron un registro de alimentos durante tres días. Al final de las 12 semanas de entrenamiento, hubo una mejora significativa en la antropometría y el contenido de lípidos intramiocelulares. La esteatosis intrahepática disminuyó un 8,7%. También fueron notables las mejoras informadas en la calidad de vida y la salud mental de los pacientes después de la intervención, lo que influye positivamente en la motivación y la voluntad de realizar cambios en el estilo de vida. Si bien esta es una forma de ejercicio relativamente nueva explorada en EHGNA, puede ser una alternativa prometedora al ejercicio tradicional en ciertas subpoblaciones de EHGNA.

## **5.5 Frecuencia, intensidad y duración óptimas del ejercicio.**

Para aquellos pacientes que pueden hacer ejercicio sin limitaciones, quedan dudas sobre qué frecuencia, intensidad y duración son suficientes para mejorar las características de EHGNA.

Kistler et al. (321) realizaron un análisis retrospectivo de los niveles de actividad física autoinformados y buscaron explorar la asociación entre la histopatología de EHGNA y el volumen y la intensidad del régimen de ejercicio informado. Los autores postularon que las personas que cumplieran con las recomendaciones de ejercicio moderado a vigoroso tendrían menos fibrosis en la patología y una menor frecuencia de EsteatoHepatitis No alcohólica EHNA (NASH por su acrónimo en inglés). Los investigadores examinaron los resultados de la encuesta y los correlacionaron con la patología de la biopsia hepática de 813 adultos con EHGNA inscritos en dos ensayos de NASH Clinical Research Network. Los pacientes informaron el volumen, el tipo y el nivel de intensidad del ejercicio medido por los valores metabólicos equivalentes. No se produjo ninguna intervención dietética en

ninguno de los ensayos. Una gran proporción de estos pacientes no logró el volumen o la intensidad de ejercicio adecuados, y el 54% de los encuestados informaron estilos de vida inactivos. Aquellos que informaron actividad vigorosa (26% de los pacientes) tenían niveles más bajos de insulina sérica, gamma-glutamyl transferasa y glucosa. Además, los pacientes que cumplieron con los requisitos mínimos para una actividad vigorosa experimentaron una reducción significativa en sus probabilidades ajustadas de tener EHNA (OR = 0,65, IC del 95%: 0,43-0,98, p= 0,04). Los que superaban los requisitos mínimos tenían una probabilidad significativamente menor de tener fibrosis avanzada (OR = 0,56, IC del 95%: 0,34-0,90, p=0,02). Por lo tanto, la intensidad del ejercicio tuvo un papel más importante en la mejora de la EHGNA que el volumen o la duración de la intervención.

Oh et al. (322) examinaron los beneficios de diversos grados de intensidad en los programas de ejercicio y cómo el nivel de intensidad impactó en el grado de esteatosis hepática. Los pacientes se dividieron en tres grupos: ejercicio <150 min/sem, 150-250 min/sem, >250 min/sem. Los pacientes hicieron ejercicio durante 12 semanas en total y se les indicó que siguieran una dieta estricta de 1680 kcal diarias. Se utilizó un acelerómetro uniaxial en los pacientes para medir el gasto de energía. Al finalizar el estudio, todos los grupos experimentaron una reducción significativa en el peso y el IMC. Los pacientes que hacían ejercicio >150 min semanales consiguieron una reducción de peso del 12,4% así como una mejoría de la esteatosis hepática. Aquellos que hicieron ejercicio durante 250 minutos o más por semana experimentaron una mejora en la esteatosis hepática, la ferritina y otros marcadores inflamatorios. Por lo tanto, el ejercicio de moderado a vigoroso de 250 minutos semanales proporcionó beneficios antioxidantes y antiinflamatorios a los pacientes con EHGNA.

Para explorar la duración óptima del ejercicio, Haus et al. (323) investigaron el papel del ejercicio de corta duración (<7 días) para afectar la esteatosis hepática. Los investigadores plantearon la hipótesis de que incluso los períodos cortos de ejercicio aeróbico podrían ser beneficiosos en EHGNA al provocar un cambio en la composición de lípidos del hígado, reducir las sustancias proinflamatorias y mejorar la sensibilidad a la insulina (324). Diecisiete pacientes con EHGNA obesos y no diabéticos completaron un curso de 7 días de ejercicio aeróbico que consistía en caminar o trotar durante 50-60 minutos diarios al 80%-85% de la frecuencia cardíaca máxima. Las exploraciones H-MRS se realizaron antes y después de la intervención. Los investigadores demostraron que hubo un aumento en el contenido de lípidos poliinsaturados en el hígado después del ejercicio. Además, observaron un aumento de la adiponectina sérica, una molécula antiinflamatoria que regula la oxidación de los lípidos. Los hallazgos de este estudio son consistentes con los beneficios conocidos del ejercicio: mejora en la sensibilidad a la insulina y una reducción en la formación de especies reactivas de oxígeno, dañinas.

## 6.-Manejo y detección de la EHGNA en Atención Primaria.

### 6.1 Importancia de la AP en la EHGNA.

La atención primaria es el nivel básico e inicial de atención, que garantiza la globalidad y continuidad de la atención a lo largo de toda la vida del paciente, actuando como gestor y coordinador de casos y regulador de flujos, es por ello que



una patología como la EHGNA encuentra en este entorno el lugar ideal para su sospecha, diagnóstico y tratamiento (325).

En el caso de la EHGNA, el diagnóstico precoz es esencial para evitar complicaciones a largo plazo, pero los pacientes con HGNA suelen estar asintomáticos, y el papel de los médicos de atención primaria es fundamental en el diagnóstico, al menos de sospecha, y en el abordaje inicial (326). Actualmente, no se da la importancia debida a esta enfermedad, considerándose en ocasiones como un proceso banal y hay datos que nos hacen sospechar que está infradiagnosticada. Por otro lado, las guías clínicas recientes no son suficientemente conocidas o seguidas. Como se trata habitualmente de una enfermedad asintomática, la sospecha diagnóstica se establece o por la detección de un aumento moderado de las transaminasas cuando se practica una analítica, o en el curso de un examen de salud rutinario, o ante la presencia de signos de esteatosis en una ecografía abdominal solicitada por cualquier motivo.

La presentación clínica de la EHGNA depende mucho de la fase evolutiva de esta, es un proceso dinámico, y varía mucho de un paciente a otro, lo que supone una dificultad más a la hora de su detección precoz.

## **6.2 Sospecha clínica de EHGNA**

Aunque como hemos comentado, las formas de presentación varían desde un paciente asintomático completamente, hasta clínica florida de insuficiencia hepática, según el momento de la evolución de la enfermedad, la clínica más frecuentemente encontrada es astenia, debilidad y, en ocasiones, los pacientes pueden referir molestias y/o dolor en el hipocondrio derecho.

En cuanto a la exploración física, puede ser normal o bien detectar una hepatomegalia blanda e indolora, y en los pacientes que presentan fibrosis avanzada y cirrosis, podríamos observar signos de hipertensión portal (327), como son la esplenomegalia, la circulación colateral a nivel de la pared abdominal, ascitis, edemas de extremidades inferiores, y presencia de más de 5 arañas vasculares.

En la analítica, la elevación de las transaminasas suele ser moderada (inferior a 3 veces el valor normal), siendo la alanina-aminotransferasa (ALT) superior a la aspartato-aminotransferasa (AST), y pueden cursar con una colestasis discreta, especialmente la  $\gamma$ -glutamilttransferasa (GGT), y las fosfatasas alcalinas.

Entre un 21% y un 40% de los pacientes presentan un aumento moderado de la ferritina y del índice de saturación de la transferrina sin que se haya demostrado un aumento paralelo de la concentración intrahepática de hierro (328).

Cuando nos encontremos con un paciente con sospecha de EHGNA, deberemos en primer lugar descartar otras hepatopatías que pudieran ser causantes de depósito de grasa: el consumo excesivo de alcohol; hepatopatías tóxicas (consumo de medicamentos, hierbas, suplementos); víricas, (hepatopatía crónica por virus B o por virus C); metabólicas (hemocromatosis, enfermedad de Wilson, déficit de alfa-1-antitripsina); autoinmunes (anticuerpos antinucleares, antimúsculo liso, anti-LKM, antirriñón e hígado) o cirrosis biliar primaria (anticuerpos antimitocondriales).

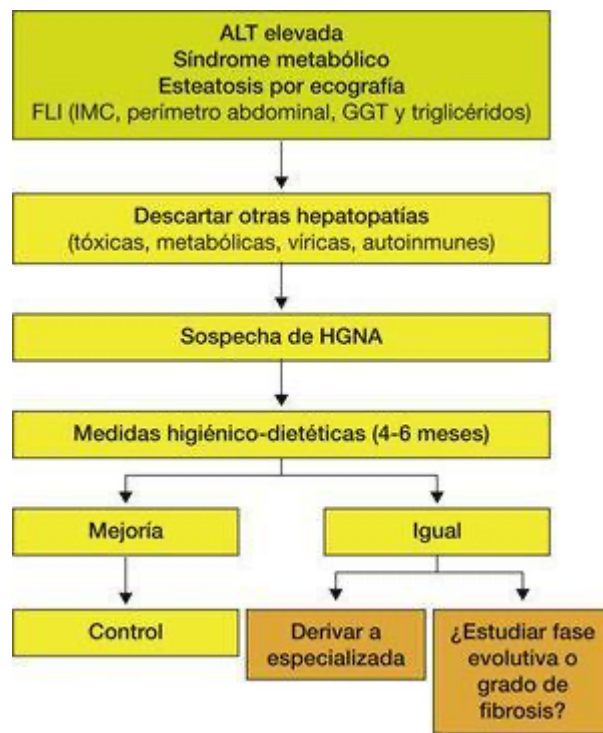
También debemos investigar la presencia de SMet, estudiando la presencia de sobrepeso u obesidad, DMT2, dislipemia e hipertensión arterial.

### **6.3 Algoritmo de manejo de la EHGNA en Atención Primaria**

Una vez descartadas causas de hepatopatía secundaria podremos afirmar que estamos ante un paciente con una probable EHGNA y debemos tras el análisis de

otras manifestaciones de SMet, adoptar una serie de medidas higiénico-dietéticas durante 4 a 6 meses y ver cómo evoluciona la analítica sin olvidar tratar el resto de posibles factores acompañantes como la HTA, DMT2 o dislipemia.

Una revisión sistemática basada en los resultados de 23 estudios demuestra que la dieta y el ejercicio físico se acompañaron de una disminución de la grasa hepática y una mejoría del control de la glucosa y de la resistencia a la insulina (329). De manera que, si el paciente mejora, haremos controles periódicos, y en caso de continuar igual se debería estudiar la presencia de inflamación, fibrosis y en función de la gravedad de esta, plantear si se tiene que hacer un seguimiento especializado (Figura 5).



**Figura 5.** Algoritmo de abordaje de la EHGNA en Atención primaria

Todavía quedan muchos aspectos por dilucidar en esta patología, en especial en relación con el diagnóstico no invasivo de la enfermedad, la evolución de esta, el manejo terapéutico y el seguimiento y control de estos pacientes.

Los médicos de atención primaria deben tener un papel esencial en el diagnóstico y control de los pacientes con HGNA. Para lo cual es esencial mejorar la formación y concienciar a ellos y la sociedad médica en general, sobre la magnitud del problema y dotar a los centros de algunos métodos diagnósticos no invasivos (serológicos y elastográficos) para poder conocer el grado evolutivo de la enfermedad y derivarlos a las unidades especializadas cuando sea necesario.

## **6.4 Cribado poblacional**

La realización de cribados poblacionales de EHGNA a pacientes asintomáticos o sanos no está actualmente recomendada, esta situación hace que no se aliente a los sanitarios a buscar activamente la enfermedad, incluso en pacientes de alto riesgo. Pero estudios recientes sugieren que las personas de alto riesgo deben someterse a pruebas de detección de EHGNA incluso en ausencia de síntomas y que las pruebas de detección basadas en la comunidad son una herramienta eficaz, particularmente en ausencia de otras pautas de cribado (330).

A quién realizar el cribado de EHGNA:

1. Enfermos con resistencia a la insulina o factores de riesgo para síndrome metabólico:
  - Buscar datos de esteatosis (ecografía y transaminasas)
2. Enfermos con esteatosis según las pruebas de imagen:
  - Buscar datos de síndrome metabólico
3. Enfermos con hígado graso no alcohólico:
  - Descartar diabetes mellitus 2
  - Descartar enfermedad cardiovascular

Por supuesto, es fundamental el control estricto de los factores asociados, en especial la diabetes y la obesidad, así como detectar y controlar las posibles complicaciones cardiovasculares.

Una vez realizado todo lo anterior, deberemos decidir qué pacientes deben ser derivados a una consulta especializada, y cuales continuar con controles en atención primaria, para ello podemos consultar la guía de práctica clínica elaborada tras la I Reunión de Consenso sobre EHGNA con un panel de expertos nacionales e internacionales que tienen como objetivo proponer recomendaciones basadas en la evidencia científica disponible para el manejo de estos pacientes, dicha guía recomienda realizar controles analíticos cada año y ecografía cada 1 o 2 años. Sería conveniente, ante un paciente con alteración de las transaminasas de forma persistente, calcular algún índice serológico de fibrosis de fácil realización, preferentemente el *NFS* y si no el *FIB-4*. En caso de disponer de un Fibroscan<sup>®</sup>, se

debería realizar una elastografía cada 1 o 2 años. Un aspecto importante es que no existe un límite de edad para el estudio y seguimiento de estos pacientes, si bien se desaconsejan realizar según qué exploraciones a pacientes con una edad superior a los 75 años.

Por todo ello, el ámbito de la atención primaria es el idóneo para la detección precoz de la EHGNA, su manejo, y tratamiento.

## II. JUSTIFICACION





La Enfermedad por Hígado Graso No Alcohólico (EHGNA) es actualmente la causa más común de enfermedad hepática en el mundo occidental, afectando hasta el 30% de la población, con una tasa de prevalencia del 57-98% entre los obesos y del 69% entre los diabéticos (1).

La EHGNA se caracteriza por el depósito de grasa en los hepatocitos, que puede progresar desde la esteatohepatitis inflamatoria no alcohólica (EHNA) hasta la fibrosis o la cirrosis (73). Está fuertemente relacionado con el sobrepeso o la obesidad y la resistencia a la insulina, y de hecho se considera la manifestación hepática del síndrome metabólico. Además, no está asociado con la edad, ya que las personas con EHGNA pueden ser adultos (1,16) como de edad pediátrica.

Las consecuencias de EHGNA no se limitan a la morbilidad o mortalidad relacionadas con el hígado, como insuficiencia hepática, necesidad de trasplante o carcinoma hepatocelular (CHC) (73): en la última década, se ha hecho evidente que las muertes en pacientes con EHGNA también son relacionados con eventos cardiovasculares y cánceres extrahepáticos como el gastrointestinal (hígado, colon, esófago, estómago y páncreas) y extraintestinal (riñón en hombres y mama en mujeres) (223), y que la EHGNA puede ser un factor de riesgo adicional para enfermedad cardiovascular (CVD), enfermedad renal crónica (CKD), endocrinopatías (incluyendo diabetes mellitus tipo 2 y disfunción tiroidea) y osteoporosis (223).

Los costes directos e indirectos de la EHGNA crean una carga significativa en Europa y los EE. UU., y aumentarán si se considera el crecimiento anual en la prevalencia de la obesidad (15).

Actualmente no existe un tratamiento farmacológico autorizado para revertir la EHGNA, es por eso que las estrategias nutricionales y de estilo de vida son fundamentales para mejorar los factores de riesgo para prevenir la progresión de la

enfermedad o la regresión del hígado graso o EHNA ya establecida. La pérdida de peso lograda mediante una dieta para bajar de peso y el ejercicio es sin duda el tratamiento principal para mejorar el hígado graso (1), sin embargo, la calidad de la composición de la dieta también podría desempeñar un papel crucial.

Dado que el estrés oxidativo y la inflamación se han citado entre los mecanismos implicados en la EHGNA (10), se deben tener en cuenta los alimentos que contienen componentes bioactivos antioxidantes y antiinflamatorios al diseñar una dieta nutricionalmente sana. La restricción calórica, entendida como un régimen dietético que reduce las calorías y al mismo tiempo proporciona aportes adecuados, especialmente de antioxidantes, junto con la actividad física personalizada podría tener una variedad de consecuencias positivas para la salud, incluida la ralentización de enfermedades degenerativas como la esteatosis hepática, sin embargo, esta hipótesis no ha sido probada hasta ahora.

### III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



## **Hipotesis**

Una intervención nutricional basada en una dieta mediterránea personalizada que introduce gran cantidad de componentes bioactivos antioxidantes y antiinflamatorios, junto con la promoción de la actividad física permitirá prevenir y/o revertir la EHGNA en pacientes obesos con síndrome metabólico en comparación con otras estrategias dietéticas, incluido el enfoque dietético convencional propuesto por la Asociación Estadounidense para el Estudio de las Enfermedades del Hígado (AASLD), y una intervención de la Dieta Mediterránea con siete comidas al día.

## **Objetivo principal**

El objetivo principal de esta tesis es evaluar el papel de la intervención personalizada dietética y de actividad física sobre los mecanismos fisiopatológicos que pueden afectar a los depósitos de grasa del hígado y la progresión de la EHGNA en pacientes con obesidad y síndrome metabólico, así como identificar marcadores diagnósticos tempranos de EHGNA y monitorizar la evolución de los depósitos hepáticos de grasa.

## **Objetivos específicos**

- Evaluar si las intervenciones dietéticas personalizadas con actividad física mejoran resultados de imagen hepática, incluida la acumulación de grasa y presencia y extensión de tejido fibrótico en el hígado.

- Investigar la relación entre los cambios en las imágenes del hígado y los cambios concomitantes en la composición corporal, la obesidad abdominal, el IMC, la hipertensión y la resistencia a la insulina.
- Evaluar las relaciones entre la mejora de los factores de riesgo y el inicio y la progresión a largo plazo de las complicaciones cardiovasculares, la calidad de vida, el bienestar psicológico, la calidad del sueño y los costos del tratamiento y el papel de la farmacoterapia.
- Evaluar la asociación de imágenes hepáticas (ultrasonido, elastografía, RMN), pruebas bioquímicas y cálculos de score de severidad de síndrome metabólico y score de fibrosis hepática.
- Evaluar las diferencias de los participantes según sexo y el rol de la menopausia en la EHGNA

## IV. MÉTODO





## **1. El Proyecto FLIPAN.**

### **1.1 Descripción del estudio y objetivos.**

El estudio Prevención y reversión de la enfermedad del hígado graso no alcohólico en pacientes obesos con síndrome metabólico mediante dieta mediterránea y actividad física (FLIPAN) es un ECA prospectivo multicéntrico que incluye a 155 pacientes con sobrepeso/obesidad que presentan al menos tres de los principales rasgos del síndrome metabólico y un diagnóstico de EHGNA por ultrasonido y corroborado por RMN.

El estudio persigue evaluar el papel de la intervención dietética y de actividad física personalizada sobre los cambios en los depósitos de grasa del hígado y la progresión de la EHGNA durante un período de seguimiento de 24 meses.

Se propone una intervención nutricional, basada en una dieta mediterránea personalizada que introduce gran cantidad de componentes bioactivos antioxidantes y antiinflamatorios, junto con la promoción de la actividad física y la intervención mediante ejercicio físico, para prevenir y revertir la EHGNA en pacientes con sobrepeso/obesidad y con Síndrome Metabólico. Esto se compara con otras dos estrategias dietéticas que incluyen el enfoque dietético convencional propuesto por la AASLD y una intervención de dieta mediterránea con siete comidas al día.

### **1.2 Población de estudio, reclutamiento y asignación de grupo.**

El estudio se ha realizado en dos centros: 1) el Grupo de Investigación en Nutrición Comunitaria y Estrés Oxidativo de la Universidad de las Islas Baleares (UIB)-IUNICS, IDISBA y CIBEROBN, Palma, España (IP. Prof. Josep A. Tur) y 2) el

Departamento de Ciencia y Fisiología de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Nutrición de la Universidad de Navarra (UNAV), Pamplona, España (IP. Prof. J. Alfredo Martínez). Ambos centros se implicaron por igual en la captación de pacientes y la realización de todas las mediciones previstas, recogida de datos, análisis de datos, redacción de informes y publicaciones.

Desde el 26 de octubre de 2017 hasta el 29 de noviembre de 2019 se identificaron un total de 237 pacientes entre los pacientes que acudieron a los centros de atención primaria vinculados a las dos universidades y firmaron el consentimiento informado.

La elegibilidad para la inclusión en el ensayo se evaluó al comienzo del estudio. Los participantes tenían que cumplir con todos los siguientes criterios de inclusión/exclusión.

### **1.2.1 Criterios de inclusión**

- Edad entre 40 y 60 años
- Diagnóstico de NAFLD por ultrasonido y Resonancia Magnética
- IMC  $\geq 27$  y  $< 40$  kg/m<sup>2</sup>
- Cumplir al menos 3 de 5 criterios para el consenso del síndrome metabólico (IDF) [274]:
  1. IMC  $> 30$  kg/m<sup>2</sup> o perímetro de cintura aumentado:  $\geq 94$  cm en hombres;  $\geq 80$  cm en mujeres.
  2. Niveles de triglicéridos (TG)  $\geq 150$  mg/dL (1,7 mmol/L) o tratamiento específico.

3. Colesterol reducido de lipoproteínas de alta densidad (HDL): <40 mg/dL (1,03 mmol/L) en hombres; <50 mg/dL (1,29 mmol/L) en mujeres o tratamiento específico.
4. Presión arterial (PA) elevada: PA sistólica  $\geq 130$  o PA diastólica  $\geq 85$  mm Hg o tratamiento de hipertensión previamente diagnosticada.
5. Glucosa plasmática en ayunas elevada  $\geq 100$  mg/dl (5,6 mmol/l) o diabetes tipo 2 previamente diagnosticada (DM2) • Consentimiento informado por escrito.

### **1.2.2. Criterios de exclusión**

- Incapacidad o falta de voluntad para dar consentimiento informado o comunicarse con el personal del estudio
- Antecedentes documentados de ECV previa [angina; infarto de miocardio; procedimientos de revascularización coronaria; accidente cerebrovascular (isquémico o hemorrágico, incluidos los ataques isquémicos transitorios); enfermedad arterial periférica sintomática que requirió cirugía o fue diagnosticada con técnicas de imagen vascular; arritmia ventricular; fibrilación auricular no controlada; insuficiencia cardíaca congestiva; miocardiopatía hipertrófica; y antecedentes de aneurisma aórtico  $\geq 5,5$  cm de diámetro o cirugía de aneurisma aórtico].
- Hemocromatosis.
- Antecedentes documentados de enfermedades hepáticas previas (aparte de EHGNA).
- Cáncer activo o antecedentes de malignidad en los últimos 5 años.

- Falta de voluntad o incapacidad para adherirse a la intervención dietética y de actividad física durante todo el período del estudio.
- Incumplimiento de las visitas programadas.
- Pérdida de peso (>5 kg) durante los 6 meses previos al inicio del estudio.
- Procedimientos quirúrgicos previos para bajar de peso o cirugía bariátrica programada dentro de los próximos 12 meses.
- Uso de medicamentos para bajar de peso durante los 6 meses anteriores a la visita.
- Historia previa de resección intestinal, enfermedad inflamatoria intestinal.
- Obesidad asociada con enfermedad endocrina (excepto hipotiroidismo tratado).
- Alergia a alimentos o componentes de la dieta mediterránea.
- Trastornos psiquiátricos graves (esquizofrenia, trastorno bipolar, trastornos alimentarios o depresión con hospitalización en los últimos 6 meses) o puntuación del Inventario de Depresión de Beck >30 (275).
- Condición grave con menos de 24 meses de expectativa de vida.
- Abuso crónico de drogas o alcohol (>21 y >14 unidades de alcohol a la semana para hombres y mujeres, respectivamente; 1 unidad = 125 ml de vino).
- Tratamiento con esteroides.
- El embarazo.

Después de una evaluación inicial de los parámetros clínicos (presión arterial, altura, peso corporal y circunferencia abdominal), historial médico previo, medicamentos previos y síntomas depresivos evaluados a través del Inventario de Depresión de Beck para excluir síntomas depresivos que podrían poner en peligro la adherencia a

la dieta (276), 155 pacientes que dieron su consentimiento cumplieron los criterios de selección. Los pacientes fueron estratificados de acuerdo a lo siguiente:

- 1) Etapa de EHGNA (1, 2 o 3).
- 2) Tener o no DM2 (DM2 si, no).
- 3) Sexo (masculino, femenino).

Y luego se asignó aleatoriamente a los tres grupos de intervención durante el período de 24 meses:

DC: Dieta convencional (recomendaciones AASLD (203).

DM-AFC: dieta mediterránea-alta frecuencia de comidas.

DM-AF: dieta mediterránea-actividad física.

El diagrama de flujo de la Figura 6 muestra el progreso a través de las fases del ensayo (inscripción, asignación de intervención, seguimiento y análisis de datos) hasta el sexto mes de seguimiento.

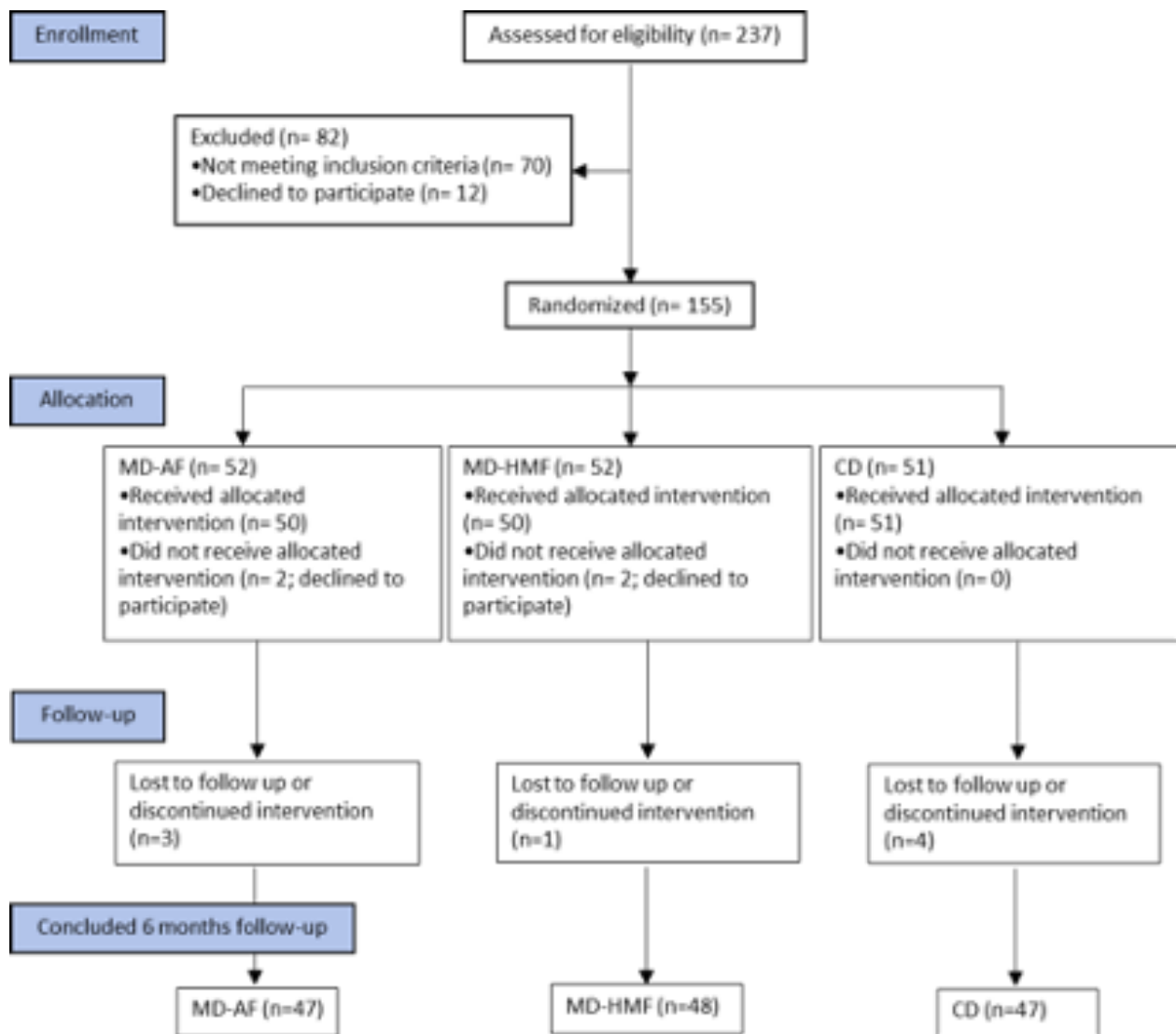


Figura 6. Diagrama de flujo del estudio FLIPAN.

## **Horarios de Visitas y Mediciones y Evaluaciones Relacionadas**

Se programaron seis visitas para cada paciente.

### ***Visita 1a (V1a)***

En V1a, el investigador informó completamente a los pacientes potencialmente elegibles sobre el estudio clínico y les pidió que participasen en el ensayo. Después de firmar el Formulario de Consentimiento Informado, los pacientes fueron inscritos en el estudio y evaluados por datos demográficos, historial de enfermedades y medicamentos, altura, peso, IMC, cintura, cadera y circunferencia del cuello.

Se recopiló un recordatorio dietético de veinticuatro horas para evaluar las preferencias alimentarias y los niveles de actividad física (a través del Cuestionario de actividad física en el tiempo libre de Minnesota) para estimar el TDEE. También se administró el Inventario de Depresión de Beck para excluir los síntomas depresivos que posiblemente podrían poner en peligro la adherencia a la dieta (331).

Se comprobaron los criterios de inclusión y exclusión. Los pacientes que cumplieron los criterios de selección fueron aleatorizados.

### ***Visita 1b [V1b (basal)], Visita 4 [V4 (6 meses)], Visita 5 [V5 (12 meses)], Visita 6 [V6 (24 meses)]***

En la V1b se administró a los pacientes el plan de alimentación y actividad física de acuerdo al grupo asignado. Entre la línea de base y V6, los dietistas mantuvieron contacto telefónico con los pacientes y los invitaron a una visita de seguimiento tan pronto como hubieron perdido 5 y 10% del peso inicial. Dichas visitas incluyeron mediciones antropométricas y de presión arterial, así como seguimiento nutricional y de actividad física.

En V1, V4, V5 y V6 los investigadores solicitaron a los pacientes que llegasen con el diario de alimentación de 72 horas y el cuestionario de saciedad VAS (Visual Analog Scale) ya cumplimentados, así como con muestras de heces y saliva previamente recogidas (este último sólo en V1). Luego, los pacientes fueron evaluados mediante mediciones antropométricas [peso corporal, IMC, circunferencia de cintura, cadera y cuello, grasa corporal y mediciones de composición por DEXA (solo UNAV) o análisis de impedancia bioeléctrica usando una escala Tanita® (solo UIB)], signos vitales (presión arterial y ECG) y evaluaciones dietéticas y físicas. También se recolectaron muestras de sangre y orina y se calculó el HOMA-IR (evaluación del modelo homeostático para la resistencia a la insulina) para obtener aproximaciones de la resistencia a la insulina. En la misma visita los pacientes rellenaron todos los cuestionarios y se sometieron a todas las pruebas hepáticas de imagen. Los tratamientos concomitantes y los eventos adversos se recogieron en cada visita.



**Tabla 7.** Recogida de parámetros del estudio.

<b>Numero de visita</b>	<b>V1</b>	<b>V2</b>	<b>V3</b>	<b>V4</b>	<b>V5</b>	<b>V6</b>
<i>Tiempo1</i>	0m	5%	10%	6m	12m	24m
Datos de Linea de base 2	X					
Medidas antropométricas 3	X	X	X	X	X	X
Dieta 24 horas	X					
Criterios de inclusión / criterios de exclusión	X					
Randomizacion	X					
Tratamientos concomitantes	X	X	X	X	X	X
Eventos adversos	X	X	X	X	X	X
ECG al Descanso	X			X	X	X
Presión arterial 4	X	X	X	X	X	X
Evaluación de actividad física 5	X	X*	X*	X	X	X
Evaluación dietética 6	X	X†	X†	X	X	X
Análíticas sanguíneas de laboratorio	X			X	X	X
HOMA-IR	X			X	X	X
Recogida matinal de orina 7	X			X	X	X
Ultrasonografía	X			X	X	X
Evaluación de fibrosis de hígado 8	X			X	X	X
Imagen por resonancia magnética	X			X	X	X
Cuestionario Beck	X			X	X	X
Cuestionario de calidad de vida 9	X			X	X	X
Cuestionario SER	X	X	X	X	X	X
Patron de defecación 10	X			X	X	X

### **1.3 Ética y Consentimiento informado**

Los protocolos de estudio siguieron los estándares éticos de la Declaración de Helsinki y todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité Ético de Illes Balears (ref. IB 2251/14 PI) y por el Comité Ético de la Universidad de Navarra (ref. 054/2015mod2).

El ensayo se registró en ClinicalTrials.gov con el número de registro NCT04442620. (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04442620>).

Todos los participantes fueron informados del propósito y las implicaciones del estudio y todos dieron su consentimiento por escrito para participar. Como se especifica en el formulario de consentimiento, la participación fue voluntaria y los participantes tenían derecho a retirarse del estudio en cualquier momento.

### **1.4 Estrategias de Intervención**

Todos los participantes continuaron recibiendo su atención médica habitual de sus médicos de familia y médicos de atención primaria durante la duración del ensayo. En ningún momento se brindó atención médica por parte del personal del estudio.

Al inicio del estudio, los pacientes fueron asignados aleatoriamente al grupo de Dieta convencional DC, al grupo de Dieta Mediterránea con Alta Frecuencia de Comidas DM-AFC o al grupo de Dieta Mediterránea con Actividad Física dirigida DM-AF. Cada intervención dietética tenía como objetivo reducir la ingesta calórica en un 25-30 % de la ingesta inicial y aumentar el gasto energético en 400 kcal/70 kg (5,7 kcal por 1 kg de peso corporal).

### 1.4.1 Intervención dietética

Las intervenciones dietéticas están dirigidas a reducir la ingesta calórica en un 25-30% de la ingesta inicial, o más bien el Gasto energético diario total (GEDT). El GEDT se calculó multiplicando la tasa metabólica en reposo (TMR) por el nivel de actividad física más adecuado (PAL) (332).

La TMR se calculó utilizando las ecuaciones revisadas de Harris-Benedict (333):

Hombres:  $TMR = (10 \times \text{peso en kg}) + (6,25 \times \text{altura en cm}) - (5 \times \text{edad en años}) + 5$

Mujeres:  $TMR = (10 \times \text{peso en kg}) + (6,25 \times \text{altura en cm}) - (5 \times \text{edad en años}) - 161$

Los niveles de actividad física fueron cuatro: sedentario, poco activo, activo y muy activo. A cada nivel le correspondió un factor de actividad, por el cual se multiplicó la TMR.

Los planes dietéticos fueron diseñados por dietistas capacitados y tuvieron en cuenta las preferencias dietéticas recopiladas a través de un formulario de recordatorio dietético de 24 horas, siempre que no interfirieran con el propósito de la intervención.

**Tabla 8.** Niveles de Actividad Física y correspondiente factor de actividad en hombres y mujeres.

<b>Hombres</b>		<b>Mujeres</b>	
<b>Nivel de actividad</b>	<b>Factor de Actividad</b>	<b>Nivel de actividad</b>	<b>Factor de actividad</b>
Sedentario	1	Sedentario	1
Poco activo	1,12	Poco activo	1,16
Activo	1,29	Activo	1,27
Muy activo	1,59	Muy activo	1,44

### **Grupo Dieta Convencional (DC)**

El grupo DC (dieta convencional) siguió las recomendaciones de la Asociación Americana para el Estudio de la enfermedad del Hígado (AASLD) que enfatizan la pérdida de peso ya sea por dieta hipocalórica sola o en conjunto con actividad física. La AASLD recomienda una restricción energética suficiente para perder del 3 al 5% del peso corporal para mejorar la esteatosis y del 7 al 10 % para mejorar la mayoría de las características histopatológicas de la EHNA, incluida la fibrosis (203), siguiendo las pautas generales del Departamento de EE. UU. de Salud y Servicios Humanos y el Departamento de Agricultura de EE. UU. (20-35% de grasa, 10-35% de proteína, 45-65% de carbohidratos) (334).

Por lo tanto, se aconsejó a los pacientes de este grupo que redujeran su ingesta calórica en un 25-30% con una distribución de macronutrientes del 30% de grasas, 15% de proteínas y 55% de carbohidratos, y que mantuvieran una cantidad adecuada de fibra (25 g/día) y colesterol (<250 mg)/día ingesta.

### **Grupo de Dieta Mediterránea con Alta Frecuencia de Comidas DM-AFC**

Al grupo DM-AFC (Dieta Mediterránea-alta frecuencia de comidas), por el contrario, se le aconsejó seguir una dieta mediterránea basada en una distribución de macronutrientes del 30-35% de grasas (principalmente ácidos grasos mono y poliinsaturados de origen extra), aceite de oliva virgen, frutos secos y alimentos que contienen omega-3), 25 % de proteínas (principalmente de origen vegetal) y 40-45 % de hidratos de carbono (50-70 % de la ingesta total de hidratos de carbono debe tener un índice glucémico bajo y ser rica en fibra ), o más bien la dieta RESMENA, previamente observada para reducir la masa grasa y el peso total, y mejorar el estrés oxidativo general en pacientes con síndrome metabólico (335). La dieta RESMENA hace hincapié en proporcionar una alta Capacidad Antioxidante Total (CAT) y se centra en la distribución cronológica de las comidas; de hecho, factores como la frecuencia y la distribución de las comidas podrían ayudar a reducir la sensación de hambre y, por lo tanto, mejorar el cumplimiento de una restricción energética. (336,337). Específicamente, la ingesta calórica diaria total se distribuyó en siete comidas, y las comidas más calóricas se consumieron temprano durante el día.

Por lo tanto, se aconsejó a los pacientes de este grupo que redujeran su ingesta calórica en un 25-30% con una distribución de macronutrientes de 30-35% de grasas, 25% de proteínas y 40-45% de carbohidratos. Se recomendaron encarecidamente grasas saludables y alimentos de bajo índice glucémico, junto con alimentos ricos en antioxidantes, a saber, frutas y verduras. Se aconsejó a los pacientes consumir 7 comidas al día, reduciendo gradualmente el contenido calórico en cada comida principal.

## **Grupo de Dieta Mediterránea con Actividad Física dirigida DM-AF**

El grupo DM-AF (dieta mediterránea-actividad física) también siguió una dieta mediterránea restringida en energía (338); sin embargo, la frecuencia de las comidas fue de 4-5 comidas al día, incluidos los refrigerios. En concreto, este colectivo consumiría un 35-40% del total de calorías procedentes de grasas (8-10% de Ácidos Grasos Saturados, >20% de Ácidos Grasos Monoinsaturados, >10% de Ácidos Grasos Poliinsaturados y <300 mg/día de Colesterol), aproximadamente el 20% de las calorías totales de las proteínas y el 40-45% o más de las calorías totales de los carbohidratos (preferiblemente de bajo índice glucémico). Se aconsejó que el cloruro de sodio no exceda los 6 g por día (2,4 g de sodio) y que la fibra dietética no sea inferior a 30-35 g/día.

Por lo tanto, se aconsejó a los pacientes de este grupo que redujeran su ingesta calórica en un 25-30% con una distribución de macronutrientes de 35-40% de grasas, 20% de proteínas y 40-45% de carbohidratos. Se recomendaron encarecidamente grasas saludables y alimentos de bajo índice glucémico ricos en fibra, junto con alimentos ricos en antioxidantes, como frutas y verduras.

### **1.4.2 Intervención de Actividad física**

Consejo de actividad física: Se recomendó actividad física a todos los grupos: a los pacientes de los grupos DC y DM-AF<sub>c</sub> se les aconsejó acumular un mínimo de 10.000 pasos al día (registrados mediante una aplicación móvil en sus teléfonos personales), tal y como recomienda la Organización Mundial de la Salud (OMS) pautas de actividad física (339). Un libro de registro de actividad diaria se utilizó para reforzar la motivación extrínseca de los participantes.

Prescripción de ejercicio físico: A los participantes en el grupo DM-AF, por otro lado, se les prescribió una sesión de entrenamiento de intervalos de 35 minutos tres veces por semana, en la combinación de dos entrenamientos presenciales dirigidos por un instructor y una sesión de entrenamiento remota prescrita por semana. La sesión de teleprescripción de ejercicio físico se realizó a través de recordatorios a través de aplicación de teléfono inteligente con una sesión dirigida a través de audiovisual, que los participantes recibían en sus teléfonos el día en el que debían realizar la sesión. Las sesiones fueron elaboradas por el grupo de investigación del FLIPAN y grabadas y editadas por el servicio de audiovisuales de la Universidad de Les Illes Balears.

Las sesiones de ejercicio físico de 35 minutos consistieron en calentamiento de 5 minutos, entrenamiento de intervalos de 20 minutos de moderada intensidad y respiración y estiramiento de 10 minutos. El entrenamiento interválico incluía cinco actividades de intensidad moderada destinadas a trabajar todos los grupos musculares. Inicialmente, cada serie duraría 45 segundos (45" tiempo de trabajo) con un período de recuperación de 90 segundos (90" Tiempo de pausa). Eventualmente, el tiempo de entrenamiento de cada serie se incrementó a 60" y el período de recuperación disminuyó a 60". Especialistas en Condición física del Departamento de Educación Física y Deporte de la UIB fueron los responsables del contenido de los entrenamientos tanto presenciales como a distancia y proporcionaron formación y apoyo a los miembros voluntarios del equipo de investigación que impartían sesiones de entrenamiento interválico a los pacientes.

La actividad física aeróbica de intensidad moderada semanal propuesta fue equivalente a 10.000 pasos diarios en términos de gasto calórico (400 kcal para una persona que pesa 70 kg), sin embargo, la intensidad de cada ejercicio se ajustó a la

condición física de cada sujeto. Las recomendaciones de dieta y actividad física aplicados a cada grupo de intervención se muestran en la Figura 7.



**Figura 7.** Recomendaciones de dieta y actividad física para cada grupo de intervención.

## 1.5 Evaluaciones y Medidas

### 1.5.1 Evaluación dietética

La adherencia a las intervenciones dietéticas asignadas fue evaluada por dietistas capacitados en cada visita. El objetivo de la evaluación fue aumentar o mantener la adherencia a la dieta recomendada y se realizó por tres medios:

- 1) un diario de autoinforme de 72 horas;
- 2) el FFQ de 148 ítems validado;
- 3) el cuestionario de 17 ítems sobre adherencia a la Dieta Mediterránea.



### *1.5.1.1 Diario de autoinforme de 72 horas*

Se proporcionaron diarios de autoinforme con instrucciones específicas por escrito a los participantes antes de cada visita. Se indicó a los pacientes que tomaran nota de cada alimento (incluido el peso de los alimentos crudos o cocidos y el método de cocción) y bebida que consumieran durante un período de 72 horas antes de cada visita, y que entregaran el diario completado al dietista correspondiente en el lugar de consulta y hora de la visita.

### *1.5.1.2 Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (FFQ)*

El FFQ que consta de 148 alimentos y bebidas representa la ingesta dietética durante el año anterior (340); Se les preguntó a los participantes con qué frecuencia, en promedio, consumieron la cantidad de artículos informados en el FFQ durante el año anterior y respondieron usando nueve opciones que van desde nunca o menos de una vez al mes hasta seis o más veces al día. Los alimentos adicionales no incluidos en el cuestionario y su frecuencia de consumo se ingresaron manualmente. A continuación, se calculó la ingesta de energía y nutrientes multiplicando la composición de nutrientes del tamaño de la porción de cada artículo por la frecuencia de consumo mediante un programa informático basado en las tablas de composición de alimentos disponibles (341). Los macronutrientes derivados del FFQ de 148 ítems fueron: energía total expresada en Kcal por día (Kcal/d), carbohidratos totales, grasas totales, grasas de fuentes animales y vegetales, ácidos grasos monoinsaturados, poliinsaturados y saturados (AG), linoleico y AG linolénico, AG omega-3, colesterol, proteínas totales, proteínas de origen animal y vegetal, ingesta de fibra y alcohol, expresada en gramos por día (g/d). Los micronutrientes incluían minerales como calcio, hierro, magnesio, fósforo, potasio y sodio, expresados en miligramos por día (mg/d), y selenio expresado en microgramos por día ( $\mu\text{g}/\text{d}$ ). Las vitaminas incluyeron vitamina A, B<sub>12</sub>, ácido fólico y D expresados como mcg/d y

vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>6</sub>, C y E, expresados en mg/d. Los grupos de alimentos, dados por la suma de elementos pertenecientes a la misma familia de alimentos, incluyeron verduras y hortalizas, frutas, legumbres, cereales (excepto patatas), leche y productos lácteos, carne y productos cárnicos, aceite de oliva, pescado, frutos secos y dulces y bollería. , también expresado en g/d. Finalmente, los grupos de alimentos se agruparon en dos categorías más amplias: suma de alimentos de origen animal (caracterizada por la suma de leche y lácteos, carne y productos cárnicos, pescado y huevos) y suma de alimentos de origen vegetal (caracterizada por la suma de verduras y hortalizas, frutas, frijoles, cereales y nueces).

### *1.5.1.3 Cuestionario de adherencia a la Dieta Mediterránea*

El cuestionario se utilizó originalmente en el ensayo PREDIMED (342). Constaba de 17 objetivos dietéticos contemplados por la Dieta Mediterránea y podía puntuarse como 1 (objetivo dietético cumplido) o 0 (objetivo dietético no cumplido). La puntuación total podría oscilar entre 0 y 17, donde una puntuación de 0 indica ausencia de cumplimiento y una puntuación de 17 indica máxima adherencia.

Es de destacar que el último elemento del cuestionario pregunta si se consumió un mínimo de 1 vaso por día para las mujeres o 2 vasos por día para los hombres para obtener 1 punto. Dada la fuerte asociación entre el consumo moderado de alcohol y la puntuación de actividad de NAFLD (343), se aconsejó a los pacientes que no consumieran ninguna bebida alcohólica, incluido el vino. En consecuencia, la puntuación más alta que posiblemente pudieron sumar fue 16, lo que indica la máxima adherencia a la Dieta Mediterránea.

### **1.5.2 Evaluación de la Actividad Física**

Para evaluar la actividad física, en cada visita principal, a los pacientes se les administró el Cuestionario de Actividad Física en el Tiempo Libre de Minnesota, que mide la actividad en el hogar y en el tiempo libre. Además, se les realizó una serie de pruebas físicas contempladas en la batería de pruebas Alpha-Fit para adultos de 18 a 69 años (344) y la prueba Chester Step (345), para evaluar la función física. Específicamente, el Cuestionario de Actividad Física en el Tiempo Libre de Minnesota es un cuestionario administrado por el entrevistador sobre la actividad durante los últimos 12 meses. Un total de 63 actividades se dividen en 8 categorías: caminar y varios, ejercicio de acondicionamiento, actividades acuáticas, actividades de invierno, deportes, actividades de césped y jardín, actividades de reparación del hogar, pesca y caza, y se estima que la entrevista dura entre 10 y 20 minutos. La frecuencia de las actividades se evalúa mes a mes, como “número promedio de veces por mes”. Cada actividad física tiene su propio código de intensidad. El código de intensidad y la duración del ejercicio en minutos durante un año da como resultado un índice expresado como Equivalente Metabólico (MET)\*min\*día<sup>-1</sup> (346).

La función física, por otro lado, fue evaluada a través del Alpha Fit test Battery y por el Chester Step Test. Las pruebas físicas contempladas en la prueba Alpha Fit incluyeron las siguientes: 1) aptitud musculoesquelética a través del agarre manual, que mide la fuerza de agarre estática; el salto y alcance, que mide la potencia extensora de las piernas; y el push-up modificado, que mide la capacidad de resistencia a corto plazo de los músculos extensores de las extremidades superiores y la capacidad de estabilizar el tronco; y 2) aptitud motora a través de la parada de una pierna, que mide el control postural mientras se reduce el área de apoyo. La prueba Chester Step mide la capacidad aeróbica máxima (VO<sub>2</sub>max) (345). Durante la prueba, se le pidió al paciente que subiera y bajara de un escalón de 15 cm de

altura a una velocidad establecida. Cada 2 minutos se controló la frecuencia cardíaca y el nivel de esfuerzo, y se aumentó ligeramente la velocidad de los pasos. La prueba continuaba de esta manera progresiva y finalizaba cuando la frecuencia cardíaca alcanzaba alrededor del 80% de su máximo o hasta que el sujeto sentía que la intensidad era medianamente fuerte y necesitaba parar. El ritmo de paso estaba dado por un archivo de audio con el que el participante se mantenía en el tiempo, subiendo y bajando un paso de manera SUBIR/SUBIR/BAJAR/BAJAR sin sujetarse a ningún soporte. Una vez finalizada la prueba, los datos como la edad, el sexo y las frecuencias cardíacas registradas se ingresaron en el Chester Test Software, que calculó el  $VO_2$ max del sujeto.

Además, a un subconjunto de pacientes también se le dio un acelerómetro de muñeca para usar durante 7 días, día y noche. El dispositivo (acelerómetro GENEActiv, Activinsights Ltd., Cambridgeshire, Reino Unido) registró información sobre la actividad física, la calidad del sueño y el rendimiento.

Para evaluar la adherencia a la intervención física recomendada, los grupos DC y DM-AFC, recomendados para cumplir con un mínimo de 10.000 pasos por día, fueron instruidos para registrar sus pasos diarios en una hoja de registro y presentarla al dietista en cada visita de seguimiento. En cuanto al grupo DM-AF, al que se le recomendó asistir a dos sesiones de entrenamiento de intervalos de 35 minutos dirigidas por un instructor a la semana, la adherencia se evaluó de acuerdo con la asistencia del paciente a cada clase, que el instructor registraría en un registro de asistencia. Cuando los pacientes se saltaban más de dos clases seguidas, el instructor los llamaba para invitarlos a volver a clase.

### **1.5.3 Medidas Antropométricas y presión sanguínea**

En todas las visitas se midió la altura (solo en la primera visita), el peso corporal y la composición corporal, el IMC, las circunferencias de la cintura (WC), la cadera (HC) y el cuello (NC). Para cada parámetro, se aplicaron los siguientes métodos: la altura se midió al milímetro más cercano, con la cabeza del participante mantenida en el Plano Horizontal de Frankfort, utilizando un estadiómetro móvil (Seca 213, SECA Deutschland, Hamburgo, Alemania); el peso corporal y la composición corporal se midieron con participantes vestidos con ropa ligera y sin zapatos (se restaron 0,6 kg de peso de la ropa), utilizando un analizador de composición corporal segmentaria para la prueba de impedancia (Tanita MC780P-MA, Tanita, Tokio, Japón). El IMC se calculó siguiendo la fórmula estándar peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la altura en metros. Las tres circunferencias, es decir, Cadera, Cintura y Cuello, se midieron por duplicado con una cinta antropométrica con los sujetos de pie. La Circunferencia de cintura se midió a medio camino entre la última costilla y la cresta ilíaca, la Circunferencia de cadera se midió alrededor de la parte más grande de las caderas y la Circunferencia de cuello se midió entre la columna cervical media y la parte anterior media del cuello.

La presión arterial (PA) se midió en cada visita principal. Las medidas se tomaron por triplicado, en el brazo no dominante con un oscilómetro semiautomático validado (Omron HEM-705CP, Hoofddorp, Países Bajos) después de 5 min de reposo en posición sentada con los brazos apoyados a la altura del corazón. Se quitaron las blusas con mangas largas para permitir que los brazos desnudos permitieran una lectura adecuada, y se usaron tamaños de manguito apropiados para permitir que la vejiga dentro del manguito rodeara al menos el 80 % del brazo. Se registró el promedio de tres mediciones, con 2 minutos de diferencia, y se consideró para los análisis estadísticos.

## **1.5.4 Pruebas de imagen del hígado**

En cada visita principal a los pacientes se les realizaron pruebas de imagen que incluían una ecografía hepática con evaluación de fibrosis hepática y una resonancia magnética. Las pruebas se realizaron en la Clínica Universidad de Navarra en Pamplona y en el Hospital Juaneda Miramar de Palma, respectivamente para los grupos de la UNAV y la UIB.

### ***1.5.4.1 Ultrasonografía y evaluación de fibrosis***

La metodología ultrasonográfica para la evaluación del estado de esteatosis del hígado consistió en una evaluación visual de la calidad de la ecogenicidad hepática, correlación visual de la diferencia entre los riñones y el hígado en la amplitud y determinación de la claridad del eco, y estructuras de los vasos sanguíneos en el hígado. La clasificación clínica se realizó mediante una escala de 4 puntos: menos del 5% (grado 0), 5-33% (grado 1), 33-66% (grado 2) y mayor del 66% (grado 3) (347).

La evaluación de la fibrosis hepática mediante la medición de la rigidez del hígado se determinó mediante medición de ondas de corte (SWM) o elastografía transitoria (ET), según el centro de reclutamiento. Para el primero, el ecógrafo utilizado fue el Arietta V70 (Hitachi Medical Systems Europe Holding AG. Steinhausen. Suiza), con sonda convexa y software SWM. En cuanto a estos últimos, las ET se realizaron con FibroScan® (Echosens, París, Francia). Se ha observado que el rendimiento diagnóstico de SWE se compara con el de TE y que ambas mediciones proporcionan resultados similares (348-350). En ambos casos, el paciente fue examinado acostado en posición respiratoria de reposo, con el brazo derecho elevado por encima de la cabeza para un acceso intercostal óptimo. Los SWM se obtuvieron al menos a una

profundidad de 1,5 a 2,0 cm de la cápsula hepática ya una profundidad de menos de 4 cm de la superficie de la piel para evitar artefactos de reverberación. Los ecografistas colocaron una región de interés (ROI) en el parénquima hepático, evitando los vasos sanguíneos grandes. El método de ondas de corte funciona generando ondas de corte en respuesta al pulso de ultrasonido enfocado. El valor de la velocidad de propagación de la onda de corte ( $V_s$ ) obtenido en el ROI se transforma en una medida cuantitativa de la rigidez del tejido, expresada en kilopascales (kPa). Para evaluar cuantitativamente la confiabilidad de la medición, el porcentaje de las mediciones detectadas correctamente se muestra como tasa efectiva  $V_s$  ( $V_sN$ ). Cuando una medida de una serie está excepcionalmente fuera de rango o el  $V_sN$  está por debajo del 20%, ese valor se descarta. El estudio se completa cuando se obtiene un total de 10 mediciones válidas (351). Se realizó ET tras encontrar una adecuada porción hepática libre de grandes vasos. Se realizaron disparos repetidos hasta obtener 10 medidas válidas. La tasa de éxito se calculó como el número de mediciones válidas dividido por el número total de mediciones, y se consideró confiable una tasa de éxito de al menos el 60%. Además, un rango intercuartílico (RIC) (que refleja la variabilidad intrínseca de las mediciones de TE) de menos del 30 % de la mediana indica un resultado de alta calidad (352). La fibrosis se estadificó según el sistema de puntuación METAVIR como fibrosis leve o nula (F0-F1), fibrosis moderada (F2), fibrosis grave (F3) y cirrosis (F4) (353); los valores de corte para F2, F3 y F4 fueron 6,44; 7,82 y 8,40 kPa respectivamente (354).

#### ***1.5.4.2 Resonancia Magnética***

La grasa hepática media (%) se midió mediante resonancia magnética abdominal (Signa Explorer 1.5T, General Electric Healthcare, Chicago, Illinois, EE. UU., o Siemens Aera 1.5T, Siemens Medical Systems, Erlangen, Alemania; según el centro de reclutamiento). La resonancia magnética explota la diferencia inherente en la

frecuencia entre el agua y la resonancia de metileno en los lípidos. El cambio químico en tiempos de eco particulares se puede observar en imágenes de eco de gradiente. La detección de hígado graso resulta del grado de pérdida de señal, que es proporcional al grado de acumulación de lípidos (355). EHGNA se estadificó como ausente (<6,4%); Estadio 1/leve (6,4-17,4 %); Estadio 2/moderado (>17,4%-22,1%); y Estadio 3/grave (>22,1%), según Tang et al (356).

#### ***1.5.4.3 Evaluación de la sobrecarga hepática de hierro***

El contenido bioquímico de hierro en el hígado también se midió mediante resonancia magnética abdominal para los pacientes del grupo UIB. Después de la adquisición de imágenes, se utilizó la estación de trabajo Advantage con el software CARDIAC VX (AW, General Electric Healthcare, Chicago, Illinois, EE. UU.) para obtener información cuantitativa sobre la sobrecarga de hierro sobre el parénquima hepático al colocar 2 ROI sobre los lóbulos izquierdo y derecho. La carga hepática de hierro determinada por secuencias potenciadas en T2\* se clasificó como normal (>20 ms), leve-moderada (10-20 ms) y grave (<10 ms) (357).

#### **1.5.5 Muestras biológicas y procedimientos de laboratorio**

Los exámenes de laboratorio se realizan en la Clínica Universidad de Navarra en Pamplona y en el Hospital Universitari Son Espases de Palma para los grupos de la UNAV y la UIB, respectivamente. En cada visita principal se realizaron los siguientes exámenes de laboratorio de sangre y orina: glucosa, colesterol total, colesterol HDL, colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL), TG, ácido úrico, AST, ALT, bilirrubina directa, bilirrubina total, fosfatasa alcalina, GGT, creatinina, proteína C reactiva (PCR), albúmina, homocisteína total, hormona estimulante de la



tiroides (TSH), insulina, hemoglobina glicosilada (HbA1c), tiempo de protrombina [segundos, porcentaje, índice internacional normalizado (INR)], hemograma completo [eritrocitos, hemoglobina, hematocrito, volumen celular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (MCH), concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC), ancho de distribución de glóbulos rojos (RDW)-SD, coeficiente de variación (CoV) de RDW, plaquetas, plaquetas ancho de distribución (PDW), volumen plaquetario medio (MPV), proporción de células grandes de plaquetas (P-LCR), componente de tromboplastina plasmática (PTC), leucocitos, neutrófilos, linfocitos, monocitos, basófilos y eosinófilos). En el centro de la UIB se analizaron adicionalmente: urea, sodio, potasio, calcio, cloro, hierro, ferritina, transferrina, saturación de transferrina, creatina fosfoquinasa (CPK), colesterol NO-HDL, colesterol de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), también se midió la osmolalidad sérica, las proteínas totales, el tiempo de tromboplastina parcial activada, el fibrinógeno y, en caso de que la TSH resultara fuera de rango, la tiroxina (T4).

La excreción de albúmina urinaria se midió como UACR urinario en miligramos por gramo (mg/g).

La resistencia a la insulina se calculó utilizando el modelo homeostático de evaluación de la resistencia a la insulina (HOMA-IR) (358) y el índice de TG y glucosa (TyG), calculado como el logaritmo natural del producto de glucosa plasmática en ayunas y TG (359). También se calcularon el FLI (360) y el índice FIB-4 para fibrosis (361).

La TFGe se calculó utilizando la fórmula CKD-EPI desarrollada en 2009 [238]. La ecuación normaliza la función renal estimada para BSA y se expresa como eGFR ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Aunque la ecuación ha sido validada en poblaciones con TFG normal y baja, y generalmente es bien aceptada (362), se ha argumentado que

indexar la TFGe para el BSA en pacientes con aumento de peso puede resultar en una subestimación de la TFG y enmascarar una asociación genuina entre la función renal y la grasa corporal, por lo que se ha sugerido que en su lugar se deben utilizar estimaciones absolutas de la TFG (363-365). En consecuencia, la eGFR se convirtió a valores absolutos (ml/min) utilizando la siguiente fórmula (362):  $(\text{eGFR ml/min}/1,73 \text{ m}^2 * \text{BSA})/1,73 \text{ m}^2$ . BSA se calculó usando la ecuación de DuBois y DuBois (366). La hiperfiltración glomerular se definió como  $\text{eGFR} \geq 120 \text{ ml/min}$  (367).

Los hallazgos que se consideraron clínicamente significativos se informaron al médico del paciente y se consideraron eventos adversos.

## **2. Tamaño de la muestra**

El tamaño de la muestra se estimó utilizando la pérdida de peso como principal variable de resultado preespecificada, suponiendo una prueba t de dos grupos (proporción de grupo = 2) (bilateral) de la diferencia entre el grupo de control y los dos grupos de intervención. Actualmente, las recomendaciones de la AASLD para mejorar la EHGNA se basan en la pérdida de peso (203). De acuerdo con la evidencia previa (335, 368), se predijo una diferencia de reducción de peso de 2,5 kg con una DE de 4,5 entre los grupos de intervención y el grupo de control. Para darle al ensayo un poder del 95% para detectar una diferencia de peso estadísticamente significativa entre los grupos de control y de intervención ( $\alpha=0,05$ ), y dar cuenta de una tasa de abandono del 20%, se necesitaba un tamaño de muestra total de 150 pacientes.

### 3. Aleatorización

La aleatorización se estratificó en un procedimiento de dos etapas. En primer lugar, se agruparon los pacientes en estratos según características clínicas como sexo (femenino; masculino), antecedentes de diabetes mellitus tipo 2 (diabetes sí; diabetes no) y nivel de esteatosis hepática según la última ecografía realizada (leve, moderado, grave). Dentro de cada estrato, los pacientes fueron aleatorizados en una proporción de 1:1:1 a uno de los tres grupos de intervención (DC; DM-AFC; DM-AF). La aleatorización se llevó a cabo utilizando el programa de minimización de escritorio MinimPy de código abierto (369).

### 4. Análisis estadístico

El análisis estadístico se especifica en la descripción de cada tabla en el apartado de resultados. A continuación, se describe brevemente la estadística utilizada para la realización de la presente tesis doctoral.

El análisis estadístico se realizó utilizando el Paquete Estadístico para las Ciencias Sociales versión 25.0 (IBM SPSS para Windows, Chicago, IL, US).

Las variables categóricas se presentaron como frecuencias/proporciones. Las diferencias estadísticamente significativas entre prevalencias se evaluaron a partir de la prueba chi cuadrado o el test exacto de Fisher. Como prueba post hoc se utilizó el test de Bonferroni.

Las variables continuas se presentaron como media y desviación estándar. La normalidad de las variables fue testada a partir de la prueba Kolmogorov–Smirnov, y a partir de la interpretación de gráficos. Por otra parte, existen autores que defienden asumir normalidad en las variables cuando  $N \geq 30$  (370). Las comparaciones entre dos grupos se realizaron a partir de la prueba T de Student para

muestras independientes y entre 3 grupos, a partir del análisis de la varianza La homocedasticidad se evaluó a partir del test de Levene. Como prueba post hoc se utilizó siempre el test de Bonferroni y en algunos casos se complementó con el test de Sidak, debido a que el test de Bonferroni es altamente conservador.

Los cambios de 1 año para todos los resultados se evaluaron utilizando pruebas T para medidas repetidas. Para comparar los cambios entre grupos al año del inicio de la intervención se utilizaron Modelos Lineales Generalizados (GLM), con la variable grupo como factor fijo y los resultados después de 1 año como variables dependientes, ajustados por posibles factores de confusión (sexo y edad) y utilizando las mediciones iniciales como covariables.

Los resultados de todos los análisis se consideraron estadísticamente significativos cuando el p-valor (2 colas)  $<0.05$ .

## V. RESULTADOS



A continuación se presentan los resultados obtenidos mediante los análisis estadísticos previamente expuestos.

Se han realizado cinco grupos de análisis, el primero es el análisis de la basal, análisis de la muestra y las características de los participantes, previo a la intervención.

En segundo lugar se han realizado el análisis de la muestra antes y después de la intervención por grupos de intervención. Como se ha expuesto en el método se han realizado tres grupos de intervención DC, DM-HMF y DM-AF, de modo que se ha analizado como ha sido la aleatorización, de qué tipo de muestra se partía en cada grupo y si las muestras eran o no homogéneas. Después se ha analizado cómo ha respondido cada grupo a dicha intervención y si había diferencias entre ellas.

Como tercer gran bloque se han analizado los resultados según el Score de severidad del Smet, buscando asociaciones del mismo con resultados de ecografía, parámetros bioquímicos y antropométricos al inicio del estudio y un año después.

Como cuarto bloque se han analizado los resultados según el Score de Fibrosis, imagen, resultados de la analítica sanguínea y antropometría en la basal y tras un año de intervención.

Y por último se ha analizado con visión de género y según el estado hormonal en las mujeres (menopausia/postmenopausia versus premenopausia/perimenopausia)

**Tabla 1.** Características basales de los participantes según sexo

	Total (N=155)	Hombres (N=94)	Mujeres (N=61)	p-valor
Edad, años	52.4±7.5	52.0±7.8	52.9±7.2	0.515
Menopausia	33 (21.3)	-	33 (54.1)	-
Estado civil				
Soltero	14 (9.0)	11 (11.7)	3 (4.9)	0.502
Casado/Pareja	117 (75.5)	70 (74.5)	47 (77.0)	
Separado/Divorciado	22 (14.2)	12 (12.8)	10 (16.4)	
Viudo	2 (1.3)	1 (1.1)	1 (1.6)	
Nivel educativo				
Sin estudios/primarios	49 (31.8)	32 (34.4)	17 (27.9)	0.678
Estudios medios (secundaria/FP)	61 (39.6)	36 (38.7)	25 (41.0)	
Estudios universitarios	44 (28.6)	25 (26.9)	19 (31.1)	
Situación laboral				
Parado	17 (11.0)	9 (9.6)	8 (13.1)	0.109
En activo	115 (74.2)	72 (76.6)	43 (70.5)	
Jubilado	17 (11.0)	12 (12.8)	5 (8.2)	
Incapacidad	2 (1.3)	1 (1.1)	1 (1.6)	
Amo/a de cada	4 (2.6)	0 (0.0)	4 (6.6)	
Consumo de alcohol				
No consumo	42 (27.1)	22 (23.4)	20 (32.8)	0.116
Esporádico	87 (56.1)	59 (62.8)	28 (45.9)	
Habitual	26 (16.8)	13 (13.8)	13 (21.3)	
Hábito tabáquico				
No fumador	48 (32.2)	26 (28.9)	22 (37.3)	0.764
Exfumador	68 (45.6)	43 (47.8)	25 (42.4)	
Fumador esporádico	11 (7.4)	7 (7.8)	4 (6.7)	
Fumador habitual	22 (14.8)	14 (15.6)	8 (13.6)	
Patologías				
Obesidad	73 (94.8)	44 (93.6)	29 (96.7)	0.557
Hipertensión	42 (54.4)	26 (55.3)	16 (53.3)	0.864
Dislipidemia	60 (78.9)	38 (82.6)	22 (73.3)	0.332
Diabetes	34 (21.9)	25 (26.6)	9 (14.8)	0.082
ECV	5 (6.6)	4 (8.7)	1 (3.3)	0.357
Enfermedad renal	9 (11.8)	7 (15.2)	2 (6.7)	0.259
Cáncer	4 (5.3)	3 (6.5)	1 (3.3)	0.543
Medicación				
Colesterol	18 (23.1)	12 (25.5)	6 (19.4)	0.526
Triglicéridos	2 (2.6)	1 (2.1)	1 (3.2)	0.764
Diabetes	12 (15.4)	10 (21.3)	2 (6.5)	0.076
Hipertensión	23 (29.5)	17 (36.2)	6 (19.4)	0.111
Otra mediación habitual	37 (47.4)	21 (44.7)	16 (51.6)	0.549

Abreviaciones: ECV: enfermedad cardiovascular; FP: formación profesional. Los datos se muestran como N (%) o media ± desviación estándar. Las diferencias entre hombres y mujeres se han analizado mediante la prueba de chi cuadrado, el test exacto de Fisher o la prueba T de Student para muestras independientes.

Se analizan, en la tabla 1, las características basales de los participantes según sexo viendo que hay mayor número de participantes hombres que mujeres (94 y 61 respectivamente), por lo que todos los resultados se han ajustado. Se registró una



edad media de los participantes de 52 años y con un porcentaje de hombres y de mujeres por encima del 70% que viven casados o en pareja (74,5% hombres y 77% mujeres). Respecto a la formación académica y la actividad laboral; la muestra es muy homogénea observando como dato de interés que las cuatro únicas participantes amo/a de casa están en el grupo de mujeres.

En cuanto los hábitos tóxicos registrados, tampoco hubo grandes diferencias entre el grupo de hombres y mujeres, pero es destacable que el 67,8% del total de los participantes están en el grupo de exfumadores/fumadores (70,4% de los hombres, 62,7% de las mujeres).

Respecto a las patologías registradas al comienzo del estudio, cuya más prevalente fue la obesidad (el 94% de los participantes la padecen, suponiendo por sexo el 93,6% de los varones, y el 96,7% de las mujeres) sin observarse diferencias estadísticamente significativas entre ambos. La segunda patología más prevalente fue la Dislipemia (el 78,9% de los participantes, suponiendo el 82,6% de los hombres y el 73,3% de las mujeres) sin diferencias por sexo, y la tercera más prevalente la HTA con un 54,4% del total de los participantes que la padecían (55,3% de los hombres y 53,3% de las mujeres).

**Tabla 2.** Antropometría, estilo de vida, riesgo de depresión y severidad del SMet según el sexo de los participantes.

	Total (N=155)	Hombres (N=94)	Mujeres (N=61)	p-valor
Cintura, cm	111.8±9.2	114.1±8.1	108.4±9.7	<0.001
IMC, kg/m <sup>2</sup>	33.7±3.7	33.4±3.2	34.2±4.3	0.196
TAS, mmHg	137.7±16.8	140.3±17.7	133.5±14.7	0.096
TAD, mmHg	82.8±9.2	83.4±10.0	81.7±7.8	0.457
Frecuencia cardiaca, latido/min	71.1±11.1	71.6±12.1	70.2±9.5	0.586
Actividad física, MET*min/mensual	3203.8±3178.5	3027.5±3014.0	3481.8±3430.0	0.392
Ninguna	66 (42.9)	38 (40.9)	28 (45.9)	0.889
Leve	53 (34.4)	34 (36.6)	19 (31.1)	
Moderada	26 (16.9)	16 (17.2)	10 (16.4)	
Elevada	9 (5.8)	5 (5.4)	4 (6.6)	
Sueño, horas	6.7±1.1	6.7±1.2	6.7±1.0	0.990
Índice de Pittsburgh	6.8±3.8	6.3±3.6	7.6±4.1	0.059
Adhesión a la DM	7.2±2.6	7.1±2.6	7.4±2.6	0.447
Beck	7.5±6.2	6.5±5.8	8.9±6.6	0.018
Score de severidad SMet	1.3±1.0	1.3±1.0	1.4±0.9	0.515
Score de Fibrosis	1.4±1.0	1.5±1.1	1.2±1.0	0.033

Abreviaciones: cm: centímetro; DM: dieta mediterránea; kg: kilogramo; m: metros; min: minutos; mmHg: milímetros de mercurio; SMet: síndrome metabólico; TAD: tensión arterial diastólica; TAS: tensión arterial sistólica. Los datos se muestran como N (%) o media ± desviación estándar. Las diferencias entre sexos se han analizado mediante la prueba chi cuadrado o la prueba T de Student para muestras independientes.

Al analizar, según el sexo, los datos de antropometría y estilo de vida recogidos al inicio del estudio, se observa que, tanto en IMC, como en cifras de TAS, TAD, FC basal y cantidad de AF realizada, ambos sexos son muy homogéneos. Destacando la escasa AF realizada por los dos grupos, medida en MET min/mensual (los METS se han sacado del cuestionario Minnesota).

En cuanto al tipo de AF realizada, el 42,9% de los participantes no realizaba ninguna (40.9% del grupo de los hombres y el 45.9% de las mujeres), el 34,4% realizaba AF leve (36,6% del grupo de hombres y el 31,1% del grupo de las mujeres), el 16,9% de la muestra realizaba AF moderada (17,2% grupo hombres, 16,4% grupo mujeres) y tan sólo un 5,8% de los participantes realizaban AF elevada o intensa (5,4% del grupo de los hombres y 6,6% de las mujeres).

En la línea de base, se observa que los hombres presentaron resultados en perímetro abdominal ligeramente mejores que el grupo de mujeres, los hombres  $114,1 \pm 8,1$  respecto a un valor de referencia por debajo de 102 y las mujeres  $108 \pm 9,7$  respecto a un valor de referencia de 88.

Respecto a la calidad de sueño, el grupo de mujeres puntuaba peor que el de los hombres, pero sin que la diferencia fuera significativa. Se encontraron diferencias significativas en el Test de Beck, donde el grupo de mujeres presentó mayor riesgo de padecer depresión con una puntuación media de  $8,9 \pm 6,6$  y los hombres de  $6,5 \pm 5,8$  ( $p=0,018$ ).

Los dos grupos presentaron una adhesión a la DM muy homogénea

El score de severidad del Smet se calculó según indicado anteriormente (385), la muestra presentó un score de  $1,3 \pm 1,0$  ( $1,3 \pm 1,0$  en grupo de hombres y  $1,4 \pm 0,9$  en el grupo de mujeres), sin diferencias significativas.

El fibrosis score se calculó según indicado anteriormente (386) los resultados de Score de Fibrosis mostraron diferencias significativas entre los dos grupos ( $p=0,033$ ), dando los hombres peores resultados en fibrosis.

El score aplica un corte en  $-1,455$  por debajo del cual puede excluirse la fibrosis con una exactitud elevada y un corte superior en  $0,676$  por encima del cual la presencia de fibrosis avanzada se puede diagnosticar con alta precisión. Como se ha comentado, los varones presentaron mayor fibrosis, pero cabe destacar que los dos grupos presentaron un score de fibrosis elevado.

**Tabla 3.** Características basales de los participantes según el grupo de intervención.

	Total (N=155)	DC (N=51)	DM-HMF (N=52)	DM-AF (N=52)	p-valor	
Edad, años	52.4±7.5	53.2±8.7	51.9±7.7	52.1±6.2	0.515	
Mujeres	61 (39.4)	21 (41.2)	19 (36.5)	21 (40.4)	0.875	
Menopausia	33 (54.1)	14 (66.7)	9 (47.4)	10 (47.6)	0.672	
Estado civil						
Soltero	14 (9.0)	5 (9.8)	4 (7.7)	5 (9.6)	0.957	
Casado/Pareja	117 (75.5)	39 (76.5)	40 (76.9)	38 (73.1)		
Separado/Divorciado	22 (14.2)	6 (11.8)	8 (15.4)	8 (15.4)		
Viudo	2 (1.3)	1 (2.0)	0 (0.0)	1 (1.9)		
Nivel educativo						
Sin estudios/primarios	49 (31.8)	15 (3.0)	24 (46.2) <sup>c</sup>	10 (19.2) <sup>c</sup>	0.039	
Estudios medios (secundaria/FP)	61 (39.6)	19 (38.0)	19 (36.5)	23 (44.2)		
Estudios universitarios	44 (28.6)	16 (32.0)	9 (17.3)	19 (36.5)		
Situación laboral						
Parado	17 (11.0)	4 (7.8)	7 (13.5)	6 (11.5)	0.148	
En activo	115 (74.2)	34 (66.7)	38 (73.1)	43 (82.7)		
Jubilado	17 (11.0)	10 (19.6)	6 (11.5)	1 (1.9)		
Incapacidad	2 (1.3)	1 (2.0)	1 (1.9)	0 (0.0)		
Amo/a de cada	4 (2.6)	2 (3.9)	0 (0.0)	2 (3.8)		
Consumo de alcohol						
No consumo	42 (27.1)	21 (41.2)	11 (21.2)	10 (19.2)	0.102	
Esporádico	87 (56.1)	23 (45.1)	32 (61.5)	32 (61.5)		
Habitual	26 (16.8)	7 (13.7)	9 (17.3)	10 (19.2)		
Hábito tabáquico						
No fumador	48 (32.2)	20 (40.8)	16 (33.3)	12 (23.1)	0.361	
Exfumador	68 (45.6)	20 (40.8)	20 (41.7)	28 (53.8)		
Fumador esporádico	11 (7.4)	2 (4.1)	3 (6.3)	6 (11.5)		
Fumador habitual	22 (14.8)	7 (14.3)	9 (18.8)	6 (11.5)		
Patologías						
Diagnóstico hígado grado ecografía	62 (80.5)	22 (88.0)	20 (76.9)	20 (76.9)	0.517	
Obesidad	73 (94.8)	26 (51.0)	24 (92.3)	24 (92.3)		
Hipertensión	42 (54.4)	15 (60.0)	17 (65.4)	10 (38.5)		
Dislipidemia	60 (78.9)	19 (76.0)	22 (84.6)	19 (76.0)		
Diabetes	34 (21.9)	8 (15.7)	11 (21.2)	15 (28.8)		
ECV	5 (6.6)	1 (4.0)	0 (0.0)	4 (16.0)		
Enfermedad renal	9 (11.8)	3 (12.0)	3 (11.5)	3 (12.0)		
Cáncer	4 (5.3)	2 (8.0)	2 (7.7)	0 (0.0)		
Medicación						
Colesterol	18 (23.1)	4 (15.4)	7 (26.9)	7 (26.9)		0.522
Triglicéridos	2 (2.6)	1 (3.8)	0 (0.0)	1 (3.8)		0.599
Diabetes	12 (15.4)	2 (7.7)	3 (11.5)	7 (26.9)		0.126
Hipertensión	23 (29.5)	8 (30.8)	6 (23.1)	9 (34.6)		0.649
Otra mediación habitual	37 (47.4)	12 (46.2)	15 (57.7)	10 (38.5)	0.376	

Abreviaciones: DC: dieta convencional; MD-AF: dieta mediterránea con actividad física; DM-HMF: dieta mediterránea con ingestas altamente frecuentes. Los datos se muestran como N (%) o media  $\pm$  desviación estándar. Las diferencias ( $p < 0.05$ ) entre grupos de intervención se han calculado mediante el test de Chi cuadrado, test exacto de Fisher o la prueba de análisis de la varianza (ANOVA), utilizando como prueba post hoc el test de Bonferroni. <sup>a,b,c</sup> Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) obtenidas mediante el test de Bonferroni para esa comparación.

En esta tabla se analizaron las características basales de los participantes según el grupo de intervención al que fueron aleatorizados. Se trata de tres grupos muy homogéneos, encontrando como únicas diferencias destacables, que el grupo de intervención con DM-AF aglutina más participantes con estudios secundarios y universitarios y en el grupos de DM-HMF más participantes con estudios primarios, viendo que del 49% de participantes sin estudios/primarios un 46,2% está en el grupo DM-HMF ( $p=0,039$ ).

**Tabla 4.** Antropometría, estilo de vida, riesgo de depresión y severidad del SMet según grupo de intervención.

	Total (N=155)	DC (N=51)	DM-HMF (N=52)	DM-AF (N=52)	p-valor
Cintura, cm	111.8 $\pm$ 9.2	111.1 $\pm$ 9.4	111.6 $\pm$ 9.6	112.8 $\pm$ 8.6	0.662
IMC, kg/m <sup>2</sup>	33.7 $\pm$ 3.7	33.8 $\pm$ 3.9	33.8 $\pm$ 4.0	33.5 $\pm$ 3.2	0.848
TAS, mmHg	137.7 $\pm$ 16.8	139.9 $\pm$ 18.6	137.4 $\pm$ 13.8	135.6 $\pm$ 18.1	0.669
TAD, mmHg	82.8 $\pm$ 9.2	82.1 $\pm$ 9.5	82.4 $\pm$ 7.8	83.7 $\pm$ 10.3	0.823
Frecuencia cardiaca, rep	71.1 $\pm$ 11.1	70.3 $\pm$ 10.1	69.8 $\pm$ 12.1	73.1 $\pm$ 11.2	0.557
Actividad física (METs mensual)	3203.8 $\pm$ 3178.5	2611.4 $\pm$ 2244.2	3677.3 $\pm$ 3296.3	3311.2 $\pm$ 3757.4	0.233
Ninguna	66 (42.9)	24 (47.1)	24 (46.2)	18 (35.3)	0.001
Leve	53 (34.4)	13 (25.5) <sup>b</sup>	14 (26.9) <sup>c</sup>	26 (51.0) <sup>b,c</sup>	
Moderada	26 (16.9)	13 (25.5)	6 (11.5)	7 (13.7)	
Elevada	9 (5.8)	1 (2.0) <sup>a</sup>	8 (15.4) <sup>a,c</sup>	0 (0.0) <sup>c</sup>	
Horas de sueño	6.7 $\pm$ 1.1	6.9 $\pm$ 1.0	6.5 $\pm$ 1.1	6.5 $\pm$ 1.2	0.109
Índice de Pittsburgh	6.8 $\pm$ 3.8	6.6 $\pm$ 4.0	7.1 $\pm$ 3.4	6.8 $\pm$ 4.1	0.848
Adhesión a la dieta DM	7.2 $\pm$ 2.6	7.1 $\pm$ 2.7	6.9 $\pm$ 2.6	7.6 $\pm$ 2.4	0.343
Beck	7.5 $\pm$ 6.2	7.2 $\pm$ 5.9	7.8 $\pm$ 5.5	7.4 $\pm$ 7.2	0.888
Score de severidad SMet	1.3 $\pm$ 1.0	1.4 $\pm$ 0.8	1.3 $\pm$ 1.0	1.4 $\pm$ 1.1	0.941
Score de Fibrosis	1.4 $\pm$ 1.0	1.4 $\pm$ 1.1	1.3 $\pm$ 1.2	1.5 $\pm$ 0.8	0.724

Abreviaciones: cm: centímetro; DC: dieta convencional; DM: dieta mediterránea; MD-AF: dieta mediterránea con actividad física; DM-HMF: dieta mediterránea con ingestas altamente frecuentes; kg: kilogramo; m: metros; min: minutos; mmHg: milímetros de mercurio; SMet: síndrome metabólico; TAD: tensión arterial diastólica; TAS: tensión arterial sistólica. Los datos se muestran como N (%) o media  $\pm$  desviación estándar. Las diferencias ( $p < 0.05$ ) entre grupos de intervención se calcularon mediante el test chi cuadrado o la prueba del análisis de la varianza (ANOVA), utilizando como prueba post hoc el test de Bonferroni. <sup>a,b,c</sup> Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) obtenidas mediante el test de Bonferroni para esa comparación.

En la tabla 4 se analizaron las características antropométricas, estilo de vida, riesgo de depresión y severidad del SMET según el grupo de intervención al que los pacientes fueron aleatorizados.

Se observa que los grupos de intervención son homogéneos y no presentaron diferencias significativas entre ellos en cuanto a cintura, IMC, TAS, TAD, FC reposo, AF en METS, horas de sueño, calidad del sueño, adhesión a la DM, riesgo de depresión, score de severidad del Smet y Score de fibrosis.

La única variable con diferencias significativas fue el tipo de actividad física que realizaron donde, del 34,4% del total de participantes que realizaron AF LEVE, un 51,0% se encontraban en el grupo de intervención DM-AF, respecto al 25,5% en el grupo DC y el 26,9% en el grupo DM-HMF (P=0,01). En la variable AF ELEVADA, del 5,8% de participantes que la realizaban, el 15,4% estaba en el grupo DM-HMF con diferencias significativas con el grupo de DC (2%) y el de DM-AF (0%).

**Tabla 5.** Ecografía basal: Esteatosis y fibrosis hepática según grupo de intervención.

	Total (N=155)	DC(N=51)	DM-HMF (N=52)	DM-AF (N=52)	p-valor
Distancia Parénquima Piel, cm	2.6±0.6	2.6±0.6 <sup>b</sup>	2.4±0.4	2.9±0.6 <sup>b</sup>	0.013
Grado esteatosis hepática					
Grado 1	59 (39.9)	15 (30.6)	21 (42.0)	23 (46.9)	0.500
Grado 2	80 (54.1)	30 (61.2)	27 (54.0)	23 (46.9)	
Grado 3	9 (6.1)	4 (8.2)	2 (4.0)	3 (6.1)	
Ecografía ARFI, m/s	1.8±0.7	1.7±0.6	1.7±0.7	2.0±0.7	0.183
Elastografía, kPa	5.3±2.0	5.2±1.8	5.2±1.8	5.6±2.1	0.587
Grado de fibrosis					
Grado 0-1	129 (90.2)	42 (89.4)	42 (89.4)	45 (91.8)	0.499
Grado 2	6 (4.2)	3 (6.4)	2 (4.3)	1 (2.0)	
Grado 3	7 (4.9)	2 (4.3)	3 (6.4)	2 (4.1)	
Grado 4	1 (0.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (2.0)	

Abreviaciones: cm: centímetro; DC: dieta convencional; DM: dieta mediterránea; kPa: kilopascal; m: metros; MD-AF: dieta mediterránea con actividad física; DM-HMF: dieta mediterránea con ingestas altamente frecuentes; s: segundos. Los datos se muestran como N (%) o media ± desviación estándar. Las diferencias (p<0.05) entre grupos de intervención se calcularon mediante el test de chi cuadrado o la prueba de análisis de la varianza (ANOVA), utilizando como prueba post hoc el test de Bonferroni. <sup>a,b,c</sup>Diferencias significativas (p<0.05) obtenidas mediante el test de Bonferroni para esa comparación.

En la tabla 5 se observan diferencias entre los tres grupos de intervención a nivel basal según sus resultados de ecografía. El cálculo del grado de fibrosis por elastografía se realizó según Bartres y Sabela (371). No hay diferencias a nivel basal entre los grupos respecto a la ecografía, la única diferencia significativa se registró en la distancia parénquima a piel en cm ( $p=0,013$ )

**Tabla 6.** Ecografía basal: Esteatosis y fibrosis hepática según los terciles de severidad del SMet.

	Tercil 1 SSSMet (<1.43) N=24	Tercil 2 SSSMet (0.93-1.42) N=24	Tercil 3 SSSMet (≥1.43) N=24	p-valor
Grado esteatosis hepática				
Grado 1	45 (54.9) <sup>b</sup>	5 (21.7)	0 (0.0) <sup>b</sup>	0.010
Grado 2	29 (35.4) <sup>b</sup>	18 (78.3)	21 (95.5) <sup>b</sup>	
Grado 3	8 (9.8)	0 (0.0)	1 (4.5)	
Elastografía, kPa	4.4±0.9 <sup>b</sup>	5.1±1.3	5.7±1.8 <sup>b</sup>	0.018
Grado de fibrosis (elastografía)				
Grado 0-1	21 (100.0)	21 (91.3)	19 (86.4)	0.367
Grado 2	0 (0.0)	2 (8.7)	2 (9.1)	
Grado 3	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)	
Grado 4	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Score Fibrosis	0.9±1.1 <sup>b</sup>	1.3±0.7	1.8±1.0 <sup>b</sup>	0.013

Abreviaciones: DC: dieta convencional; DM: dieta mediterránea; kPa: kilopascal; MD-AF: dieta mediterránea con actividad física; DM-HMF: dieta mediterránea con ingestas altamente frecuentes; SMet: síndrome metabólico. Los datos se muestran como N (%) o media ± desviación estándar. Las diferencias ( $p<0.05$ ) entre los terciles de severidad del SMet se calcularon mediante el test de chi cuadrado o la prueba de análisis de la varianza (ANOVA), utilizando como prueba post hoc el test de Bonferroni. <sup>a,b,c</sup> Diferencias estadísticamente significativas ( $p<0.05$ ) obtenidas mediante el test de Bonferroni para esa comparación.

En la tabla 6 se recogen los resultados de ecografía basal antes de la intervención, según terciles de severidad del SMet, siendo el tercil 1 el de menor severidad de SMet y el tercil 3 el de mayor severidad. Se observa que hay diferencias significativas entre el tercil 1 y tercil 3 respecto a la esteatosis grado 1 ( $p=0,010$ ), pudiendo afirmar que los participantes con un grado de esteatosis 1 se agruparon mayoritariamente en el tercil 1 de severidad del Smet y que entre aquellos en el tercil 3 de severidad del Smet no hubo ningún participante con grado 1 de esteatosis. Por otro lado, los participantes en el tercil 3 de severidad de Smet agruparon más

participantes con grado 2 se esteatosis hepática. También puede afirmarse que la muestra se encuentra mayoritariamente entre los grados 1 y 2 de severidad de esteatosis. Existen también diferencias significativas entre el tercil 1 y 3 respecto a la elastografía medida en kPa, arrojando peores resultados aquellos pacientes en el tercil 3 ( $p=0,018$ ).

Respecto al grado de fibrosis no se observaron diferencias entre los grupos, pero el dato interesante de esta variable es que la mayoría de la muestra presentó un grado de fibrosis por elastografía de 0-1, con una pequeña cantidad en el grado 2 de fibrosis y el único participante con grado 3 se encontró en el tercil 3. No hubo ningún participante en el grado 4 de fibrosis.

Respecto al score de fibrosis, hubo diferencias significativas entre el tercil 1 y 3, obteniendo peor score de fibrosis los participantes en el tercil 3 de severidad del SMet ( $p=0,013$ ).

Aquellos pacientes con mayor severidad de SMet tuvieron más esteatosis grado 2 comparados con los de menor severidad de SMet, que presentaron esteatosis grado 1 y aquellos con mayor severidad de SMet (tercil 3) que presentaron valores más altos en elastografía, así como peor score de fibrosis que los pacientes en el tercil 1.



**Tabla 7.** 1 año de cambios en parámetros bioquímicos, esteatosis y fibrosis hepática y severidad del SMet según grupos de intervención.

		Total (n=155)	Prueba t medidas repetidas p-valor	DC (N=51)	DM-HMF (N=52)	DM-AF (N=52)	GLM p- valor
SSSMet	Basal	1.3±0.9		1.3±0.8	1.3±1.0	1.4±1.2	
	1 año	0.9±0.7	0.001	1.1±0.8	0.8±0.7	0.9±0.8	0.794
Ecografía ARFI, m/s	Basal	1.7±0.6		1.7±0.6	1.7±0.7	2.0±0.7	
	1 año	1.8±0.6	0.228	1.9±0.5	1.9±0.6	1.7±0.6	0.090
Elastografía, kPa	Basal	5.2±1.9		5.2±1.8	5.2±1.8	5.6±2.2	
	1 año	5.2±1.9	0.815	5.3±1.6	4.8±1.5	5.7±2.4	0.135
Glucosa, mg/dL	Basal	113.5±37.8		117.8±45.9	108.4±22.2	122.3±58.3	
	1 año	104.7±25.7	0.001	108.2±29.8	100.7±26.4	105.1±18.2	0.438
HDL, mg/dL	Basal	45.0±11.4		45.1±14.0	45.6±9.2	42.3±9.3	
	1 año	47.5±12.6	<0.001	47.3±14.0	49.5±11.4	45.3±11.9	0.532
LDL, mg/dL	Basal	118.4±35.1		121.0±37.9	117.0±30.4	110.8±35.9	
	1 año	113.4±35.4	0.068	115.2±36.7	107.3±34.6	116.5±36.0	0.288
TAG, mg/dL	Basal	193.2±211.6		187.3±93.4	198.5±304.3	212.9±184.6	
	1 año	147.3±86.3	0.013	161.7±108.7	132.0±64.8	148.1±76.5	0.153
Colesterol total, mg/dL	Basal	200.7±47.5		203.9±42.7	199.3±54.5	194.3±46.6	
	1 año	189.8±42.6	0.011	195.0±46.8	183.1±39.6	191.6±40.7	0.278
HbA1c, %	Basal	6.0±1.2		6.2±1.3	5.9±1.0	6.3±1.6	
	1 año	5.8±0.8	0.004	6.0±1.1	5.8±0.7	5.7±0.6	0.126
TAS, mmHg	Basal	137.7±17.0		139.9±18.6	137.4±13.8	135.6±18.0	
	1 año	132.2±11.6	0.003	137.2±12.0	130.0±9.9	129.6±11.7	0.116
TAD, mmHg	Basal	82.3±9.2		82.1±9.5	82.4±7.8	83.7±10.3	
	1 año	80.2±7.6	0.045	80.3±7.9	80.6±6.5	79.6±8.5	0.908
VAI	Basal	7.1±5.1		7.5±4.7	8.6±19.1	8.3±6.6	
	1 año	5.6±4.4	0.001	6.2±5.1	4.5±3.3	5.9±4.3	0.479
T&G índice	Basal	9.1±0.6		9.2±0.6	9.0±0.7	9.2±0.7	
	1 año	8.8±0.6	<0.001	8.9±0.6	8.7±0.5	8.8±0.5	0.195
HOMA-IR	Basal	6.0±4.6		7.0±6.4	5.1±3.2	5.9±3.6	
	1 año	4.4±3.6	<0.001	5.1±3.9	4.2±4.2	3.8±1.9	0.173
Score de fibrosis	Basal	1.4±1.0		1.4±1.1	1.3±1.2	1.5±0.8	
	1 año	-142.9±138.7	<0.001	-148.1±142.1	-147.8±138.5	-128.4±137.5	0.762

Abreviaciones: DC: dieta convencional; dL: decilitro; DM: dieta mediterránea; kPa: kilopascal; MD-AF: dieta mediterránea con actividad física; DM-HMF: dieta mediterránea con ingestas altamente frecuentes; GLM: modelo lineal generalizado; HOMA-IR: modelo homeostático de evaluación de la resistencia a la insulina; m: metros; mg: miligramo; mmHg: milímetros de mercurio; s: segundos; T&G índice: índice de triglicéridos/glucosa; VAI: índice de adiposidad visceral. Los datos se muestran como N (%) o media ± desviación estándar. Las diferencias ( $p<0.05$ ) entre la variable basal y a 1 año desde el inicio de la intervención se calcularon mediante la prueba t de medidas repetidas. Las diferencias entre los grupos de intervención tras 1 año de inicio del estudio, se evaluaron a partir Modelo Lineal Generalizado, ajustando cada variable por sexo, edad y su variable basal. Como prueba post hoc se utilizó el test de Bonferroni. <sup>a,b,c</sup> Diferencias estadísticamente significativas ( $p<0.05$ ) obtenidas mediante el test de Bonferroni para esa comparación.

La tabla 7 presenta los cambios en parámetros bioquímicos, esteatosis y fibrosis hepática y severidad del Smet al año de la intervención y según el grupo de intervención. Es muy interesante observar cómo al año, casi todos los parámetros

bioquímicos mejoraron: la glucemia, el HDL, los triglicéridos, el índice T&G, la TA sistólica y diastólica, HB glicosilada, el índice de adiposidad visceral, el HOMA y el score de severidad del Smet en los tres grupos de intervención. Cuando se ajustó por edad y sexo, no hubo diferencias entre los distintos grupos de intervención, entendiéndose que las tres intervenciones fueron efectivas. Cabe señalar que si bien todos los parámetros mejoraron, el LDL-Col y la elastografía no presentaron cambios significativos al año.

**Tabla 8.** Cambio en los parámetros clínicos según los terciles de cambio de 1 año en elastografía.

		Tercil 1 $\Delta =$ $-2.3 \pm 2.1$ (n=38)	Tercil 2 $\Delta = 0.1 \pm 0.5$ (n=37)	Tercil 3 $\Delta = 2.4 \pm 1.4$ (n=36)	GLM p-valor
SSSMet	Basal	1.2±0.6	1.6±1.4	1.2±0.7	0.443
	1 año	0.8±0.5	1.1±0.8	1.0±0.8	
Ecografía ARFI, m/s	Basal	1.6±0.6	0.9±0.6	1.7±0.5	0.303
	1 año	1.9±0.7	1.8±0.6	1.7±0.3	
Glucosa, mg/dL	Basal	114.6±23.6	121.0±58.2	111.3±27.7	0.246
	1 año	106.9±21.2	104.3±24.9	107.6±33.8	
HDL, mg/dL	Basal	48.0±12.4	41.8±10.3	41.5±9.2	0.750
	1 año	50.9±12.7	43.9±11.5	44.6±12.7	
LDL, mg/dL	Basal	113.4±31.3	117.6±29.2	127.7±38.5	0.421
	1 año	105.8±30.3	110.8±37.2	125.9±38.4	
TAG, mg/dL	Basal	152.9±53.1	257.2±365.9	180.2±100.1	0.023
	1 año	116.8±35.1 <sup>b</sup>	170.6±116.6	168.3±85.4 <sup>b</sup>	
Colesterol total, mg/dL	Basal	190.9±38.6	206.9±60.7	205.5±41.5	0.110
	1 año	180.1±37.4	189.0±42.4	204.1±47.5	
HbA1c, %	Basal	6.1±1.0	6.2±1.7	6.0±0.9	0.548
	1 año	5.8±0.8	5.9±0.9	5.8±1.0	
TAS, mmHg	Basal	138.7±13.8	136.8±11.5	139.4±20.0	0.256
	1 año	128.6±12.5	133.5±9.8	133.0±12.3	
TAD, mmHg	Basal	83.6±9.4	81.4±8.1	82.7±9.2	0.942
	1 año	80.0±10.1	79.7±5.9	80.6±7.9	
T&G índice	Basal	9.0±0.4	9.3±0.8	9.1±0.6	0.052
	1 año	8.7±0.4 <sup>c</sup>	8.9±0.6	9.0±0.6 <sup>c</sup>	
VAI	Basal	5.6±2.3	11.8±22.3	7.7±5.0	0.061
	1 año	3.9±1.7	7.0±5.6	6.8±4.7	
HOMA índice	Basal	5.9±3.4	5.5±3.3	6.1±3.7	0.034
	1 año	4.4±3.4	3.8±2.2 <sup>c</sup>	5.8±4.8 <sup>c</sup>	
Score de Fibrosis	Basal	1.5±1.1	1.2±0.8	1.5±1.1	0.002
	1 año	-206.2±125.8 <sup>a,b</sup>	-110.0±133.7 <sup>a</sup>	-92.6±132.9 <sup>b</sup>	

Abreviaciones: dL: decilitro; GLM: modelo lineal generalizado; HOMA-IR: modelo homeostático de evaluación de la resistencia a la insulina; kPa: kilopascal; m: metros; mg: miligramo; mmHg: milímetros de mercurio; s: segundos; T&G índice: índice de triglicéridos/glucosa; VAI: índice de adiposidad visceral. Los datos se muestran como N (%) o media  $\pm$  desviación estándar. Las diferencias entre los terciles de cambio en elastografía después de 1 año desde el inicio del estudio se calcularon a partir Modelo Lineal Generalizado, ajustando cada variable por sexo, edad y su variable basal. Como prueba post hoc se utilizó el test de Bonferroni y el de Sidak. <sup>a,b,c</sup> Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) obtenidas mediante el test de Bonferroni para esa comparación.

En la tabla 8 se observa que hay diferencias significativas entre los que más redujeron la Kpa, disminuyendo la fibrosis, tercil 1 y los que menos la redujeron, igual o más fibrosis, (tercil 3), en lo que se refiere a dos variables, el nivel de triglicéridos y el score de fibrosis. Se observa que en el grupo que más disminuyó la

Kpa (tercil 1), se dio un descenso significativo ( $p=0,023$ ) en el nivel de triglicéridos en ayunas tras un año de intervención,

Respecto al score de fibrosis, aquellos participantes incluidos en el tercil 1 que más mejoraron su elastografía al año, presentaron un descenso en el score de fibrosis significativamente mayor que aquellos en el tercil 3, y que aquellos en el tercil 2 ( $p=0,002$ )

Del mismo modo, se observa una diferencia significativa en el índice HOMA, entre el grupo incluido en el tercil 2 y el del tercil 3 ( $p=0,034$ ). El tercil 2 presentó un descenso muy significativo y mayor que el que presentaron los participantes en el tercil 3. Por otro lado, aunque no se observaron diferencias significativas, sí que hubo una tendencia en la variable T&G índice; al utilizar esta variable Sidak como post hoc, en lugar de Bonferroni, sí que hubo una asociación y que aquellos participantes en el tercil 1 con mayor reducción de la Kpa, también fueron los que más redujeron el T&G índice.

**Tabla 9.** Terciles de cambio en la severidad del síndrome metabólico

		Tercil 1 $\Delta =$ -1.2±0.9 (n=21)	Tercil 2 $\Delta =$ -0.3±0.1 (n=23)	Tercil 3 $\Delta =$ 0.4± 0.4 (n=21)	GLM p-valor
Elastografía, kPa	Basal	5.4±1.9	4.8±1.3	4.9±1.2	
	1 año	5.5±1.3	6.0±2.5	6.4±1.9	0.094
Glucosa, mg/dL	Basal	137.9±73.5	103.7±12.3	107.3±21.9	
	1 año	106.3±27.5 <sup>b</sup>	99.3±10.6	115.4±34.2 <sup>b</sup>	0.014
HDL, mg/dL	Basal	39.1±7.0	41.4±8.7	42.5±6.5	
	1 año	44.5±7.7 <sup>a,b</sup>	43.0±11.7 <sup>a,c</sup>	40.3±8.5 <sup>b,c</sup>	<0.001
LDL, mg/dL	Basal	128.6±27.8	133.5±34.0	126.1±35.6	
	1 año	121.8±37.6	128.7±37.8	118.6±41.1	0.849
TAG, mg/dL	Basal	341.7±470.4	177.9±76.2	169.7±67.9	
	1 año	142.6±58.5 <sup>b</sup>	153.5±59.9 <sup>c</sup>	237.1±132.1 <sup>b,c</sup>	<0.001
Colesterol total, mg/dL	Basal	228.7±68.4	210.3±40.2	202.5±38.2	
	1 año	194.7±41.8	202.4±47.0	206.3±49.0	0.366
HbA1c, %	Basal	6.8±2.1	5.7±0.4	5.8±0.6	
	1 año	6.1±1.0	5.7±0.4	5.9±0.9	0.365
TAS, mmHg	Basal	144.2±17.5	137.8±12.5	130.2±18.4	
	1 año	135.0±11.2	133.8±10.4	127.6±12.6	0.561
TAD, mmHg	Basal	86.1±10.1	81.5±8.1	79.2±8.7	
	1 año	81.0±8.0	80.5±8.9	79.0±5.9	0.797
T&G índice	Basal	9.7±0.9	9.0±0.4	9.0±0.5	
	1 año	8.8±0.4 <sup>a,b</sup>	8.9±0.4 <sup>a,c</sup>	9.4±0.6 <sup>b,c</sup>	<0.001
VAI	Basal	16.6±28.9	7.8±4.0	6.7±2.8	
	1 año	5.4±3.1 <sup>b</sup>	6.5±3.4 <sup>b</sup>	10.2±6.3 <sup>b,c</sup>	<0.001
HOMA índice	Basal	7.4±3.7	4.9±2.3	5.5±3.9	
	1 año	4.6±2.5 <sup>b</sup>	4.4±1.9	6.1±5.1 <sup>b</sup>	0.011
Score de Fibrosis	Basal	1.4±1.0	1.1±1.0	1.5±1.0	
	1 año	1.3±0.8	1.2±1.2	1.7±1.1	0.537

Abreviaciones: dL: decilitro; GLM: modelo lineal generalizado; HOMA-IR: modelo homeostático de evaluación de la resistencia a la insulina; kPa: kilopascal; m: metros; mg: miligramo; mmHg: milímetros de mercurio; s: segundos; T&G índice: índice de triglicéridos/glucosa; VAI: índice de adiposidad visceral. Los datos se muestran como N (%) o media ± desviación estándar. Las diferencias entre los terciles de cambio del score de severidad del SMet después de 1 año desde el inicio del estudio, se calcularon a partir Modelo Lineal Generalizado, ajustando cada variable por sexo, edad y su variable basal. Como prueba post-hoc se utilizó el test de Bonferroni. <sup>a,b,c</sup> Diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) obtenidas mediante el test de Bonferroni para esa comparación.

En la tabla 9 se ha dividido la muestra en tres grupos según la reducción en la severidad del síndrome metabólico, estando en el tercil 1 aquellos pacientes que más mejoraron el síndrome metabólico disminuyendo su severidad y en el tercil 3 aquellos que aumentaron la severidad del síndrome y con cambios en las distintas variables según los terciles de cambio al año de intervención.

Se observa que aquellos que más redujeron la severidad del síndrome metabólico también presentaron mejoras significativas en cuanto a reducción de Glu, aumento de HDL, disminución de TG, mejoría del índice T&G, mejoría de la VAI y mejoría del índice HOMA, respecto al grupo que menos redujo la severidad del Smet. Por el contrario, en variables como elastografía, LDL, Col total, Hb Glicosilada, TAS, TAD y Score de fibrosis no se observaron diferencias significativas entre los grupos según terciles de cambio en la severidad del Smet.

**Tabla 10.** Terciles de cambio 1 año del score de fibrosis hepática.

		Tercil 1 $\Delta =$ -289.5±19.4 (n=34)	Tercil 2 $\Delta =$ -180.9±116.3 (n=35)	Tercil 3 $\Delta = 0.3\pm 0.5$ (n=35)	GLM p-valor
Elastografía, kPa	Basal	5.9±2.1	5.0±2.7	5.1±1.3	0.001
	1 año	4.7±1.4 <sup>b</sup>	4.4±1.2 <sup>b</sup>	6.1±2.3 <sup>b,c</sup>	
Glucosa, mg/dL	Basal	113.7±31.0	109.0±18.0	120.6±60.0	0.380
	1 año	103.3±27.9	100.5±19.1	111.6±33.9	
HDL, mg/dl	Basal	47.9±13.8	47.5±10.5	41.4±8.0	0.172
	1 año	52.5±13.8	49.4±11.4	43.4±11.7	
LDL, mg/dL	Basal	101.6±30.7	117.2±36.9	130.2±31.8	0.136
	1 año	103.1±30.3	107.5±33.8	124.7±41.5	
TAG, mg/dL	Basal	160.2±87.6	162.1±80.6	208.5±118.3	0.104
	1 año	118.6±64.0	125.8±67.0	176.9±114.8	
Colesterol total, mg/dL	Basal	180.7±34.2	197.7±43.2	211.9±37.4	0.145
	1 año	179.2±36.3	182.0±41.9	203.3±47.5	
HbA1c, %	Basal	6.1±1.1	5.8±0.7	6.3±1.6	0.225
	1 año	5.7±1.0	5.7±0.5	6.1±1.0	
T&G índice	Basal	9.0±0.6	9.0±0.5	9.3±0.6	0.034
	1 año	8.6±0.5	8.6±0.5	9.0±0.6	
VAI	Basal	5.8±4.5	6.5±4.1	8.7±6.5	0.058
	1 año	3.8±3.3	5.0±3.7	7.2±5.3	
HOMA índice	Basal	5.8±3.4	5.5±3.2	6.1±3.9	0.081
	1 año	3.9±3.7	4.0±3.2	5.6±4.3	

Abreviaciones: dL: decilitro; GLM: modelo lineal generalizado; HOMA-IR: modelo homeostático de evaluación de la resistencia a la insulina; kPa: kilopascal; mg: miligramo; T&G índice: índice de triglicéridos/glucosa; VAI: índice de adiposidad visceral. Los datos se muestran como N (%) o media ± desviación estándar. Las diferencias entre los terciles de cambio en el score de fibrosis hepática después de 1 año desde el inicio del estudio, se calcularon a partir del Modelo Lineal Generalizado, ajustando cada variable por sexo, edad y su variable basal. Como prueba post-hoc se utilizó el test de Bonferroni y el de Sidak. <sup>a,b,c</sup> Diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) obtenidas mediante el test de Bonferroni para esa comparación.

En la tabla 10 se agruparon los pacientes en terciles de cambio al año según hubieran mejorado más a menos el score de fibrosis, de modo que en el tercil 1 están los

pacientes que mejoraron el score de fibrosis y en el tercil 3 los que no solo no lo mejoraron, sino que incluso lo empeoraron.

En el grupo que más mejoró el score de fibrosis, también hubo una mejoría en los resultados de elastografía; así, parece que hay una asociación entre la mejoría del score y la mejoría en la imagen por elastografía.

También se observan diferencias significativas en cuanto al descenso del índice T&G ( $p=0,034$ ) y una tendencia en el VAI ( $p=0,058$ ).

**Tabla 11.** Características basales de esteatosis, fibrosis hepática, parámetros bioquímicos según presencia de menopausia.

	Total mujeres (n=61)	No menopausia/ perimenopausia (n=28)	Menopausia/ postmenopausia (n=33)	p-valor
SSSMet	1.4±0.9	1.3±0.6	1.5±1.1	0.706
Ecografía ARFI, m/s	2.1±0.7	2.3±0.6	2.0±0.8	0.276
Grado esteatosis hepática				
Grado 1	24 (41.4)	15 (55.6)	9 (29.0)	0.123
Grado 2	31 (53.4)	11 (40.7)	20 (64.5)	
Grado 3	3 (5.2)	1 (3.7)	2 (6.5)	
Elastografía, kPa	5.2±2.3	4.7±1.7	5.8±2.7	0.067
Grado de fibrosis (elastografía)				
Grado 0-1	52 (89.7)	25 (92.6)	27 (87.1)	0.369
Grado 2	3 (5.2)	2 (7.4)	1 (3.2)	
Grado 3	2 (3.4)	0 (0.0)	2 (6.5)	
Grado 4	1 (1.7)	0 (0.0)	1 (3.2)	
Glucosa, mg/dL	109.3±29.2	103.5±13.7	114.2±37.3	0.157
HDL, mg/dL	49.5±12.1	45.6±8.3	52.7±13.9	0.022
LDL, mg/dL	118.1±33.8	118.8±31.0	117.6±36.4	0.895
TAG, mg/dL	151.3±67.8	160.3±86.1	143.7±47.4	0.368
Colesterol total, mg/dL	198.2±38.2	197.1±38.5	199.0±38.5	0.849
HbA1c (%)	5.9±0.8	5.6±0.5	6.1±0.9	0.020
TAS, mmHg	133.5±14.7	134.9±9.1	132.6±17.6	0.696
TAD, mmHg	81.7±7.8	80.7±6.6	82.4±8.6	0.558
VAI	6.8±4.0	7.6±4.7	6.0±3.1	0.148
T&G índice	8.9±0.5	8.9±0.5	8.9±0.4	0.779
HOMA índice	5.3±3.0	5.0±2.6	5.6±3.3	0.431
Score de Fibrosis	1.2±1.0	0.8±0.7	1.4±1.1	0.022

Abreviaciones: dL: decilitro; GLM: modelo lineal generalizado; HOMA-IR: modelo homeostático de evaluación de la resistencia a la insulina; kPa: kilopascal; m: metros; mg: miligramo; mmHg: milímetros de mercurio; s: segundos; T&G índice: índice de triglicéridos/glucosa; VAI: índice de adiposidad visceral. Los datos se muestran como N (%) o media ± desviación estándar. Las diferencias ( $p < 0.05$ ) entre mujeres menopáusicas y no menopáusicas se han calculado mediante la prueba de chi cuadrado o test T de student para muestras independientes.

En la tabla 11 se observa el total de mujeres a nivel basal y su comparación con el grupo de menopausia/postmenopausia y con el de no menopausia/perimenopáusicas. Vemos que las únicas diferencias relevantes son la HDL que, sorprendentemente, es mejor en el grupo de menopausia y la hemoglobina glicosilada que es mayor también en el grupo de menopausia.



**Tabla 12.** Cambio al año de los parámetros bioquímicos, esteatosis y fibrosis hepática según presencia de menopausia.

		No menopausia/ perimenopausia (n=28)	Menopausia (n=33)	GLM p-valor
SSSMet	Basal	1.3±0.6	1.5±1.1	0.389
	1 año	0.9±0.5	1.2±0.8	
Ecografía ARFI (m/s)	Basal	2.3±0.6	2.0±0.8	0.066
	1 año	1.9±0.6	2.2±0.7	
Elastografía (kPa)	Basal	4.7±1.7	5.8±2.7	0.323
	1 año	5.2±2.7	4.7±1.3	
Glucosa (mg/dL)	Basal	103.5±13.7	114.2±37.3	0.122
	1 año	94.8±11.2	105.5±27.1	
HDL (mg/dl)	Basal	45.6±8.3	52.7±13.9	0.507
	1 año	48.6±9.8	55.2±15.2	
LDL (mg/dL)	Basal	118.8±31.0	117.6±36.4	0.637
	1 año	122.3±25.4	123.3±37.8	
TAG (mg/dL)	Basal	160.3±86.1	143.7±47.4	0.221
	1 año	132.1±64.6	132.6±68.6	
Colesterol total (mg/dL)	Basal	197.1±38.5	199.0±38.5	0.451
	1 año	197.2±30.9	205.1±46.6	
HbA1c (%)	Basal	5.6±0.5	6.1±0.9	0.707
	1 año	5.5±0.5	5.9±0.9	
TAS (mmHg)	Basal	134.9±9.1	132.6±17.6	0.781
	1 año	132.9±11.3	130.9±12.0	
TAD (mmHg)	Basal	80.7±6.6	82.4±8.6	0.750
	1 año	82.0±5.7	81.2±6.7	
VAI	Basal	7.6±4.7	6.0±3.1	0.069
	1 año	5.6±3.5	5.6±4.0	
T&G índice	Basal	8.9±0.5	8.9±0.4	0.240
	1 año	8.6±0.5	8.7±0.5	
HOMA índice	Basal	5.0±2.6	5.6±3.3	0.690
	1 año	4.0±2.5	3.9±2.9	
Score de Fibrosis	Basal	0.8±0.7	1.4±1.1	0.985
	1 año	-149.5±132.4	-143.4±136.9	

Abreviaciones: dL: decilitro; GLM: modelo lineal generalizado; HOMA-IR: modelo homeostático de evaluación de la resistencia a la insulina; kPa: kilopascal; m: metros; mg: miligramo; mmHg: milímetros de mercurio; s: segundos; T&G índice: índice de triglicéridos/glucosa; VAI: índice de adiposidad visceral. Los datos se muestran como N (%) o media ± desviación estándar. Las diferencias ( $p < 0.05$ ) entre las variables basal y 1 año de inicio del estudio entre mujeres no menopáusicas y menopáusicas se calcularon mediante modelos lineales generalizados (GLM) ajustados por su variable basal.

Es interesante observar como al año tras la intervención, no hay diferencias estadísticamente significativas entre menopausia y no menopausia, lo que significa que ambos grupos han respondido positivamente a la intervención independientemente de su situación hormonal.

**Tabla 13.** Cambio en variables antropométricas, de estilo de vida, riesgo de depresión según terciles de cambio de SMet.

		Total	Prueba t medidas repetidas p-valor	Tercil 1 Δ = -1.2±0.9 (n=21)	Tercil 2 Δ = -0.3±0.1 (n=23)	Tercil 3 Δ = 0.4± 0.4 (n=21)	GLM p-valor
Cintura, cm	Basal	111.3±8.9		113.8±9.1	112.1±8.6	112.2±9.9	
	1 año	105.7±10.7	<0.001	107.4±8.4 <sup>c</sup>	108.8±9.6	111.1±10.9 <sup>c</sup>	0.002
Peso, kg	Basal	94.8±13.8		95.4±9.5	91.3±12.3	94.0±16.4	
	1 año	89.8±14.0	<0.001	89.3±10.3 <sup>a,b</sup>	89.3±13.7 <sup>a</sup>	92.8±16.1 <sup>b</sup>	<0.001
IMC, kg/m <sup>2</sup>	Basal	33.7±3.7		33.9±4.3	32.7±3.6	33.3±3.8	
	1 año	31.8±4.0	<0.001	31.7±3.4 <sup>a,b</sup>	31.9±4.3 <sup>a</sup>	33.5±3.8 <sup>b</sup>	0.002
Masa grasa, kg	Basal	33.5±8.0		32.6±8.1	31.5±7.3	31.7±7.8	
	1 año	30.7±9.2	<0.001	28.0±8.7 <sup>a</sup>	31.3±7.7 <sup>a</sup>	34.8±6.8	0.026
Grasa visceral, kg	Basal	14.2±3.9		13.7±2.8	13.4±3.8	14.1±4.1	
	1 año	13.8±3.9	<0.001	12.0±2.4	13.5±4.3	15.4±4.2	0.199
Horas sueño	Basal	6.7±1.1		7.3±0.8	6.7±1.1	6.5±1.2	
	1 año	6.8±1.3	<0.001	7.1±1.1	7.0±1.3	6.6±1.3	0.724
Inventario depresión Beck	Basal	7.3±6.4		7.2±6.0	8.7±6.0	6.1±5.0	
	1 año	5.7±6.8	<0.001	5.1±6.3	5.1±4.8	5.9±6.4	0.561
Índice Pittsburgh	Basal	6.81±3.84		5.6±3.3	7.1±4.2	8.0±4.1	
	1 año	6.79±3.63	<0.001	5.2±3.0	6.6±3.3	8.1±3.9	0.474
Mets*min/ mes (Minnesota)	Basal	3374.7±3316.3		2597.0±2697.5	2399.0±2383.7	5045.0±5489.7	
	1 año	4029.5±3771.7	<0.001	3473.5±2928.6	4661.7±5092.8	4530.8±4578.3	0.292

Abreviaciones: cm: centímetros; kg: kilogramos; m: metros; SMet: síndrome metabólico. Los datos se muestran como media ± desviación estándar. Las diferencias entre las variables basales y a 1 año del inicio de la intervención se calcularon a partir de pruebas t para medidas repetidas. Las diferencias entre los terciles de cambio de SMet desde el inicio del estudio, se calcularon a partir del Modelo Lineal Generalizado, ajustando cada variable por sexo, edad y su variable basal. Como prueba post hoc se utilizó el test de Bonferroni. <sup>a,b,c</sup> Diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) obtenidas mediante el test de Bonferroni para esa comparación.

El tercil 1 es aquel que más redujo su score de severidad del SMet, mientras que el tercil 3 es aquel que menos lo hizo; en este caso, incluso aminoró el score de severidad de SMet tras 1 año de intervención. Vemos que prácticamente todas las variables mejoraron al año de la intervención, pero en el perímetro abdominal la diferencia fue significativa (p=0,002), en el peso (p<0,001), en IMC (p=0,002) y en la masa grasa (p=0,026); así, los pacientes en el tercil 1 presentaron descensos en dichos parámetros mayores respecto al resto de los grupos, con diferencias significativas. Por otro lado, en el resto de los parámetros (horas de sueño, test de

Beck, índice de Pittsburgh, Mets/mensuales) también mejoraron al año, pero sin diferencias significativas entre los grupos (terciles de cambio).

**Tabla 14.** Cambio en alimentación según cambio en terciles del score de severidad de SMet.

		Total	Prueba t medidas repetidas p-valor	Tercil 1 Δ = -1.2±0.9 (n=21)	Tercil 2 Δ = -0.3±0.1 (n=23)	Tercil 3 Δ = 0.4± 0.4 (n=21)	GLM p- valor
Hidratos de carbono, g/día	Basal	256.7±114.6		204.1±60.6	250.1±89.3	238.1±79.3	
	1 año	204.5±73.3	<0.001	173.4±57.7	207.3±82.4	206.1±52.1	0.612
Proteínas, g/día	Basal	107.1±33.6		99.5±27.4	97.1±28.6	99.8±30.5	
	1 año	99.1±49.3	0.206	84.0±26.7	94.5±30.3	95.2±21.9	0.268
Lípidos, g/día	Basal	106.7±38.0		100.6±38.6	103.9±40.2	93.7±32.2	
	1 año	84.2±34.3	0.124	75.8±28.0 <sup>b</sup>	87.2±25.4	94.3±19.7 <sup>b</sup>	0.038
AGM, g/día	Basal	51.4±19.5		48.8±18.5	53.4±20.1	44.0±17.0	
	1 año	42.4±17.3	0.096	39.2±16.3	47.7±15.7	48.0±11.0	0.084
AGP, g/día	Basal	17.8±7.8		18.7±12.2	15.9±6.5	17.1±7.4	
	1 año	16.0±11.2	0.445	15.0±6.4	15.1±5.6	17.6±5.8	0.261
AGS, g/día	Basal	29.9±12.3		27.0±11.8	26.0±9.8	26.2±8.8	
	1 año	20.3±8.5	0.018	16.6±7.5 <sup>b</sup>	19.9±6.8	22.8±6.9 <sup>b</sup>	0.011
Alcohol, g/día	Basal	9.0±13.1		7.9±16.1	11.3±18.3	8.1±11.9	
	1 año	6.6±12.0	<0.001	3.0±5.4	10.0±18.6	6.8±12.4	0.130
Energía total, kcal/día	Basal	2478.6±821.3		2174.4±545.1	2402.7±685.9	2251.5±606.9	
	1 año	2018.2±706.1	0.035	1732.8±474.4	2062.1±626.3	2101.5±412.9	0.068
Fibra, g/día	Basal	25.2±11.2		23.2±9.0	25.1±12.2	26.5±11.1	
	1 año	30.0±12.6	<0.001	28.8±10.1	30.5±13.0	29.7±12.2	0.696
Índice glucémico	Basal	52.0±6.6		51.2±7.9	50.7±6.2	51.2±5.6	
	1 año	49.7±6.4	0.003	51.0±5.8	49.7±8.6	49.9±4.7	0.744
Verduras y hortalizas, g/día	Basal	317.5±206.9		304.4±150.9	296.9±200.5	350.0±187.6	
	1 año	364.4±229.4	<0.001	395.8±154.7	345.8±187.4	383.2±169.1	0.383
Frutas, g/día	Basal	287.1±201.6		243.2±170.1	332.9±248.3	319.3±212.2	
	1 año	339.5±214.3	<0.001	267.0±171.9	318.6±235.8	318.2±185.7	0.973
Legumbres	Basal	23.8±26.6		22.4±13.9	22.4±12.0	23.7±13.6	
	1 año	27.9±19.7	<0.001	31.2±22.4	32.4±26.8	28.5±21.0	0.660
Cereales*, g/día	Basal	152.4±98.9		122.1±60.9	132.4±64.3	132.1±59.5	
	1 año	123.1±76.3	0.017	123.0±70.1	119.8±74.0	115.2±56.7	0.774
Lácteos, g/día	Basal	350.1±227.8		310.4±186.1	296.3±214.8	305.6±197.8	
	1 año	357.7±284.8	0.003	255.8±136.7	288.3±224.5	248.6±116.3	0.641

Carnes y derivados, g/día	Basal	189.6±82.0		180.1±102.5	161.3±68.1	165.0±56.9	
	1 año	150.2±132.3	0.417	118.6±64.6	140.0±89.5	136.2±52.3	0.476
Aceite de oliva, g/día	Basal	31.8±19.7		30.8±17.9	38.2±21.1	25.0±16.3	
	1 año	28.7±16.6	0.123	29.6±15.6	33.1±14.0	32.6±14.6	0.829
Pescados, g/día	Basal	96.3±57.4		95.0±61.3	102.4±67.4	110.4±84.6	
	1 año	121.0±100.7	0.001	101.3±68.9	114.4±66.6	128.9±83.2	0.630
Frutos secos, g/día	Basal	12.3±15.7		12.8±17.2	8.8±9.8	15.8±17.2	
	1 año	21.1±26.9	0.056	21.2±19.1	18.9±19.9	20.8±25.1	0.951
Galletas y dulces, g/día	Basal	41.5±64.8		17.1±29.0	26.6±41.1	15.0±16.7	
	1 año	15.4±30.6	0.025	5.5±8.6	10.3±13.2	11.9±16.2	0.254
Adherencia a la DM	Basal	7.2±2.6		8.3±1.9	7.7±3.0	8.1±3.0	
	1 año	11.6±2.7	0.001	12.5±2.3	11.4±2.4	11.2±2.6	0.230

Abreviaciones: DM: dieta mediterránea, g: gramos; kcal: kilocalorías; SMet: síndrome metabólico. Los datos se muestran como N (%) o media ± desviación estándar. Las diferencias ( $p < 0.05$ ) entre la variable basal y a 1 año desde el inicio de la intervención se calcularon mediante prueba t de medidas repetidas. Las diferencias entre tertiles de cambio en el score de severidad del SMet después de 1 año desde el inicio del estudio, se evaluaron a partir del Modelo Lineal Generalizado, ajustando cada variable por sexo, edad y su variable basal. Como prueba post hoc se utilizó el test de Bonferroni. <sup>a,b,c</sup> Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) obtenidas mediante el test de Bonferroni para esa comparación. \*Los cereales no incluyen patatas.

Continuando con la observación de la evolución de la severidad del Smet y qué variables se asociaban más a su modificación, aquellos que empeoraron el score de severidad SM consumieron más grasas; aquellos que empeoran el score de severidad del Smet consumieron más gramos de lípidos diarios, principalmente saturados.



**Tabla 15.** Cambio en variables antropométricas, de estilo de vida, riesgo de depresión según terciles de cambio del score de fibrosis.

		Tercil 1 $\Delta =$ -289.5 $\pm$ 19.4 (n=34)	Tercil 2 $\Delta =$ -180.9 $\pm$ 116.3 (n=35)	Tercil 3 $\Delta = 0.3\pm 0.5$ (n=35)	GLM p-valor
Cintura, cm	Basal	110.4 $\pm$ 9.5	110.2 $\pm$ 8.2	112.9 $\pm$ 10.0	
	1 año	102.0 $\pm$ 11.3 <sup>b</sup>	104.0 $\pm$ 9.9 <sup>c</sup>	110.3 $\pm$ 10.8 <sup>b,c</sup>	<0.001
Peso, kg	Basal	96.5 $\pm$ 13.9	91.7 $\pm$ 12.8	94.3 $\pm$ 13.7	
	1 año	88.8 $\pm$ 14.2 <sup>b</sup>	86.0 $\pm$ 12.6 <sup>c</sup>	92.0 $\pm$ 14.2 <sup>b,c</sup>	<0.001
IMC, kg/m <sup>2</sup>	Basal	33.5 $\pm$ 3.5	34.1 $\pm$ 3.7	33.5 $\pm$ 4.0	
	1 año	30.8 $\pm$ 4.2 <sup>b</sup>	32.0 $\pm$ 3.6 <sup>c</sup>	32.6 $\pm$ 4.3 <sup>b,c</sup>	0.001
Masa grasa, kg	Basal	32.7 $\pm$ 6.3	35.0 $\pm$ 9.6	32.2 $\pm$ 8.4	
	1 año	27.6 $\pm$ 7.7 <sup>b</sup>	32.7 $\pm$ 11.0	31.9 $\pm$ 9.0 <sup>b</sup>	0.037
Horas sueño	Basal	6.7 $\pm$ 1.3	6.3 $\pm$ 0.9	6.8 $\pm$ 1.2	
	1 año	6.4 $\pm$ 1.6	6.9 $\pm$ 1.7	6.7 $\pm$ 1.2	0.928
Inventario depresión Beck	Basal	6.7 $\pm$ 7.2	8.0 $\pm$ 6.3	7.4 $\pm$ 6.0	
	1 año	5.7 $\pm$ 8.9	6.2 $\pm$ 6.1	5.9 $\pm$ 7.2	0.876
Mets*min/mensual (Minnesota)	Basal	3468.9 $\pm$ 2689.7	3308.2 $\pm$ 2588.0	3106.2 $\pm$ 3563.1	
	1 año	4233.6 $\pm$ 3072.6	3629.3 $\pm$ 2984.8	4158.2 $\pm$ 4814.0	0.612

Abreviaciones: cm: centímetros; kg: kilogramos; m: metros. Los datos se muestran como media  $\pm$  desviación estándar. Las diferencias entre los terciles de cambio del score de fibrosis después de 1 año desde el inicio del estudio, se calcularon a partir Modelo Lineal Generalizado, ajustando cada variable por sexo, edad y su variable basal. Como prueba post hoc se utilizó el test de Bonferroni. <sup>a,b,c</sup> Diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) obtenidas mediante el test de Bonferroni para esa comparación.

En la tabla 15 se analizan los cambios al año de la intervención según terciles de cambio en el score de fibrosis. Aquellos sujetos que más redujeron su score de fibrosis fueron quienes también disminuyeron más la cintura, el peso, el IMC y que tuvieron menor grasa visceral en kg; por el contrario, aquellos que aumentaron el score de fibrosis, presentaron mayor perímetro abdominal, más peso, mayor IMC y más masa grasa en kg que aquellos en el tercil 1 o de mayor reducción del score con  $p > 0,001$ ,  $p < 0,001$ ,  $p = 0,001$ ,  $p = 0,037$  respectivamente.

**Tabla 16.** Cambio de alimentación según terciles de cambio del score de fibrosis.

		Tercil 1 $\Delta =$ -289.5 $\pm$ 19.4 (n=34)	Tercil 2 $\Delta =$ -180.9 $\pm$ 116.3 (n=35)	Tercil 3 $\Delta = 0.3\pm 0.5$ (n=35)	GLM p-valor
Carbohidratos, g/día	Basal	298.4 $\pm$ 167.8	237.5 $\pm$ 94.3	240.0 $\pm$ 89.8	0.867
	1 año	221.6 $\pm$ 82.9	197.9 $\pm$ 77.3	206.0 $\pm$ 78.7	
Proteínas, g/día	Basal	114.1 $\pm$ 29.7	105.1 $\pm$ 28.8	99.7 $\pm$ 30.8	0.157
	1 año	107.2 $\pm$ 25.5	107.8 $\pm$ 84.6	87.3 $\pm$ 24.7	
Lípidos, g/día	Basal	109.9 $\pm$ 44.4	107.5 $\pm$ 32.8	95.4 $\pm$ 39.4	0.838
	1 año	81.7 $\pm$ 32.9	81.9 $\pm$ 48.8	83.7 $\pm$ 25.5	
AGM, g/día	Basal	51.9 $\pm$ 21.1	55.4 $\pm$ 19.9	45.5 $\pm$ 19.4	0.293
	1 año	40.6 $\pm$ 19.7	38.3 $\pm$ 19.2	44.3 $\pm$ 15.7	
AGP, g/día	Basal	18.0 $\pm$ 7.7	17.0 $\pm$ 5.6	16.4 $\pm$ 7.5	0.366
	1 año	14.3 $\pm$ 8.1	17.7 $\pm$ 19.3	15.7 $\pm$ 6.0	
AGS, g/día	Basal	32.4 $\pm$ 15.7	28.3 $\pm$ 9.1	25.9 $\pm$ 11.2	0.887
	1 año	21.5 $\pm$ 8.7	19.8 $\pm$ 10.3	18.9 $\pm$ 7.4	
Alcohol, g/día	Basal	9.7 $\pm$ 12.5	7.6 $\pm$ 10.2	11.5 $\pm$ 19.7	0.663
	1 año	8.2 $\pm$ 11.8	3.5 $\pm$ 5.0	9.2 $\pm$ 17.5	
Energía total, kcal/día	Basal	2706.8 $\pm$ 1114.7	2390.8 $\pm$ 668.2	2297.4 $\pm$ 707.4	0.986
	1 año	2108.6 $\pm$ 661.2	1984.2 $\pm$ 999.0	1990.2 $\pm$ 601.4	
Fibra, g/día	Basal	25.9 $\pm$ 8.5	24.8 $\pm$ 9.3	24.0 $\pm$ 12.0	0.819
	1 año	30.0 $\pm$ 14.1	30.3 $\pm$ 13.0	29.5 $\pm$ 12.1	
Índice glucémico	Basal	54.2 $\pm$ 5.0	51.8 $\pm$ 8.3	51.4 $\pm$ 7.3	0.028
	1 año	48.9 $\pm$ 7.2 <sup>b</sup>	48.4 $\pm$ 7.6	51.7 $\pm$ 5.3 <sup>b</sup>	
Verduras y hortalizas, g/día	Basal	336.3 $\pm$ 180.3	345.9 $\pm$ 277.7	299.5 $\pm$ 191.7	0.420
	1 año	343.1 $\pm$ 294.5	378.2 $\pm$ 270.4	362.0 $\pm$ 180.4	
Frutas, g/día	Basal	313.2 $\pm$ 170.9	251.2 $\pm$ 186.9	264.1 $\pm$ 204.8	0.338
	1 año	374.7 $\pm$ 202.1	364.6 $\pm$ 253.3	286.4 $\pm$ 192.5	
Legumbres	Basal	22.3 $\pm$ 13.1	19.4 $\pm$ 8.2	22.1 $\pm$ 14.1	0.131
	1 año	24.1 $\pm$ 15.6	25.5 $\pm$ 12.8	28.7 $\pm$ 198	
Cereales*, g/día	Basal	183.5 $\pm$ 104.9	164.2 $\pm$ 119.8	132.4 $\pm$ 68.9	0.283
	1 año	143.2 $\pm$ 85.8	106.7 $\pm$ 82.5	139.0 $\pm$ 71.5	
Lácteos, g/día	Basal	390.6 $\pm$ 205.7	305.5 $\pm$ 186.4	346.4 $\pm$ 198.9	0.013
	1 año	476.9 $\pm$ 212.5 <sup>b</sup>	413.8 $\pm$ 429.4 <sup>c</sup>	274.0 $\pm$ 176.0 <sup>b,c</sup>	
Carnes y derivados, g/día	Basal	205.9 $\pm$ 72.3	190.5 $\pm$ 81.5	169.6 $\pm$ 85.0	0.152
	1 año	169.2 $\pm$ 55.4	171.3 $\pm$ 231.9	115.4 $\pm$ 62.4	
Aceite de oliva, g/día	Basal	31.1 $\pm$ 17.9	39.1 $\pm$ 23.7	27.2 $\pm$ 16.5	0.033
	1 año	25.7 $\pm$ 18.7	23.6 $\pm$ 16.1 <sup>c</sup>	32.2 $\pm$ 15.4 <sup>c</sup>	
Pescados, g/día	Basal	89.5 $\pm$ 40.6	103.2 $\pm$ 50.3	98.5 $\pm$ 78.4	0.133
	1 año	112.8 $\pm$ 73.1	143.6 $\pm$ 150.1	107.8 $\pm$ 72.9	
Frutos secos, g/día	Basal	11.9 $\pm$ 16.3	11.6 $\pm$ 15.9	11.0 $\pm$ 15.1	0.099
	1 año	18.9 $\pm$ 20.7	28.2 $\pm$ 39.8	17.5 $\pm$ 20.2	
Galletas y dulces, g/día	Basal	65.9 $\pm$ 93.3	26.7 $\pm$ 38.1	25.3 $\pm$ 40.1	0.194
	1 año	17.6 $\pm$ 20.3	25.2 $\pm$ 52.6	8.3 $\pm$ 13.1	
Adherencia a la DM	Basal	6.4 $\pm$ 2.0	7.3 $\pm$ 2.7	7.3 $\pm$ 2.8	0.618
	1 año	11.6 $\pm$ 3.1	12.0 $\pm$ 2.6	11.3 $\pm$ 2.3	

Abreviaciones: DM: dieta mediterránea, g: gramos; GLM: modelo lineal generalizado; kcal: kilocalorías. Los datos se muestran como N (%) o media  $\pm$  desviación estándar. Las diferencias entre los terciles de cambio del score de fibrosis después de 1 año desde el inicio del estudio, se calcularon a partir del Modelo Lineal Generalizado, ajustando cada variable por sexo, edad y su variable basal. Como prueba post hoc se utilizó el test de Bonferroni. <sup>a,b,c</sup> Diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) obtenidas mediante el test de Bonferroni para esa comparación. \*Los cereales no incluyen patatas.

En la tabla 16, se observa cómo aquellos participantes que mejoraron más en el score de fibrosis (tercil 1) consumieron alimentos con índice glucémico más bajo,

contrariamente a aquellos que empeoraron el score y que mostraron consumos más altos de alimentos de alto índice glucémico ( $p=0,023$ ). También, aquellos que redujeron más el score de fibrosis, consumieron más lácteos al día ( $p=0,013$ ). Los que aumentaron el score de fibrosis, consumieron menos lácteos y los redujeron respecto al momento basal o de inicio.

**Tabla 17.** Antropometría, estilo de vida, riesgo de depresión y severidad del SMet según el sexo de los participantes al año de intervención.

		Total (N=155)	Prueba t medidas repetidas p-valor	Hombres (N=94)	Mujeres (N=61)	GLM p-valor
Cintura, cm	Basal	111.8±9.2	<0.001	114.1±8.1	108.4±9.7	0.596
	1 año	105.8±10.9		107.1±10.3	102.8±11.3	
IMC, kg/m <sup>2</sup>	Basal	33.7±3.7	<0.001	33.4±3.2	34.2±4.3	0.650
	1 año	31.8±4.0		31.4±3.7	32.5±4.4	
TAS, mmHg	Basal	137.7±16.8	0.003	140.3±17.7	133.5±14.7	0.457
	1 año	132.2±11.6		132.4±11.8	131.8±11.5	
TAD, mmHg	Basal	82.8±9.2	0.045	83.4±10.0	81.7±7.8	0.056
	1 año	80.2±1.6		79.4±8.3	81.5±6.1	
Frecuencia cardíaca, latido/min	Basal	71.1±11.1	0.394	71.6±12.1	70.2±9.5	0.729
	1 año	70.5±10.9		71.1±11.6	69.4±9.8	
Actividad física, MET*min/ mensual	Basal	3203.8±3178.5	0.060	3027.5±3014.0	3481.8±3430.0	0.472
	1 año	4011.5±3761.7		4189.9±4106.6	3719.1±3135.8	
Sueño, horas	Basal	6.7±1.1	0.422	6.7±1.2	6.7±1.0	0.385
	1 año	6.8±1.3		6.8±1.3	6.9±1.3	
Índice de Pittsburgh	Basal	6.8±3.8	0.822	6.3±3.6	7.6±4.1	0.091
	1 año	6.8±3.6		6.1±3.4	7.9±3.7	
Adhesión a la DM	Basal	7.2±2.6	<0.001	7.1±2.6	7.4±2.6	0.586
	1 año	11.6±2.7		11.6±2.7	11.8±2.3	
Beck	Basal	7.5±6.2	0.005	6.5±5.8	8.9±6.6	0.881
	1 año	5.6±6.8		5.2±7.5	6.4±5.3	
Score de severidad SMet	Basal	1.3±1.0	0.001	1.3±1.0	1.4±0.9	0.477
	1 año	0.9±0.7		0.9±0.8	1.1±0.7	
Score de Fibrosis	Basal	1.4±1.0	<0.001	1.5±1.1	1.2±1.0	0.835
	1 año	-142.9±138.6		-140.9±142.8	-146.1±133.4	

Abreviaciones: cm: centímetro; DM: dieta mediterránea; kg: kilogramo; m: metros; min: minutos; mmHg: milímetros de mercurio; SMet: síndrome metabólico; TAD: tensión arterial diastólica; TAS: tensión arterial sistólica. Los datos se muestran como N(%) o media ± desviación estándar. Las diferencias ( $p<0.05$ ) entre la variable basal y a 1 año desde el



inicio de la intervención se calcularon por prueba t de medidas repetidas. Las diferencias entre sexos tras 1 año del inicio del estudio, se evaluaron a partir Modelo Lineal Generalizado, ajustando cada variable por edad y su variable basal.

En este último análisis, se observa como los participantes han mejorado al año, en perímetro abdominal ( $p < 0,001$ ), IMC ( $p = 0,001$ ), cifras de TAS ( $p = 0,003$ ), adhesión a DM ( $p < 0,001$ ), score de severidad del Smet ( $p = 0,001$ ) y score de severidad de fibrosis ( $p = 0,001$ ), pero no sin diferencias significativas por sexo al año de intervención, en antropometría, estilo de vida riesgo de depresión y score de fibrosis.



## VI. DISCUSIÓN



En este estudio, se parte de una muestra de 155 participantes repartidos en una franja de edad desde los 40 a los 60 años, todos diagnosticados de EHGNA y que se reparten por sexo, en 94 hombres y 61 mujeres. Todos ellos de etnia caucásica, y una proporción de ellos del área sanitaria del Centro de Salud de Camp Redo, (Palma de Mallorca), área considerada como urbana y la otra, del área de influencia de la Clínica Universitaria de Navarra (Pamplona)

Los pacientes se captaron desde Atención Primaria y desde atención hospitalaria. Muchos de ellos eran conocedores de su situación de EHGNA pero sin embargo desconocían el riesgo que implicaba dicho diagnóstico y no habían recibido consejo ni habían sido objeto de ninguna intervención al respecto.

Se planteó el análisis de los resultados en cinco grandes grupos: El análisis basal de la muestra, con el objeto de conocer de qué tipo de muestra se partía. Posteriormente, un análisis por sexo, poniendo especial énfasis en el grupo de mujeres y en la situación de no menopausia/perimenopausia o menopausia/postmenopausia y, por último, el análisis desde el punto de vista de la severidad del síndrome metabólico y el análisis desde el punto de vista del grado de fibrosis hepática de los participantes, utilizando para esto último los datos obtenidos desde las pruebas de imagen.

### **Análisis Basal y visión de género**

En este estudio, se partió de una muestra muy homogénea con una distribución algo mayor de hombres que de mujeres, y con características basales de los participantes según género también muy homogéneas, como se observa en la tabla 1 de resultados. No se puede analizar datos de prevalencia de EHGNA en hombres versus mujeres, puesto que este diagnóstico es un criterio de inclusión para este estudio, pero en los estudios epidemiológicos de prevalencia de EHGNA, por ejemplo, el estudio poblacional de Younossi (372), donde se estudiaron las tendencias en la prevalencia

de EHGNA según edad y sexo, arrojaba cifras de mayor prevalencia de EHGNA en todas las edades en los varones respecto a las mujeres.

El estado civil mayoritario de los participantes de este estudio era casado o en pareja (75,5% del total), sin que hubiera diferencias significativas a este respecto entre hombres y mujeres. Tampoco se observaron diferencias significativas en cuanto al nivel educativo de los participantes según género, pero sí cabe destacar que un tercio de los participantes no tenían estudios o bien tenían estudios primarios. En lo que a estudios universitarios se refiere, el 29% de los participantes tenía titulación universitaria, lo que permite concluir que la muestra, en cuanto a nivel educativo, fue muy representativa de la realidad en las Islas Baleares, ya que sólo el 29% de la población activa tiene estudios universitarios, según datos del Anuario de Educación, del Ministerio de Educación y Formación Profesional del año 2021-2022. La gran mayoría de los participantes se encontraban en activo, y como dato de género, cabe destacar que las cuatro participantes que se autodefinieron como ama/o de casa, eran mujeres.

El reparto de las comorbilidades fue también muy homogéneo por sexo, siendo la obesidad, la HTA y la dislipemia las patologías más prevalentes entre los participantes, independientemente de su género, seguidas de la diabetes y las menos prevalentes de la muestra fueron ECV, E.R y las neoplasias.

Estos resultados en los criterios de síndrome metabólico de los participantes, no concuerdan con los resultados poblacionales del estudio DARIOS (373) (*Metabolic Syndrome in Spain: Prevalence and Coronary Risk Associated With Harmonized Definition and WHO Proposal*) que observaba que en las mujeres, eran más frecuentes los criterios de cintura abdominal ( $p < 0,001$ ) y de cHDL ( $p = 0,001$ ), mientras en los varones fueron más frecuentes los de glucemia ( $p = 0,019$ ) e

hipertrigliceridemia ( $p < 0,001$ ); el criterio de presión arterial elevada fue el único sin diferencias entre sexos.

También llamó la atención, la discrepancia entre el número de pacientes con diagnóstico de HTA y de dislipemia y el número de pacientes que tomaba medicación por estos dos motivos, que fue menor del esperado. Cabe sospechar un problema de adherencia a la medicación o de falta de conciencia de la enfermedad y del riesgo cardiovascular que conlleva no tratarla. En un estudio observacional transversal retrospectivo realizado sobre 16.208 pacientes de la Cohorte EpiChron (374), que iniciaron tratamiento en monoterapia de un antidiabético, un hipolipidemiante o un antihipertensivo en 2010, se observó la adherencia a los antidiabéticos, antihipertensivos e hipolipidemiantes que fue del 72,4%, 50,7% y 44,3%, respectivamente. Estas cifras de adherencia están en concordancia con las obtenidas en el presente estudio, que serían 70,31% para la DM, 54,22% para la HTA, y 32,57% para las DLP. De todas formas, serán necesarios más estudios para aclarar la razón de este abandono en la muestra estudiada e investigar si existen otros factores que pudieran influir en la adherencia terapéutica, ya que su mejora puede tener mayor impacto en la salud y en la intervención que el presente estudio persigue. Se ha considerado interesante analizar la antropometría, el estilo de vida, riesgo de depresión y severidad del síndrome metabólico según el género de los participantes. El sexo es sabido que es un factor importante en el síndrome metabólico y las consecuencias en morbimortalidad de este y, como concluye Lee et al. (375) en su estudio sobre las diferencias de sexo en los componentes del síndrome metabólico, a pesar de que múltiples estudios han demostrado diferencias sexo-dependientes, en el síndrome metabólico y sus componentes todavía hay poca información sobre las características del síndrome metabólico a este respecto.

En las mujeres con síndrome metabólico, se conoce que la enfermedad cardiovascular es la principal causa de muerte y que existen factores de riesgo específicos de la mujer para desarrollarla, entre los que destacan la edad temprana de menarquia, la menopausia, el síndrome premenstrual, el síndrome de ovario poliquístico, el uso de anticonceptivos orales, haber presentado trastorno hipertensivo del embarazo, el parto pretérmino y, por supuesto, el resto de factores de riesgo que comparten con los hombres, como edad, antecedentes familiares, hipertensión arterial, dislipidemias, diabetes mellitus, síndrome metabólico, enfermedad renal crónica, tabaquismo, dieta, consumo de alcohol, sedentarismo, obesidad, factores psicosociales, marcadores inflamatorios, proteína C reactiva, concentración elevada de fibrinógeno plasmático e hiperhomocisteinemia (376).

Analizando desde este punto de vista la presente muestra, los datos al iniciarse el estudio fueron que las mujeres de la muestra no presentaron diferencias significativas respecto de los hombres en el score de severidad del síndrome metabólico, pero sí presentaron diferencias significativas respecto a los hombres en el score de fibrosis, que fue mayor en ellos ( $p=0,03$ ); como también se registró en el perímetro abdominal, también mayor en las mujeres ( $108\pm 9,7$ ).

Por otro lado, las mujeres presentaron mayor riesgo de depresión que los hombres, con una diferencia significativa ( $p=0,018$ ). La depresión se ha relacionado con alteraciones del metabolismo de la glucosa, hipertensión, adiposidad central y dislipidemias, integrantes todos del síndrome metabólico (377).

Resumiendo, se partió de una muestra en la que, por sexo, los hombres presentaron peor score de fibrosis y las mujeres peor resultado de perímetro abdominal, mayor riesgo de depresión y una tendencia a peor calidad de sueño. No hubo diferencias significativas en el score de severidad del síndrome metabólico, ni en cifras de TA, AF, horas de sueño, o adhesión a dieta.



Parece sensato pensar que las políticas de prevención de EHGNA y SMet, así como su tratamiento y complicaciones a largo plazo, se beneficiarían de una visión de género, priorizando aquellos factores asociados a mayor riesgo de desarrollar SMet en mujeres, según su ciclo vital; así mujeres con menarquia prematura, SOP, diabetes gestacional, partos con RN de bajo peso o elevado peso, historia familiar de DM2 y ECV, deberían ser estudiadas para descartar alteraciones metabólicas precozmente. Es conocido, por tanto, que hay varios momentos en la vida de la mujer de especial riesgo de alteraciones metabólicas y, por tanto, mayor riesgo cardiovascular, estas situaciones tienen en común una situación de insulinoresistencia y requieren de especial atención por el clínico. A estas situaciones se debe añadir la menopausia. La menopausia, aunque es un estado fisiológico, está asociado con aumento de peso, aumento de la obesidad central, alteraciones metabolismo lipídico, IR y susceptibilidad a SMet; por ello, la identificación de aquellas mujeres con más riesgo, y el inicio rápido de la intervención harán que disminuyamos las comorbilidades asociadas y en última instancia descienda el riesgo cardiovascular (378).

La clave para entender la diferencia de riesgo coronario entre hombres y mujeres estriba en el análisis de aquellos factores que tienen una influencia mayor en uno de los sexos respecto al otro: la diabetes, el valor bajo de HDL y el aumento de triglicéridos; tres elementos del síndrome metabólico que afectan más a las mujeres.

En el estudio DARIOS (373), el incremento de riesgo coronario asociado al síndrome metabólico fue mayor en mujeres que en varones (2,5 frente a 2 veces, respectivamente;  $p < 0,001$ ). La prevalencia de síndrome metabólico premórbido fue del 24% y su riesgo coronario asociado también aumentó más en las mujeres que en los varones (2 frente a 1,5;  $p < 0,001$ ). El incremento de riesgo coronario es proporcionalmente mayor en las mujeres, tanto en síndrome metabólico como en

síndrome metabólico premórbido. El SMet fue, en dicho estudio, significativamente más prevalente en los varones hasta la edad de 54 años, pero se igualó entre los 55 y 64 años porque en esa década las mujeres duplicaron el crecimiento de la prevalencia masculina.

Esa es la década mayoritaria en nuestra muestra, por eso en las tablas 1 y 2 se insistió en la homogeneidad de los datos basales al comparar hombres y mujeres, con Score de severidad de síndrome metabólico sin diferencias significativas por sexo. A partir de los 65 años, en el estudio DARIOS, la prevalencia de SMet no aumentó en los varones, pero continuó aumentando en las mujeres hasta superar significativamente la prevalencia masculina en las últimas décadas de la vida. Además, en el estudio CORSAIB (379) se observó que la comunidad autónoma de las Islas Baleares presentaba, junto con Canarias, la prevalencia más alta de SMet en mujeres de todo el estado. Parecería que la explicación "hormonal" para este aumento de la prevalencia de SMet a partir de los 55 años, se quedaba escasa y, por ello, se profundizó en el análisis de mujeres menopáusicas/postmenopáusicas versus no menopáusicas/perimenopáusica en la presente muestra, observando que, exceptuando la HDL ( $p=0,022$  puntúan mejor las menopáusicas), la HbA1c ( $p=0,020$  en el que puntúan mejor las no menopáusicas) y el score de fibrosis ( $p=0,022$  en el que puntúan mejor las no menopáusicas), no hubo diferencias significativas entre ellas y, lo que es más importante, que su respuesta metabólica y hepática tras la intervención no mostraba ninguna diferencia significativa entre ambos grupos; esto hizo pensar que, tras revisar estadísticas vitales como los estudios epidemiológicos, experimentales y clínicos, las diferencias de la mortalidad por eventos cardiovasculares entre sexos no se explicaría sólo por el efecto hormonal.

En estudios epidemiológicos, clínicos y experimentales en curso, se observa un mayor riesgo de EHGNA y tasas más altas de fibrosis hepática grave en mujeres posmenopáusicas en relación con las mujeres premenopáusicas; de hecho, en la presente muestra se observa que el score de fibrosis es peor en mujeres postmenopáusicas que en premenopáusicas ( $p=0,022$ ) y se conoce que las mujeres posmenopáusicas con EHGNA experimentan una mayor mortalidad que los hombres. Por esto, se cree necesaria la ampliación de estudios al respecto para ahondar en la búsqueda de los posibles factores que conducen a esta situación.

Centrándonos en las tablas 11 y 12 de resultados y profundizando un poco más en los datos extraídos, las mujeres estudiadas presentaban una edad de 40 a 60 años y fueron un total de 61. Se ha visto, previamente, que las menopáusicas/postmenopáusicas respecto al grupo de no menopáusicas/perimenopáusicas tuvieron una HDL significativamente más alta. El equipo de la University of Pittsburgh Graduate School of Public Health, Estados Unidos (380) señaló que existían pruebas de la disminución del efecto protector del HDL en la transición de las mujeres a la menopausia; lo que hace pensar que se debería analizar si esta relación se debe a cambios en el nivel de HDL, la funcionalidad o a los cambios asociados en otros lípidos o lipoproteínas. Lo que sí se observa en la muestra analizada es que al año las cifras de HDL en los dos grupos mejoran tras la intervención, sin diferencias entre ambos. También se observan diferencias significativas en las cifras de HbA1c, más alta en menopáusicas y que mejora en ambos grupos tras la intervención sin diferencias entre ellas.

Como consecuencia de lo expuesto, uno de los puntos fuertes del estudio es el hecho de la inclusión de la atención primaria (AP) en el estudio FLIPAN. La AP es un entorno ideal para evaluar al paciente de forma global y analizar todos los factores que puedan estar implicados en el desarrollo de EHGNA, tanto del propio paciente

como de su entorno y para el control de su respuesta a las distintas intervenciones. La AP aporta accesibilidad, continuidad asistencial, acceso a recursos sanitarios que permiten monitorizar al paciente mediante procedimientos sencillos tales como: medidas antropométricas, registro de hábitos, estilo de vida, registro de constantes, controles analíticos e, incluso, la cada vez más extendida implantación de la ecografía en AP. Desde esta situación privilegiada, podemos observar y estudiar el entorno del individuo, su situación personal, social, familiar, económica, sus dificultades para la adherencia a la intervención y sus barreras durante esta. Todo ello facilitando la obtención de mejores resultados en salud.

Como ya se ha expuesto, en el presente estudio se diseñaron tres grupos de intervención: Dieta Convencional (DC), Dieta Mediterránea con alta frecuencia de comidas (DM-AFC) y Dieta Mediterránea con actividad física (DM-AF). Los participantes se aleatorizaron de forma muy homogénea en los tres grupos de intervención, como se puede observar en la tabla 3 de resultados. No se encontraron diferencias significativas en ninguna de las variables estudiadas respecto al grupo que se valora; así, en edad, sexo, estado civil, situación laboral, hábitos tóxicos, y patologías diagnosticadas no se encontraron diferencias significativas.

Sí se vieron, por el contrario, diferencias en cuanto al nivel educativo. En el grupo de DM-AF hubo más participantes con estudios superiores y medios, (el 36,5% del total de participantes con estudios superiores estaba en este grupo y también el 44,2% del total de participantes con estudios medios) y en el de DM-AFC más participantes sin estudios o con estudios primarios (el 46,2 % del total de pacientes con estudios primarios o sin estudios estaba en este grupo) con una  $p=0,039$ .

La educación habilita a las personas para desarrollar un gran abanico de habilidades y rasgos (como habilidades para la resolución de problemas, autocontrol, efectividad y autoconocimiento) que las predisponen hacia mejores resultados en salud. Hay una

relación que se repite entre educación y salud, mientras una educación pobre se asocia a baja salud debido a ingresos bajos, recursos, comportamientos saludables, barrio saludable y otros factores socioeconómicos, la baja salud desemboca y se asocia con dificultades para progresar en la escuela, dificultades de aprendizaje, absentismo o desórdenes cognitivos. Así la educación es un determinante de salud (381).

Sin embargo, en el presente estudio, se observó en la tabla 4 de resultados que, a pesar de que en el grupo de intervención de DM-AFC hubo un mayor número de participantes sin estudios o con estudios primarios, no se observaron diferencias en estilo de vida, depresión, severidad del SMet o antropometría respecto al grupo DM-AF, que es el que concentraba el mayor número de participantes con estudios superiores, como cabría esperar.

### ***Estudios de imagen y scores***

Posteriormente y teniendo en cuenta los datos obtenidos en la ecografía basal, se realiza un análisis según el grupo de intervención, tabla 5 de los resultados, viendo que al inicio del estudio la mayoría de los pacientes (n=139; el 94% de la muestra), estaba en un grado 1-2 de esteatosis, repartidos homogéneamente entre los 3 grupos de intervención, y que en el grado 1 de fibrosis por elastografía, se concentraba la mayoría de los participantes (90,2%) distribuidos homogéneamente en los 3 grupos de intervención. Se puede afirmar, por tanto, que es una muestra que parte de un grado leve de esteatosis y con datos de fibrosis 0-1 (siendo el 4 el de mayor gravedad) y que se repartían de forma homogénea en los tres grupos de intervención. El hecho de que su grado de esteatosis y fibrosis fuera bajo, cumplía con el propósito de que el screening y tratamiento fueran precoces para evitar complicaciones y lesiones irreversibles.

El único paciente con un grado 4 de fibrosis en el estudio de imagen basal se encontró en el grupo de DM-AF.

En esta misma tabla 5 de resultados, se observaron diferencias entre los grupos respecto a la distancia piel-parénquima, siendo el grupo DM-AF el que presentaba una mayor distancia piel-parénquima, con una diferencia significativa ( $p=0,013$ ). La distancia piel-parénquima está relacionada positivamente con el parámetro de atenuación controlada y está asociado con él, independientemente de la esteatosis. Los ajustes del parámetro de atenuación usando la distancia piel-parénquima mejoran el diagnóstico (382).

La distancia de la grasa abdominal subcutánea, medida por ecografía, está relacionada con la severidad de la esteatosis en adultos diagnosticados de EHGNA y es un predictor de la severidad de la EHGNA más exacto que el IMC (383).

Como el tejido adiposo visceral, la capa profunda de tejido adiposo subcutáneo expresa mucho más genes inflamatorios que la capa más superficial de tejido adiposo, y esa expresión genética correlaciona con esteatohepatitis y fibrosis en pacientes diagnosticados de EHGNA (384). Esto sugiere que la grasa subcutánea está asociada con la esteatosis hepática y que la distancia piel-parénquima, incluyendo el grosor de la grasa subcutánea, puede estar más estrechamente ligada a la esteatosis que el IMC.

A pesar de que el grupo de intervención DM-AF presentó una mayor distancia piel-parénquima; en la muestra estudiada, no se observaron diferencias significativas con el resto de los grupos en cuanto a grado de la esteatosis, ni en severidad de la fibrosis. Sí hay que destacar que el único participante con grado 4 de fibrosis se encontró en dicho grupo.

En las tablas 6 y 7 de resultados, se utilizó el score de severidad del SMet y el score de fibrosis para analizar la evolución de distintas variables, pero ¿por qué el interés

en utilizar, en nuestro análisis, un score de severidad del síndrome metabólico y un score de fibrosis?

El síndrome metabólico se caracteriza por anomalías en la obesidad central, presión arterial alta, triglicéridos altos, colesterol de lipoproteínas de alta densidad bajo y glucosa alta en ayunas, parece ser producido por procesos subyacentes de inflamación, estrés oxidativo y disfunción adipocitaria (385) y, tradicionalmente, se ha clasificado en función de criterios dicotómicos que niegan que el riesgo relacionado con SMet probablemente exista como un espectro. El score de severidad SMet continuo permite rastrear el riesgo relacionado con SMet a lo largo del tiempo y, además, son específicos de sexo y raza/etnicidad, reconociendo que la forma en que se manifiesta SMet puede ser diferente según el sexo y el subgrupo racial/étnico. Estos scores se correlacionan con el riesgo a largo plazo de diabetes mellitus tipo 2 y enfermedad cardiovascular. El uso clínico de scores como estos brinda una oportunidad potencial para identificar a los pacientes con mayor riesgo, motivar a los pacientes a cambiar el estilo de vida y seguir la progresión del tratamiento a lo largo del tiempo.

Por otro lado, el score de fibrosis es esencial para discernir entre aquellos pacientes con EHGNA con y sin fibrosis avanzada, dejando las pruebas invasivas como la biopsia reservadas para una pequeña proporción de pacientes (386). El score de fibrosis utilizado genera un punto de corte de -1,455, por debajo del cual se puede excluir la fibrosis con un valor predictivo negativo del 93% en la estimación y 88% en la validación. Si se aplica el corte en 0,6761, la presencia de fibrosis avanzada puede ser diagnosticada con certeza, valor predictivo positivo 90% y 82% en estimación y validación respectivamente.

La documentación del grado de fibrosis se ha identificado como el factor más relevante en el pronóstico y, a medida que aumenta la fibrosis, aumenta la

probabilidad de muerte por enfermedad cardiovascular (387). El uso de scores ofrece al clínico una oportunidad inmejorable para:

- a) Determinar el riesgo de aparición de posibles patologías en los pacientes.
- b) Realizar seguimiento de los cambios en el riesgo de padecer una determinada patología o monitorizar los cambios en la patología una vez ya presente.

Si, además, se es capaz de observar qué elementos han tenido más influencia o peso en la modificación de dicho score a lo largo del tiempo, entonces se tendrán herramientas de fácil acceso para el clínico, inocuas, no invasivas para el paciente y muy potentes en cuanto a su rentabilidad.

Volviendo a la tabla 6 de resultados, en ella se ha realizado un análisis del grado de esteatosis y fibrosis hepáticas según los terciles de severidad del síndrome metabólico. Así, en el grado 1 de esteatosis el 59,9% de la muestra está en el tercil 1 de severidad de SMet respecto al 0% presente en el tercil 3 ( $p=0,010$ ) y el 95,5% de la muestra con grado 2 de esteatosis se encuentra en el tercil 3, mientras que sólo un 35,4 % de la muestra con grado 2 de esteatosis se encuentra en el tercil 1 de severidad del Smet. Lo cual muestra una posible asociación entre el grado de severidad del Smet y el grado de severidad de esteatosis en la muestra estudiada. Esto concuerda con lo que afirman *Hyeon Chang et al.* (388) en su estudio *Severity of ultrasonographic liver steatosis and metabolic syndrome in Korean men and women*, en el que la aparición del síndrome metabólico muestra una asociación más fuerte con la gravedad de la esteatosis ultrasonográfica y viceversa, que con los niveles de enzimas hepáticas séricas; así, el grado de infiltración grasa detectada en la ecografía puede utilizarse como indicador de disfunción hepática atribuible a anomalías metabólicas.

Se observa que, a nivel basal, aquellos participantes que padecían mayor grado de severidad del síndrome metabólico, tercil 3, presentaban peores resultados de



elastografía y de score de fibrosis comparados con el grupo en el tercil 1 ( $p=0,018$  y  $0,013$  respectivamente). Se puede pensar, así, que existe una relación positiva entre el score de severidad del SMet y la severidad de la esteatosis y fibrosis y, por tanto, el score de SMet sería una buena herramienta no sólo para control de respuesta a la intervención, sino como predictor de riesgo de complicaciones hepáticas y cardiovasculares en última instancia (389).

Dada la importancia de los cambios en el estilo de vida (a través de dieta y ejercicio fundamentalmente), a la hora de modificar el riesgo asociado a la severidad del síndrome metabólico, en la tabla 7 de resultados se han analizado los cambios en dicho score tras un año de intervención según el grupo de intervención DC, DM-AFC y DM-AF.

Así, se observa cómo en todos los grupos hay una franca mejoría del score de severidad del síndrome metabólico, sin encontrar diferencias entre los grupos. Por tanto, se puede afirmar que cualquiera de las intervenciones realizadas ha sido eficaz en la mejora del riesgo asociado a este score.

Esta mejoría, tras la intervención, también se observa en las cifras de Glucemia basal, de HDL, de LDL, TG, Colesterol total, VAI, Cifras de TAS y TAD, HOMA, índice T&G y el score de fibrosis, sin que tampoco se registren diferencias significativas según el grupo de intervención.

Así, en este estudio, la tabla 7 de resultados arroja datos que hacen pensar que la intervención, independientemente del grupo de intervención, ha generado mejoras en los participantes en las variables estudiadas severidad Smet, Glucemia basal, HDL, LDL, TG, Colsterol total, HbA1c, TAS, TAD, VAI, índice T&G, HOMA y Score fibrosis. Las únicas variables que no se han modificado favorablemente son la elastografía en Kpa y la ecografía ARFI que se han mantenido prácticamente igual; pero, si se toma como referencia la elastografía y se separa la muestra en tres grupos,

según hayan mejorado de más a menos sus resultados medidos en Kpa, en la elastografía (tabla 8 de resultados) se observa que los pacientes que más han mejorado la elastografía, disminuyendo la rigidez del tejido hepático, son aquellos que partiendo de una cifra de TG pre-intervención más baja, la han disminuido aún más tras la intervención respecto al tercil 3 que no han mejorado en la elastografía ( $p=0,023$ ). Del mismo modo, también hay una relación entre la mejoría de la elastografía y el descenso del índice HOMA, con una diferencia significativa entre los 3 grupos ( $p=0,034$ ), así como una tendencia en el índice ( $p=0,052$ ). Todo lo cual corrobora que los TG en ayunas, el índice T&G y el HOMA son buenos predictores de la evolución de la EHGNA y de la progresión de esta.

Así mismo, se puede ver una buena asociación entre los datos que arroja la elastografía y los que da el score de fibrosis; los participantes incluidos en el tercil 1 que más han mejorado la elastografía fueron aquellos que también más mejoraron el score de fibrosis, pudiendo utilizar dicho score en la práctica clínica para monitorizar al paciente de una forma coste-efectiva y, además, sin necesidad de pruebas invasivas. Una limitación para la aplicación del mismo se podría hallar en la dificultad de su cálculo y el tiempo necesario por el clínico para incluir los ítems; por eso, la inclusión de calculadoras on line del mismo se presenta como una alternativa adecuada.

En cuanto a la evolución de la severidad del síndrome metabólico tras la intervención, se ha visto previamente que todos los grupos, independientemente de la intervención realizada, mejoraban el score de severidad de síndrome metabólico tras la intervención, sin que hubiera diferencias significativas entre los tipos de intervención (DC, DM-AFC y DM-AF) pero aún se ha ido un paso más allá (tabla 9 de resultados) y se analizaron qué diferencias había entre los participantes que más habían mejorado la severidad del SMet y aquellos que no habían mejorado o incluso

habían empeorado la severidad del SMet. Se ha visto que, nuevamente, el TG, índice T&G, Glucemia, VAI y HOMA descendieron más en aquel grupo que más había mejorado el SMet (tercil 1) con diferencias significativas ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ,  $p = 0,014$ ,  $p < 0,001$  y  $p = 0,011$ , respectivamente), respecto a aquellos que no mejoraron o incluso empeoraron la severidad del Smet. Por otro lado, no hubo cambios significativos en la elastografía ni en el score de fibrosis, lo que se explica porque se han realizado terciles de cambio en la severidad del SMet y aquellos que más habían mejorado se han incluido en el tercil 1; pero puede ser que coexistan en dicho grupo participantes con scores muy diferentes, por que lo que tienen en común la mejoría y no la calificación en ese momento del score. Por eso se entiende que la elastografía no arroje diferencias y el score de fibrosis tampoco.

En esta misma línea y observando los terciles de cambio de Smet, se analizaron los cambios en variables antropométricas, de estilo de vida y riesgo de depresión según la evolución de la severidad del SMet al año de intervención. Los participantes que más habían mejorado el SMet (tercil 1 en tabla 13 de resultados), presentaron diferencias significativas en cuanto a perímetro abdominal, peso, IMC, y masa grasa respecto a los participantes sin mejora en la severidad del SMet ( $p = 0,002$ ,  $p < 0,001$ ,  $p = 0,002$  y  $p = 0,026$ , respectivamente) pero no hubo diferencias entre los grupos respecto al inventario de Beck, índice Pittsburgh y Mets\*min/mes. Así y de forma simple, aquellos pacientes que más habían mejorado la severidad del síndrome metabólico tras la intervención tenían en común la pérdida de peso y la disminución del perímetro abdominal, sin asociación con la AF. Estos datos se repiten con el score de fibrosis al año de la intervención (tabla 15 de resultados), donde los participantes que más han mejoraron el score de fibrosis presentaban diferencias significativas respecto a aquellos que no lo mejoraban en cuanto al perímetro abdominal ( $p < 0,001$ ), el peso ( $p < 0,001$ ), el IMC ( $p = 0,001$ ) y la masa grasa en kg

( $p=0,037$ ) y no presentaron diferencias respecto a horas de sueño, inventario de Beck y  $\text{Mets}^*\text{min/mes}$ .

Estos hallazgos concuerdan con lo establecido en la literatura, donde la pérdida de un cinco por ciento o más del peso corporal ha demostrado mejorar la cantidad de grasa depositada en el hígado (203). Pero también sabemos, que pacientes obesos con EHGNA tienen mayor dificultad para conseguir este objetivo que los pacientes obesos sin EHGNA, por ello necesitaremos optimizar las estrategias de pérdida de peso y así mejorar su impacto en salud.

Otro resultado interesante que nos arroja el estudio, recogido en la tabla 10 de resultados, es que aquellos participantes que más habían mejorado el score de fibrosis, también habían mejorado los datos de elastografía en Kpa significativamente más que aquellos que no habían mejorado o empeorado el score de fibrosis (tabla 10 de resultados) encontrándose una buena asociación entre ambos datos; del mismo modo, aquellos participantes en ese mismo tercil (tercil 1, los que más han mejorado el score de fibrosis) presentaron una diferencia significativa en las cifras de índice T&G y una tendencia en VAI.

El presente estudio sugiere que puede haber parámetros como el índice T&G, que pueden ser muy útiles como marcadores para la predicción de la evolución de EHGNA y su manejo, tal y como también sugirieron Song et al. (390), en su estudio en población joven, donde tras comparar el índice T&G y otros parámetros concluyeron que, los índices T&G modificados tienen incluso mayor capacidad de predicción de EHGNA y sus complicaciones que el T&G normal, y son asequibles y económicos pudiendo identificar con más exactitud a aquellos pacientes que van a requerir estudio más en profundidad o tratamiento precoz.

Sería interesante valorar si el índice T&G modificado, APRI-BMI SDS y HSI son índices que tienen una fuerte asociación con EHGNA en la población analizada, si

tienen mejor predictibilidad que el T&G, APRI y otros APRI modificados y, quizás, sería una interesante continuación del presente estudio.

Los vínculos claros entre SMet y EHGNA y la aparición de enfermedades futuras han planteado la necesidad de herramientas efectivas para identificar a las personas con mayor riesgo. Los scores continuos de SMet son prometedores como una forma de integrar las anomalías en múltiples factores y proporcionar una estimación de la gravedad de los procesos que llevan a estas anomalías. Estos scores pueden abrir la puerta para evaluar el riesgo de ECV y DM2, motivar a los pacientes y rastrear el progreso del tratamiento a lo largo del tiempo, avances que son muy necesarios para cambiar el rumbo del empeoramiento de la DM2 y la ECV en todo el mundo. Igualmente, la introducción de scores de fibrosis ayuda a separar con exactitud pacientes con y sin fibrosis avanzada haciendo innecesaria la biopsia hepática para identificar la fibrosis avanzada, en un número importante de pacientes (391). Así, trabajar para introducir este tipo de scores en la práctica clínica en AP es una medida de gran peso en términos de coste-eficacia, orientando al clínico y sirviendo de apoyo para justificar las diferentes intervenciones de cara al paciente.

Por último, es interesante señalar como hombres y mujeres mejoraron sus resultados al año tras la intervención realizada, sobre todo en antropometría y severidad del Smet (tabla 17 de resultados) pero sin diferencias significativas entre ellos. Se puede afirmar, por tanto, que la muestra analizada ha respondido de forma homogénea a la intervención, independientemente del sexo.



## VII. CONCLUSIONES





- 1.- Tras un año de intervención todos los participantes mejoran las variables bioquímicas, esteatosis, severidad del SMet y fibrosis por imagen, independientemente del grupo de intervención al que pertenezcan.
- 2.- Los participantes que más han mejorado la severidad del SMet tras un año de intervención también han mejorado el perímetro abdominal, peso, IMC y masa grasa, sin cambios en grasa visceral, horas sueño, test de Beck, índice de Pittsburgh y METs\*min/mensuales.
- 3.- Tras un año de intervención mejora la cantidad y calidad de la dieta en los participantes, pero al analizar los cambios en la dieta según la severidad del SMet y el score de fibrosis, únicamente mejora la ingesta de AGS y alimentos con alto índice glucémico.
- 4.- Tras un año de intervención, la reducción de la severidad del síndrome metabólico se asocia a la reducción de la Glucemia basal, el aumento de HDL, el descenso de TG, índice T&G, VAI e índice HOMA.
- 5.- La mayor mejora en elastografía medida en Kpa tras un año de intervención se halla en quienes más han mejorado el nivel de TG en ayunas, el índice HOMA y el score de fibrosis. Los pacientes que más han mejorado la elastografía, reduciendo la Kpa, tienden a reducir el índice T&G.
- 6.- Existe una asociación significativa entre menor grado de severidad del SMet y menor grado de esteatosis por ecografía, por elastografía medido en Kpa y por grado de fibrosis, así como entre mayor severidad del score de SMet y mayor score de fibrosis.
- 7.- Tras un año de intervención, la mayor disminución del score de fibrosis se asocia al descenso de Kpa en la elastografía con el descenso del T&G y del VAI. No se

asocia el mayor descenso del score de fibrosis con la Glucemia basal, HDL, LDL, TG, Colesterol total, y Hb glicosilada.

8.- Los participantes que más han mejorado el score de fibrosis tras un año de intervención también han mejorado el perímetro abdominal, peso, IMC y masa grasa.

9.- Tras un año de intervención, no hay diferencias entre mujeres y hombres en antropometría, estilo de vida, depresión y severidad del SMet.

10.- Tras un año de intervención, las mujeres menopáusicas/perimenopáusicas mejoran en la mayoría de los parámetros bioquímicos y esteatosis, así como en el score de fibrosis de forma similar a las menopáusicas/postmenopáusicas.

## VIII. REFERENCIAS



1. Abd El-Kader SM, El-Den Ashmawy EM. Non-alcoholic fatty liver disease: The diagnosis and management. *World J Hepatol.* 2015;7(6):846-58.
2. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003; 37: 1202-19.
3. Cave M, Deaciuc I, Mendez C, Song Z, Joshi-Barve S, Barve S, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: predisposing factors and the role of nutrition. *J Nutr Biochem* 2007; 18: 184-95.
4. 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: 1387-95.
5. Bellentani S, Saccoccio G, Masutti F, Croce LS, Brandi G, Sasso F, et al. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Ann Intern Med* 2000; 132: 112-7.
6. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 1649-57.
7. Williams R. Global challenges in liver disease. *Hepatology* 2006; 44: 521-6.
8. Haque M, Sanyal AJ. The metabolic abnormalities associated with non-alcoholic fatty liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16: 709-31.
9. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980; 55: 434-8.
10. Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med* 1999; 107: 450-5.

11. 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: 1413-9.
12. Oneta CM, Dufour JF. Non-alcoholic fatty liver disease: treatment options based on pathogenic considerations. *Swiss Med Wkly* 2002; 132: 493-505.
13. Buque X, Aspichueta P, Ochoa B. Fundamento molecular de la esteatosis hepática asociada a la obesidad. *Rev. esp. enferm.* 2008;100(9): 565-578.
14. Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Biochemical, Metabolic and Clinical Implications. *Hepatology*. 2010;51(2):679-89.
15. Anstee QM, Targher G, Day CP. Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. *Nat. Rev. Gastroenterol.* 2013;10(6):330-44.
16. 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;34:274–85.
17. Charlton MR, Burns JM, Pedersen RA, Watt KD, Heimbach JK, Dierkhising RA. Frequency and outcomes of liver transplantation for non-alcoholic steatohepatitis in the United States. *Gastroenterology*. 2011;141(4):1249-1253.
18. Mitra V, Metcalf J. Metabolic functions of the liver. *Anaesth Intens Care.* 2009;10(7):334–335.
19. Kalra A, Yetiskul E, Wehrle CJ, Tuma F. Physiology, Liver. 2021 May 9. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 30571059.
20. Rui L. Energy metabolism in the liver. *Compr Physiol.* 2014;4(1):177-97.

21. Adeva-Andany MM, Pérez-Felpete N, Fernández-Fernández C, Donapetry-García C, Pazos-García C. Liver glucose metabolism in humans. *Biosci Rep.* 2016;36(6):e00416.
22. Brown MS, Goldstein JL. Selective versus total insulin resistance: a pathogenic paradox. *Cell Metab.* 2008;7(2):95-96.
23. Hatting M, Tavares CDJ, Sharabi K, Rines AK, Puigserver P. Insulin regulation of gluconeogenesis. *Ann N Y Acad Sci.* 2018;1411(1):21-35.
24. Santoleri D, Titchenell PM. Resolving the Paradox of Hepatic Insulin Resistance. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2019;7(2):447-456.
25. Sanders FW, Griffin JL. De novo lipogenesis in the liver in health and disease: more than just a shunting yard for glucose. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2016;91(2):452-68.
26. Kim CH, Younossi ZM. Nonalcoholic fatty liver disease: a manifestation of the metabolic syndrome. *Cleve Clin J Med.* 2008;75(10):721-728.
27. Sheth SG, Gordon FD, Chopra S. Nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Intern Med* 1997; 126: 137-45.
28. Youssef WI, McCullough AJ. Steatohepatitis in obese individuals. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16: 733-47.
29. García-Monzón C, Martín-Pérez E, Iacono OL, Fernández-Bermejo M, Majano PL, Apolinario A, et al. Characterization of pathogenic and prognostic factors of nonalcoholic steatohepatitis associated with obesity. *J Hepatol* 2000; 33: 716-24.
30. Fong DG, Nehra V, Lindor KD, Buchman AL. Metabolic and nutritional considerations in nonalcoholic fatty liver. *Hepatology* 2000; 32: 3-10.

31. Sherif ZA. The Rise in the Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma. Open access peer-reviewed Edited Volume. In: Gad EM ed. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. An Update. London, U.K. IntechOpen 2019. Available from: 10.5772/intechopen.78459.
32. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2467-74.
33. Diehl AM, Goodman Z, Ishak KG. Alcohollike liver disease in nonalcoholics. A clinical and histologic comparison with alcohol-induced liver injury. *Gastroenterology* 1988; 95: 1056-62.
34. Ludwig J, McGill DB, Lindor KD. Review: nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1997; 12: 398-403.
35. Contos MJ, Sanyal AJ. The clinicopathologic spectrum and management of nonalcoholic fatty liver disease. *Adv Anat Pathol* 2002; 9: 37-51.
36. Caldwell SH, Oelsner DH, Iezzoni JC, Hespenheide EE, Battle EH, Driscoll CJ. Cryptogenic cirrhosis: clinical characterization and risk factors for underlying disease. *Hepatology* 1999; 29: 664-9.
37. Ratziu V, Bonyhay L, Di M, V, Charlotte F, Cavallaro L, Sayegh-Tainturier MH, et al. Survival, liver failure, and hepatocellular carcinoma in obesity-related cryptogenic cirrhosis. *Hepatology* 2002; 35: 1485-93.
38. Yang S, Lin HZ, Hwang J, Chacko VP, Diehl AM. Hepatic hyperplasia in noncirrhotic fatty livers: is obesity-related hepatic steatosis a premalignant condition? *Cancer Res* 2001; 61: 5016-23.



39. Söderberg C, Stål P, Askling J, Lindberg G, Marmur J, Hultcrantz R. Decreased survival of subjects with elevated liver function tests during a 28-year follow-up. *Hepatology*. 2010;51(2):595-602.
40. Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, Adams LA, Bjornsson ES, Charatcharoenwittaya P, et al. Liver fibrosis, but no other histologic features, is associated with long-term outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2015;149:389-397.
41. Adams LA, Lymp JF, Sauver JS, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology*. 2005;129(1):113-21.
42. Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology*. 2006;44(4):865-73.
43. Teli MR, James OF, Burt AD, Bennett MK, Day CP. The natural history of nonalcoholic fatty liver: a follow-up study. *Hepatology*. 1995;22(6):1714-1719.
44. Adams LA, Ratziu V. Non-alcoholic fatty liver - perhaps not so benign. *J Hepatol*. 2015;62(5):1002-1004.
48. Hagström H, Elfwén O, Hultcrantz R, Stål P. Steatohepatitis Is Not Associated with an Increased Risk for Fibrosis Progression in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterol Res Pract*. 2018;2018:1942648.
49. Ekstedt M, Nasr P, Kechagias S. Natural History of NAFLD/NASH. *Curr Hepatol Rep*. 2017;16(4):391-397.

50. Önerhag K, Nilsson PM, Lindgren S. Increased risk of cirrhosis and hepatocellular cancer during long-term follow-up of patients with biopsy-proven NAFLD. *Scand J Gastroenterol*. 2014;49(9):1111-1118.
51. Koehler EM, Plompen EPC, Schouten JNL, Hansen BE, Darwish Murad S, Taimr P, et al. Presence of diabetes mellitus and steatosis is associated with liver stiffness in a general population: The Rotterdam study. *Hepatology*. 2016;63(1):138–147.
52. You SC, Kim KJ, Kim SU, Kim BK, Park JY, Kim DY, et al. Factors associated with significant liver fibrosis assessed using transient elastography in general population. *World J Gastroenterol*. 2015;21(4):1158–1166.
53. Roulot D, Czernichow S, Le Clésiau H, Costes J-L, Vergnaud A-C, Beaugrand M. Liver stiffness values in apparently healthy subjects: influence of gender and metabolic syndrome. *J Hepatol*. 2008;48(4):606–13.
54. Michelotti GA, Machado MV, Diehl AM. NAFLD, NASH and liver cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;10(11):656-665.
55. Rafiq N, Bai C, Fang Y, Srishord M, McCullough A, Gramlich T, et al. Long-term follow-up of patients with nonalcoholic fatty liver. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009;7(2):234-238.
56. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med*. 2011;43(8):617-649.
57. White DL, Kanwal F, El-Serag HB, Association between nonalcoholic fatty liver disease and risk for hepatocellular cancer, based on systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;10(12):1342-1359.

58. Brea Á, Pintó X, Ascaso JF, Blasco M, Díaz Á, González-Santos P, et al. Enfermedad del hígado graso no alcohólico, asociación con la enfermedad cardiovascular y tratamiento (I). Enfermedad del hígado graso no alcohólico y su asociación con la enfermedad cardiovascular. *Clin Invest Arterioscler*. 2017;29:141–148.
59. Targher G, Byrne CD, Lonardo A, Zoppini G, Barbui C. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of incident cardiovascular disease: A meta-analysis. *J Hepatol*. 2016;65(3):589-600.
60. Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, Fredrikson M, Stål P, Kechagias S, Hulcrantz R. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology*. 2015;61(5):1547-54.
61. Targher G, Day C P, Bonora E. Risk of Cardiovascular Disease in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *New England Journal of Medicine*. 2010; 363(14), 1341–1350.
62. Liu Y, Zhong G, Tan H, Hao FB, Hu JJ. Nonalcoholic fatty liver disease and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: a meta-analysis. *Sci Rep*. 2019;9:11124.
63. Dulai PS, Singh S, Patel J, Soni M, Prokop LJ, Younossi Z, et al., Increased risk of mortality by fibrosis stage in nonalcoholic fatty liver disease: Systematic review and meta-analysis. *Hepatology*. 2017;65(5):1557-1565.
64. Documento de consenso. Manejo de la enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA). Guía de práctica clínica. *Gastroenterol Hepatol*. 2018;41(5):328-349.
65. Day CP, James OF. Steatohepatitis: A tale of two “hits”? *Gastroenterology*. 1998;11: 842-845.

66. Diehl AM. Nonalcoholic steatohepatitis pathogenesis. *Progress in the Treatment of Liver Diseases*. 227-232
67. Lee Y, Hirose H, Ohneda M, Johnson JH, McGarry JD, Unger RH. B-cell lipotoxicity in the pathogenesis of non-insulin dependent diabetes mellitus of obese rats: Impairment in adipocyte- $\beta$ -cell relationships. *Proc Natl Acad Sci USA*.1994, 91. 10878-10882.
68. Pardo V, González-Rodríguez Á, Muntané J, Kozma SC, Valverde AM. Role of hepatocyte S6K1 in palmitic acid-induced endoplasmic reticulum stress, lipotoxicity, insulin resistance and in oleic acid-induced protection. *Food Chem Toxicol*.2015, 80. 298-309.
69. García-Galiano G, Sánchez-Garrido MA, Espejo I, Montero JL, Costán G, Marchal T, et al. IL-6 and IGF-1 are independent prognostic factors of liver steatosis and non-alcoholic steatohepatitis in morbid obese patients. *Obesity Surgery*.2007, 17. 493-503.
70. Mantovani A. Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and risk of cardiac arrhythmias: A new aspect of the liver-heart axis. *J Clin Transl Hepatol*.2017, 5 (28). 134-141.
71. Bhatia LS, Curzen NP, Calder PC, Byrne CD. Non-alcoholic fatty liver disease: A new and important cardiovascular risk factor? *Eur Heart J*. 2012, 33. 1190-1200.
72. 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.
73. Than NN, Newsome PN. A concise review of non-alcoholic fatty liver disease. *Atherosclerosis*. 2015, 23, 192-202.

74. Pacifico L, di Martino M, de Merulis A, Bezzi M, Osborn JF, Catalano C, et al. Left ventricular dysfunction in obese children and adolescents with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2014, 59. 461-470
75. Hallsworth K, Hollingsworth KG, Thoma C, Jakovljevic D, Macgowan GA, Anstee QM, et al. Cardiac structure and function are altered in adults with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2013, 58. 757-762.
76. Targher G, Valbusa F, Bonapace S, Bertolini L, Zenari L, Rodella S, et al. Non-alcoholic fatty liver disease is associated with an increased incidence of atrial fibrillation in patients with type2 diabetes. *PLoS One*. 2013, 8. e57183.
77. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*. 2016;65(8):1038-1048.
78. Yu J, Marsh S, Hu J, Feng W, Wu C. The Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Interplay between Diet, Gut Microbiota, and Genetic Background. *Gastroenterol Res Pract*. 2016: 2862173.
79. Petta S, Gastaldelli A, Rebelos E, Bugianesi E, Messa P, Miele L, et al. Pathophysiology of Non Alcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci*. 2016;17(12):2082.
80. Aller R, Fernandez-Rodriguez C, Lo iacono O, Bañares R, Abad J, Carrion JA, et al. Documento de consenso. Manejo de la enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA). Guía de práctica clínica. *Gastroenterología y Hepatología*. 2018, 41 (5): 328-349.
81. Giugliano D, Ceriello A, Esposito K. Glucose metabolism and hyperglycemia. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 217S-22S.
82. Greenfield JR, Campbell LV. Insulin resistance and obesity. *Clin Dermatol* 2004; 22: 289-95.

83. Weiss R. Fat distribution and storage: how much, where, and how? *Eur J Endocrinol* 2007; 157 (Supl. 1): S39-S45.
84. Farrell GC. Non-alcoholic steatohepatitis: what is it, and why is it important in the Asia-Pacific region? *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 124-38.
85. Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology* 2006; 43: S99-S112.
86. Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Bugianesi E, Lenzi M, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. *Diabetes* 2001; 50: 1844-50.
87. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003; 37: 917-23.
88. Schindhelm RK, Diamant M, Dekker JM, Tushuizen ME, Teerlink T, Heine RJ. Alanine aminotransferase as a marker of non-alcoholic fatty liver disease in relation to type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Diabetes Metab Res Rev* 2006; 22: 437-43.
89. Blaak EE. Metabolic fluxes in skeletal muscle in relation to obesity and insulin resistance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005; 19: 391-403.
90. Noto A, Zahradka P, Yurkova N, Xie X, Nitschmann E, Ogborn M, et al. Conjugated linoleic acid reduces hepatic steatosis, improves liver function, and favorably modifies lipid metabolism in obese insulin-resistant rats. *Lipids* 2006; 41: 179-88.
91. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a

- systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;13(4):643-654.
92. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016;64(1):73-84.
  93. Argo CK, Northup PG, Al-Osaimi AM, Caldwell SH. Systematic review of risk factors for fibrosis progression in nonalcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*. 2009;51:371-9.
  94. Weiss R. Fat distribution and storage: how much, where, and how? *Eur J Endocrinol*. 2007;157(1):S39-45.
  95. Gustafson B, Smith U. Regulation of white adipogenesis and its relation to ectopic fat accumulation and cardiovascular risk. *Atherosclerosis*. 2015;241(1):27-35.
  96. Westerbacka J, Cornér A, Tiikkainen M, Tamminen M, Vehkavaara S, Häkkinen AM, et al. Women and men have similar amounts of liver and intra-abdominal fat, despite more subcutaneous fat in women: implications for sex differences in markers of cardiovascular risk. *Diabetologia*. 2004;47(8):1360-9.
  97. Van der Poorten D, Milner KL, Hui J, Hodge A, Trenell MI, Kench JG, et al. Visceral fat: a key mediator of steatohepatitis in metabolic liver disease. *Hepatology*. 2008;48(2):449-457.
  98. McGillis JP. White adipose tissue, inert no more! *Endocrinology*. 2005;146(5):2154-2156.
  99. Bulcao C, Ferreira SR, Giuffrida FM, Ribeiro-Filho FF. The new adipose tissue and adipocytokines. *Curr Diabetes Rev* 2006; 2: 19-28.
  100. Ahima RS, Osei SY. Adipokines in obesity. *Front Horm Res* 2008; 36: 182-97.

101. Soodini GR. Adiponectin and leptin in relation to insulin sensitivity. *Metab Syndr Relat Disord* 2004; 2: 114-23.
102. Masuzaki H, Paterson J, Shinyama H, Morton NM, Mullins JJ, Seckl JR, et al. A transgenic model of visceral obesity and the metabolic syndrome. *Science* 2001; 294: 2166-70.
103. Fernández-Real JM, Broch M, Vendrell J, Ricart W.--to: Skoog T, et al. (2001) Tumour necrosis factor-alpha(TNF-alpha) polymorphisms -857C/A and -863C/A are associated with TNF-alpha secretion from human adipose tissue. *Diabetologia* 44: 654-5. *Diabetologia* 2002; 45: 149-50.
104. Skoog T, Eriksson P, Hoffstedt J, Ryden M, Hamsten A, Armer P. Tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) polymorphisms-857C/A and -863C/A are associated with TNF-alpha secretion from human adipose tissue. *Diabetologia* 2001; 44: 654-5.
105. Valenti L, Fracanzani AL, Dongiovanni P, Santorelli G, Branchi A, Taioli E, et al. Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphisms and insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 274-80.
106. Crespo J, Cayon A, Fernandez-Gil P, Hernandez-Guerra M, Mayorga M, Dominguez-Diez A, et al. Gene expression of tumor necrosis factor alpha and TNF-receptors, p55 and p75, in nonalcoholic steatohepatitis patients. *Hepatology* 2001; 34: 1158-63.
107. Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 2000; 106: 473-81.
108. Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology* 1990; 12: 1106-10.



109. Eto K, Yamashita T, Matsui J, Terauchi Y, Noda M, Kadowaki T. Genetic manipulations of fatty acid metabolism in beta-cells are associated with dysregulated insulin secretion. *Diabetes* 2002; 51 (Supl. 3): S414-S420.
110. Ramos-Lobo AM, Donato J Jr. The role of leptin in health and disease. *Temperature (Austin)*. 2017;4(3):258-291.
111. Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Adipokines in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2016; 65(8):1062-1079.
112. Geagea AG, Mallat S, Matar CF, Zerbe R, Filfili E, Francis M, et al. Adiponectin and Inflammation in Health and Disease: An Update. *Open Medicine Journal*. 2018;5:20-32.
113. Fernandez-Real JM, Vayreda M, Richart C, Gutierrez C, Broch M, Vendrell J, et al. Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:1154-9.
114. Makino T, Noguchi Y, Yoshikawa T, Doi C, Nomura K. Circulating interleukin 6 concentrations and insulin resistance in patients with cancer. *Br J Surg*. 1998;85:1658-62.
115. du Plessis J, van Pelt J, Korf H, Mathieu C, van der Schueren B, Lannoo M, et al. Association of Adipose Tissue Inflammation with Histological Severity of Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2015;149(3):635-48.
116. Kechagias S, Ernersson A, Dahlqvist O, Lundberg P, Lindström T, Nystrom FH. Fast-food-based hyper-alimentation can induce rapid and profound elevation of serum alanine aminotransferase in healthy subjects. *Gut*. 2008;57(5):649-654.

117. Zelber-Sagi S, Nitzan-Kaluski D, Goldsmith R, Webb M, Blendis L, Halpern Z, et al. Long term nutritional intake and the risk for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a population based study. *J Hepatol.* 2007;47(5):711-717.
118. Summers LK, Fielding BA, Bradshaw HA, Ilic V, Beysen C, Clark ML, et al. Substituting dietary saturated fat with polyunsaturated fat changes abdominal fat distribution and improves insulin sensitivity. *Diabetologia.* 2002;45:369–377.
119. Rosqvist F, Iggman D, Kullberg J, Cedernaes J, Johansson HE, Larsson A, et al. Overfeeding polyunsaturated and saturated fat causes distinct effects on liver and visceral fat accumulation in humans. *Diabetes.* 2014;63(7):2356-2368.
120. Ryan MC, Itsiopoulos C, Thodis T, Ward G, Trost N, Hofferberth S, et al. The Mediterranean diet improves hepatic steatosis and insulin sensitivity in individuals with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2013;59(1):138-143.
121. Perry RJ, Samuel VT, Petersen KF, Shulman GI. The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature.* 2014; 510 (7503): 84-91.
122. Abenavoli L, Milic N, Peta V, Alfieri F, De Lorenzo A, Bellentani S. Alimentary regimen in non-alcoholic fatty liver disease: Mediterranean diet. *World J Gastroenterol.* 2014, 20: 16831-16840.
123. Sevastianova K, Santos A, Kotronen A, et al. Effect of short-term carbohydrate overfeeding and long-term weight loss on liver fat in overweight humans. *Am J Clin Nutr.* 2012;96:727-34.
124. Solga S, Alkhuraishe AR, Clark JM, Torbenson M, Greenwald A, Diehl AM, et al. Dietary composition and nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci.* 2004;49:1578–1583.

125. DiStefano JK. Fructose-mediated effects on gene expression and epigenetic mechanisms associated with NAFLD pathogenesis. *Cell Mol Life Sci.* 2020;77(11):2079-2090.
126. Ma J, Fox CS, Jacques PF, Speliotes EK, Hoffmann U, Smith CE, et al. Sugar-sweetened beverage, diet soda, and fatty liver disease in the Framingham Heart Study cohorts. *J Hepatol.* 2015;63:462-9.
127. Abdelmalek MF, Suzuki A, Guy C, Unalp-Arida A, Colvin R, Johnson RJ, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2010;51(6):1961-71.
128. Jin R, Welsh JA, Le NA, Holzberg J, Sharma P, Martin DR, et al. Dietary fructose reduction improves markers of cardiovascular disease risk in Hispanic-American adolescents with NAFLD. *Nutrients.* 2014;6:3187–3201.
129. Mager DR, Iniguez IR, Gilmour S, Yap J. The effect of a low fructose and low glycemic index/load (FRAGILE) dietary intervention on indices of liver function, cardiometabolic risk factors, and body composition in children and adolescents with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *JPEN.* 2015;39:73–84.
130. Lustig RH, Mulligan K, Noworolski SM, Tai VW, Wen MJ, Erkin-Cakmak A, et al. Isocaloric fructose restriction and metabolic improvement in children with obesity and metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring).* 2016;24(2):453-60.
131. Ryu S, Chang Y, Jung HS, Yun KE, Kwon MJ, Choi Y, et al. Relationship of sitting time and physical activity with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2015;63(5):1229-1237.

132. Wei H, Qu H, Wang H, Deng H. Associations between sitting time and non-alcoholic fatty liver diseases in Chinese male workers: a cross-sectional study. *BMJ Open*. 2016;6(9):e011939.
133. Hallsworth K, Thoma C, Moore S, Ploetz T, Anstee QM, Taylor R, et al. Non-alcoholic fatty liver disease is associated with higher levels of objectively measured sedentary behaviour and lower levels of physical activity than matched healthy controls. *Frontline Gastroenterol*. 2015;6(1):44-51.
134. Wijarnpreecha K, Panjawatanan P, Thongprayoon C, Jaruvongvanich V, Ungprasert P. Sarcopenia and risk of nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Saudi J Gastroenterol*. 2018;24(1):12-17.
135. Pan X, Han Y, Zou T, Zhu G, Xu K, Zheng J, et al. Sarcopenia Contributes to the Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease- Related Fibrosis: A Meta-Analysis. *Dig Dis*. 2018;36(6):427-436.
136. Tovo CV, Fernandes SA, Buss C, de Mattos AA. Sarcopenia and non-alcoholic fatty liver disease: is there a relationship? A systematic review. *World J Hepatol*. 2017;9(6):326-332.
137. Min-Sun K, Donghee K. Non-alcoholic fatty liver disease and lifestyle modifications focusing on physical activity, *Korean J Intern Med*. 2018; 33 (1): 64-74.
138. Leung C, Rivera L, Furnes JB, Angus PW. The role of the gut microbiota in NAFDL. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016 Jul;13(7):412-25.
139. Ursell LK, Clemente JC, Rideout JR, Geysers D, Caporaso JG, Knight B. The interpersonal and intrapersonal diversity of human-associated microbiota in key body sites. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2012. 129: 1204–1208.

140. The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012. 486: 207–214.
141. Tremaroli, V. & Backhed, F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*. 2012. 489: 242–249.
142. Loftus E V, Harewood GC, Loftus CG, Tremaine WJ, Harsman WS, Zinsmeister AR, et al. PSC-IBD: a unique form of inflammatory bowel disease associated with primary sclerosing cholangitis. *Gut*. 2005. 54: 91–96.
143. Vrieze A, Van Nood E, Hollman F, Salojärvi J, Kootte R, Bateltsman J, et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*. 2012. 143: 913–916.e7.
144. Siddiqui MS, Fuchs M, Idowi M, Luketic V Boyett S, et al. Severity of nonalcoholic fatty liver disease and progression to cirrhosis are associated with atherogenic lipoprotein profile. *Clin. Gastroenterol. Hepatol*. 2015 .13: 1000–1008.e3.
145. Sunkara T, Rawla P, Ofosu A, Gaduputi V. Fecal microbiota transplant - a new frontier in inflammatory bowel disease. *J Inflamm Res*. 2018;11:321-328.
146. Aron-Wisnewsky J, Gaborit B, Dutour A, Clement K. Gut microbiota and non-alcoholic fatty liver disease: new insights. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19(4):338-348.
147. Jasirwan COM, Lesmana CRA, Hasan I, Sulaiman AS, Gani RA. The role of gut microbiota in non-alcoholic fatty liver disease: pathways of mechanisms. *Biosci Microbiota Food Health*. 2019;38(3):81-88.

148. Mazzotti A, Caletti MT, Sasdelli AS, Brodosi L, Marchesini G. Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Lifestyle-Gut-Gene Interaction. *Dig Dis*. 2016;34(1):3-10.
149. García-Castillo V, Sanhueza E, McNerney E, Onate SA, García A. Microbiota dysbiosis: a new piece in the understanding of the carcinogenesis puzzle. *J Med Microbiol*. 2016;65(12):1347-1362.
150. Poeta M, Pierri L, Vajro P. Gut-Liver Axis Derangement in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Children (Basel)*. 2017;4(8):66.
151. Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2009;49:1877-1887.
152. Vanni E, Bugianessi E, Krotonbeg A, De Minicis S, Yki-Järvinens H, Svegliati-Baroni G. From the metabolic syndrome to NAFDL or vice versa? *Dig Liver Dis*. 2010 May;42(5):320-30.
153. Harrison SA, Torgerson S, Hayashi PH. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a clinical histopathological study. *Am J Gastroenterol*. 2003; 98: 2042-2047
154. Anstee QM, Day CP. The Genetics of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Spotlight on PNPLA3 and TM6SF2. *Semin Liver Dis*. 2015;35(3):270-90.
155. Sookoian S, Pirola CJ. Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2011;53:1883-94
156. Yki-Jarvinen H. Diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Diabetologia*. 2016;59(6):1104-11.

157. Severson TJ, Besur S, Bonkovsky HL. Genetic factors that affect nonalcoholic fatty liver disease: A systematic clinical review. *World J Gastroenterol*. 2016;22(29):6742-6756.
158. Liu YL, Reeves HL, Burt AD, Tiniakos D, McPherson S, Leathart JBS. TM6SF2 rs58542926 influences hepatic fibrosis progression in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nat Commun*. 2014;5:4309.
159. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003; 37: 1202-19.
160. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001; 120: 1183-92.
161. Solís Herruzo JA, García R, I, Pérez CM, Muñoz Yague MT. Non-alcoholic fatty liver disease. From insulin resistance to mitochondrial dysfunction. *Rev Esp Enferm Dig* 2006; 98: 844-74.
162. Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest* 2004; 114: 147-52.
163. Pessayre D, Mansouri A, Fromenty B. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. V. Mitochondrial dysfunction in steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282: G193-G199.
164. Harrison SA, Kadakia S, Lang KA, Schenker S. Nonalcoholic steatohepatitis: what we know in the new millennium. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2714-24.

165. Haque M, Sanyal AJ. The metabolic abnormalities associated with non-alcoholic fatty liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16: 709-31.
166. Masarone M, Rosato V, Dallio M, Gravina AG, Aglitti A, Loguercio C, et al. Role of Oxidative Stress in Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2018: 9547613.
167. Perez-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. *Gastroenterología y Hepatología*. 2004; 27 (9): 508-514.
168. Z.M. Younossi, T. Gramlich, B.R. Bacon, C.A. Matteoni, N. Boparai, R. O'Neill, et al. Hepatic iron and nonalcoholic fatty liver. *Hepatology*, 1999; 30: 847-850.
169. P. Angulo, J.C. Keach, K.P. Batts, K.D. Lindor. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 1999; 30: 1356-1362
170. Marmur J, Beshara S, Eggertsen G, Oneloff L, Albin L, Danielsson O, et al. Hepcidin levels correlate to liver iron content, but not steatohepatitis, in non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol*. 2018; 18, (78).
171. Jézéquel C, Lainé F, Laviolle B, Kiani A, Bardou-Jacquet E, Deugnier Y. Both hepatic and body iron stores are increased in dysmetabolic iron overload syndrome. A case-control study. *PLoS One* 2015;10(6):e0128530.
172. Deugnier Y, Bardou-Jacquet É, Lainé F. Dysmetabolic iron overload syndrome (DIOS). *Presse Med* 2017;46(12 Pt 2):e306-e311.



173. Britton LJ, Subramaniam VN, Crawford DH. Iron and non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2016;22(36):8112-22.
174. Haap M, Fritsche A, Mensing HJ, Häring HU, Stumvoll M. Association of high serum ferritin concentration with glucose intolerance and insulin resistance in healthy people. *Ann Intern Med*. 2003;139(10):869-871.
175. Sivasankari J, Thiruchelvan V. Serum Ferritin: An Early Marker of Insulin Resistance in Metabolic Syndrome. *Int J Sci*. 2017;5(2):59-64.
176. Kanwar P, Nelson JE, Yates K, Kleiner DE, Unalp-Arida A, Kowdley KV. Association between metabolic syndrome and liver histology among NAFLD patients without diabetes. *BMJ Open Gastroenterol*. 2016;3(1):e000114.
177. Yang K, Hung H, Lu C, Chang HH, Lee LT, Huang KC. Association of Non-alcoholic Fatty Liver Disease with Metabolic Syndrome Independently of Central Obesity and Insulin Resistance. *Sci Rep*. 2016;6:27034.
178. National Guideline Centre (UK). Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Assessment and Management. London: National Institute for Health and Care Excellence (UK); 2016 Jul. (NICE Guideline, No. 49.) 5, Risk factors for NAFLD. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK384735/>
179. Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med*, 1999;107:450–455.
180. Lonardo A, Ballestri S, Marchesini G, Angulo P, Loria P. Nonalcoholic fatty liver disease: A precursor of the metabolic syndrome. *Digestive and Liver Disease*. 2015;47(3):181-190.
181. Chatrath H, Vuppalanchi R, Chalasani N. Dyslipidemia in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis*. 2012;32:22–29.

182. Jiang ZG, Robson SC, Yao Z. Lipoprotein metabolism in nonalcoholic fatty liver disease. *J Biomed Res.* 2013;27(1):1-13.
183. Alkhoury N, Tamimi TA, Yerian L, Lopez R, Zein NN, Feldstein AE. The inflamed liver and atherosclerosis: A link between histologic severity of nonalcoholic fatty liver disease and increased cardiovascular risk. *J Gastroenterol Hepatol.* 2002;17:1098–1105.
184. Lonardo A, Nascimbeni F, Mantovani A, Targher G. Hypertension, diabetes, atherosclerosis and NASH: Cause or consequence? *J Hepatol.* 2018;68(2):335-352.
185. Oikonomou D, Georgiopoulos G, Katsi V, Kourek C, Tsioufis C, Alexopoulou A, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and hypertension: coprevalent or correlated? *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2018;30(9):979-985.
186. Targher G, Bertolini L, Rodella S, Tessari R, Zenari L, Lippi G, et al., Nonalcoholic fatty liver disease is independently associated with an increased incidence of cardiovascular events in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2007;30(8):2119-2121.
187. Pais R, Charlotte F, Fedchuk L, Bedossa P, Lebray P, Poynard T, et al. A systematic review of follow-up biopsies reveals disease progression in patients with non-alcoholic fatty liver. *J Hepatol.* 2013;59(3):550-556.
188. Park SK, Seo MH, Shin HC, Ryoo JH. Clinical availability of nonalcoholic fatty liver disease as an early predictor of type 2 diabetes mellitus in Korean men: 5-year prospective cohort study. *Hepatology.* 2013;57:1378–1383.
189. Hossain N, Afendy A, Stepanova M, Nader F, Srishord M, Rafiq N, et al. Independent predictors of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2009;7:1224–1229.

190. Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, Andreoletti M, Colli A, Vanni E, et al. Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: A role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology*. 2008;48:792–798.
191. Goh GB, Pagadala MR, Dasarathy J, Unalp-Arida A, Sargent R, Hawkins C, et al. Clinical spectrum of non-alcoholic fatty liver disease in diabetic and non-diabetic patients. *BBA Clin*. 2014;3:141–145.
192. Targher G, Chonchol MB, Byrne CD. CKD and nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Kidney Dis*. 2014; 64: 638-652.
193. Sirota JC , McFann K, Targher G , Chonchol M, Jalal D. Association between non-alcoholic liver disease and chronic kidney disease: An ultrasound analysis from NHANES 1988-1994. *Am J Nephrol*. 2012; 36: 466-471.
194. Sinn DH, Kang D, Jang HR, et al. Development of chronic kidney disease in patients with non-alcoholic fatty liver disease: A cohort study. *J Hepatol*. 2017; 67: 1274-1280.
195. Sharma k, Ramachandrarao S, Qui G, et al. Adiponectin regulates albuminuria and podocyte function in mice. *J Clin Invest*. 2008; 118: 1645-1656.
196. Gansevoort RT, Correa-Rotter R, Hemmelgarn BR, Jafar TH, Lambers Heerspink HJ, Mann JF, et al. Chronic kidney disease and cardiovascular risk: epidemiology, mechanisms, and prevention. *Lancet*. 2013;382(9889):339-352.
197. Targher G, Byrne CD. Non-alcoholic fatty liver disease: An emerging driving force in chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol*. 2017;13:297–310.
198. Musso G, Gambino R, Tabibian JH, Ekstedt M, Kechagias S, Hamaguchi M, et al. Association of non-alcoholic fatty liver disease with chronic kidney

- disease: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.* 2014;11(7):e1001680.
199. James OFW, Day CP. Non-alcoholic steatohepatitis (NASH): a disease of emerging identity and importance. *J Hepatol.* 1998;29(3):495-501.
  200. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, Sargeant C, Fisher RA, Luketic VA, et al. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology.* 2003;37(6):1286-1292.
  201. Day CP. Non-alcoholic fatty liver disease: current concepts and management strategies. *Clin Med.* 2006;6:19-25.
  202. Nalbantoglu IL, Brunt EM. Role of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2014;20(27):9026-37.
  203. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2018;67(1):328-357.
  204. Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol.* 2010;53(2):372-384.
  205. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol.* 1999;94(9):2467-2474.
  206. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2005;41(6):1313-1321.

207. Khov N, Sharma A, Riley TR. Bedside ultrasound in the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(22):6821-5.
208. Lee SS, Park SH, Kim HJ, Kim SY, Kim MY, Kim DY, et al. Non-invasive assessment of hepatic steatosis: prospective comparison of the accuracy of imaging examinations. *J Hepatol*. 2010;52:579-585.
209. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, Mullen KD, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002;123:745-750.
210. van Werven JR, Marsman HA, Nederveen AJ, Smits NJ, ten Kate FJ, van Gulik TM, et al. Assessment of hepatic steatosis in patients undergoing liver resection: comparison of US, CT, T1-weighted dual-echo MR imaging, and point-resolved 1H MR spectroscopy. *Radiology*. 2010;256:159-168.
211. Saverymuttu SH, Joseph AE, Maxwell JD. Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1986;292:13-15.
212. Ochi H, Hirooka M, Koizumi Y, Miyake T, Tokumoto Y, Soga Y, et al. Real-time tissue elastography for evaluation of hepatic fibrosis and portal hypertension in nonalcoholic fatty liver diseases. *Hepatology*. 2012;56:1271-1278.
213. Nobili V, Vizzutti F, Arena U, Abraldes JG, Marra F, Pietrobattista A, et al. Accuracy and reproducibility of transient elastography for the diagnosis of fibrosis in pediatric nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2008;48:442-448.
214. Orlacchio A, Bolacchi F, Antonicoli M, Coco I, Costanzo E, Tosti D, et al. Liver elasticity in NASH patients evaluated with real-time elastography (RTE). *Ultrasound Med Biol*. 2012;38:537-544.

215. Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chan HL, Le Bail B, et al. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2010;51:454-462.
216. 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;55:666-672.
217. Bellentani S, Marino M. Epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Ann Hepatol*. 2009;8(1):S4-S8.
218. Attia SL, Softic S, Mouazi M. Evolving role for pharmacotherapy in NAFLD/NASH. *CTS Clinical Translation Science*. 2021; 14 (1):11-19.
219. Tacelli M, Celsa C, Magro B, Giannetti A, Pennisi G, Spatola F, et al. Antidiabetic Drugs in NAFLD: The Accomplishment of Two Goals at Once? *Pharmaceuticals*. 2018;11:121.
220. Pennisi G, Celsa C, Spatola F, Dallio M, Federico A, Petta S. Pharmacological Therapy of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: What Drugs Are Available Now and Future Perspectives. *Int J Environ Res Public Health*. 2019 Nov 7;16(22):4334.
221. Cusi K, Orsak B, Bril F, Lomonaco R, Hecht J, Ortiz-Lopez C, et al. Long-Term Pioglitazone Treatment for Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis and Prediabetes or Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomized Trial. *Ann Intern Med*. 2016;165:305–315.
222. Musso G, Cassader M, Paschetta E, Gambino R. Thiazolidinediones and Advanced Liver Fibrosis in Nonalcoholic Steatohepatitis: A Meta-analysis

- [published correction appears in JAMA Intern Med. 2017 May 1;177(5):747].  
JAMA Intern Med. 2017;177(5):633-640.
223. Armstrong MJ, Gaunt P, Aithal GP, Barton D, Hull D, Parker R, et al. Liraglutide safety and efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (LEAN): A multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet*. 2016;387:679–690.
224. Armstrong MJ, Hull D, Guo K, Barton D, Hazlehurst JM, Gathercole LL, et al. Glucagon-like peptide 1 decreases lipotoxicity in non-alcoholic steatophepatitis. *J. Hepatol*. 2016;64:399–408.
225. Sumida Y, Nakashima T, Yoh T, Furutani M, Hirohama A, Kakisaka Y, et al. Serum thioredoxin levels as a predictor of steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2003;38:32–8.
226. Sumida Y, Niki E, Naito Y, Yoshikawa T. Involvement of free radicals and oxidative stress in NAFLD/NASH. *Free Radic Res*. 2013;47:869–80.
227. Lavine JE, Schwimmer JB, Van Natta ML, Molleston JP, Murray KF, Rosenthal P, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: The TONIC randomized controlled trial. *JAMA*. 2011;305:1659–1668.
228. Fukui A, Kawabe N, Hashimoto S, Muraio M, Nakano T, Shimazaki H, et al. Vitamin E reduces liver stiffness in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*. 2015;7:2749–2756.
229. 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.

230. Klein EA, Thompson IM, Tangen CM, Crowley JJ, Lucia MS, Goodman PJ, et al. Vitamin E and the risk of prostate cancer: The Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA*. 2011;306:1549-1556
231. El Hadi, H.; Vettor, R.; Rossato, M. Vitamin E as a Treatment for Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Reality or Myth? *Antioxidants*. 2018;7:12.
232. 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 Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology*. 2012;142:1592–609.
233. Watanabe S, Hashimoto E, Ikejima K, Japanese Society of Gastroenterology, Japan Society of Hepatology. Evidence-based clinical practice guidelines for nonalcoholic fatty liver disease/ nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol*. 2015;50:364–77.
234. European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD), European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASD-EASO clinical practice guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2016;64:1388–1402.
235. Issa D, Patel V, Sanyal AJ. Future therapy for non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*. 2018;38(1):56-63.
236. Romero-Gomez M, Zelber-Sagi S, Trenell M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. *J Hepatol*. 2017;67(4):829-846.
237. Musso G, Cassader M, Rosina F, Gambino R. Impact of current treatments on liver disease, glucose metabolism and cardiovascular risk in non-alcoholic fatty



- liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Diabetologia*. 2012;55:885-904.
238. Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Oramas B, Gonzalez-Fabian L, et al. Weight loss through lifestyle modification significantly reduces features of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2015;149:367-378.
239. Valtueña S, Pellegrini N, Ardigò D, Numeroso F, Scazzina F, et al. Dietary glycemic index and liver steatosis. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2006; 84(1):136–142.
240. Gao B, Tsukamoto H. Inflammation in Alcoholic and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Friend or Foe? *Gastroenterology*. 2016;150(8):1704-9.
241. Martínez-González MA, Salas-Salvadó J, Estruch R, Corella D, Fitó M, Ros E. Benefits of the Mediterranean Diet: Insights from the PREDIMED Study. *Prog Cardiovasc Dis*. 2015;58(1):50-60.
242. Properzi C, O’Sullivan TA, Sherriff JL, Ching HL, Jeffrey GP, Buckley RF, et al. Ad Libitum Mediterranean and Low-Fat Diets Both Significantly Reduce Hepatic Steatosis: A Randomized Controlled Trial. *Hepatology*. 2018;68:1741–1754.
243. Sargeant JA, Gray LJ, Bodicoat DH, Willis SA, Stensel DJ, Nimmo MA, et al. The effect of exercise training on intrahepatic triglyceride and hepatic insulin sensitivity: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev*. 2018;19(10):1446-1459.
244. Wu T, Gao X, Chen M, van Dam RM. Long-term effectiveness of diet-plus-exercise interventions vs. diet-only interventions for weight loss: a meta-analysis. *Obes Rev*. 2009;10:313-323

245. Tutino V, De Nunzio V, Caruso MG, Bonfiglio C, Franco I, Mirizzi A, et al. Aerobic Physical Activity and a Low Glycemic Diet Reduce the AA/EPA Ratio in Red Blood Cell Membranes of Patients with NAFLD. *Nutrients*. 2018;10(9):1299.
246. Cheng S, Ge J, Zhao C, Le S, Yang Y, Ke D, et al. Effect of aerobic exercise and diet on liver fat in pre-diabetic patients with non-alcoholic-fatty-liver-disease: A randomized controlled trial. *Sci Rep*. 2017;7(1):15952.
247. Mitra S, De A, Chowdhury A. Epidemiology of non-alcoholic and alcoholic fatty liver diseases. *Transl Gastroenterol Hepatol*. 2020;5:16.
248. Sung KC, Wild SH, Byrne CD. Development of new fatty liver, or resolution of existing fatty liver, over five years of follow-up, and risk of incident hypertension. *J Hepatol* 2014;60:1040-1045.
249. Allen AM, Therneau TM, Larson JJ, Coward A, Somers VK, Kamath PS. Nonalcoholic fatty liver disease incidence and impact on metabolic burden and death: A 20 year-community study. *Hepatology*. 2018;67(5):1726-1736.
250. Wong VW, Wong GL, Yeung DK, Lau TKT, Chan CKC, Chim AML, et al. Incidence of non-alcoholic fatty liver disease in Hong Kong: a population study with paired proton-magnetic resonance spectroscopy. *J Hepatol*. 2015;62:182-189.
251. Li J, Zou B, Yeo YH, Feng Y, Xie X, Lee DH, et al. Prevalence, incidence, and outcome of non-alcoholic fatty liver disease in Asia, 1999-2019: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2019;4(5):389-398.
252. M.E. Rinella.  
Nonalcoholic fatty liver disease. A systematic review.  
*JAMA*, 313 (2015), pp. 2263-2273

253. Loomba R, Sanyal AJ. The global NAFLD epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;10:686-690.
254. 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. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2010, 22: 24-32
255. Caballería L, Pera G, Arteaga I, Rodríguez L, Aluma A, Expósito C, et al. Early detection of chronic liver disease with fibrosis among presumed healthy adults using transient elastography (TE). A population-based study. *Hepatology*. 2016;64:Abstract 1083.
256. Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Castiglione A, Crocè LS, Tiribelli C, et al. Incidence and natural course of fatty liver in the general population: the Dionysos study. *Hepatology*. 2007;46:1387-91.
257. Younossi ZM, Golabi P, de Avila L, Paik JM, Srishord M, Fukui N, et al. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol*. 2019;71(4):793-801.
258. Ascascosa JF, González-Santos P, Hernández-Mijaresa A, Mangas A, Masana A, Millan J, et al. Diagnóstico de síndrome metabólico. Adecuación de los criterios diagnósticos en nuestro medio. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*. 2006;18 (6):244-260.
259. Anand SS, Yi Q, Gersetein H, Lonn E, Jacobs R, Vuksan V, et al; Study of Health Assessment and Risk in Ethnic Groups; Study of Health Assessment and Risk Evaluation in Aboriginal Peoples Investigators. Relationship of metabolic syndrome and fibrinolytic dysfunction to cardiovascular disease. *Circulation*, 2003 ;108:420-5

260. Part I: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Geneva: Department of Noncommunicable Disease Surveillance, OMS; 1999.
261. Balkau M, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med*, 1999;16:442-3.
262. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NECP). Expert Panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*, 2001;285:2486-97.
263. Grundy SM. What is the contribution of obesity to the metabolic syndrome? *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2004;33:267-82.
264. Grundy SM. Obesity as a cardiovascular risk factor. *Am J Med*. 2003;115 Suppl 8A:S37-41.
265. Grundy SM, Hansen B, Smith SC Jr, Cleeman JL, Kahn RA. Clinical management of metabolic syndrome. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Diabetes Association Conference on scientific issues related to management. *Circulation*, 2004;109:551-556.
266. Reaven G. The metabolic syndrome or the insulin resistance syndrome? Different names, different concepts, and different goals. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2004;33:283-303.
267. The syndrome of insulin resistance and its links to atherosclerosis. En: DeFronzo RA, Ferrannini E, Keen H, Zimmet P, editors. *International Textbook of Diabetes Mellitus*. Chichester: Willey & Sons; 2004: 1379-94.

268. the DECODE Study group on behalf of the European Diabetes Epidemiology Group. Glucose tolerance and cardiovascular mortality: comparison of fasting and 2-hour diagnostic criteria. *Arch Intern Med*, 2001;161:397-404.
269. Meigs JB, D'Agostino RB, Wilson PW.F, Cupples LA, Nathan DM, Singer DE. Risk variable clustering in the insulin resistance syndrome. *Diabetes*, 1997;46:1594-600.
270. Ginsberg HN, Huang LS. The insulin resistance syndrome: impact on lipoprotein metabolism and atherothrombosis. *J Cardiovasc Risk*, 2000;7:325-31.
271. Álvarez León EE, Ribas Barba L, Serra Majem L. Prevalencia del síndrome metabólico en la población de la Comunidad Canaria. *Med Clin (Barc)*, 2003,120:172-4.
272. Chan DC, Watts GF. Dyslipidemia in the metabolic syndrome. *J Drug Eval*, 2004;1:3-34.
273. Devaraj S, Rosenson RS, Jialal I. Metabolic syndrome: an appraisal of the pro-inflammatory and procoagulant status. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2004;33:431-53.
274. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events. *Circulation*, 2003;107:391-7.
275. Garber AJ. The metabolic syndrome. *Med Clin North Am*, 2004;88:837-46.
276. Anand SS, Yi Q, Gersetein H, Lonn E, Jacobs R, Vuksan V, et al; Study of Health Assessment and Risk in Ethnic Groups; Study of Health Assessment and Risk Evaluation in Aboriginal Peoples Investigators. Relationship of

- metabolic syndrome and fibrinolytic dysfunction to cardiovascular disease. *Circulation*, 2003;108:420-5.
277. DiStefano JK. NAFLD and NASH in Postmenopausal Women: Implications for Diagnosis and Treatment. *Endocrinology*. 2020 Oct 1;161(10):bqaa134.
278. Ballestri S, Nascimbeni F, Baldelli E, Marrazzo E, Romagnoli D, Lonardo A. NAFLD as a Sexual Dimorphic Disease: Role of Gender and Reproductive Status in the Development and Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Inherent Cardiovascular Risk. *Adv Ther*. 2017;34(6):1291-1326.
279. Georgakis MK, Thomopoulos TP, Diamantaras A, et al. Association of Age at Menopause and Duration of Reproductive Period With Depression After Menopause: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Psychiatry*. 2016;73(2):139–149.
280. Hambrecht R, Gielen S. Essay: hunter-gatherer to sedentary lifestyle. *Lancet* 2005;366:S60–S61.
281. Manson JE, Skerrett PJ, Greenland P, et al. The escalating pandemics of obesity and sedentary lifestyle. *Arch Intern Med* 2004;164:249–58.
282. Aranceta-Bartrina J, Gianzo-Citores M, Pérez-Rodrigo C. Prevalencia de sobrepeso, obesidad y obesidad abdominal en población española entre 3 y 24 años. Estudio ENPE. *Revista Española de Cardiología*. 2020; 73(4):290-299.
283. Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, et al. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* 2005;115:1139–42.
284. Capristo E, Miele L, Forgione A, et al. Nutritional aspects in patients with nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2005;9:265–8.

285. Elliott SS, Keim NL, Stern JS, et al. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr* 2002;76:911–922.
286. Raben A, Vasilaras TH, Moller AC, et al. Sucrose compared with artificial sweeteners: different effects on ad libitum food intake and body weight after 10 wk of supplementation in overweight subjects. *Am J Clin Nutr* 2002;76:721–9.
287. Musso G, Gambino R, De Michieli F, et al. Dietary habits and their relations to insulin resistance and post-prandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2003;37:909–13.
288. Cortez-Pinto H, Jesus L, Barros H, et al. How different is the dietary pattern in non-alcoholic steatohepatitis patients? *Clin Nutr* 2006;25:816–23.
289. Storlien LH, Higgins JA, Thomas TC, et al. Diet composition and insulin action in animal models. *Br J Nutr* 2000;83(Suppl):S85–S90.
290. Solga S, Alkhuraishe AR, Clark JM, et al. Dietary composition and nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci* 2004;49:1578–83
291. Drenick E, Simmons F, Murphy JF. Effect on Hepatic Morphology of Treatment of Obesity by Fasting, Reducing Diets and Small-Bowel Bypass. *N Engl J Med*. 1970; 282:829-834
292. Palmer M, Schaffner F. Effect of weight reduction on hepatic abnormalities in overweight patients. *Gastroenterology* 1990;99:1408–13.
293. Petersen KF, Dufour S, Befroy D, et al. Reversal of nonalcoholic hepatic steatosis, hepatic insulin resistance, and hyperglycemia by moderate weight reduction in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2005;54:603–8.

294. Westerbacka J, Lammi K, Hakkinen A-M, et al. Dietary fat content modifies liver fat in overweight nondiabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2804–9.
295. Yancy WS, Olsen MK, Guyton JR, et al. A low-carbohydrate, ketogenic diet versus a low-fat diet to treat obesity and hyperlipidemia: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 2004;140:769–77.
296. Tendler D, Lin S, Yancy WS Jr, et al. The effect of a low-carbohydrate, ketogenic diet on nonalcoholic fatty liver disease: a pilot study. *Dig Dis Sci* 2007;52:589–93.
297. Huang EY, Devkota S, Moscoso D, Chang B, Leone A. The role of diet in triggering human inflammatory disorders in the modern age, *Microbes and Infection*, 2013;15,(12):765-774.
298. Gardner CD, Kiazand A, Alhassan S, et al. Comparison of the Atkins, Zone, Ornish, and LEARN diets for change in weight and related risk factors among overweight premenopausal women. *JAMA* 2007;297:969–77.
299. Heilbronn LK, Ravussin E. Calorie restriction and aging: Review of the literature and implications for studies in humans. *Am J Clin Nutr*. 2003;78(3):361–369.
300. Scheen AJ. The future of obesity: new drugs versus lifestyle interventions. *Expert Opin Inv Drug*. 2008;17(3):263–267.
301. Brownell KD. Does a “toxic” environment make obesity inevitable? *Obesity Management*. 2005;1(2):52–55.
302. Hill JO, Peters JC. Environmental contributions to the obesity epidemic. *Science*. 1998;280(5368):1371–1374.



303. Rodin J, Schank D, Striegel-Moore R. Psychological features of obesity. *Med. Clin. North Am.* 1989;73(1):47–66.
304. Zverev YP. Effects of caloric deprivation and satiety on sensitivity of the gustatory system. *BMC Neurosci.* 2004;5(1):5.
305. Wang G-J, Volkow ND, Felder C, et al. Enhanced resting activity of the oral somatosensory cortex in obese subjects. *Neuroreport.* 2002;13(9):1151–1155.
306. Davis C, Patte K, Levitan R, Reid C, Tweed S, Curtis C. From motivation to behaviour: A model of reward sensitivity, overeating, and food preferences in the risk profile for obesity. *Appetite.* 2007;48(1):12–19.
307. Hill JO, Wyatt HR, Reed GW, Peters JC. Obesity and the environment: Where do we go from here? *Science.* 2003;299(5608):853–855.
308. Poston WS<sup>2nd</sup>, Foreyt JP. Obesity is an environmental issue. *Atherosclerosis.* 1999;146(2):201–209.
309. Qui S, Cai X, Sun, Z, Zügel M, Steinaker J M, Schumann U. Association between physical activity and risk of non alcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Therap. Adv. Gastroenterol.* 2017, 10, 701-713.
310. Keating SE, Hackett DA, George J, Johnson NA. Exercise and non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and metaanalysis. *J Hepatol* 2012; 57: 157-166.
311. Healy GN, Dunstan DW, Salmon J, Cerin E, Shaw JE, Zimmet PZ, Owen N. Breaks in sedentary time: beneficial associations with metabolic risk. *Diabetes Care* 2008; 31: 661-666.
312. Hallsworth K, Thoma C, Moore S, Ploetz T, Anstee QM, Taylor R, Day CP, Trenell MI. Non-alcoholic fatty liver disease is associated with higher levels of

- objectively measured sedentary behaviour and lower levels of physical activity than matched healthy controls. *Frontline Gastroenterol* 2015; 6: 44-51
313. Gerber L, Otgonsuren M, Mishra A, Escheik C, Birerdinc A, Stepanova M, Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is associated with low level of physical activity: a population-based study. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 772-781
314. Sullivan S, Kirk EP, Mittendorfer B, Patterson BW, Klein S. Randomized trial of exercise effect on intrahepatic triglyceride content and lipid kinetics in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2012; 55: 1738-1745
315. Oh S, Tanaka K, Tsujimoto T, So R, Shida T, Shoda J. Regular exercise coupled to diet regimen accelerates reduction of hepatic steatosis and associated pathological conditions in nonalcoholic fatty liver disease. *Metab Syndr Relat Disord* 2014; 12: 290-298
316. Hallsworth K, Fattakhova G, Hollingsworth K, Thoma C, Moore S, Taylor R, Day CP, Trenell MI. Resistance exercise improves liver lipid, fat oxidation and glucose control in adults with non-alcoholic fatty liver disease independent of weight loss. *J Hepatol* 2011; 54: S337
317. Zelber-Sagi S, Buch A, Yeshua H, Vaisman N, Webb M, Harari G, Kis O, Fliss-Isakov N, Izkhakov E, Halpern Z, Santo E, Oren R, Shibolet O. Effect of resistance training on non-alcoholic fatty liver disease a randomized-clinical trial. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 4382-4392
318. Webb M, Yeshua H, Zelber-Sagi S, Santo E, Brazowski E, Halpern Z, Oren R. Diagnostic value of a computerized hepatorenal index for sonographic quantification of liver steatosis. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 192: 909-914

319. Kawaguchi T, Shiba N, Maeda T, Matsugaki T, Takano Y, Itou M, Sakata M, Taniguchi E, Nagata K, Sata M. Hybrid training of voluntary and electrical muscle contractions reduces steatosis, insulin resistance, and IL-6 levels in patients with NAFLD: a pilot study. *J Gastroenterol* 2011; 46: 746-757
320. Oh S, Shida T, Sawai A, Maruyama T, Eguchi K, Isobe T, Okamoto Y, Someya N, Tanaka K, Arai E, Tozawa A, Shoda J. Acceleration training for managing nonalcoholic fatty liver disease: a pilot study. *Ther Clin Risk Manag* 2014; 10: 925-936.
321. Kistler KD, Brunt EM, Clark JM, Diehl AM, Sallis JF, Schwimmer JB. Physical activity recommendations, exercise intensity, and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 460-48; quiz 469.
322. Oh S, Shida T, Yamagishi K, Tanaka K, So R, Tsujimoto T, Shoda J. Moderate to vigorous physical activity volume is an important factor for managing nonalcoholic fatty liver disease: a retrospective study. *Hepatology* 2015; 61: 1205-1215.
323. Haus JM, Solomon TP, Kelly KR, Fealy CE, Kullman EL, Scelsi AR, Lu L, Pagadala MR, McCullough AJ, Flask CA, Kirwan JP. Improved hepatic lipid composition following short-term exercise in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98.
324. Johnson NA, Walton DW, Sachinwalla T, Thompson CH, Smith K, Ruell PA, Stannard SR, George J. Noninvasive assessment of hepatic lipid composition: Advancing understanding and management of fatty liver disorders. *Hepatology* 2008; 47: 1513-1523.

325. Romero-Gómez M, Zelber-Sagi S, Trenell M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. *Journal of Hepatology*, 2017; S(01):68827817320524.
326. Said A, Gagovic V, Malecki K, Givens ML, Nieto FJ. Primary care practitioners survey of non-alcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol*. 2013;12:758-765.
327. Obika M, Noguchi H. Diagnosis and evaluation of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Journal of Diabetes Research*. 2012 id145754.
328. Tahan V, Canbakan B, Balci H, Dane F, Akin H, Can G, et al. Serum gamma-glutamyltranspeptidase distinguishes non-alcoholic fatty liver disease at high risk. *Hepatogastroenterology*. 2008;55:1433-1438.
329. Thoma C, Day CP, Trenell MI. Lifestyle interventions for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease in adults: A systematic review. *J Hepatol*. 2012;56:255-266.
330. Eskridge W, Vierling JM, Gosbee W, Wan GA, Hyunh M-L, Chang HE. Screening for undiagnosed non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH): A population-based risk factor assessment using vibration controlled transient elastography (VCTE). *PLoS ONE*. 2021;16(11): e0260320.
331. Somerset S M, Graham L, Markwell K. Depression scores predict adherence in a dietary weight loss intervention trial. *Clinical Nutrition*, 2011;30,(5):593-598.
332. World Health Organization. 1985. Energy and protein requirements: Report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. WHO Technical Report Series No. 724. Geneva.

333. Mifflin MD, St Jeor ST, Hill LA, Scott BJ, Daugherty SA, Koh YO. A new predictive equation for resting energy expenditure in healthy individuals. *Am J Clin Nutr.* 1990;51(2):241-7.
334. U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture. 2015–2020 Dietary Guidelines for Americans. 8th Edition. December 2015. Available at <http://health.gov/dietaryguidelines/2015/guidelines/>
335. De La Iglesia R, Lopez-Legarrea P, Abete I, et al. A new dietary strategy for long-term treatment of the metabolic syndrome is compared with the American heart association (AHA) guidelines: The METabolic Syndrome REDuction in NAVarra (RESMENA) project. *Br J Nutr.* 2014;111(4):643-652.
336. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Tzima N, Chrysohoou C, Economou M, Zampelas A, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in healthy adults: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr.* 2005;82(3):694-699.
337. Zulet MA, Bondia-Pons I, Abete I, de la Iglesia R, López-Legarrea P, Forga L, Navas-Carretero S, Martínez JA. The reduction of the metabolic syndrome in Navarra-Spain (RESMENA-S) study: a multidisciplinary strategy based on chrononutrition and nutritional education, together with dietetic and psychological control. *Nutr Hosp.* 2011;26(1):16-26.
338. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, et al. Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet Supplemented with Extra-Virgin Olive Oil or Nuts. *N Engl J Med.* 2018;378(25):e34.

339. World Health Organization (WHO). Global recommendations on physical activity for health. 2010. Available at [http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241599979\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241599979_eng.pdf).
340. Willett WC, Sampson L, Stampfer MJ, Rosner B, Bain C, Witschi J. Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. *Am J Epidemiol* 1985;122:51–65.
341. Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C. Las tablas. In: Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C, eds. *Tabla de composición de alimentos*. Madrid, Spain. Pirámide 2007:37-46.
342. Schroder H, Fitó M, Estruch R, Martínez-González MA, Corella D, Salas-Salvadó J, et al. A short screener is valid for assessing Mediterranean diet adherence among older Spanish men and women. *J Nutr* 2011;141(6):1140e5.
343. Weng G, Dunn W. Effect of alcohol consumption on nonalcoholic fatty liver disease. *Transl Gastroenterol Hepatol*. 2019;4:70.
244. Suni J, Husu P, Rinne M. *Fitness for Health: The ALPHA-FIT Test Battery for Adults Aged 18–69. Tester’s Manual*. Published by European Union, DG SANCO, and the UKK Institute for Health Promotion Research, Tampere, FINLAND, 2009. Available at [http://www.ukkinstituutti.fi/filebank/500-ALPHA\\_FIT\\_Testers\\_Manual.pdf](http://www.ukkinstituutti.fi/filebank/500-ALPHA_FIT_Testers_Manual.pdf)
345. Bennett H, Parfitt G, Davison K, Eston R. Validity of Submaximal Step Tests to Estimate Maximal Oxygen Uptake in Healthy Adults. *Sports Medicine* 2016;46(5): 737–750.
346. Richardson MT, Leon AS, Jacobs Jr DR, Ainsworth BE, Serfass R. Comprehensive Evaluation of the Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire. *J Clin Epidemiol*. 1994;47(3):271-281.

347. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005;41(6):1313-1321.
348. Meng F, Zheng Y, Zhang Q, Mu X, Xu X, Zhang H, et al. Noninvasive evaluation of liver fibrosis using real-time tissue elastography and transient elastography (FibroScan). *J Ultrasound Med*. 2015;34(3):403-410.
349. O'Hara S, Hodson S, Hernaman C, Wambeek N, Olynyk J. Concordance of transient elastography and shear wave elastography for measurement of liver stiffness. *Sonography*. 2017;4:141–145.
350. Ferraioli G, Tinelli C, Lissandrin R, Zicchetti M, Dal Bello B, Filice G, et al. Point shear wave elastography method for assessing liver stiffness. *World J Gastroenterol*. 2014;20(16):4787-4796.
351. Zhao H, Chen J, Meixner DD, Xie H, Shamdasani V, Zhou S, et al. Noninvasive assessment of liver fibrosis using ultrasound-based shear wave measurement and comparison to magnetic resonance elastography. *J Ultrasound Med*. 2014;33(9):1597-1604.
352. Castera L, Foucher J, Bernard PH, Carvalho F, Allaix D, Merrouche W, et al. Pitfalls of liver stiffness measurement: a 5-year prospective study of 13,369 examinations. *Hepatology*. 2010;51(3):828-35.
353. The French METAVIR Cooperative Study Group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1994;20:15–20.

354. Ferraioli G, Maiocchi L, Lissandrin R, De Silvestri A, Tinelli. Non-invasive staging of liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis: performance of a shear wave measurement method. Poster No.: B-1248. ECR Congress 2017.
355. Sharma P, Altbach M, Galons JP, Kalb B, Martin DR. Measurement of liver fat fraction and iron with MRI and MR spectroscopy techniques. *Diagn Interv Radiol.* 2014;20(1):17-26.
356. Tang A, Tan J, Sun M, Hamilton G, Bydder M, Wolfson T, Gamst AC, Middleton M, Brunt EM, Loomba R, Lavine JE, Schwimmer JB, Sirlin CB. Nonalcoholic fatty liver disease: MR imaging of liver proton density fat fraction to assess hepatic steatosis. *Radiology.* 2013;67(2):422-31.
357. Chandarana H, Lim RP, Jensen JH, Hajdu CH, Losada M, Babb J.S, et al. Hepatic Iron Deposition in Patients With Liver Disease: Preliminary Experience With Breath-Hold Multiecho T2\*-Weighted Sequence. *Am J Roentgenol.* 2009;193(5):1261–1267.
358. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985;28(7):412-419.
359. Guerrero-Romero F, Simental-Mendía LE, González-Ortiz M, Martínez-Abundis E, Ramos-Zavala MG, Hernández-González SO, et al. The product of triglycerides and glucose, a simple measure of insulin sensitivity. Comparison with the euglycemic-hyperinsulinemic clamp. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(7):3347-3351.



360. 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.
361. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology.* 2006;43(6):1317-25.
362. Michels WM, Grootendorst DC, Verduijn M, Elliott EG, Dekker FW, Krediet RT. Performance of the Cockcroft-Gault, MDRD, and new CKD-EPI formulas in relation to GFR, age, and body size. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5(6):1003-1009.
363. Redal-Baigorri B, Rasmussen K, Heaf JG. The use of absolute values improves performance of estimation formulae: A retrospective cross sectional study. *BMC Nephrol.* 2013;14(1).
364. Delanaye P, Radermecker RP, Rorive M, Depas G, Krzesinski JM. Indexing glomerular filtration rate for body surface area in obese patients is misleading: Concept and example. *Nephrol Dial Transplant.* 2005;20(10):2024-2028. doi:10.1093/ndt/gfh983
365. López-Martínez M, Luis-Lima S, Morales E, et al. The estimation of GFR and the adjustment for BSA in overweight and obesity: a dreadful combination of two errors. *Int J Obes.* 2020;44(5):1129-1140.
366. Du Bois DDBE. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. 1916. *Nutrition.* 1989;5(5):303-311.
367. Sunder-Plassmann G, Hörl WH, Levey AS, Coresh J. A critical appraisal for definition of hyperfiltration (multiple letters). *Am J Kidney Dis.* 2004;43(2):396-397.

368. Rubio Herrera MA, Lopera M. Evidence-based medicine: nutrition in obesity. *Endocrinol Nutr.* 2005;52(2):102-9.
369. Saghaei M, Saghaei S. Implementation of an open-source customizable minimization program for allocation of patients to parallel groups in clinical trials. *J Biomed Sci Eng.* 2011;4:734-739.
370. Martínez-González, Sánchez-Villegas, A., Toledo Atucha, E., Faulín, F. J., & Toledo Atucha, E. *Bioestadística amigable* (3a ed.). 2014 Elsevier.
371. Bartres C, Sabela L. Elastografía hepática (Fibroscan®) en hepatología. *Revista Española de Enfermedades Digestivas* 105.4; 2013: 235-235.
372. Younossi, Zobair M. "Non-alcoholic fatty liver disease—a global public health perspective." *Journal of hepatology* 70.3. 2019: 531-544.
373. Fernández-Bergés, Daniel, et al. "Síndrome metabólico en España: prevalencia y riesgo coronario asociado a la definición armonizada ya la propuesta por la OMS. Estudio DARIOS." *Revista española de cardiología* 65.3 (2012): 241-248.
374. Juste, Aida Moreno, et al. "Adherence to treatment of hypertension, hypercholesterolaemia and diabetes in an elderly population of a Spanish cohort." *Medicina Clínica (English Edition)* 153.1 (2019): 1-5.
375. Lee, Sangjin, et al. "Gender differences in metabolic syndrome components among the Korean 66-year-old population with metabolic syndrome." *BMC geriatrics* 16.1 (2016): 1-8.
376. De Salazar, Dora I. Molina, and Daniela Munoz-Gómez. "Síndrome metabólico en la mujer." *Revista Colombiana de Cardiología* 25 (2018): 21-29.
377. Alberti, Kurt George Matthew Mayer, and Paul Z. Zimmet. "Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1:

- diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation." *Diabetic medicine* 15.7 (1998): 539-553.
378. Vryonidou, Andromachi, et al. "Metabolic syndrome through the female life cycle." *Eur J Endocrinol* 1 (2015): 153.
379. Carratalá, Fernando Rigo, et al. "Prevalencia de factores de riesgo cardiovascular en las Islas Baleares (estudio CORSAIB)." *Revista Española de cardiología* 58.12 (2005): 1411-1419.
380. Woodard, Genevieve A., et al. "Lipids, menopause, and early atherosclerosis in Study of Women's Health Across the Nation Heart women." *Menopause* 18.4 (2011): 376-384.
381. Mirowsky, John, and Catherine E. Ross. "Education, learned effectiveness and health." *London Review of Education* (2005).
382. Shen, Feng, et al. "Impact of skin capsular distance on the performance of controlled attenuation parameter in patients with chronic liver disease." *Liver International* 35.11 (2015): 2392-2400.
383. Hegazy, Mona A., et al. "Abdominal subcutaneous fat thickness and homeostasis model assessment of insulin resistance as simple predictors of nonalcoholic steatohepatitis." *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy* 12 (2019): 1105.
384. Tordjman, Joan, et al. "Structural and inflammatory heterogeneity in subcutaneous adipose tissue: relation with liver histopathology in morbid obesity." *Journal of hepatology* 56.5 (2012): 1152-1158.
385. DeBoer, Mark D., and Matthew J. Gurka. "Clinical utility of metabolic syndrome severity scores: considerations for practitioners." *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy* 10 (2017): 65.

386. Angulo, Paul, et al. "The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD." *Hepatology* 45.4 (2007): 846-854.
387. Targher, Giovanni, et al. "Non-alcoholic fatty liver disease and risk of incident cardiovascular disease: a meta-analysis." *Journal of hepatology* 65.3 (2016): 589-600.
388. Kim, Hyeon Chang, et al. "Severity of ultrasonographic liver steatosis and metabolic syndrome in Korean men and women." *World Journal of Gastroenterology* 11.34 (2005): 5314.
389. DeBoer, Mark D., et al. "Severity of metabolic syndrome as a predictor of cardiovascular disease between childhood and adulthood: the Princeton Lipid Research Cohort Study." *Journal of the American College of Cardiology* 66.6 (2015): 755-757.
390. Song, Kyungchul, et al. "Comparison of the Modified TyG Indices and Other Parameters to Predict Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Youth." *Biology* 11.5 (2022): 685.
391. Angulo, Paul, et al. "The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD." *Hepatology* 45.4 (2007): 846-854