

POINT OF VIEW

Non-alcoholic steatohepatitis: physiopathological, clinical and therapeutic implications

F. Pérez-Aguilar, S. Benlloch, M. Berenguer, B. Beltrán and J. Berenguer

Service of Digestive Medicine. Hospital Universitario La Fe. Valencia. Spain

Pérez-Aguilar F, Benlloch S, Berenguer M, Beltrán B, Berenguer J. Non-alcoholic steatohepatitis: physiopathological, clinical and therapeutic implications. *Rev Esp Enferm Dig* 2003; 96: 628-648.

DEFINITION AND PREVALENCE

Non-alcoholic steatohepatitis (NASH) must be considered as a part of a broader-spectrum condition –non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)– that ranges from hepatic steatosis, as its initial form, to NASH, which can progress to liver cirrhosis at the other end of the spectrum. It is usually classified as cryptogenic because of loss of specific characteristics. Histologically, NASH is similar to alcoholic hepatitis and is characterized by macrovesicular steatosis, necroinflammation, hepatocyte ballooning degeneration, and fibrosis. NASH is a chronic disease that is very frequently detected in patients with impaired liver function. Most patients are female, obese with type-2 diabetes mellitus and/or hyperlipidemia with insulin resistance. However, it may also appear in lean males and females with no associated pathology, and in relation to a variety of situations such as diversion surgery, medication, etc. Powell et al. (1) defined NASH as the presence of characteristic histological findings with persistently elevated transaminase levels, no previous history of significant alcohol intake (< 30 g a week corroborated by family) and no other type of hepatic disease.

Since it was first described by Ludwig in 1980 (2), the epidemiological impact and the number of recent publications on this condition have increased. The prevalence

of NAFLD in the general population is estimated to be 20%, and 2-3% for NASH, which makes NASH the potentially most common hepatic disease in the United States (3-5). NAFLD has a higher prevalence in patients with persistently elevated transaminase levels, and is estimated to range from 21 to 63% (6). In morbidly obese patients requiring gastric diversion surgery, NAFLD has a prevalence of 95 *versus* 25% for NASH (7). NAFLD occurs in 63% of patients with type-2 diabetes mellitus (8). It must be emphasized that obesity is increasing in the American population, and may become as high as 40% by 2025 (9). Consequently, the prevalence of NAFLD, including NASH, will notably increase.

NATURAL HISTORY

Information is scarce on the natural history of this disease, which can progress to the following consecutive stages in some patients: fatty liver, steatohepatitis, steatohepatitis with fibrosis, and cirrhosis.

Matteoni et al. (10) reported that of 132 patients with NAFLD, 25% had already developed NASH in progression to cirrhosis at 10 years' follow-up, with 12% dying due to liver disease. Other studies (4,11-13) have corroborated the possible progression of this condition in a significant percentage of patients (Fig. 1). Similarly, many patients with cryptogenic cirrhosis may develop NASH with a loss of the peculiar histological characteristics of this condition (14,15). These cryptogenic cirrhosis may even recur in the form of NASH following transplantation (16).

Factors that may imply a higher risk of steatosis developing to NASH include: age over 40 years, body mass index > 40 kg/m², AST/ALT ratio > 1, and the presence of at least two causes of NASH, such as diabetes and hyperlipemia (17,18).

Many factors can contribute to NASH-related mortality, including the complications of obesity and diabetes.

Recibido: 19-02-04.
Aceptado: 18-05-04.

Correspondencia: F. Pérez-Aguilar. Servicio de Medicina Digestiva. Hospital Universitario La Fe. Avda. Campanar, 21. 46009 Valencia. e-mail: fperezaguilar@terra.es.

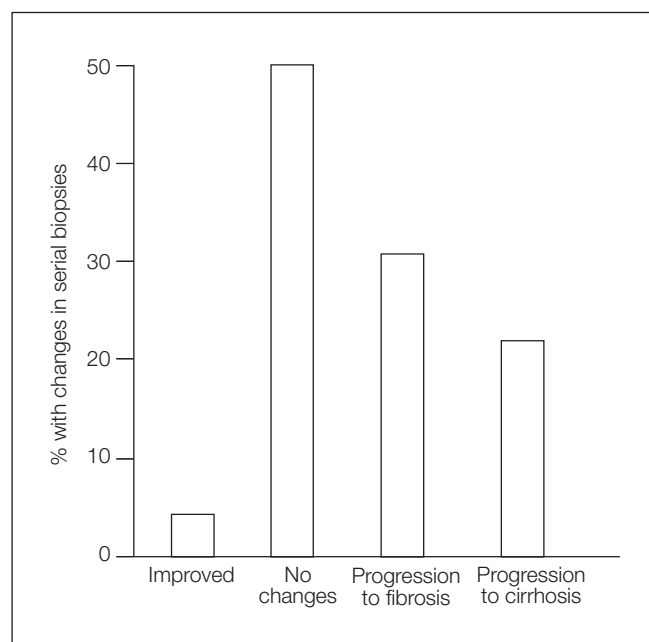


Fig. 1.- Histologic changes in serial biopsies over 10 years in 26 patients with NASH. Data from 3 studies (refs. 1,11,12).

Cambios histológicos en biopsias secuenciales en 26 pacientes con EHNA a lo largo de 10 años. Datos tomados de 3 estudios (citas 1, 11, 12).

Causes of liver disease-related mortality include liver failure, cirrhosis complications (hemorrhage due to varices or ascites), and hepatocarcinoma, although the precise incidence of each of these complications is unknown (19).

Histological improvement can also occur, especially in those with minimal fibrosis. Following weight loss, a drop in inflammation and Mallory bodies may be detected—including perisinusoidal fibrosis—particularly if weight is gradually lost and diet is associated with physical exercise (20,21). In many cases liver failure manifests during rapid weight loss, regardless of the method used, especially in patients with morbid obesity undergoing weight-loss surgery (22,23).

MAJOR CONDITIONS ASSOCIATED WITH NASH

Insulin resistance plays a fundamental role in type-2 diabetes mellitus, as well as in obesity, and is the most predisposing and reproducible factor in NASH (24) (Table I).

Diabetes mellitus

Up to one third of patients have diabetes or fasting hyperglycemia at the time of diagnosis with NASH (12,25). The most frequent association is type-2 diabetes, although difficult-to-control insulin-dependent diabetes may also be present (26). Diabetes is an important inde-

Table I. Conditions associated with NASH

Major associated factors

Obesity
Diabetes mellitus
Hyperlipidemia
Female sex, advanced age
Rapid weight loss
Insulin resistance
Changes in iron stores

Conditions etiologically associated with NASH

Surgical techniques for obesity: ingele

Jejunioileal bypass, jejunocolic bypass,
gastroplasty, biliopancreatic diversion

Other surgical techniques for rapid weight loss such as massive intestinal resection

Feeding and nutritional disorders:

Anorexia, fasting, bulimia
Total parenteral nutrition
Celiac disease
Jejunal diverticulosis and other bacterial overgrowths

Drug-induced liver diseases:

Amiodarone
Perhexiline maleate
Calcium channel blockers
High-dose glucocorticoids
Synthetic estrogens, tamoxifen
Chloroquine
Toxic oil syndrome
Dimethylformamide toxicity

Metabolic diseases:

Wilson's disease, iron-related childhood liver diseases
Glycogenosis, type 1
Abetalipoproteinemia

Severe insulin resistance syndromes:

Lipodystrophy (general, partial)
Mutations of insulin receptors

pendent predictor of severe hepatic fibrosis in NASH (17). Furthermore, glucose intolerance occurs secondarily to cirrhosis in 60-80% of these patients, 10-30% of whom eventually develop diabetes (27). Autopsy studies have revealed that type-2 diabetes is associated with NASH, with a 2.6-fold increased risk (28).

Obesity

Between 39 and 100% of patients with NASH are overweight (BMI > 25 kg/m²) or obese (> 30 in Caucasians and > 27 in Asians) (25, 29-31). An autopsy study found the prevalence of NASH to be 6-fold greater among obese *versus* lean individuals (28). Liver biopsy demonstrates steatosis in more than 75% of the morbidly obese; NASH is identified in a quarter of these patients, and cirrhosis in 3-11% (32). Obesity also correlates with the severity of fibrosis in NASH, regardless of the dia-

betes status or age (18). García-Monzón et al. (33) found that the older the age and the higher the grade of steatosis, particularly if intrahepatic inflammation is also present, the higher the risk of fibrosis.

Distribution of body fat may be important; a significant correlation has been found between grade of steatosis and waist-to-hip ratio (33), indicating the importance of visceral fat as a predictor of steatosis (34). Lean males rarely present with significant hepatic fibrosis; Ratzu et al. (18) did not find fibrosis or cirrhosis in patients younger than 50 years with a BMI < 28 kg/m² and normal triglyceride values.

Hyperlipemia

Between 20 and 80% of patients with NASH have hyperlipemia (25). Although triglyceride and/or total serum cholesterol levels are increased, there is a greater association with triglyceride values, especially for hyperlipemias 2b and 4, *versus* 2a (35). A relevant role has been ascribed to hypertriglyceridemia in the pathogenesis of NASH, since a correction of this lipid anomaly has been associated with improved liver function tests (36).

Rapid weight loss

NASH has been associated with rapid weight loss following surgery for obesity, extensive intestinal resection, and severe fasting (37).

Age and sex

Older age and female sex are considered independent factors associated with liver fibrosis in NASH (17,37).

OTHER CONDITIONS ASSOCIATED WITH NASH

Jejunioileal bypass, gastroplasty, gastric bypass and other surgical techniques leading to rapid weight loss, as well as feeding disorders such as anorexia or bulimia, celiac disease, jejunal diverticulosis, other causes of bacterial overgrowth, total parenteral nutrition, abetalipoproteinemia, partial lipodystrophy, Weber-Christian disease, toxic oil syndrome, etc., are related to NASH development (37).

Drug-induced NASH

Cardiovascular drugs such as amiodarone, perhexiline maleate, and more rarely calcium channel blockers such as nifedipine and diltiazem, high-dose glucocorticoids, synthetic estrogens, tamoxifen, chloroquine, etc., may also be associated with NASH (37).

Amiodarone, perhexiline maleate, diethylaminoethoxyhexestrol and tamoxifen cross the mitochondrial external membrane without difficulty because of their lipophilic properties, and are "pushed" into the mitochondria from the intermembranous space by the high electrochemical potential at the internal membrane, thus reaching high intramitochondrial levels. Beta-oxidation (causing steatosis) is thus inhibited, and electron transfer throughout the respiratory chain is blocked, which leads to a transfer of electrons to oxygen, thereby forming superoxide radical anions and generating oxygen free radicals.

ETIOPATHOGENESIS OF NASH

Insulin resistance appears to be a key pathogenic and reproducible factor in NASH (30,39,40). It is defined as a reduced capacity of insulin to perform its biological functions in typical target tissues such as musculoskeletal, liver or fat tissues. This concept falls within the so-called metabolic syndrome or syndrome X in which several clinical diseases are associated, including obesity, hyperlipemia, arterial hypertension, and diabetes mellitus, and which carries a higher risk for cardiovascular disease. Hyperinsulinemia basically results from compensatory hypersecretion by beta-cells and not, as previously believed, from reduced insulin breakdown as a result of liver disease, although this mechanism may also have an influence in cirrhotics.

Insulin-stimulated intracellular glucose transport is preferably controlled by a translocation of the GLUT4 carrier from an intracellular vesicular membrane to the plasma membrane, which occurs after the binding of insulin to its cell receptor. GLUT4 expression is altered in different forms of insulin resistance; e. g., a reduced expression of the gene GLUT4 has been found in fat cells of obese individuals, diabetics, or those with glucose intolerance, without altering the degree of expression in other cells such as musculoskeletal cells (41).

A hypothesis has recently been put forward that fat cells may play a central role in the development of insulin resistance, as well as of NASH. Fat cells appear to be an important endocrine organ that may trigger an inflammatory process in relation to NASH development. It can secrete potentially toxic substances such as tumor necrosis factor (TNF), leptin, resistin, and fatty acids whose concentration levels correlate with insulin resistance, and therefore they should be relevant in the development of type-2 diabetes. Furthermore, it has been observed that visceral fat (and not total body fat) is a predictive factor of liver steatosis, hyperinsulinemia, reduced hepatic extraction of glucose, and insulin resistance.

For a better understanding of the emerging hypotheses on NASH, it may be appropriate to review the normal metabolism of fatty acids. During digestion, dietary triglycerides are converted by enterocytes into chylomicrons,

which then migrate via the lymphatics and are subsequently hydrolyzed into fatty acids by lipoprotein lipase at the capillary endothelium of adipose and liver tissues. Free fatty acids thus produced are highly miscible with cell membranes, so that they immediately go to fat cells where they are converted into reesterified triglycerides, or to the muscle as energy supply, or enter the liver. During fasting, fatty acids supplied to the liver result from a hydrolysis of triglycerides stored within the adipose tissue. Thus, under normal conditions hydrolysis is stimulated by catecholamines, glucagon, and growth hormone, and is inhibited by insulin. In the liver, fatty acids undergo mitochondrial beta-oxidation, a step of triglyceride synthesis or phospholipid and cholesterol ester formation.

However, in situations of insulin resistance, as is the case with most patients with NASH, increased blood levels affect the adipocyte and liver cells in a different way. In the adipocyte it favors lipolysis with the consequent release of more fatty acids to the liver; in the hepatocyte it stimulates fatty acid synthesis and inhibits mitochondrial beta-oxidation of fatty acids (42). Furthermore, high levels of insulin can inhibit apolipoprotein B100, a component of VLDL, synthesis, which makes it difficult for triglycerides to be transported out of the liver.

The greater afflux of fatty acids to the liver, together with the potential alterations of its metabolism within the liver (including greater triglyceride synthesis, reduced triglyceride elimination, and reduced beta-oxidation of fatty acids), results in hepatic steatosis; these mechanisms are considered a "first impact" in the development of NASH. However, steatosis is not always quiescent, since high intrahepatic concentrations of free fatty acids and their saturation of mitochondrial beta-oxidation make them susceptible to a "second impact", where additional factors influencing oxidative stress and lipid peroxidation are involved; this leads to a high afflux of electrons to the mitochondrial respiratory chain, and an increased production of oxygen free radicals (OFR), which are responsible for the hepatic lesions of NASH (Fig. 2).

Furthermore, under conditions of high fatty acid metabolism, OFR can also result from peroxisomal beta-oxidation and microsomal omega-oxidation by cytochrome P450 (CYP2E1, CYP4A) of fatty acids (43,44). Patients with NASH have been shown to present ultrastructural mitochondrial lesions (40,45), reduced activity of mitochondrial complexes (46), and deficient mitochondrial ATP formation (47), which are also involved in OFR formation.

OFR determine the production of various cytokines in different types of cells (hepatocytes, adipocytes, and Kupffer cells). The foregoing depends on the activation capacity of OFR on transcription factors, basically the nuclear factor κ B (NF- κ B). This factor is normally found synthesized and maintained in an inactive form within the cell cytoplasm, bound to the IKK protein. OFR also have the capacity, at appropriate concentration levels, to activate the IKK- β enzyme, which unbinds NF- κ B from IKK, rendering the factor free to migrate to the nucleus

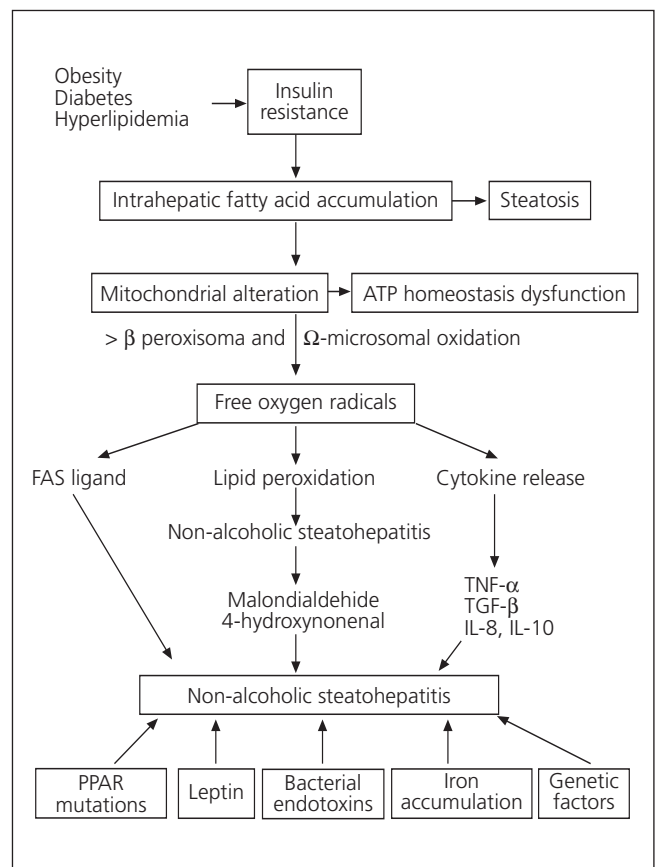


Fig. 2.- Pathogenesis of NASH (Abbreviations: see text).
Patogenia de la EHNA (Abreviaturas: ver texto).

and to start transcription processes. These processes determine the formation of cytokines such as tumor necrosis factor- α (TNF- α), tumor growth factor-beta 1 (TGF- β 1), Fas ligands, and interleukin-8, among others. In turn, each one of these cytokines may be involved in the pathogenesis of hepatic lesions. TNF- α and TGF- β 1 can activate programmed cell death or apoptosis when caspases –the enzymes responsible for the foregoing– are activated. TGF- β 1 can intervene in the formation of Mallory bodies and activate collagen synthesis by stellate cells, and IL-8 is a potent neutrophil activator (44,47) (Fig. 3).

It should be pointed out that the products derived from lipid peroxidation, malondialdehyde (MDA) and 4-hydroxynonenal (HNE) (48), appear to be involved in the pathogenesis of NASH-related hepatic lesions. Both cause direct toxicity and can trigger immune reactions when they covalently bind to proteins (Fig. 3); they may induce the formation of Mallory bodies by promoting a clustering of cytokeratins, and can also increase collagen synthesis by activating hepatic stellate cells. HNE also has a chemotactic activity on neutrophils (Fig. 3)

Once NF- κ B is activated, hepatocytes can synthesize Fas ligand, and then secrete it; this in turn may act on the Fas receptors of adjacent hepatocytes, thereby producing fratricidal killing among these (49,50).

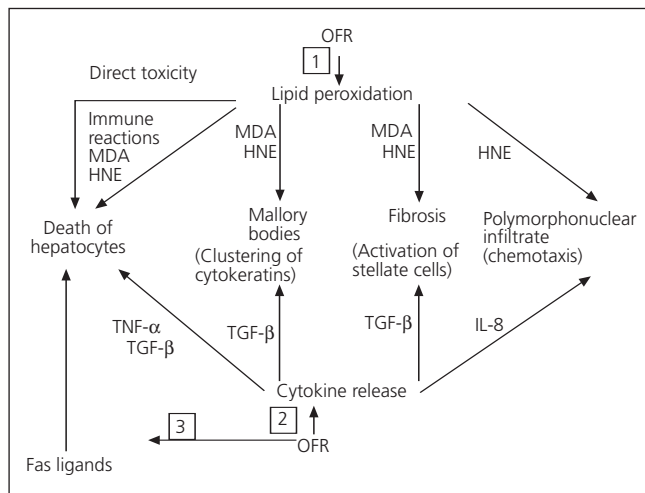


Fig. 3.- 1) Role of oxygen free radicals (OFR) in NASH. When OFR triggers lipid peroxidation, the release of malondialdehyde (MDA) and 4-hydroxynonenal (HNE) cause direct toxicity as they bind covalently to proteins, causing immune reactions. MDA and HNE can play a role in the formation of Mallory bodies, made up with cytokeratin monomer aggregation. MDA and HNE also increase Ito cells collagen synthesis, whereas HNE has a chemotactic activity due to neutrophils. 2) OFR induce Kupffer cells and hepatocyte cytokine formation. TNF- α and TGF- β activate caspases and the death of hepatocytes. TGF- β also activates stellate cell collagen synthesis, whereas interleukin-8 (IL-8) is a potent neutrophil chemotactic element. 3) OFR induce Fas ligand expression in hepatocytes; hepatocytic Fas interacts with Fas in other hepatocytes and causes "fratricidal killing" (See ref. 44).

1) Papel de los radicales libres de oxígeno (RLO) en la EHNA. Al desencadenar los RLO la peroxidación lipídica, la liberación de malondialdehído (MDA) y de 4-hidroxinonenal (HNE) causan toxicidad directa y se acoplan covalentemente a proteínas, ocasionando reacciones inmunes. MDA y HNE pueden intervenir en la formación de los cuerpos de Mallory constituidos por la agregación de monómeros de citoqueratina. MDA y HNE también incrementan la síntesis de colágeno por las células de Ito, mientras que el HNE tiene actividad quimiotáctica por los neutrófilos. 2) Los RLO inducen la formación de citoquinas por las células de Kupffer y por los hepatocitos. El TNF- α y el TGF- β activan las caspasas y la muerte de los hepatocitos. El TGF- β también activa la síntesis de colágeno por las células estrelladas, mientras que la interleucina 8 (IL-8) es un potente quimiotáctico sobre los neutrófilos. 3) Los RLO causan la expresión de ligandos Fas en los hepatocitos; los ligandos Fas de un hepatocito pueden interactuar con los Fas de otros hepatocitos causando un "asesinato fratricida" (ver cita 44).

Other factors involved in the pathogenesis of NASH

Most patients with primary iron overload unrelated to hemochromatosis have insulin resistance (51-54), which may improve with phlebotomy (55,56). Insulin resistance causes a greater expression of transferrin receptors on the cell surface, and increases the exocytosis of pre-existing intracellular receptors in association with high concentrations of serum ferritin (12,51,53) and increased liver iron in some patients (57). Elevated ferritin does not necessarily mean increased liver iron, but is due to NASH as an acute phase reactant. Ferrous iron is a potent generator of hydroxyl radicals and can contribute to OFR accumulation, cell injury,

and cell death; when stellate cells are activated, it can stimulate fibrogenesis. It has yet to be determined whether moderate iron overload in NASH participates in the pathogenesis of this disease, or is related to associated metabolic anomalies, or is due to unidentified environmental or genetic factors. For example, heterozygous mutation of the HFE gene, frequently detected in these patients, might increase iron deposition in the liver (58).

It has been suggested that leptin may be classified as a cytokine as it does not only regulate food intake and energy consumption, but also modulates immune and inflammatory responses (59). High serum levels of leptin appear to correlate with the severity of hepatic steatosis, which suggests a pathogenic role of leptin in hepatic insulin resistance and/or a failure of its anti-steatotic activity. Furthermore, its production by stellate cells may play an important role in hepatic fibrosis (60-62). It can contribute to the progression of steatosis to NASH and finally to cirrhosis, given its profibrogenic and modulating activity on the hepatic inflammatory response (63). On the other hand, it has been observed that the administration of leptin to congenitally leptin-deficient mice with generalized lipodystrophy induces a reduction in body fat and a marked reduction of insulin resistance (64).

Endotoxin and endotoxin-mediated cytokine release plays an important role in the pathogenesis of alcoholic hepatitis. In the foregoing situation, there is an increased production of TNF- α , IL-6, and IL-8 that favors necrosis and the inflammatory response. Endotoxin can also contribute to the development of NASH in some cases, as in those arising from intestinal diversion surgery. Experimentally, in genetically obese rats there is a significantly increased production of endogenous ethanol, an enhanced sensitivity to endotoxin, and an alteration of Kupffer cells, all of which favor the development of NASH. Furthermore, it has been observed that the production of endogenous ethanol decreases after treatment with oral neomycin; therefore one could hypothesize on whether the small amount of ethanol detected in some patients as produced by the intestinal flora could be involved in the pathogenesis of this disease (65).

Proliferating peroxisome activated receptors (PPAR) are expressed in tissues with important oxidative phosphorylation, and regulate lipids through the peroxisomal, microsomal, and mitochondrial pathways. Some mutations of the encoding gene for these nuclear receptors have been identified in patients with NASH, and might be involved in its pathogenesis (66).

The possible role of different drugs in the pathogenesis of this disease is discussed in a previous section.

DIAGNOSIS

Although most cases of NASH are detected in the fifth and sixth decades of life, it should be emphasized that the

prevalence of this disease is increasing in children (67,68); it can therefore present at any age.

Clinical manifestations and laboratory anomalies

Most patients (45-50%) are asymptomatic, but a small percentage (10), especially children (67,68), may present symptoms such as pain in the right hypochondrium, abdominal discomfort, asthenia, and malaise (69). They typically suffer from other diseases, and anomalies of liver function or hepatomegaly are incidentally discovered (10); the latter condition has been detected in 12-75% of cases (10,17,70-72). It is interesting to remember that many cases of cryptogenic cirrhosis could be the end stage of NASH and present with the multiple complications of advanced cirrhosis.

Several studies (73,74) suggest that hepatocarcinoma could be a complication of this disease. In genetically obese ob/ob leptin-deficient mice, that rarely develop cirrhosis, an increased incidence of hepatocarcinoma has been observed, an incidence similar to that found in obese and diabetics subjects. According to this study, metabolic anomalies might facilitate the progression of NASH to hepatocarcinoma (75). In patients with cryptogenic cirrhosis, the incidence of hepatocarcinoma was found to be higher than in cirrhotic patients with a well-defined viral or alcoholic etiology (76), and therefore hepatocarcinoma could be a late complication of NASH. However, more recent studies have shown an association of diabetes with hepatocarcinoma only in the presence of hepatitis C virus, hepatitis B virus, or alcoholic cirrhosis (77), which suggests that diabetes may only be a marker of advanced liver disease with a greater likelihood of progression to hepatocarcinoma.

The most frequent anomaly in liver function tests in this disease is a 2-5-fold increase in transaminases (10, 17,71), occasionally a 10-15-fold increase (17), although they normally remain within normal values. A differential feature *versus* alcoholic liver disease is that the AST/ALT ratio is usually below 1 in 65-90% of patients with NASH (10,20,64,67). An AST/ALT ratio greater than 1 suggests an advanced form of NASH (10,20). Alkaline phosphatase and gamma-glutamyltranspeptidase may be 2 or 3-fold higher in more than 50% of patients (10, 69,70,72). Bilirubin and albumin usually remain within their normal ranges (7,69,70,72).

George et al. (78) and Bonkovsky et al. (58) reported that patients with NASH and iron overload had a greater hepatic compromise and more acute fibrosis, which they ascribed to a greater prevalence of the C2/Y mutation. Moirand et al. (79) described a new syndrome of iron overload in relation to metabolic disorders and insulin resistance. Younossi et al. (80) and Angulo et al. (17) did not find any relationship between iron and clinical or histological manifestations in patients with NASH. Fargion et al. (81) observed that patients with hepatic steatosis

often presented with elevated ferritin levels and normal transferrin saturation, with iron overload in those in which it persists despite an appropriate diet; the simultaneous disorder of iron, glucose and/or lipid metabolism associated with insulin resistance in most cases is responsible for persistent hyperferritinemia, and may help identify those patients at risk for NASH. Mendler et al. (57) did not detect a greater iron overload in patients with NASH *versus* those with hepatic steatosis, and the HFE gene did not influence hepatic injury, although an unexplained hepatic iron overload almost consistently appears in association with the insulin resistance syndrome. Chitturi et al. (82) found that patients with NASH often had hyperferritinemia but with normal transferrin saturation, and HFE mutations do not confer a greater risk of fibrosis.

Hepatic steatosis can cause primary graft dysfunction following liver transplantation; therefore livers with severe steatosis (more than 60% of hepatocytes with fatty vacuoles) should be completely discarded for transplantation, and it should be taken into account that grafts with moderate steatosis (30-60% of hepatocytes with fatty vacuoles) carry a risk.

Exclusion of other diseases

Other diseases of the liver can be associated with NAFLD, and the latter can influence the prognosis of conditions such as hepatitis C virus-related cirrhosis or HFE-hemochromatosis; therefore, tests positive for the C virus or hemochromatosis do not exclude the diagnosis of NAFLD. Steatosis can also occur in Wilson's disease, autoimmune liver disease, galactosemia, and alcoholic liver disease. Thus, pertinent studies should be performed to rule out other chronic hepatic diseases such as hepatic disease caused by the B or C virus, primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis, hemochromatosis, porphyria, and those of toxic origin.

Liver biopsy

There is a poor correlation between clinical, laboratory, and pathological findings in NAFLD; therefore, it is impossible to stage patients with NAFLD without a histological study. Biopsy also permits a determination of liver iron concentration, which some authors have observed to be increased in relation to the C282Y mutation, and which increases the risk of fibrosis in a group of patients with NASH. Because of all the foregoing reasons, many hepatologists advocate that a liver biopsy be performed in all patients with a presumptive diagnosis of NAFLD (in spite of the risk of this procedure and the limited treatment options currently available). Furthermore, it can provide more insight into the natural history of the disease and evaluate the influence of different

treatments. On the other hand, although hepatic steatosis generally carries a benign prognosis and can be diagnosed by clinical, laboratory, and ultrasound evaluation, it can progress to NASH and cirrhosis; therefore, patients whose data are suggestive of disease progression should be selected and entered into treatment protocols. Although histological assessment is the golden rule for identifying NASH, there is no widespread agreement in regard to its evaluation, although Brunt modified semi-quantitative staging (83), which classifies inflammatory activity into grades 0 to 3 and fibrosis into stages 0 to 4, is the most widely used system (Table II). Lesions are similar, but not identical, to those of alcoholic steatohepatitis, including generally macrovesicular steatosis, ballooning degeneration of hepatocytes, mixed acute and chronic, mild, diffuse, lobular inflammation (neutrophils and T lymphocytes), and perivenular and perisinusoidal collagen deposits; these lesions can be more marked in Rappaport zone III; Mallory hyaline, vacuolated periportal hepatocyte nuclei, lobular lipogranuloma, and PAS-diastase-resistant Kupffer cells are common findings. Portal inflammation can be more evident in children than in adults. The progression of fibrosis can result in bridging septae formation and cirrhosis. NASH can occur concurrently with other hepatic diseases. Lesions necessary for the diagnosis of NASH, as well as other less frequent and even unlikely lesions, are listed in table III.

Table II. Grading and staging of NASH histologic lesions

Grade 1, mild

Predominantly macrovesicular steatosis involving 33-66% of lobules
Occasional ballooning in zone 3
Lobular inflammation: patchy and mild acute inflammation (neutrophils), occasionally chronic (mononuclears)
Portal inflammation, none or mild

Grade 2, moderate

Steatosis of any grade, generally mixed macro and microvesicular
Obvious zone 3 ballooning
Lobular inflammation: neutrophils may be associated with ballooned hepatocytes and pericellular fibrosis; mild chronic inflammation may be present
Portal inflammation, mild to moderate

Grade 3, severe

Steatosis typically panacinar (greater than 66%), generally of mixed type (macro and microvesicular)
Marked ballooning, predominantly in zone 3
Lobular inflammation: patchy acute and chronic inflammation; neutrophils may concentrate in zone 3 areas of ballooning, and in perisinusoidal fibrosis
Portal inflammation, mild to moderate

Staging NASH fibrosis

Stage 1: Zone III perivenular, perisinusoidal/pericellular fibrosis; focally or extensively present
Stage 2: As above, with focal or extensive periportal fibrosis
Stage 3: Focal or extensive bridging fibrosis
Stage 4: Cirrhosis

Modified from reference 58

Ultrasound and computed tomography

Ultrasonounds have a sensitivity of 89% and a specificity of 93% for the detection of steatosis (84), but they cannot distinguish between the various precirrhotic states of fibrosis, and its maximum value is in the diagnosis of hepatic cirrhosis, for which it has a sensitivity of 45-80% and a specificity of 63-91%; computed tomography has a higher specificity, but is more expensive.

Insulin resistance

It can be studied by:

1. the HOMA method (homeostasis model assessment), applying the formula of Matthews where insulin resistance = fasting serum insulin ($\mu\text{U/ml}$) $\times$ glucose (mmol/L)/22.5, considering insulin resistance as HOMA values > 3.8 (3.9 in females and 3.5 in males) (52,60,85,86).

2. Serial determinations of glucose, insulin and C peptide levels, during frequent performance of intravenous glucose tolerance tests; the latter method allows measurement of insulin secretion and an estimation of hepatic insulin extraction by C peptide determination (60,87,88).

TREATMENT

The fact that there is no universal effective treatment for NASH leads some to avoid invasive diagnostic tests such as liver biopsy. Further insight into the natural history of the disease and prospective therapeutic trials for correct decision-making are warranted (89). Future therapeutic trials for NASH should be randomized, placebo-controlled, double-blind studies including a greater number of patients for longer periods, and they should also assess histological lesion grade both before and after treatment. Combination therapies (to improve the response to insulin and reduce oxidative stress) must be compared with different monotherapy regimens.

Change in habits

Diet and physical exercise significantly reduce the risk of developing type-2 diabetes (90). Given the important relationship between insulin resistance and NAFLD, a change in habits is advisable. Reducing weight can improve hepatic enzyme alterations and histology in patients with NASH (91,92). Dietary restriction and physical exercise led to improved liver enzymes in obese patients who lost weight *versus* patients whose weight remained unchanged or increased, and serial biopsies also showed a significant improvement in hepatic steatosis (93).

Andersen et al. (23) conducted a study on 41 morbidly obese patients treated with a very low calorie diet

Table III. Necessary, common, occasional and uncommon histologic lesions of NASH (see ref. 64)

Necessary	Common, but not necessary	May be present, but not necessary	Uncommon: consider other causes of liver disease
Steatosis, macro-micro	Perisinusoidal fibrosis in Zone 3; sometimes a component of fibrosis in central-portal bridging	Mallory's hyaline in Zone 3; typically poorly constituted; may require antibodies with immunohistochemistry (cytokeratins 7,18,19).	Pure or predominantly microvesicular steatosis
Mixed lobular inflammation; scant polymorphs and mononuclears	Glycogenated nuclei in Zone 1	Iron detectable in scant amounts in Zone 1 hepatocytes using Prussian blue staining.	Sclerosing hyaline necrosis; veno-occlusive lesions; perivenular fibrosis; phlebosclerosis
Hepatocyte ballooning; close to steatotic hepatic cells in Zone 3	Lobular lipogranulomas; usually small	Megamitochondria in hepatocytes.	Portal inflammation greater than lobular inflammation
	Acidophilic bodies or Kupffer cells, occasionally d-PAS+		Portal/periportal fibrosis with no or markedly greater than the perisinusoidal fibrosis in Zone 3; fibrosis in interportal bridging
	Fatty cysts		Lobular distortion with important inflammation. Endophlebitis. Confluent or bridging necrosis. Chronic cholestasis. Ductal lesions. More epithelioid granules. PAS+

(288 kcal/day) that achieved an average weight loss of 34 kg, and found an improvement in the laboratory parameters of most patients; serial biopsies also showed some improvement of steatosis. However, 20% of patients, especially those that had lost weight faster, showed increased portal inflammation and fibrosis, indicating that gradual weight loss is beneficial but rapid weight loss can be harmful. Some experts recommend a gradual weight loss of about 10% within 6 months.

Lipid-lowering drugs

A randomized trial on *gemfibrozil* (94) 600 mg daily for four weeks showed a significant improvement of transaminases, which did occur in the control group. The administration of *clofibrate* 2 mg daily for one year showed no changes in analytical findings, steatosis, inflammation, or fibrosis (95). In two patients with breast cancer who received *bezafibrate* for tamoxifen-induced NASH, subsequent computer tomographic assessments could not detect hepatic steatosis (96). By acting as a ligand of the proliferating-activated peroxysomal α receptor, this drug could compensate for the insufficient mitochondrial β oxidation in patients with NASH. Treatment with *probucol*, a lipid-lowering drug with potent antioxidant properties, at a dose of 500 mg/day for 6 months, achieved a significant reduction in transaminase levels in 27 patients with NASH (97). The preliminary results of treatment with *atorvastatin* are promising and indicate

that 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors may be useful in the treatment of NASH (98).

Drugs that improve insulin sensitivity

In insulin resistance and fatty liver models in mice, treatment with thiazolidinedione (which acts as a ligand with a strong affinity for activated proliferating peroxysome α receptors) or metformin improved both conditions (99,100). The administration of *troglistazone* significantly improved impaired liver function and also caused a certain degree of histological improvement in patients with NAFLD (101). This drug has been withdrawn from the market as a first line therapy for diabetes due to some cases of potentially lethal liver toxicity. A second generation of thiazolidinediones, such as *darglitazone*, *rosiglitazone*, or *pioglitazone*, with a smaller potential for liver toxicity, may be useful in the treatment of NAFLD. Newschwander-Tetri (102) administered rosiglitazone 4 mg/12 h for 48 weeks to 30 patients with NASH. All patients were overweight and half of them had hydrocarbon intolerance or diabetes. Treatment achieved an improvement of the necrotic inflammatory process as seen in liver biopsy in 45%, and transaminase levels returned to almost normal levels at the end of treatment, but later increased to almost pretreatment levels. Treatment with pioglitazone 45 mg daily for 6 weeks (103) in 11 patients with type-2 diabetes increased plasma adiponectin, reduced liver fat, and improved peripheral and hepatic sen-

sitivity to insulin; therefore, it may have an important role in mobilizing hepatic fat for type-2 diabetic patients.

Metformin, a biguanide that reduces hyperinsulinemia and improves hepatic insuline resistance, is used as an oral antidiabetic. In a small group of patients with NAFLD (39), liver enzymes and steatosis also significantly improved, perhaps due to a reduced hepatic expression of TNF- α , a cytokine that promotes insulin resistance and can incite the characteristic necroinflammatory lesions of NASH. There is sufficient evidence that this drug can be used relatively safely in patients with NASH, insulin resistance, and prediabetes (104). It is contraindicated for patients with potential lactic acidosis, renal failure, or congestive heart failure. In a study on the prevention of diabetes, *fenformin* was well tolerated in a wide group of insulin-resistant obese patients, and significantly reduced the incidence of established diabetes (90).

Leptin is considered to contribute to the appearance of steatosis and NASH by promoting insulin resistance, altering hepatocyte insulin signaling, promoting fatty acid synthesis, and increasing proinflammatory responses; however, it could be beneficial in lipodystrophic patients with NAFLD, since the administration of leptin to lipodystrophic mice that had developed secondary leptin deficiency, associated with insulin resistance and steatosis, led to their healing (64).

Ursodeoxycolic acid

In three pilot studies (95,105,106) this hydrophilic bile acid with membrane-stabilizing, cytoprotective, and immunomodulating properties was found to improve or normalize liver function. However, in another randomized study that included 166 patients with histologically demonstrated NASH under treatment with 13-15 mg/kg/day of ursodeoxycolic acid or placebo for two years no significant changes were found in the degree of steatosis, necroinflammation or fibrosis between both groups at the end of the study (107). Further controlled and randomized trials in larger numbers of patients are warranted, perhaps using higher doses (15-20 mg/kg/day) and for longer periods.

Antioxidants

Oral *vitamin E* 400-1200 IU daily improves hepatic enzymes in patients with, and also in certain animal models of, NAFLD (108,109). It might improve NASH by modulating cytokines (110), and inhibiting the expression of intrahepatic TGF- β 1, which is involved in fibrogenesis. Because it is well tolerated and low-cost, its use in the treatment of this condition is appealing. *Betaine* is a choline metabolite that increases S-adenosylmethionine levels, protects the liver from triglyceride deposits and oxidative stress in mice fed with alcohol, and may therefore have some efficacy as an antioxidant in NAFLD

(111). In a pilot study carried out in 10 patients with NASH (112), betaine reduced hypertransaminasemia and achieved histological improvement of steatosis and necroinflammation.

Silimarine is derived from herbs commonly used in the treatment of hepatic diseases, and also has antioxidant properties. It stimulates ribosomal polymerase RNA, is an iron chelator, and reduces tumor promotion activity. Velussi (113) evaluated the efficacy of silimarine in reducing lipid peroxidation and insulin resistance in diabetics with alcoholic cirrhosis. At 12 months, baseline glucose levels, insulin levels, and malondialdehyde levels decreased.

N-acetylcysteine increases hepatic glutathione levels and protects the liver from oxidative stress. Eleven patients with histologically demonstrated NASH who were treated with N-acetylcysteine 1000 mg/day for 3 months showed a significant decrease in transaminase and gamma-glutamyltranspeptidase levels; one patient was withdrawn from the study due to epigastralgia (114).

Antibiotics

In rats receiving total parenteral nutrition the administration of polymixin B and metronidazole reduced the degree of hepatic steatosis and TNF- α production, most of which comes from Kuppfer cells that might have been activated by endotoxins (115,116).

Nutritional supplementation

Carnitine and/or choline deficiency may contribute to the appearance of steatosis or NASH by reducing free fatty acid oxidation and VLDL secretion. In a group of patients receiving prolonged total parenteral nutrition, intravenous choline supplementation returned plasma choline levels to normal, and steatosis completely disappeared, which was confirmed by CT (117).

Therapeutic phlebotomies

They are another option that should be considered for patients with NASH and iron overload, as mentioned earlier (55,56). Iron depletion has been beneficial regarding coronary response, endothelial dysfunction, insulin secretion, insulin action, and metabolic control of type-2 diabetes (118). Guillygomarc'h et al. (119) pointed out that performing a phlebotomy in patients with hepatic iron overload associated with insulin resistance not only achieved a subjective improvement without adverse effects, but can also reduce the risk of hepatic fibrosis, cancer, and cardiovascular disease. Facchini et al. (120) observed that phlebotomy performed in carbohydrate-intolerant patients and NAFLD patients improved plasma insulin levels during fasting and after glucose stimulation, and transaminase re-

turned to nearly normal levels, which shows the insulin-saving effect of iron depletion and the important role of iron and hyperinsulinemia in the pathogenesis of NAFLD.

Liver transplantation

It may be indicated in patients with end-stage hepatic cirrhosis secondary to NASH. Although liver transplantation usually has a good outcome, NASH recurrence may occur after transplantation (121-124). The causes of recurrence are unknown and may probably be due to multiple factors, including hypertriglyceridemia, obesity, diabetes, and corticoid therapy. It must be underscored that severe—even moderate—hepatic steatosis may result in primary graft dysfunction; therefore, grafts with this condition are not acceptable for transplantation.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported in part by grant C03/02 of Red Nacional de Centros de Investigación, Instituto de Salud Carlos III.

REFERENCES

- Powell EE, Cooksley WGE, Hanson R, Searle J, Halliday JW, Powell LW. The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a follow-up study of forty-two patients for up to 21 years. *Hepatology* 1990; 11: 74-80.
- Ludwig J, Viggiano RT, McGill DB. Non-alcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980; 55: 342-8.
- El-Hassan AY, Ibrahim EM, Al-Mulhim FA, Nabhan AA, Chamas MY. Fatty infiltration of the liver: analysis of prevalence, radiological and clinical features and influence of patients management. *Br Radiology* 1992; 65: 774-8.
- 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.
- Jick SS, Stender M, Myers MW. Frequency of liver disease in type 2 diabetic patients treated with oral antidiabetic agents. *Diabetes Care* 1999; 2: 1067-71.
- Hulcrantz R, Glaumann H, Lindberg G, Nilsen HL. Liver investigation in 149 asymptomatic patients with moderately elevated activities of serum aminotransferases. *Scand J Gastroenterol* 1986; 21: 109-13.
- Dixon JB, Bhathal PS, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology* 2001; 121: 91-100.
- Kemmer NM, McKinney KH, Xiao SY, Singh H, Murray R, Abdo B, et al. High prevalence of NASH among Mexican American females with type II diabetes mellitus (Abstract). *Gastroenterology* 2001; 120: A117.
- Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature* 2000; 404: 635-43.
- 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.
- Lee RG. Non-alcoholic steatohepatitis: a study of 49 patients. *Hum Pathol* 1989; 20: 594-8.
- Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology* 1994; 107: 1103-9.
- Hilden M, Christoffersen P, Juhl E, Juhl E, Dalgaard JB. Liver histology in a "normal" population-examination of 503 consecutive fatal traffic casualties. *Scand J Gastroenterol* 1977; 12: 593-7.
- Caldwell S, Oelsner D, Iezzoni J, Hespenheide E, Battle E, Driscoll C. Cryptogenic cirrhosis. Clinical characterization and risk factors for underlying disease. *Hepatology* 1999; 29: 664-9.
- Poonawala A, Nair S, Thuluvath P. Prevalence of obesity and diabetes in patients with cryptogenic cirrhosis. *Hepatology* 2000; 32: 689-91.
- Ong J, Younossi ZM, Reddy V, Price LL, Gramlich T, Mayes J, et al. Cryptogenic cirrhosis and posttransplant nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Transpl* 2001; 7: 797-801.
- Angulo P, Keach JC, Batts KP, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999; 30: 1356-62.
- Ratzu V, Giral P, Charlotte F, Bruckert E, Thibault V, Theodoru I, et al. Liver fibrosis in overweight patients. *Gastroenterology* 2000; 118: 1117-23.
- Sanyal AJ. AGA technical review on nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; 123: 1705-25.
- Ueno T, Sugawara H, Sujaku K, Hashimoto O, Tsuji R, Tamaki S, et al. Therapeutic effects of restricted diet and exercise in obese patients with fatty liver. *J Hepatol* 1997; 27: 103-7.
- Vajro P, Fontanella A, Perna C, Orso G, Tedesco M, De Vincenzo A. Persistent hyperaminotransferasemia resolving after weight reduction in obese children. *J Pediatr* 1994; 125: 239-41.
- Dean RH, Scott HW jr, Shull HJ, Gluck FW. Morbid obesity: problems associated with operative management. *Am J Nutr* 1977; 30: 90-7.
- Andersen T, Gluud C, Franzmann MB, Christoffersen P. Hepatic effects of dietary weight loss in morbidly obese subjects. *J Hepatol* 1991; 12: 224-9.
- Belfiore F, Iannello S. Insulin resistance in obesity: metabolic mechanisms and measurement methods. *Mol Genet Metab* 1998; 65: 121-8.
- James OFW, Day CP. Nonalcoholic steatohepatitis (NASH): a disease of emerging identity and importance. *J Hepatol* 1998; 29: 495-501.
- Lenaerts J, Verresen L, Van Steenberghe W, Fevery J. Fatty liver hepatitis and type 5 hyperlipoproteinemia in juvenile diabetes mellitus. Case report and review of the literature. *J Clin Gastroenterol* 1990; 12: 93-7.
- Petrides AS, Vogt C, Schulze-Berge D, Schulze-Berge D, Matthews D, Strohmeyer G. Pathogenesis of intolerance and diabetes mellitus in cirrhosis. *Hepatology* 1994; 19: 614-27.
- Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology* 1990; 12: 1106-10.
- Andersen T, Gluud C. Liver morphology in morbid obesity: a literature study. *Int J Obes* 1984; 8: 97-106.
- Marceau P, Biron S, Hould F-S, Hould FS, Marceau S, Simard S, et al. Liver pathology and the metabolic syndrome X in severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 1513-7.
- Naveau S, Giraud V, Borotto E, Aubert A, Capron F, Chaput JC. Excess weight risk factor for alcoholic liver disease. *Hepatology* 1997; 25: 108-11.
- Luyckx FH, Lefebvre PJ, Scheen AJ. Nonalcoholic steatohepatitis: association with obesity and insulin resistance, and influence weight loss. *Diabetes Metab* 2000; 26: 98-106.
- García-Monzón C, Martínez-Pérez E, Iacono OL, Fernández-Bermejo M, Majano PL, et al. Characterization of pathogenic and prognostic factors of nonalcoholic steatohepatitis associated with obesity. *J Hepatol* 2000; 33: 716-24.
- Matsuzawa Y, Shimomura I, Nakamura T, Keno Y, Kotani K, Tokunaga K. Pathophysiology and pathogenesis of visceral fat obesity. *Obes Res* 1995; 3 (Supl. 2): 187S-194S.
- Cortez-Pinto H, Camilo ME, Baptista A, De Oliveira AG, De Moura MC. Non-alcoholic fatty liver: another feature of the metabolic syndrome? *Clin Nutr* 1999; 18: 353-835.
- Fiatarone JR, Coverdale SA, Batey RG, Farrell GC. Non-alcoholic steatohepatitis impaired antipyrine metabolism and hypertriglyceridaemia may be clues to its pathogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 1991; 6: 585-90.

37. Reid AE. Nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2001; 121: 710-23.
38. Pessayre D, Mansouri A, Fromenty B. Non alcoholic steatohepatitis (NASH): potential cause and pathogenic mechanisms. In: *Hepatology 2000 (Falk Symposium N° 117)* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. p. 57-76.
39. Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomasselli S, Zoll M, Melchionda N. Metformin in non-alcoholic steatohepatitis. *Lancet* 2001; 358: 893-4.
40. 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.
41. Ducluzeau PH, Fletcher LM, Vidal H, La Ville M, Tavaré JM. Molecular mechanisms of insulin-stimulated glucose uptake in adipocytes. *Diabetes Metab* 2002; 28: 85-92.
42. Kaplan LM. Leptin, obesity, and liver disease. *Gastroenterology* 1998; 115: 997-1001.
43. Chen J, Schenker S, Frosto TA, Henderson GI. Inhibition of cytochrome c oxidase activity by 4-hydroxynonenal (HNE). Role of HNE adduct formation with the enzyme catalytic site. *Biochem Biophys Acta* 1998; 1380: 336-44.
44. Pessayre D, Berson A, Fromenty B, Mansouri A. Mitochondria in steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 57-68.
45. Caldwell SH, Swerdlow RH, Khan EM, Iezzoni JC, Hespenheide EE, Parks JK. Mitochondrial abnormalities in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 430-4.
46. Pérez-Carrera M, Del Hoyo P, Martín M, Rubio J, Martín A, Garfia C, et al. Activity of the mitochondrial respiratory chain enzymes is decreased in the liver of patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999; 30: 379A.
47. Cortez-Pinto H, Chatham J, Chaco VP, Arnold C, Rashid A, Diehl AM. Alterations in liver ATP homeostasis in human nonalcoholic steatohepatitis. A pilot study. *JAMA* 1999; 282: 1659-64.
48. Chitturi S, Farrell GC. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001; 21:27-41.
49. Pessayre C, Haouzi D, Fau D, Robin MA, Mansouri A, Berson A. Withdrawal of life support, altruistic suicide, fratricidal killing and euthanasia by lymphocytes: different forms of drug-induced hepatic apoptosis. *J Hepatol* 1999; 31: 760-70.
50. Takahashi T, Tanaka M, Inazawa J, Abe T, Suda T, Nagata S. Human Fas ligand: gene structure, chromosomal location and species specificity. *Int Immunol* 1994; 6: 1567-74.
51. Fernández-Real JM, Ricart Engel W, Arroyo E, Balanca R, Casamitjana R, Cabrero D, et al. Serum ferritin as a component of the insulin resistance syndrome. *Diabetes Care* 1998; 21: 62-8.
52. Cavallo Perin P, Pacini G, Cerutti F, Bessone A, Condo C, Sacchetti L, et al. Insulin resistance and hyperinsulinemia in homozygous beta-thalassemia. *Metabolism* 1955; 44: 281-6.
53. Tuominen TP, Nyyssonen K, Salonen R, Tervahauta A, Korpela H, Lakka T, et al. Body iron stores are associated with serum insulin and blood glucose concentrations. *Diabetes Care* 1997; 20: 426-8.
54. Merkel PA, Simonson DC, Amiel SA, Plewe G, Sherwin RS, Pearson HA, et al. Insulin resistance and hyperinsulinemia in patients with thalassemia maior treated by hypertransfusion. *N Engl J Med* 1988; 318: 809-14.
55. Desai TK. Phlebotomy reduces transaminase levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis (Abstract). *Gastroenterology* 2000; 118: A975.
56. Nitecki J, Jackson FW, Allen ML. Effect of phlebotomy on non-alcoholic steatohepatitis (NASH) (Abstract). *Gastroenterology* 2000; 118: A1474.
57. Mendler MH, Turlin B, Moirand R, Jouanolle AM, Sapey T, Guyader D, et al. Insulin resistance-associated hepatic iron overload. *Gastroenterology* 1999; 117: 1155-63.
58. Bonkovsky HL, Jawaid Q, Tortorelli K, Eclair P, Cobb J, Lambrecht RW. Non-alcoholic steatohepatitis and iron: increased prevalence of mutations of the HFE gene in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 421-9.
59. Siegmund B, Lehr HA, Fantuzzi G. Leptin: a pivotal mediator of intestinal inflammation in mice. *Gastroenterology* 2002; 122: 2011-25.
60. Anania FA. Leptin, liver, and obese mice-fibrosis in the fat lane. *Hepatology* 2002; 36: 246-8.
61. Ikejima K, Honda H, Yoshikawa M, Hirose M, Kitamura T, Takei Y et al. Leptin augments inflammatory and profibrogenic responses in the murine liver-induced by hepatotoxic chemicals. *Hepatology* 2001; 34: 288-97.
62. Ikejima K, Takei Y, Honda H, Hirose M, Yoshikawa M, Zhang YJ, et al. Leptin receptor-mediated signalling regulates hepatic profibrogenic and remodelling of extracellular matrix in the rat. *Gastroenterology* 2002; 122: 1399-410.
63. Diehl AM. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis IV. Nonalcoholic fatty liver disease abnormalities in macrophage function and cytokines. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282: G1-G5.
64. Shimomura I, Hammer RE, Ikemoto S, Brown MS, Goldstein JL. Leptin reverses insulin resistance and diabetes mellitus in mice with congenital lipodystrophy. *Nature* 1999; 401: 73-6.
65. Solga SF, Diehl AM. Non-alcoholic fatty liver disease: lumen-liver interactions and possible role of probiotics. *J Hepatol* 2003; 38: 681-7.
66. Malloy MJ, Kane JP, Bacon B. A genetic mutation in the proliferator activated receptor alpha (PPAR-A) gene in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2002; 34: 441 (abstract A1076).
67. Baldrige AD, Pérez-Atayde AR, Graeme-Cook F, Higgins L, Lavigne JE. Idiopathic steatohepatitis in childhood: a multicenter retrospective study. *J Pediatr* 1995; 127: 700-4.
68. Rashid M, Roberts EA. Nonalcoholic steatohepatitis in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 48-52.
69. Sheth SG, Gordon FD, Chopra S. Non-alcoholic steatohepatitis. *Ann Intern Med* 1997; 126: 137-45.
70. Falck-Ytter Y, Younossi ZM, Marchesini G, McCullough J. Clinical features and natural history of nonalcoholic steatosis syndromes. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 17-26.
71. Sanyal AJ. Non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Perspect Gastroenterol* 2000; 129-39.
72. Kumar KS, Malet PF. Nonalcoholic steatohepatitis. *Mayo Clin Proc* 2000; 75: 733-9.
73. Leone N, Bugianesi E, Brunello F, Carucci P, Vanni E, Marchesini G, et al. Does nonalcoholic steatohepatitis progress to cryptogenic cirrhosis and hepatocellular carcinoma? A case-control study. (Abstract). *Hepatology* 2001; 34: (Part 2). 449 A.
74. Nair S, Eason JD, Loss GE, Mason AL. Relative risk of hepatocellular carcinoma in cirrhosis due to fatty liver disease: a study based on incidental hepatocellular carcinoma in liver transplant recipient. (Abstract). *Hepatology* 2001; 34 (Part 2): 462 A.
75. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunello F, Caruchi P, et al. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: From cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2002; 123: 134-40.
76. Yang S, Lin HZ, Hwang J, Chacko VP, Diehl AM. Hepatic hyperplasia in non cirrhotic fatty livers: is obesity-related hepatic steatosis a premalignant condition? *Cancer Res* 2001; 61: 5016-23.
77. El-Serag HB, Richardson OA, Everhart JE. The role of diabetes in hepatocellular carcinoma. A case-control study among United States Veterans. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2462-7.
78. George DK, Goldwurm S, MacDonald GA, Cowley LL, Walker NI, Ward PJ, et al. Increased hepatic iron concentration in non-alcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis. *Gastroenterology* 1998; 114: 311-8.
79. Moirand R, Mortaji AM, Loréal O, Paillard F, Brissot P, Deugnier Y. A new syndrome of liver iron overload with normal transferrin saturation. *Lancet* 1997; 349: 95-7.
80. Younossi ZM, Gramlich T, Bacon BR, Matteoni CA, Boparai N, O'Neill R, et al. Hepatic iron and nonalcoholic fatty liver. *Hepatology* 1999; 30: 847-50.
81. Fargion S, Mattioli M, Fracanzani AL, Sampietro M, Tavazzi D, Fociani P, et al. Hyperferritinemia, iron overload, and multiple metabolic alterations identify patients at risk for nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2448-55.
82. Chitturi S, Weltman M, Farrell GC, McDonald D, Kench J, Liddle C et al. HFE mutations, hepatic iron, and fibrosis, ethnic-specific association of NASH with C262Y but not with fibrotic severity. *Hepatology* 2002; 36: 142-9.
83. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: Definition and pathology. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 3-16.

84. Joseph AE, Saverymuttu SH, al-Sam S, Cook MG, Maxwell JD. Comparison of liver histology with ultrasonography in assessing diffuse parenchymal liver disease. *Clin Radiol* 1991; 43: 26-31.
85. Matthews EM, Hosker JH, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412-9.
86. Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell A, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, et al. NASH and insuline resistance: insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology* 2002; 35: 373-9.
87. Marchesini G, Forlani G. NASH: From liver diseases to metabolic disorders and back to clinical hepatology. *Hepatology* 2002; 35: 497-9.
88. Cobelli C, Pacini G. Insulin secretion and hepatic extraction in humans by minimal modelling of C-peptide and insulin kinetics. *Diabetes* 1988; 37: 223-31.
89. McCullough AJ. Update on nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol* 2002; 34: 255-62.
90. Chamberlain J, DeMouy J. Diet and exercise dramatically delay type 2 diabetes; diabetes medication, metformin, also effective. U.S. Department of Health and Human Services Press Release 200; 8-8-01. <http://www.hhs.gov/news/press/2001press/200110808a.html>.
91. Angulo P, Lindr KD. Treatment of nonalcoholic fatty liver: present and emerging therapies. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 81-8.
92. Eriksson S, Eriksson KF, Bondesson L. Nonalcoholic steatohepatitis in obesity: a reversible condition. *Acta Med Scand* 1986; 220: 83-8.
93. Agrawal S, Bonkovsky HL. Management of nonalcoholic steatohepatitis. An analytic review. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35: 253-61.
94. Basaranoglu M, Acbay O, Sonsuz A. A controlled trial of gemfibrozil in the treatment of patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 384.
95. Laurin J, Lindor KD, Crippin JS, Gossard A, Gores GJ, Ludwig J, et al. Ursodeoxycholic acid or clofibrate in the treatment of nonalcoholic-induced steatohepatitis: a pilot study. *Hepatology* 1996; 23: 1464-7.
96. Salbara T, Onishi S, Ogawa Y, Yoshida S, Enzan H. Bezafibrate for tamoxifen-induced non-alcoholic steatohepatitis. *Lancet* 1999; 353: 1802.
97. Merat S, Malekzadeh R, Sohrabi MR, Sotoudeh M, Rakhshani N, Sohrabpour AA, et al. Probucof in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a double-blind randomized controlled study. *J Hepatol* 2003; 38: 414-8.
98. Harlander JC, Kwo PY, Cummings OW. Atorvastatin for the treatment of NASH. *Gastroenterology* 2001; 120A: 544-2767.
99. Lin HZ, Yang SQ, Kujhada F, Ronnet G, Diehl AM. Metformin reverses nonalcoholic fatty liver disease in obese leptin-deficient mice. *Nat Med* 2000; 6: 998-1003.
100. Kakuma T, Lee Y, Higa M, Wang ZW, Pan W, Shimomura I, et al. Leptin, troglitazone, and the expression of sterol regulatory element binding proteins in liver and pancreatic islets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 8536-41.
101. Caldwell SH, Hespeneide EE, Redick JA, Iezzoni JC, Battle EH, Sheppard BL. A pilot study of a thiazolidinedione, troglitazone, in nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 519-25.
102. Newschwander-Tetri BA, Brunt EM, Wehmeier KR, Oliver D, Bacon BR. Improved nonalcoholic steatohepatitis after 48 weeks of treatment with PPAR gamma ligand rosiglitazone. *Hepatology* 2003; 38: 1008-17.
103. Bajaj M, Suraamornkul S, Piper P, Hardies LJ, Glass L, Cersosimo E, et al. Decreased plasma adiponectin concentration are closely correlated to hepatic fat content and hepatic insuline resistance in pioglitazone-treated type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 200-6.
104. Hookman P, Barkin JS. Current biochemical studies of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH) suggest a new therapeutic approach. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 495-9.
105. Guma G, Viola L, Thome M. Ursodeoxycholic acid in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a prospective clinical controlled trial (Abstract). *Hepatology* 1997; 26: 387A.
106. Ceriani R, Bunati S, Morini L. Effect of ursodeoxycholic acid plus diet in patients with non-alcoholic steatohepatitis (Abstract). *Hepatology* 1998; 28: 368A.
107. Lindor KD, Kowdley V, Heathcote EJ, Harrison ME, Jorgensen R, Angulo P, et al. Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: Results of a randomized trial. *Hepatology* 2004; 39: 770-80.
108. Nanji AA, Yang EK, Fogt F, Sadrzadeh SM, Dannenberg AJ. Medium chain triglycerides and vitamin E reduce the severity of established experimental alcoholic liver disease. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 277: 1694-700.
109. Lavine JE. Vitamin E treatment of non-alcoholic steatohepatitis in children: a pilot study. *J Pediatr* 2000; 136: 734-8.
110. Hasegawa T, Yoneda M, Nakamura K, Yokihama S, Tamonk K, Sato Y. Diagnostic significance of measuring TGF- α 1 levels and effect of α -tocopherol in patients with NASH. *Gastroenterology* 1997; 112: 1278.
111. Barak AJ, Beckenhauer HC, Badakhsh S, Tuma DJ. The effect of betaine in reversing alcoholic steatosis. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21: 1100-2.
112. Abdelmalek MF, Angulo P, Jorgensen RA, Sylvestre PB, Lindor KD. Betaine, a promising new agent for patients with nonalcoholic steatohepatitis: results of a pilot study. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2711-7.
113. Velusssi M, Cernigoi AM, De Monte A, Dapas F, Caffau C, Zilli M. Long term (122 months) treatment with an anti-oxidant drug is effective on hyperinsulinemia, exogenous insulin need, and malondialdehyde in cirrhotic diabetic patients. *J Hepatol* 1997; 26: 871-9.
114. Gulbahar O, Karusi ZA, Ersoz G. Treatment of non-alcoholic steatohepatitis with N-acetylcysteine. *Gastroenterology* 2000; 118: A 1444.
115. Pappo I, Becovier H, Berry EM, Freund HR. Polymixin B reduces cecal flora. TNF production and hepatic steatosis during total parenteral nutrition in rat. *J Clin Res* 1991; 51: 106-12.
116. Freund HR, Muggia-Sullan M, LaFrance R, Enrione EB, Popp HB, Bjornson HS. A possible beneficial effect of metronidazole in reducing TPN-associated liver function derangements. *J Surg Res* 1985; 38: 356-63.
117. Buchman AL, Dubin MD, Moukarzel AA, Jenden DJ, Roch M, Rice KM, et al. Choline deficiency: a cause of hepatic steatosis during parenteral nutrition that can be reversed with intravenous choline supplementation. *Hepatology* 1995; 22: 1399-403.
118. Fernández-Real JM, López-Bermejo, Ricart W. Cross-talk between iron metabolism and diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 2348-54.
119. Guillyomarc'h A, Mandler R, Moirand R, Lainé F, Quentin V, David V, et al. Venesection therapy of insulin resistance-associated hepatic iron overload. *J Hepatol* 2001; 35: 344-9.
120. Fachini FS, Hua NW, Stoohs RA. Effect of iron depletion in carbohydrate-intolerant patients with clinical evidence of non-alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 931-9.
121. Kim W, Poterucha J, Porayko M, Dickson E, Steers J, Wiesner R. Recurrence of nonalcoholic steatohepatitis following liver transplantation. *Transplantation* 1996; 62: 1802-5.
122. Carlson K, Washington M, Treem W, Clavien P, Hunt C. Recurrence of nonalcoholic steatohepatitis in a liver transplant recipient. *Liver Transpl Sur* 1997; 3: 174-6.
123. Molloy R, Komorowski R, Varma R. Recurrent nonalcoholic steatohepatitis and cirrhosis after liver transplantation. *Liver Transpl Sur* 1997; 3: 177-8.
124. Selzner M, Clavien P-A. Fatty liver in liver transplantation and surgery. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 105-13.

Esteatohepatitis no alcohólica: consideraciones fisiopatológicas, clínicas y terapéuticas

F. Pérez-Aguilar, S. Benlloch, M. Berenguer, B. Beltrán y J. Berenguer

Servicio de Medicina Digestiva. Hospital Universitario La Fe. Valencia

DEFINICIÓN Y PREVALENCIA

La esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) debe considerarse integrada en una entidad de espectro más amplio, el *hígado graso no alcohólico (HGNA)*, que abarca desde la esteatosis hepática como forma inicial, pasando por la EHNA propiamente dicha, que puede evolucionar a una *cirrosis hepática*, a menudo filiada como criptogenética por haber perdido sus características específicas, que se sitúa en el otro extremo del espectro. La EHNA es similar histológicamente a la hepatitis alcohólica y se caracteriza por esteatosis macrovesicular, necroinflamación, degeneración balonizante de los hepatocitos y fibrosis. La EHNA es una enfermedad crónica que está detectándose muy frecuentemente en pacientes con alteración de la función hepática. La mayoría son pacientes obesos, mujeres y con diabetes mellitus del tipo 2 y/o hiperlipidemia y resistencia a la insulina. Sin embargo, también se presenta en varones y mujeres delgados sin patologías asociadas y en relación con una miscelánea de situaciones como cirugía derivativa, toma de fármacos etc. Powell y cols. (1) definen la EHNA como la presencia de los hallazgos histológicos característicos, con elevación persistente de transaminasas, sin antecedentes de ingesta significativa de alcohol (< 30 g a la semana confirmado por la familia) y ausencia de otro tipo de hepatopatías.

Desde que fue descrita por J. Ludwig en 1980 (2), el impacto epidemiológico así como el número de publicaciones recientes sobre esta entidad ha sido enorme, estimándose la prevalencia de HGNA en la población general del 20% y la de EHNA del 2-3%, por lo que el HGNA sería potencialmente la hepatopatía más común en Estados Unidos (3-5). La prevalencia de HGNA es mayor entre pacientes con elevación persistente de las transaminasas, estimándose entre un 21-63% (6). En obesos mórbidos que requieren cirugía derivativa gástrica, la prevalencia de HGNA es del 95% y la de EHNA del 25% (7). Entre pacientes con diabetes mellitus tipo 2 el HGNA se daría en un 63% (8). Es de resaltar que la obesidad entre la población norteamericana está en aumento, pudiendo alcanzar el 40% hacia el año 2025 (9), por lo que se puede esperar que la prevalencia de HGNA incluyendo la EHNA aumentará también notablemente.

HISTORIA NATURAL

Hay poca información sobre la historia natural de esta entidad que puede progresar por los siguientes estadios consecutivos en algunos pacientes: hígado graso, esteatohepatitis, esteatohepatitis con fibrosis y cirrosis.

C.A. Matteoni (10) constata que de 132 pacientes con HGNA, a los 10 años de seguimiento, un 25% presentaban ya EHNA en progresión a cirrosis, falleciendo un 12% en relación con la hepatopatía. Otros trabajos confirman (4,11-13) la posible progresión de esta entidad en un porcentaje significativo de casos (Fig. 1). Igualmente muchas cirrosis criptogenéticas pueden representar EHNA que han perdido las peculiaridades histológicas características de esta entidad (14,15). Incluso estas cirrosis criptogenéticas pueden tener recurrencias en forma de EHNA tras el trasplante (16).

Entre los factores que pueden identificar un mayor riesgo de evolución de la esteatosis a EHNA están: la edad mayor de 40 años, un índice de masa corporal mayor de 40 kg/m², una relación GOT/GPT superior a uno y que coexistan al menos dos causas de EHNA como la diabetes y la hiperlipemia (17,18).

Muchos factores pueden contribuir a la mortalidad de la EHNA, incluyendo las complicaciones de la obesidad y la diabetes. Entre las causas de mortalidad relacionadas con la hepatopatía tenemos la insuficiencia hepática, complicaciones de la cirrosis (hemorragia por varices o ascitis) y el hepatocarcinoma, desconociéndose la incidencia precisa de estas complicaciones (19).

También puede darse una mejoría histológica, especialmente en aquellos con fibrosis mínima. Tras adelgazar, puede detectarse una disminución de la inflamación y de los cuerpos de Mallory, incluso de la fibrosis perisinusoidal, sobre todo si la pérdida de peso es gradual y se asocia la dieta con el ejercicio físico (20,21). En muchos casos, la insuficiencia hepática se manifiesta durante una rápida pérdida de peso, cualquiera que sea el método empleado, sobre todo en casos de obesidad mórbida sometidos a cirugía bariátrica (22,23).

ENTIDADES PRINCIPALES ASOCIADAS CON HGNA

La *resistencia a la insulina* juega un papel primordial tanto en la diabetes mellitus tipo 2, como en la obesidad, y es el factor más predisponente y reproducible respecto al HGNA (24) (Tabla I).

Tabla I. Factores asociados a HGNA

Factores asociados primordiales

Obesidad
Diabetes mellitus
Hiperlipidemia
Sexo femenino, edad avanzada
Rápida pérdida de peso
Resistencia a la insulina
Alteración de los depósitos de hierro

Entidades etiológicamente asociados con HGNA

Técnicas quirúrgicas relacionadas con la obesidad:

Bypass yeyuno-ileal, bypass yeyuno-cólico, gastroplastia, derivación bilio-pancreática

Otras técnicas quirúrgicas con rápida pérdida de peso como la resección intestinal masiva

Trastornos alimentarios y otras anomalías de la nutrición:

Anorexia, ayuno, bulimia
Nutrición parenteral total
Enfermedad celiaca
Diverticulosis yeyunal y otros sobrecrecimientos bacterianos

Hepatopatías inducidas por fármacos:

Amiodarona
Maleato de perhexilina
Bloqueadores de los canales del calcio
Glucocorticoides a altas dosis
Estrógenos sintéticos, tamoxifeno
Cloroquina
Síndrome del aceite tóxico
Toxicidad por dimetilformamida

Enfermedades metabólicas:

Enfermedad de Wilson, hepatopatías de la infancia relacionadas con el cobre
Glucogenosis tipo 1
Abetalipoproteinemia

Síndromes de severa resistencia a la insulina:

Lipodistrofia (general, parcial)
Mutaciones de receptores de insulina

Diabetes mellitus

Hasta un tercio de los pacientes tienen, en el momento de diagnóstico de HGNA, diabetes o hiperglucemias en ayunas (12,25). La asociación más frecuente es con la diabetes tipo 2, aunque también se presenta en diabetes insulín dependientes de difícil control (26). La diabetes es un importante predictor independiente de fibrosis hepática severa en la EHNA (17). Por otro lado, la intolerancia a la glucosa se da secundariamente a la cirrosis en el 60-80% de estos pacientes, desarrollando eventualmente diabetes en el 10-30% (27). Estudios necrópsicos indican que la diabetes tipo 2 está asociada a la EHNA con un riesgo incrementado de 2,6 veces (28).

Entre el 39 y 100% de pacientes con HGNA tienen sobrepeso (índice de masa corporal $> 25 \text{ kg/m}^2$) u obesidad (>30 en caucásicos y > 27 en asiáticos) (25,29-31). Un estudio necrópsico encuentra una prevalencia 6 veces mayor de HGNA entre obesos con respecto a delgados (28). Las biopsias hepáticas detectan esteatosis en más del 75% de obesos mórbidos, objetivando EHNA en un cuarto de estos pacientes y cirrosis en el 3-11% (32). La obesidad también se correlaciona con la gravedad de la fibrosis en la EHNA, independientemente de la diabetes y la edad (18). García-Monzón y cols. (33) objetivan que a mayor edad y mayor grado de esteatosis, sobre todo si también existe inflamación intrahepática, hay un mayor riesgo de fibrosis.

Obesidad

La distribución de la grasa corporal puede ser importante, habiendo encontrando una correlación significativa entre el grado de esteatosis y la relación cintura/cadera (33), apuntando a la importancia de la grasa visceral como predictora de esteatosis (34). Los varones delgados raramente presentan fibrosis hepática significativa; así Ratzliff (18) nunca detecta fibrosis o cirrosis en pacientes de menos de 50 años, con un índice de masa corporal menor de 28 kg/m^2 y triglicéridos normales.

La distribución de la grasa corporal puede ser importante, habiendo encontrando una correlación significativa entre el grado de esteatosis y la relación cintura/cadera (33), apuntando a la importancia de la grasa visceral como predictora de esteatosis (34). Los varones delgados raramente presentan fibrosis hepática significativa; así Ratzliff (18) nunca detecta fibrosis o cirrosis en pacientes de menos de 50 años, con un índice de masa corporal menor de 28 kg/m^2 y triglicéridos normales.

Hiperlipemia

Entre el 20 y el 80% de pacientes con HGNA tienen hiperlipemia (25). Aunque se observa una elevación de los triglicéridos y/o del colesterol total séricos, hay una mayor asociación con los triglicéridos, sobre todo en la hiperlipemias 2b y 4, más que en la 2a (35). Se ha sugerido un papel relevante de la hipertrigliceridemia en la patogenia del HGNA porque la corrección de esta anomalía lipídica se asocia a una mejoría de las pruebas funcionales hepáticas (36).

Pérdida rápida de peso

Se ha asociado la EHNA con la pérdida rápida de peso tras cirugía para la obesidad, la resección masiva intestinal y el ayuno severo (37).

Edad y sexo

La edad avanzada y el sexo femenino son considerados factores independientes asociados a fibrosis hepática en la EHNA (17,37).

OTRAS ENTIDADES ASOCIADAS AL HGNA

El bypass yeyunoileal, la gastroplastia, el bypass gástrico y otros tipos de cirugía que conlleven una rápida pérdida de peso, los trastornos de la alimentación como la anorexia o la bulimia, la celiaquía, la diverticulosis yeyunal, otras causas de sobrecrecimiento bacteriano, la nutrición parenteral total, la abetalipoproteinemia, la lipodistrofia parcial, la enfermedad de Weber-Christian, el síndrome del aceite tóxico, etc, también están relacionados con la aparición de EHNA (37).

EHNA inducida por fármacos

Fármacos cardiovasculares como la amiodarona, el maleato de perhexilina y más raramente los bloqueadores de los canales del calcio como la nifedipina y el diltiazem; los glucocorticoides a dosis altas, los estrógenos sintéticos, el tamoxifeno, la cloroquina, etc., también pueden asociarse a la aparición de EHNA (37).

La amiodarona, el maleato de perhexilina, el dietilaminoetoxihexestrol y el tamoxifeno (38) por sus propiedades lipofílicas atraviesan fácilmente la membrana externa de la mitocondria, y desde el espacio intermembranoso son “empujados” dentro de la mitocondria por el alto potencial electroquímico existente a nivel de la membrana interna, alcanzando altas concentraciones intramitocondriales. De esta forma inhibirían la beta-oxidación (causando esteatosis) y bloquearían la transferencia de electrones a lo largo de la cadena respiratoria. Esto conlleva la transferencia de sus electrones al oxígeno formándose el anión radical superóxido, generando estos fármacos radicales libres de oxígeno.

ETIOPATOGENIA DE LA EHNA

La resistencia a la insulina parece ser un factor patogénico clave y reproducible en la EHNA (30,39,40). Se define como la disminución de la capacidad de la insulina para ejercer sus funciones biológicas en tejidos diana típicos, tales como el músculo esquelético, el hígado o el tejido adiposo. Este concepto se engloba dentro del denominado síndrome metabólico o síndrome X, en el que se asocian varias entidades clínicas que incluyen la obesidad, la hiperlipemia, la hipertensión arterial y la diabetes mellitus y que conllevan un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular. La hiperinsulinemia proviene principalmente de la hipersecreción compensatoria por parte de las células beta y no como se asumía antes por una disminuida degradación de la insulina resultado de la hepatopatía, aunque en los cirróticos este mecanismo también puede influir.

El transporte intracelular de glucosa estimulado por la insulina está regido preferentemente por la translocación del transportador GLUT4 desde un compartimento vesi-

cular intracelular a la membrana plasmática, lo cual ocurre tras la actuación de la insulina sobre su receptor celular. En diferentes formas de resistencia a la insulina el nivel de expresión del transportador GLUT4 está alterado; por ejemplo se ha visto una expresión disminuida del gen GLUT4 en los adipocitos de sujetos obesos, diabéticos o con intolerancia a la glucosa, sin que se altere su grado de expresión en otras células, tales como las del músculo esquelético (41).

Recientemente existe la hipótesis de que los adipocitos puedan tener un papel central en el desarrollo tanto de la resistencia a la insulina como del HGNA. El adipocito parece ser un importante órgano endocrino que puede desencadenar un proceso inflamatorio relacionado con el desarrollo de EHNA. Es capaz de secretar un conjunto de sustancias potencialmente tóxicas tales como el factor de necrosis tumoral (TNF), la leptina, la resistina y los ácidos grasos cuya concentración se correlaciona con la resistencia a la insulina y por ello deben ser relevantes en el desarrollo de la diabetes tipo 2. Además se ha observado que la grasa visceral (y no la masa de grasa corporal total) es un factor predictor de esteatosis hepática, de hiperinsulinemia, de una disminuida extracción hepática de glucosa y de resistencia insulínica.

Para interpretar mejor las hipótesis emergentes de la EHNA conviene recordar el normal metabolismo de los ácidos grasos. Durante la digestión, los triglicéridos de la dieta son convertidos por los enterocitos en quilomicrones que serán transportados por la linfa y posteriormente hidrolizados en ácidos grasos por la lipoproteína lipasa localizada en el endotelio capilar de los tejidos adiposo y hepático. Los ácidos grasos libres así generados son muy miscibles con las membranas celulares, de modo que se dirigen de inmediato a los adipocitos donde son convertidos en triglicéridos reesterificados o al músculo como aporte energético o bien penetran en el hígado. En situaciones de ayuno, los ácidos grasos que se suministran al hígado provendrán de la hidrólisis de los triglicéridos almacenados en el tejido adiposo. Así, esta hidrólisis será en condiciones normales estimulada por las catecolaminas, el glucagón y la hormona de crecimiento e inhibida por la insulina. En el hígado, los ácidos grasos son sometidos a beta-oxidación mitocondrial, usados en la síntesis de triglicéridos o para formar fosfolípidos y ésteres de colesterol.

Sin embargo, en situaciones de resistencia a la insulina, como ocurre en la mayoría de pacientes con HGNA, el aumento de la misma en sangre afecta al adipocito y al hepatocito de forma distinta. En el adipocito favorece la lipólisis con la consiguiente mayor liberación de ácidos grasos al hígado; en el hepatocito estimula la síntesis de ácidos grasos e inhibe la beta-oxidación mitocondrial de los mismos (42). Además, los niveles altos de insulina pueden inhibir la síntesis de la apolipoproteína B100, componente de las VLDL, dificultando que los triglicéridos sean transportados fuera del hígado.

El mayor aflujo de ácidos grasos al hígado combinado con alteraciones potenciales de su metabolización hepática (incluyendo una mayor síntesis de triglicéridos, una disminuida eliminación de triglicéridos y una disminuida beta-oxidación de los ácidos grasos) ocasiona esteatosis hepática; estos mecanismos se han considerado como el “primer impacto” en la génesis del HGNA. Sin embargo, la esteatosis no es siempre quiescente, pues las grandes concentraciones intrahepáticas de ácidos grasos libres y la saturación de la beta-oxidación mitocondrial de los mismos, los haría susceptibles a un “segundo impacto” en el que intervendrían factores adicionales que condicionarían el estrés oxidativo y la peroxidación lipídica, originando un alto aflujo de electrones a la cadena respiratoria mitocondrial y un aumento de producción de radicales libres de oxígeno (RLO) que causan lesiones hepáticas de la EHNA (Fig. 2)

Además, en situaciones de alto metabolismo de ácidos grasos, los RLO pueden ser originados también por la beta-oxidación peroxisomal y la omega-oxidación microsomal por parte del citocromo P450 (CYP2E1, CYP4A) de los ácidos grasos (43,44). Se ha comprobado que los pacientes con EHNA presentan lesiones mitocondriales ultraestructurales (40,45), disminución de la actividad de los complejos mitocondriales (46) y deficiencias en la formación de ATP mitocondrial (47) que también conllevan la formación de RLO.

Los RLO determinan la generación de varias citocinas desde distintos tipos celulares (hepatocitos, adipocitos y células de Kupffer). Este hecho depende de la capacidad de activación que tienen los RLO sobre factores de transcripción, fundamentalmente el factor nuclear κ B (NF κ B). Este factor se encuentra normalmente sintetizado y mantenido en forma inactiva en el citoplasma celular debido a que se encuentra unido a la proteína IKK. Los RLO tienen la capacidad, cuando se encuentran a concentraciones adecuadas, de activar la enzima IKK- β que desacoplará al NF- κ B de la IKK y, por tanto, el factor quedará libre para migrar al núcleo e iniciar procesos de transcripción. Estos procesos determinan la formación de citocinas tales como factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), factor de crecimiento tumoral-beta 1 (TGF- β 1), ligandos Fas, e interleuquina-8 (IL-8), entre otros. A su vez, cada una de estas citocinas puede estar implicada en la patogénesis de las lesiones hepáticas. El TNF- α y el TGF- β 1 pueden activar la muerte celular programada o apoptosis al activar las caspasas, enzimas responsables de la ejecución de la misma. El TGF- β 1 puede intervenir en la formación de cuerpos de Mallory y activar la síntesis de colágeno por parte de las células estrelladas y la IL-8 es un potente activador de neutrófilos (44,47) (Fig. 3).

Conviene señalar que los productos derivados de la peroxidación lipídica, el melandialdehído (MDA) y el 4-hidroxinonenal (HNE) (48), parecen implicados en la génesis de las lesiones hepáticas de la EHNA. Ambos causan toxicidad directa y al acoplarse covalentemente a proteínas pueden desencadenar reacciones inmunes (Fig. 3); pueden inducir la formación de cuerpos de Mallory al

promover la agrupación de citoqueratinas y también incrementan la síntesis colágena al activar las células estrelladas hepáticas. El HNE también tiene actividad quimiotáctica sobre los neutrófilos.

En situaciones de activación del FN- κ B, los hepatocitos pueden sintetizar ligando Fas, secretarlo y consecuentemente actuar sobre receptores Fas de hepatocitos vecinos, causando muertes fraticidas entre ellos (49,50).

Otros factores implicados en la patogenia de la EHNA

La mayoría de los pacientes con sobrecarga primaria de hierro no debida a hemocromatosis presentan resistencia a la insulina (51-54) la cual puede mejorar con la realización de flebotomías (55,56). La resistencia a la insulina provoca una mayor expresión de los receptores de la transferrina en la superficie celular y un incremento de la exocitosis de los receptores intracelulares preexistentes, asociándose a concentraciones elevadas de ferritina sérica (12,51,53) y aumento de hierro hepático en algunos pacientes (57). Tasas elevadas de ferritina sérica no reflejan necesariamente un incremento del hierro hepático, sino ser debidas a la propia EHNA como reactantes de fase aguda. El hierro ferroso es un poderoso generador de radicales hidroxilos, por lo que puede contribuir a la acumulación de RLO, al daño y muerte celular y, al activar las células estrelladas, puede estimular la fibrogénesis. Queda por aclarar si una sobrecarga moderada de hierro en la EHNA interviene en la patogenia de esta entidad, está relacionada con anomalías metabólicas asociadas o se debe a factores ambientales o genéticos no identificados. Por ejemplo, mutaciones heterocigotas del gen HFE, con frecuencia detectadas en estos pacientes, podrían incrementar la acumulación de hierro hepático (58).

Se ha sugerido que la leptina podría clasificarse como una citocina, ya que además de regular la ingesta alimenticia y el gasto energético también modula las respuestas inmune e inflamatoria (59). Al parecer, los niveles séricos elevados de leptina se correlacionan con la gravedad de la esteatosis hepática, sugiriéndose así un papel patogénico de la leptina en la resistencia a la insulina hepática y/o a un fallo de su actividad antiesteatósica. También su producción por las células estrelladas puede desempeñar un papel importante en la fibrosis hepática (60-62). Puede contribuir a la progresión de la esteatosis a EHNA y ulteriormente a cirrosis, dada su actividad profibrogénica y moduladora de la respuesta inflamatoria a nivel del hígado (63). Por otro lado, se ha objetivado que la administración de leptina a ratones con déficit congénito de leptina y lipodistrofia generalizada, induce una reducción de la grasa corporal y una acusada disminución de la resistencia a la insulina (64).

La endotoxina y la liberación de citocinas mediada por la endotoxina tienen un papel importante en la génesis de la hepatitis alcohólica, existiendo en esta situación un aumento en la producción de factor de necrosis tumoral

alfa y de interleucinas 6 y 8 que favorecen la necrosis y la respuesta inflamatoria. La endotoxina también puede contribuir al desarrollo de EHNA en algunos casos, como en los secundarios a las intervenciones de derivación intestinal. Experimentalmente en ratas genéticamente obesas, se ha comprobado una producción significativamente aumentada de etanol endógeno, una sensibilidad aumentada a la endotoxina, así como una alteración de las células de Kuppfer. Todos estos factores favorecen el desarrollo de EHNA. Además, se ha objetivado una disminución de la producción endógena de etanol cuando las ratas son tratadas con neomicina oral; por ello, se puede especular si la pequeña cantidad de etanol producido por la flora intestinal detectada en algunos pacientes puede intervenir en la génesis de esta entidad (65).

Los receptores del peroxisoma proliferante activado (PPAR) se expresan en tejidos con gran fosforilización oxidativa y regulan los lípidos mediante las vías oxidativas peroxisomal, microsomal y mitocondrial. En pacientes con EHNA se han identificado algunas mutaciones en el gen codificador de estos receptores nucleares, por lo que podrían estar implicados en su patogenia (66).

En un apartado previo se menciona también el papel que pueden ejercer diversos fármacos en la génesis de esta entidad.

DIAGNÓSTICO

Aunque la mayoría de los casos de HGNA se detectan en la quinta y sexta décadas de la vida, merece resaltarse que se está dando un incremento de la prevalencia de esta entidad entre los niños (67,68), por lo que puede presentarse a cualquier edad.

Manifestaciones clínicas y anomalías analíticas

La mitad de pacientes (45-50%) están asintomáticos, pero un pequeño porcentaje (10), y especialmente los niños (67,68), pueden presentar síntomas como dolor en hipocondrio derecho, molestia abdominal, astenia o malestar general (69). Lo típico es que padezcan otras enfermedades y que incidentalmente se detecten anomalías de la función hepática o hepatomegalia (10). Esto último se ha encontrado en el 12-75% de los casos (10,17,70-72). Interesa recordar que muchas cirrosis criptogénicas pueden ser el estadio final de una EHNA y cursar con las múltiples complicaciones de una cirrosis evolucionada.

Varios trabajos (73,74) sugieren que el hepatocarcinoma puede ser una complicación de esta entidad. En ratones genéticamente obesos ob/ob, deficientes en leptina, y que raramente desarrollan cirrosis, existe una incidencia aumentada de hepatocarcinomas similar a la de pacientes obesos y diabéticos; por lo que las anomalías metabólicas, según este trabajo, facilitarían la progresión de

EHNA al hepatocarcinoma (75). En pacientes con cirrosis criptogénica se ha detectado una mayor incidencia de hepatocarcinomas que en cirróticos de etiología bien definida vírica o alcohólica (76), por lo que el hepatocarcinoma podría ser una complicación tardía relacionada con la EHNA; no obstante, estudios más recientes muestran una asociación entre diabetes y hepatocarcinoma sólo en presencia de virus de la hepatitis C, virus de la hepatitis B o cirrosis alcohólica (77), lo que sugiere que la diabetes puede ser tan sólo un marcador de hepatopatía avanzada con mayor probabilidad de progresar a hepatocarcinoma.

La anomalía más frecuente de las pruebas de función hepática en esta entidad es la elevación entre 2-5 veces de las transaminasas (10,17,71) y que ocasionalmente llega hasta las 10-15 veces (17), pero a menudo permanecen normales. Un rasgo diferencial frente la hepatopatía alcohólica consiste en que la relación GOT/GPT suele ser inferior a uno en el 65-90% de pacientes con HGNA (10,20,64,67). Cuando la relación GOT/GPT es mayor de uno, sugiere una forma avanzada de EHNA (10,20). La fosfatasa alcalina y la gammaglutamiltranspeptidasa pueden elevarse al doble o al triple en más del 50% de casos (10,69,70,72). La bilirrubina y la albúmina suelen permanecer normales (7,69,70,72).

George y cols. (78), y Bonkovsky y cols. (58) objetivaron que los pacientes con EHNA y sobrecarga de hierro tienen una mayor afectación hepática y una más acusada fibrosis, atribuyéndolo a una mayor prevalencia de la mutación C282Y. Moirand y cols. (79) describieron un nuevo síndrome de sobrecarga de hierro en relación con trastornos metabólicos y resistencia a la insulina. Younossi y cols. (80) y Angulo y cols. (17) no observaron ninguna relación entre el hierro y las manifestaciones clínicas o histológicas en pacientes con HGNA. Fargion y cols. (81) objetivaron que los pacientes con esteatosis hepática presentan a menudo tasas séricas elevadas de ferritina con saturaciones de la transferrina normales, reflejando una sobrecarga de hierro sólo en aquellos en que persiste pese a una dieta apropiada; el simultáneo trastorno del metabolismo del hierro y del de la glucosa y/o de los lípidos, en la mayoría de los casos asociados a resistencia a insulina, es responsable de la persistente hiperferritinemia e identifica a pacientes con riesgo de EHNA. Mendler y cols. (57) no detectan una mayor sobrecarga de hierro en pacientes con EHNA que en los que sólo tienen esteatosis hepática, y el gen HFE no influye en el daño hepático, aunque una sobrecarga inexplicada de hierro hepático aparece casi constantemente asociada al síndrome de resistencia a la insulina. Chitturi y cols. (82) objetivaron que los pacientes con HGNA a menudo presentan hiperferritinemia, pero con saturaciones de la transferrina normales, sin que las mutaciones HFE confieran un mayor riesgo de fibrosis.

La esteatosis hepática puede ser causa de disfunción primaria del injerto tras el trasplante hepático, por lo que se deben rechazar los hígados que presenten esteatosis

grave (más del 60% de hepatocitos con vacuolas grasas) y considerar el riesgo de los injertos con moderada esteatosis (30-60% de hepatocitos con vacuolas grasas).

Exclusión de otras enfermedades

Otras hepatopatías pueden estar asociadas al HGNA y esta última influir en el pronóstico de aquellas como la cirrosis por virus C o la hemocromatosis ligadas al gen HFE; por lo tanto, exámenes positivos para el virus C o para la hemocromatosis no excluyen el diagnóstico de HGNA. También la esteatosis puede presentarse en la enfermedad de Wilson, en la hepatopatía autoinmune, la galactosemia y la hepatopatía alcohólica. Por ello, deben realizarse los estudios pertinentes para descartar otras hepatopatías crónicas, tales como la hepatopatía por virus B o C, la cirrosis biliar primaria, la colangitis esclerosante primaria, la hemocromatosis, las porfirias y las de origen tóxico.

Biopsia hepática

Hay una pobre correlación entre la clínica, los datos analíticos y la anatomía patológica en el HGNA; por tanto, es imposible el estadiaje de los pacientes con HGNA sin un estudio histológico. También la biopsia permite la determinación de la concentración de hierro hepático, que según algunos autores podría estar elevado en relación con la mutación C282Y e incrementar el riesgo de fibrosis en un grupo de pacientes con EHNA. Por todo ello, muchos hepatólogos recomiendan la realización de una biopsia hepática en todos los pacientes con el presunto diagnóstico de HGNA (a pesar del riesgo que conlleva esta técnica, y de las limitadas opciones terapéuticas existentes en la actualidad). Además, permitirá un mejor conocimiento de la historia natural de la enfermedad y valorar la influencia de las diferentes terapias. Por otro lado, la esteatosis hepática aunque generalmente tiene un pronóstico benigno y podría diagnosticarse mediante una valoración clínica, analítica y ecográfica, no puede descartarse que evolucione a una EHNA y ulteriormente a cirrosis, debiendo seleccionarse preferentemente aquellos con datos sugerentes de enfermedad progresiva e incluirse en protocolos terapéuticos. Aunque la valoración histológica es el patrón oro para la filiación de la EHNA, no hay un consenso en su evaluación, siendo el estadiaje semicuantitativo más aceptado el modificado de Brunt (83), clasificando la actividad inflamatoria en grados de 0 a 3 y la fibrosis en estadios de 0 a 4 (Tabla II). Las lesiones son similares pero no idénticas a las de la esteatohepatitis alcohólica, incluyendo esteatosis generalmente macrovesicular, degeneración hidrópica hepatocitaria, inflamación ligera difusa lobulillar mezcla de aguda y crónica (leucocitos neutrófilos y linfocitos T) y depósito de colágeno perivenular y perisinusoidal; en la zona 3 de Rappaport, las lesiones pueden ser más patentes; son frecuentes la hialina de Mallory, los núcleos vacuolados en los he-

Tabla II. Graduación y estadiaje de las lesiones histológicas de la EHNA

Grado 1, ligera

Esteatosis predominantemente macrovesicular, afectando al 33-66% de los lobulillos
Balonización detectada ocasionalmente en Zona 3
Inflamación lobulillar: inflamación aguda (neutrófilos) parcheada y ligera, y ocasionalmente crónica (mononucleares)
Inflamación portal: ausente o ligera

Grado 2, moderada

Esteatosis de cualquier grado, generalmente mezcla de macro y microvesicular
Balonización obvia y presente en Zona 3
Inflamación lobulillar: los neutrófilos pueden asociarse a hepatocitos balonizados y fibrosis pericelular; puede haber ligera inflamación crónica
Inflamación portal: ligera o moderada

Grado 3, grave

Esteatosis típicamente panacinar (más del 66%), generalmente de tipo mixto (macro y microvesicular)
Balonización acusada, predominantemente en Zona 3
Inflamación lobulillar: inflamación parcheada aguda y crónica; los neutrófilos pueden estar concentrados en áreas de balonización de la Zona 3 y en la fibrosis perisinusoidal
Inflamación portal: ligera o moderada

Estadiaje de fibrosis en EHNA

Estadio 1: Fibrosis perivenular, perisinusoidal/pericelular en Zona 3, focal o extensa
Estadio 2: Como la anterior con fibrosis periportal focal o extensa
Estadio 3: Fibrosis en puentes, focal o extensa
Estadio 4: Cirrosis

Modificado de cita 58.

patocitos periportales, los lipogranulomas lobulillares y las células de Kupffer PAS-diastasa- resistentes. En los niños, la inflamación portal puede ser más evidente que en adultos. La progresión de la fibrosis puede originar septos que forman puentes y cirrosis. Las lesiones de la EHNA pueden coincidir con las de otras formas de enfermedad hepática. En la tabla III se indican las lesiones que son necesarias para establecer el diagnóstico de EHNA, así como otras menos frecuentes e incluso improbables con este diagnóstico.

Ecografía y la tomografía axial computarizada

La ecografía tiene una sensibilidad del 89% y una especificidad del 93% para la detección de esteatosis (84), pero no permite distinguir los diferentes estados precirróticos de fibrosis. Su máximo valor radica en el diagnóstico de cirrosis hepática, en cuyo caso su sensibilidad es del 45-80% y su especificidad del 63-91%. La especificidad de la tomografía axial computarizada es mayor pero su precio es más elevado.

Tabla III. Lesiones histológicas necesarias, usuales, ocasionales e inusuales de la EHNA (ver cita 64)

Necesarias	Usuales pero no necesarias	Pueden estar presentes, pero no necesarias	Inusuales: considerar otras causas de hepatopatía
Esteatosis, macro-micro	Fibrosis perisinusoidal en Zona 3; a veces es un componente de la fibrosis en puentes centro-portales	Hialina de Mallory en Zona 3; típicamente mal constituida, puede requerir anticuerpos con inmunohistoquímica (citoqueratinas 7,18,19)	Esteatosis microvesicular pura o predominante
Inflamación mixta lobulillar; escasos polimorfos y mononucleares	Núcleos glucogenados en Zona 1	Hierro detectable en escasa cuantía en hepatocitos en Zona 1 con azul de Prusia	Necrosis hialina esclerosante; lesiones veno-oclusivas; fibrosis perivenular; fleboesclerosis
Balonización hepatocitos; Próxima a células hepáticas esteatóticas en Zona 3	Lipogranulomas en lobulillos; generalmente pequeños	Megamitocondrias en hepatocitos	Inflamación portal mayor que inflamación lobulillar
	Cuerpos acidófilos o células de Kupffer d-PAS + ocasionalmente		Fibrosis portal/periportal en ausencia de, o marcadamente mayor que la perisinusoidal en Zona 3; fibrosis en puentes inter-portales
	Quistes grasos		Distorsión lobulillar con mucha inflamación. Endoflebitis. Necrosis confluyente o en puentes. Colestasis crónica. Lesiones ductales. Gránulos más epiteloideas. Glóbulos PAS+

Estudio de la resistencia a la insulina

Puede realizarse mediante:

1. El método HOMA (*homeostasis model assessment*) aplicando la fórmula de Matthews en la que la resistencia a la insulina = insulina sérica en ayunas ($\mu\text{U/ml}$) x glucosa (mmol/L) / 22,5, considerándose como resistencia a la insulina valores de HOMA superiores a 3,8 (3,9 en mujeres y 3,5 en varones) (52,60,85,86);

2. Determinaciones seriadas de los niveles de glucemia, insulinemia y péptido C, durante una frecuente realización intravenosa de pruebas de tolerancia a la glucosa, permitiendo esta última opción además de medir la secreción de insulina, estimar mediante el péptido C la extracción hepática de la insulina (60,87,88).

TRATAMIENTO

El hecho de que no exista una terapia efectiva universal para la EHNA hace que algunos eviten la realización de pruebas diagnósticas agresivas como la biopsia hepática. Es necesario un mejor conocimiento de la historia natural de la enfermedad y la realización de ensayos terapéuticos prospectivos para una correcta toma de decisiones en el futuro (89). Los futuros ensayos terapéuticos para la EHNA deberían ser aleatorios, control-placebo y doble-ciego, abarcar un mayor número de pacientes por periodos más prolongados, debiendo también valorarse el grado de lesión histológica antes y después del tratamiento. Las terapias combinadas (para mejorar la respuesta a la insulina y

disminuir el estrés oxidativo) deberán compararse con diferentes monoterapias.

Modificación de los hábitos de vida

La dieta y el ejercicio físico reducen significativamente el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 (90). Dada la importante relación existente entre resistencia a la insulina y el HGNA, parece aconsejable modificar estos hábitos. La pérdida de peso puede mejorar las alteraciones de las enzimas hepáticas y de la histología en pacientes con EHNA (91,92). La restricción dietética y la realización de ejercicio físico en obesos que consiguieron perder peso, produce una mejoría de las enzimas hepáticas en comparación con aquellos que mantienen o incrementan su peso (93); también las biopsias seriadas muestran una mejoría significativa de la esteatosis hepática (93).

Andersen y cols. (23) estudiaron 41 obesos mórbidos sometidos a una dieta muy hipocalórica (288 kcal/día), con lo que consiguieron una pérdida media de peso de 34 kg y comprobaron una mejoría analítica de la mayoría de los pacientes. También las biopsias seriadas mostraron alguna mejoría de la esteatosis; sin embargo, un 20% de los pacientes, sobre todo en aquellos con una más rápida pérdida de peso, presentaron un aumento de la inflamación portal y de la fibrosis. Es decir, una pérdida gradual de peso parece ser beneficiosa pero si la pérdida de peso es muy rápida puede ser pernicioso. Una gradual pérdida de peso de alrededor del 10% al cabo de seis meses es recomendada por algunos expertos.

Hipolipemiantes

Un ensayo aleatorizado con *gemfibrozilo* (94) a la dosis de 600 mg día durante cuatro semanas evidenció una mejoría significativa de las transaminasas, lo cual no ocurrió en los controles. La administración de *clofibrato* a la dosis de 2 g día durante un año no evidenció cambios en la analítica, la esteatosis, la inflamación o la fibrosis (95). El *bezafibrato*, en dos pacientes con cáncer de mama que desarrollaron EHNA por el tamoxifeno, determinó que en un TAC posterior no se detectaran signos de esteatosis hepática (96). Este fármaco al actuar, como ligando del receptor α del peroxisoma proliferante-activado, podría compensar la insuficiente beta-oxidación mitocondrial en pacientes con EHNA. El *probucol*, un hipolipemiente con fuertes propiedades antioxidantes, administrado a 27 pacientes con EHNA a la dosis de 500 mg/día durante 6 meses, logró descender de forma significativa las transaminasas (97). Con la *atorvastatina* se han obtenido resultados preliminares prometedores, sugiriendo que los inhibidores de la 3-hidroxi-3metilglutaril-coenzima A reductasa pueden ser útiles en el tratamiento de la EHNA (98).

Fármacos que mejoran la sensibilidad a la insulina

En ratones modelos de resistencia a la insulina e hígado graso, el tratamiento con tiazolidindionas (que actúan como ligandos con gran afinidad por los receptores γ del peroxisoma proliferante activado) o con metformina mejora ambas entidades (99,100). La administración de troglitazona mejoró significativamente las anomalías de la función hepática y también produjo cierta mejoría histológica en pacientes con HGNA (101); sin embargo, ha sido retirada del mercado como terapia de primera línea de la diabetes tipo 2 por haberse descrito algunos casos de hepatotoxicidad que potencialmente puede ser letal. Es posible que una segunda generación de tiazolidindionas como la darglitazona, la rosiglitazona o la pioglitazona, con menor potencial hepatotóxico, puedan ser útiles en la terapia del HGNA. Newschwander-Tetri y cols. (102) administraron rosiglitazona a la dosis de 4 mg/12 horas durante 48 semanas a 30 pacientes con EHNA, todos ellos con sobrepeso y la mitad con intolerancia hidrocarbonada o diabetes. En el 45% de estos pacientes observaron una mejoría de la actividad inflamatoria en la biopsia hepática y una casi completa normalización de las transaminasas al final del tratamiento; sin embargo, 6 meses más tarde volvieron a ascender a los niveles existentes antes del tratamiento; también se constató una mejoría significativa de la sensibilidad a la insulina. La administración de 45 mg diarios de pioglitazona a 11 pacientes con diabetes tipo 2 durante 6 semanas (103), provoca una elevación de la adiponectina plasmática, una disminución de la grasa hepática y una mejoría de la sensibilidad hepática y periférica a la insulina, lo que sugiere que pudiera jugar un importante pa-

pel en la movilización de la grasa hepática en pacientes con diabetes tipo 2.

La *metformina*, una biguanida que disminuye la hiperinsulinemia y mejora la resistencia hepática a la insulina, es usada como antidiabético oral; en otro pequeño grupo de pacientes con HGNA (39) también mejoraron significativamente las enzimas hepáticas y la esteatosis, probablemente en relación con la menor expresión hepática de TNF- α , una citoquina que, como se indicó previamente, induce resistencia a la insulina y provocar las lesiones necroinflamatorias características de la EHNA. Existen evidencias suficientes como para usar este fármaco con relativa seguridad en pacientes con EHNA y resistencia a la insulina y prediabetes (104). Estaría contraindicada, por el contrario, en pacientes con acidosis láctica potencial, insuficiencia renal, o insuficiencia cardíaca congestiva. La fenformina, en un ensayo de prevención de diabetes, fue bien tolerada por una amplia población de obesos insulina-resistentes y disminuyó significativamente la incidencia de diabetes declarada (90).

La *leptina* podría ser beneficiosa en pacientes lipodistróficos con HGNA, pese a que se considera que puede contribuir a la aparición de esteatosis y de EHNA por promover resistencia a la insulina, alterar la señal de la insulina en los hepatocitos, promover la síntesis de ácidos grasos y aumentar las respuestas proinflamatorias. En ratones lipodistróficos que desarrollaron deficiencia de leptina por la lipodistrofia asociada a resistencia a la insulina y esteatosis, se consiguió su curación administrando leptina (64).

Ácido ursodesoxicólico

Este ácido biliar hidrofílico con propiedades estabilizadoras de las membrana, citoprotectoras e inmunomoduladoras ha demostrado en tres estudios piloto (95, 105,106) que logra mejorar o normalizar las pruebas de función hepática; sin embargo, en otro estudio aleatorizado que incluyó 166 pacientes con EHNA comprobada histológicamente, y que recibieron 13-15 mg/kg/día de AUDC o placebo durante dos años, no se objetivaron al final del estudio cambios significativos en el grado de esteatosis, necroinflamación o fibrosis (107). Son necesarios nuevos estudios aleatorizados y controlados que incluyan un mayor número de pacientes, probablemente empleando dosis más elevadas (15-20 mg/kg/día) y mantenidas durante periodos más prolongados.

Antioxidantes

La *vitamina E* mejora las enzimas hepáticas a dosis de 400-1200 UI diarias vía oral en pacientes y también en ciertos modelos animales de HGNA (108,109). Podría mejorar la EHNA por la modulación de las citoquinas (110), inhibiendo la expresión intrahepática del TGF- β 1

implicado en la fibrogénesis. Por ser bien tolerada y barata su utilización en esta entidad parece atractiva. La betaína es un metabolito de la colina que en ratones alimentados con alcohol incrementa los niveles de S-adenosilmetionina y protege al hígado del depósito de triglicéridos y del estrés oxidativo por lo que pudiera tener alguna eficacia en el HGNA (111). En un estudio piloto que incluyó 10 pacientes con EHNA (112), la betaína logró reducir el nivel de transaminasas séricas y mejorar el grado de esteatosis, necroinflamación y fibrosis.

La *silimarina* es el derivado de hierbas más comúnmente usado en la terapia de hepatopatías que tiene también propiedades antioxidantes. Es un estimulante de la RNA polimerasa ribosómica, un quelante del hierro y un reductor de la actividad promotora tumoral. Velussi y cols. (113) valoraron la capacidad de la silimarina para disminuir la peroxidación lipídica y la resistencia a la insulina en diabéticos con cirrosis alcohólica. A los 12 meses de tratamiento se comprobó un descenso de la glucemia basal, de la insulina y del melandialdehído.

La *N-acetilcisteína* incrementa los niveles de glutathion en el hígado y le protege del estrés oxidativo. En once pacientes diagnosticados histológicamente de EHNA que fueron tratados durante 3 meses con 1.000 mg/día de N-acetilcisteína, se evidenció un descenso significativo de las transaminasas y de la gamaglutamiltranspeptidasa. Un paciente se retiró del estudio por epigastralgia (114).

Antibióticos

En ratas recibiendo nutrición parenteral total, la administración de polimixina B y metronidazol disminuyó el grado de esteatosis hepática y redujo la producción de TNF- α ; la mayor parte de este proviene de las células de Kupffer, que podían haber sido activadas por endotoxinas (115,116).

Suplementos nutricionales

La deficiencia de carnitina y/o colina puede contribuir a la aparición de esteatosis o de EHNA por disminuir la oxidación de ácidos grasos libres y la secreción de VLDL. En un grupo de pacientes sometidos a nutrición parenteral total prolongada, el suplemento intravenoso de

colina indujo una normalización de los niveles plasmáticos de colina y una desaparición completa de la esteatosis comprobada mediante TAC (117).

Flebotomías terapéuticas

Son otra opción a considerar en los pacientes con EHNA y sobrecarga férrica como se ha comentado previamente (55,56). La depleción de hierro ha sido beneficiosa respecto a la respuesta coronaria, la disfunción endotelial, la secreción de insulina, la acción insulínica y el control metabólico de la diabetes tipo 2 (118). Guillygomarc'h y cols. (119) mostraron que la realización de flebotomías a pacientes con sobrecarga de hierro hepático asociado a resistencia a la insulina no sólo consigue una mejoría subjetiva sin efectos adversos, sino que puede disminuir el riesgo de fibrosis hepática, cáncer o enfermedad cardiovascular. Facchini y cols. (120) mostraron que las flebotomías en pacientes con intolerancia hidrocarbonada e HGNA producen una mejoría de las concentraciones de insulina plasmática tanto en ayunas como tras el estímulo con glucosa y una casi normalización de las transaminasas. Esta observación sugiere que la depleción de hierro tiene un efecto ahorrador de insulina e indica el papel clave que juegan tanto el hierro como de la hiperinsulinemia la patogenicia del HGNA.

Trasplante hepático

Puede estar indicado en pacientes con cirrosis en estadios terminales secundarias a la EHNA. Aunque la evolución del trasplante suele ser buena, la EHNA puede recaer tras el trasplante (121-124). Las causas de esta recurrencia se desconocen aunque probablemente son múltiples, incluyendo la hipertrigliceridemia, la obesidad, la diabetes y la terapia corticoidea. Es importante resaltar que la esteatosis hepática grave e incluso la moderada puede ser causa de disfunción primaria del injerto, por lo que estos hígados no deberían aceptarse para donaciones.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido realizado en parte gracias a la beca CO3/02 de la Red Nacional de Centros de Investigación, Instituto de Salud Carlos III.