

PUNTO DE VISTA

Etiopatogenia, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad del hígado graso no alcohólica

Verónica Martín Domínguez, Rosario González Casas, Jorge Mendoza Jiménez-Ridruejo, Luisa García Buey y Ricardo Moreno-Otero

Servicio de Aparato Digestivo y CIBERehd (Instituto de Salud Carlos III). Hospital Universitario La Princesa. Instituto de Investigación Sanitaria Princesa (IIS-IP). Universidad Autónoma de Madrid. Madrid

RESUMEN

La enfermedad por hígado graso no alcohólica (EHGNA) comprende un amplio abanico de alteraciones que va desde la esteatosis simple hasta la esteatohepatitis y la cirrosis. La diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad son los principales factores asociados a la EHGNA. Se ha descrito una prevalencia en la población general de entre el 20-30 %. La supervivencia de estos enfermos es menor que la población general, presentando una mayor incidencia de complicaciones hepáticas y cardiovasculares. La etiopatogenia es desconocida en parte pero se conoce la intervención de diferentes factores que provocan la acumulación de ácidos grasos en el parénquima hepático, produciendo una situación de estrés oxidativo, la formación de radicales libres de oxígeno y la síntesis de una cascada inflamatoria de citocinas que determinan la progresión de la enfermedad desde esteatosis hasta fibrosis avanzada.

La prueba diagnóstica de elección continúa siendo la biopsia hepática, si bien el desarrollo de diferentes técnicas no invasivas, tanto serológicas como de imagen, ha abierto un nuevo campo de investigación que permite una evaluación incruenta de estos pacientes y un mejor estudio de la historia natural de la enfermedad. En la actualidad no existe un tratamiento específico. El desarrollo de hábitos de vida saludables y el ejercicio físico moderado continúan siendo los pilares básicos. Se han investigado y aplicado diferentes aproximaciones farmacológicas incluyendo el control de la resistencia a la insulina, hipolipemiantes, antioxidantes y otras alternativas en vía experimental.

Palabras clave: Esteatosis. Esteatohepatitis. Fibrosis. Hígado graso no alcohólica (EHGNA).

Martín Domínguez V, González Casas R, Mendoza Jiménez-Ridruejo J, García Buey L, Moreno-Otero R. Etiopatogenia, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad del hígado graso no alcohólica. *Rev Esp Enferm Dig* 2013;105:409-420.

Recibido: 21-09-2012
Aceptado: 03-04-2013

Correspondencia: Ricardo Moreno-Otero. Servicio de Digestivo (planta 3). Hospital Universitario de La Princesa. C/ Diego de León, 62. 28006 Madrid
e-mail: rmoreno@salud.madrid.org

ABSTRACT

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) includes a broad spectrum of alterations that go from simple steatosis to steatohepatitis and cirrhosis. Type 2 diabetes mellitus (DM-2) and obesity are the principle factors associated to NAFLD. A 20-30 % prevalence in general population has been described. The survival of this type of patient is lower than the general population's, showing a higher incidence of hepatic and cardiovascular complications. The aetiopathogenesis is still unclear, but we know the intervention of different factors that produce fatty-acid accumulation in hepatic parenchyma, causing oxidative stress, oxygen-free radicals and the synthesis of an inflammatory cascade, that determine the progression of this disease from steatosis up to advanced fibrosis.

The diagnostic gold-standard is still the liver biopsy, even though the development of newer non-invasive techniques, like serological and imaging (radiology), have opened a new field for research that allows bloodless testing of these patients and better study of the natural history of this disease. Nowadays, there is still no specific treatment for NAFLD. The development of healthy life habits and moderate exercise continue to be the pillars of treatment. Different pharmacological approaches have been studied and applied, such as the control of insulin resistance, lowering cholesterol levels, antioxidants, and other alternatives in experimental trials.

Key words: Steatosis. Steatohepatitis. Fibrosis. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD).

INTRODUCCIÓN

La enfermedad del hígado graso no alcohólica (EHGNA) puede desarrollar un amplio espectro de manifestaciones clínicas y patológicas, indistinguibles de las que se observan en los pacientes alcohólicos (1). La EHGNA es secundaria a la acumulación de grasa, principalmente triglicéridos (TG), en los hepatocitos, y los pacientes pueden presentar lesiones de esteatosis hepática simple (EH), esteatosis con inflamación (esteatohepatitis, EHNA), cirrosis y carcinoma hepatocelular (CHC) (2).

La diabetes mellitus tipo 2 (DM-2) y la obesidad son los principales factores asociados a la EHGNA que está consi-

derada como la expresión hepática del síndrome metabólico, por lo que su prevalencia aumenta en paralelo con el de dichas dos entidades. Se estima que es la principal causa de hepatopatía crónica en USA y se cree que las “cirrosis criptogénicas” se asocian a la EHGNA (3).

EPIDEMIOLOGÍA

La prevalencia en la población general es del 20-30 % en los países occidentales y del 15 % en los asiáticos. La EHGNA se ha observado en sujetos de todas las edades, incluyendo niños, donde la prevalencia (10-15 %) es menor que en los adultos. Como regla general, la prevalencia aumenta con la edad, afectando por igual a ambos sexos (3). Entre un 90 al 100 % de los pacientes diagnosticados de obesidad presentan algún grado de EHGNA. Entre los que padecen DM-2 la prevalencia oscila del 10 al 75 % y en aquellos con hiperlipidemia entre el 20 y el 92 % (3). En cuanto al espectro de la enfermedad, la EH varía entre el 39-51 %, la EHNA del 20-35 % y la cirrosis alrededor de un 3 % (1,4). Se considera que la EHGNA es la causa más frecuente de hipertransaminasemia persistente y de cirrosis criptogénica en adultos (5).

La variabilidad de manifestaciones, de la progresión y curso de la enfermedad entre individuos de diferentes razas, así como la incidencia observada en algunas familias, ha despertado el interés por el estudio de mutaciones que pudieran determinar una predisposición genética. Se desconocen por ahora los genes responsables, pero se han propuesto numerosos candidatos: a) genes relacionados con obesidad abdominal y DM-2; b) genes supresores de la salida de las VLDL (*very low-density lipoprotein*) de los hepatocitos; c) mutaciones y polimorfismos de genes asociados al estrés oxidativo o del gen de la enzima protectora superóxido dismutasa; y d) genes responsables de la respuesta inflamatoria y de la fibrogénesis (6). Entre las mutaciones en estudio están la sobreexpresión de genes como receptor 1 del TNF- α , M-CSF (factor estimulante de colonias de macrófagos) y del TRAIL- R2 (estimulante de la apoptosis) (7). La existencia de un polimorfismo no sinónimo rs738409 en el gen PNPLA3 (8) predice la gravedad en pacientes con EHGNA y su asociación con la fibrosis. Los estudios actuales se centran en análisis tipo “*genome-wide association*” para identificar marcadores de gravedad de la EHGNA (6).

HISTORIA NATURAL

La progresión de esta lesión hepática depende del daño histológico en el momento del diagnóstico; así, la EH tiende a permanecer más o menos estable mientras que la EHNA tiende a evolucionar a cirrosis y CHC. El “patrón oro” diagnóstico es la biopsia hepática, pero en esta hepatopatía de larga evolución es difícil seguir amplios grupos

de población mediante biopsias seriadas; en un intento de evitar este método invasivo estudiando la implementación diagnóstica y pronóstica de diferentes métodos no invasivos (9).

En un estudio evolutivo de 132 pacientes durante 10 años de seguimiento se comprobó que el 25 % con EHNA habían progresado a cirrosis, falleciendo un 12 % en relación con la hepatopatía (7). Los factores que comportan un mayor riesgo evolutivo de la EHNA son la edad mayor de 40 años, un índice de masa corporal (IMC) > 40 kg/m², una relación AST/ALT superior a 1 y la coexistencia de DM-2 o hiperlipemia. La mortalidad asociada a EHGNA depende del estadio de la enfermedad, ya que los pacientes con EH o fibrosis mínima tienen un riesgo muy bajo de fallecimiento a los 10 años; sin embargo, aquellos con lesiones más avanzadas tienen el riesgo de sufrir complicaciones como insuficiencia hepatocelular, hemorragia por rotura de varices, ascitis, síndrome hepatorenal y CHC. El riesgo de mortalidad es mayor que en los pacientes con cirrosis por otras causas, debido a la asociación de la EHNA con factores metabólicos y de riesgo cardiovascular (3,10). También se ha descrito una mejoría histológica en algunos pacientes con EHNA (9). Tras adelgazar, se detecta una disminución de la inflamación e incluso de la fibrosis perisinusoidal, sobre todo si la pérdida de peso es gradual y la dieta se asocia con ejercicio físico (11). En ciertos casos se manifiesta una insuficiencia hepática debido a la rápida pérdida de peso, cualquiera que sea el método de adelgazamiento, pero sobre todo en pacientes con obesidad mórbida sometidos a cirugía bariátrica (3,10).

PRONÓSTICO

La EHGNA se describe en íntima relación con la epidemia de obesidad de distribución universal; es decir, el proceso tiene una base metabólica y su gravedad es variable. La EH tiene un buen pronóstico, pero los pacientes que no corrigen su problema metabólico tienden a presentar una evolución desfavorable. Por el contrario, los enfermos con EHNA pueden progresar a cirrosis y desarrollar un CHC. La edad y la presencia de inflamación en la biopsia inicial fueron factores predictivos independientes de progresión de la lesión EHGNA a fibrosis avanzada y cirrosis (12).

En los pacientes con cirrosis secundaria a EHNA, el CHC y el fallo hepatocelular son las principales causas de morbi-mortalidad. La tasa acumulativa de desarrollo de un CHC fue del 11,3 %, con una tasa de supervivencia a los 5 años del 75,2 %; la proporción acumulada de recurrencia del CHC a los 5 años de seguimiento fue de un 72,5 %. Las conclusiones a extraer de estos datos son de suma importancia y establecen la necesidad de un seguimiento protocolizado de los pacientes con EHNA para la prevención de las complicaciones de la cirrosis, con endoscopia para evaluar la formación de varices esofágicas y con ecografía para el diagnóstico precoz del CHC (12).

La EHGNA comporta con un riesgo incrementado de muerte relacionada con enfermedad cardiovascular y puede predecir futuros eventos cardiovasculares, de forma independiente al sexo, edad, niveles de LDL o colesterol y el consumo de tabaco. Existen múltiples estudios que relacionan los niveles elevados de enzimas hepáticas -principalmente gamma-GT (gamma glutamil transpeptidasa)- con riesgo elevado de sufrir ictus o enfermedad coronaria. En el estudio Hoorn, de cohortes en población caucásica de entre 50-75 años, se encontró un riesgo elevado de enfermedad coronaria o cardiovascular en relación con elevaciones de la ALT sobre el nivel basal (13). En una revisión reciente se enfatiza que los pacientes con EHGNA poseen un riesgo significativamente aumentado de padecer enfermedades cardiovasculares y renales (14), incluso en los pacientes trasplantados por EHGNA. Existen abundantes estudios básicos y clínicos prospectivos sobre la actividad de la pentraxina 3 (PTX3) en relación con los procesos inflamatorios asociados a enfermedades cardiovasculares. Su expresión primordial son las lesiones arterioescleróticas y se está investigando en profundidad si sus concentraciones plasmáticas son válidas para utilizarlo como nuevo biomarcador de inflamación cardiovascular (15). En lo que respecta a pacientes con EHGNA no hay resultados en la actualidad aunque abundan las investigaciones en esta línea de estudio.

ETIOPATOGENIA

Las numerosas situaciones clínicas que se han relacionado con la EHGNA se pueden agrupar en 6 grupos etiológicos (3) (Tabla I); sin embargo, hay una elevada asociación, hasta de un 80 %, entre esta hepatopatía y el síndrome metabólico. Los signos histológicos de EH son especialmente característicos en la población obesa y en los pacientes con DM-2 (16). Estas dos entidades se han asociado con resistencia periférica a la insulina e intolerancia a la glucosa. La dislipemia, en especial la hipertrigliceridemia, también se asocia con esteatosis. Sin embargo, a pesar de que el sobrepeso y la obesidad están presentes en la mayoría de los pacientes, la EHGNA también puede ocurrir en sujetos con peso normal y constituir en estos un factor de riesgo cardiovascular independiente (10).

El mecanismo patogénico de la EHGNA se asocia con la resistencia a la insulina y se explica como la teoría del “doble impacto” (11,17). En el “primer impacto”, la disminución en la capacidad celular de responder a la acción de la insulina produce una hiperinsulinemia compensatoria. En el tejido adiposo actúa sobre la *lipasa sensible a hormonas* (LSH) favoreciendo la lipólisis con la consecuente liberación de ácidos grasos libres (AGL) al hígado. En el musculoesquelético disminuye la absorción de glucosa, mientras que en el hepatocito la hiperinsulinemia aumenta la gluconeogénesis, disminuye la glucogenosíntesis y aumenta la captación de los AGL, altera el transporte de triglicéridos como VLDL e inhibe su beta-oxidación. Estas

Tabla I. Clasificación de las diferentes causas asociadas con la EHGNA

Enfermedades genéticas y metabólicas

Obesidad
Diabetes mellitus
Hiperlipemia
Enfermedad de Wilson
Lipodistrofia
Enfermedad de Weber Christian
Hemocromatosis
Enfermedad de almacenamiento de esteres de colesterol

Fármacos

Corticoides
Estrógenos
AINE
Antagonistas de calcio
Amiodarona
Tamoxifeno
Tetraciclinas
Cloroquina
Antirretrovirales
Perhexilina

Toxinas ambientales

Condiciones extrahepáticas

Insuficiencia cardiaca
Enfermedad inflamatoria intestinal
Síndrome de sobrecrecimiento bacteriano
Hipotiroidismo
Síndrome de ovario poliquístico
Embarazo
Enfermedades neoplásicas

Condiciones nutricionales

Bypass yeyuno-ileal
Nutrición parenteral total
Ayuno prolongado
Malnutrición proteica
Dieta rica en carbohidratos

Infecciones

Hepatitis B y C
Infección por VIH

alteraciones en el metabolismo de las grasas son la base de la aparición de esteatosis hepática (11) (Fig. 1). Este “primer impacto” resulta de la interacción de diversos factores, como la resistencia hepática a la leptina o la reducción de niveles de adiponectina, por lo que sería más correcto hablar de “múltiples impactos”, con predominio de uno u otro según los pacientes.

El “segundo impacto” es consecuencia del estrés oxidativo en hepatocitos que se compensa al principio por los mecanismos antioxidantes celulares; sin embargo, la sobrecarga hepática de AGL genera radicales libres de oxígeno (RLO) en la cadena mitocondrial que actúan sobre los ácidos grasos de las membranas celulares causando

peroxidación lipídica. Los RLO inducen la síntesis de citocinas proinflamatorias por las células de Kupffer y los hepatocitos, tales como: a) factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), que activa la vía de las caspasas y conlleva a la apoptosis de los hepatocitos; b) factor de crecimiento transformante beta-1 (TGF- β 1), que activa la síntesis de colágeno por las células estrelladas; c) ligandos Fas que ocasionan “muertes fratricidas” en los hepatocitos adyacentes; y d) interleuquina 8 (IL-8), potente quimiotáctico de neutrófilos. Los productos finales de la peroxidación lipídica, el 4-hidroxinonenal (HNE) y el malonildialdehído (MDA), también están implicados en la génesis de lesiones hepáticas por toxicidad directa, pueden intervenir en la formación de cuerpos de Mallory e incrementan la síntesis de colágeno por las células estrelladas; además el HNE tiene actividad quimiotáctica de neutrófilos (18-22). Esta segunda fase explicaría la evolución hacia fenómenos necroinflamatorios, fibrosis y cirrosis hepática (Fig. 1). En diferentes estudios (23-28) se exponen otros factores implicados en la patogenia de la EHGNA:

1. La resistencia a la insulina provoca concentraciones elevadas de *ferritina sérica*, mayor expresión de los receptores de transferrina y aumento de hierro hepático, lo que contribuye a la generación de radicales hidroxilo y a la acumulación de RLO; sin embargo, su papel en la patogenia de la EHGNA aún no está aclarado (23).
2. También se involucra a la generación de *adipocinas* por el tejido adiposo. Debido a sus efectos endocrinos, paracrinos y sistémicos, se comportan como hormonas y podrían desempeñar un papel proinflamatorio en la EHGNA.
3. El papel de la *adiponectina* está ampliamente descrito por sus efectos antiinflamatorios, antiateroscleróticos, antilipogénicos e hipoglicémicos, además por su mecanismo protector del desarrollo del hígado graso y su capacidad de actuar sobre las células estrelladas inhibiendo la fibrogénesis (23). Se han identificado dos receptores para adiponectina: tipo I en el musculoesquelético, y tipo II en el hígado cuya disminución se ha

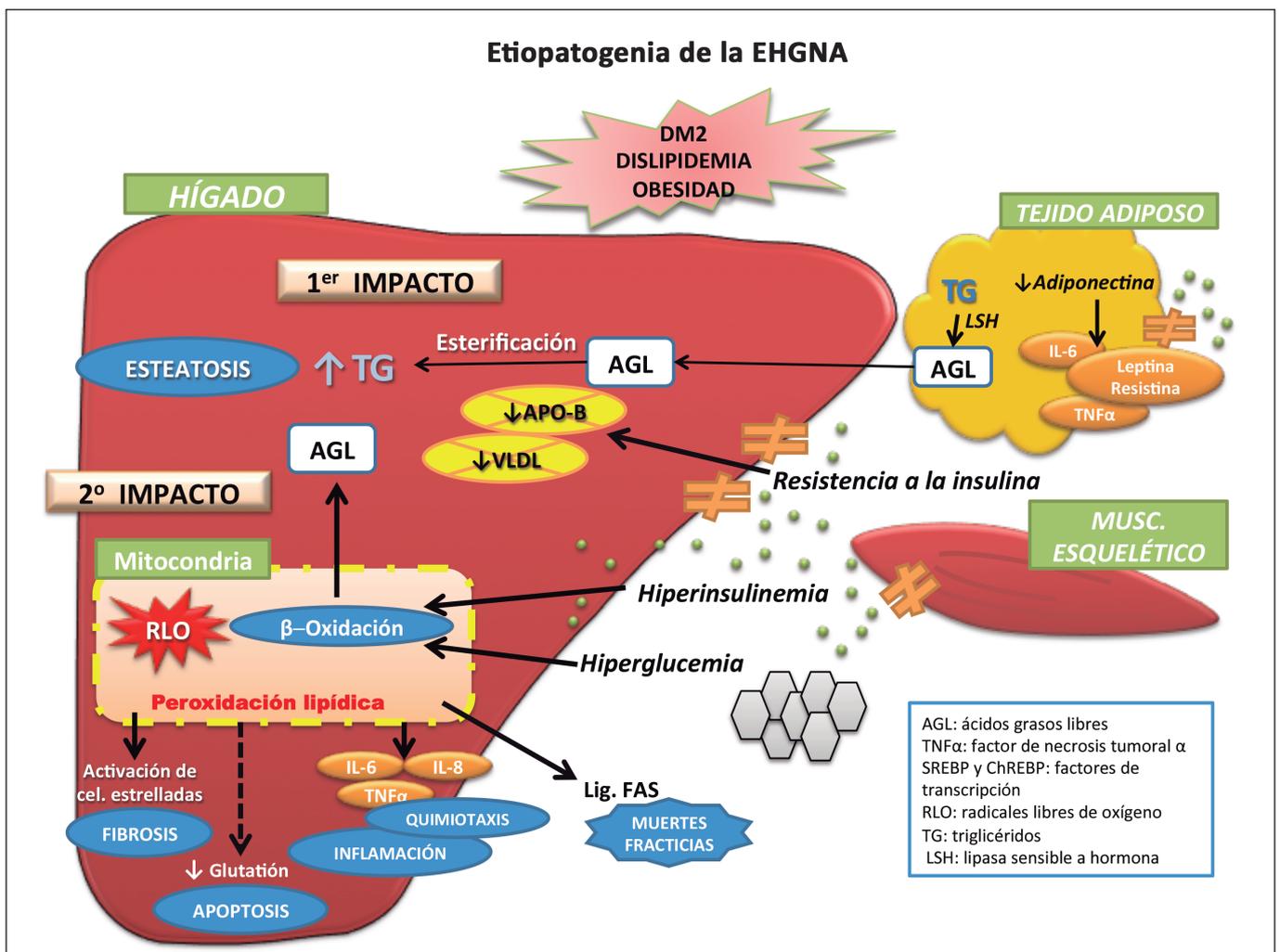


Fig. 1. Etiopatogenia de la EHGNA (autor: Verónica Martín).

asociado a un mayor grado de esteatosis en sujetos con niveles de adiponectina similares, aunque encontrándose una mayor expresión de sus receptores con la progresión de EHGNA (24). La obesidad (principalmente visceral) y el sobrepeso se han asociado a niveles bajos de adiponectina, debido a la inhibición por parte del TNF- α ; este desequilibrio puede ser uno de los mecanismos fisiopatológicos de la EHGNA y la regulación de las vías que controlan su producción y señalización pudiera representar una diana terapéutica prometedora (25). El descenso de adiponectina puede ser la “expresión en el órgano del síndrome metabólico”.

4. La *leptina* es otra citocina cuya primera resistencia se describió a nivel hipotalámico en los núcleos de control de la saciedad, si bien en la actualidad la resistencia a la insulina está asociada con una resistencia a la leptina a nivel periférico, en el musculoesquelético. En los pacientes con EHGNA, las concentraciones séricas de leptina se encuentran elevadas y se relacionan con el grado de esteatosis (26); sin embargo, no se correlacionan con el grado de fibrosis ni parece mejorar ni revertir el problema, por lo que se ha llegado a proponer la *teoría de resistencia a leptina*, que está asociada a obesidad, resistencia a la insulina y niveles de glucosa elevados en pacientes con EHGNA (26).
5. El *sobrecrecimiento bacteriano* y una mayor translocación bacteriana a la circulación sistémica y portal, así como el aumento de los niveles séricos de lipopolisacáridos (LPS) bacterianos y endotoxinas, y la activación de la señalización proinflamatoria (TNF- α e IL-6) se ha observado en diferentes hepatopatías crónicas incluyendo la EHGNA (27).
6. El *sistema cannabinoide* también juega un papel fundamental en la fisiopatología de las hepatopatías crónicas. La regulación positiva del sistema endocannabinoide durante las enfermedades crónicas del hígado participa en la patogenia de la necrosis de hepatocitos, la inflamación y la fibrogénesis (28).

DIAGNÓSTICO

Se establece en base a diferentes herramientas de aplicación clínica (Tabla II) que se exponen a continuación.

Evaluación clínica

- *Exploración física y antropométrica*: la mayoría de los pacientes con EHGNA están asintomáticos al diagnóstico (50-75 %) o presentan síntomas inespecíficos como astenia, malestar general o dolor en hipocondrio derecho (30-40 %). Únicamente entre un 5-10 % debutan con una hepatopatía descompensada. En el examen físico es frecuente la hepatomegalia (55-85 %) y los signos de hepatopatía avanzada.

Tabla II. Evaluación diagnóstica de EHGNA

Evaluación clínica

- Exploración física y antropométrica
- Exclusión de un consumo excesivo de alcohol
- Exclusión de otras causas de hígado graso de etiología no alcohólica

Marcadores séricos e índices bioquímicos

- Pruebas bioquímicas
- Biomarcadores y marcadores directos de inflamación y fibrosis
- Modelos matemáticos que incluyen variables clínicas y analíticas

Pruebas de imagen

- Ultrasonografía
- Tomografía computarizada (TC)
- Resonancia magnética nuclear (RMN)
- Elastografía de transición (FibroScan®)
- Nuevas técnicas de imagen

Biopsia hepática

- *Exclusión de un consumo excesivo de alcohol*: es un criterio diagnóstico básico por lo que se debe excluir de forma rigurosa a través de un interrogatorio exhaustivo y cuidadoso al paciente y, a menudo, a los familiares y amigos. No se podrá establecer el diagnóstico de la EHGNA si el paciente refiere una ingestión alcohólica de > 20 g/día de alcohol en las mujeres y > 30 g/día en los hombres. En ocasiones, es importante apoyarse en parámetros analíticos que pueden indicar alcoholismo activo (5). Actualmente, el parámetro de mayor sensibilidad y especificidad como marcador de alcoholismo crónico es el cociente transferrina desialilada/transferrina total > 1 (27). En casos de difícil comunicación con el paciente o familia se precisa la determinación de alcoholemia o alcoholuria.
- *Exclusión de otras causas de hepatopatía crónica*: se deberán realizar todos los estudios necesarios (determinaciones bioquímicas e inmunoserológicas) para excluir otras etiologías como víricas, autoinmunes, metabólicas o tóxicas.

Marcadores séricos e índices bioquímicos

- *Pruebas bioquímicas*: hasta un 80 % de los pacientes con EHGNA tienen las pruebas de función hepáticas normales. La elevación de transaminasas es poco frecuente y en general de menos de 4 veces el valor normal, rara vez superándolo en 10-15 veces, pero sus niveles no se correlacionan con el grado de EH o la fibrosis. A diferencia de la hepatopatía alcohólica, la relación ALT/AST > 1 está presente en el 85-90 % de los casos. También es frecuente la elevación de gamma-GT y FAL al doble o al triple en el 50 % de los

pacientes. La bilirrubina y la albúmina suelen permanecer normales hasta etapas avanzadas de la hepatopatía (29). Un 20-50 % de estos pacientes presentan niveles elevados de ferritina e incremento de la saturación de transferrina; sin embargo, ninguno de estos datos son específicos para establecer el diagnóstico de EHGNA, no proporcionan información sobre la etiología ni diferencian entre los estadios de EH y EHNA (29).

– *Biomarcadores y marcadores directos de inflamación y fibrosis*: varios métodos no invasivos están en estudio para evaluar la presencia de esteatosis, necroinflamación y fibrosis, con el fin de evitar la realización de la biopsia hepática. Es importante identificar el grado de inflamación, ya que juega un papel central en la progresión del EHGNA (29).

La proteína C reactiva (PCR) es un reactante de fase aguda de síntesis hepática, cuyos niveles plasmáticos pueden ser útiles para diferenciar entre EH y EHNA. La pentraxina plasmática 3 (PTX3) es un nuevo reactante de fase aguda que permite la evaluación del estadio de fibrosis, en correlación con los niveles de IL-6, y además es marcador de inflamación cardiovascular (15). El TNF- α está altamente expresado en la EHNA y la citoqueratina 18 es un marcador relativamente nuevo de apoptosis y del índice de actividad y gravedad de la EHNA (4,29). Aunque varios parámetros que determinan el estrés oxidativo (la actividad glutatión peroxidasa, actividad de la superóxido dismutasa y niveles de vitamina E) se han evaluado, su utilidad clínica aún no está demostrada (18,22).

– *Modelos matemáticos que incluyen variables clínicas y analíticas*: SteatoTest (BioPredictive), Fibrospect y “NAFLD fibrosis score” (NFS). El SteatoTest es un ensayo cualitativo que estima la EH evaluando nueve marcadores bioquímicos (alfa 2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína 1, bilirrubina total, gamma-GT, glucosa en ayunas, triglicéridos, colesterol y ALT) ajustados a edad, sexo, peso y altura del paciente. Este test ha sido validado para la evaluación de la EHNA, con sensibilidad del 33 % y especificidad del 94 % (30). El Fibrospect evalúa la fibrosis mediante el análisis de marcadores como el ácido hialurónico, un inhibidor de metaloproteinasas, la α -2 macroglobulina, la gamma-GT, la haptoglobina, bilirrubina y una apolipoproteína (29,30). El NFS utiliza 6: edad, IMC, diabetes, relación AST/ALT, plaquetas y albúmina; evaluado en una cohorte de 733 pacientes con EHGNA y biopsia hepática, sus puntos de corte permiten predecir la existencia o ausencia de fibrosis avanzada (30). Por último, el índice de hígado graso (IHG) valora índice de masa corporal, circunferencia abdominal, triglicéridos y gamma-GT; estudiado en 1.300 individuos aparentemente sanos, se encontró que predice la resistencia a la insulina y los factores de riesgo cardiovascular, aparte de tener valor potencial para detectar EHGNA en la población general (29).

Pruebas de imagen

– *Ultrasonografía, tomografía axial computerizada (TC) y resonancia magnética (RMN) (29-31)*: la ECO abdominal es la primera técnica de elección para el diagnóstico de EHGNA. Evalúa la presencia de esteatosis con una sensibilidad entre 60 % y 94 %, aunque es muy baja cuando el grado de esteatosis es inferior al 30 %, siendo la especificidad próxima al 90 % (29). Según estos autores, el diámetro longitudinal del bazo puede diferenciar entre EH y EHNA -cuando el valor es superior a 116 mm (29)-, incluso mejor que la determinación de IL-6 o del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF). En el protocolo de la Asociación Canadiense de Radiología (31) se correlaciona positivamente con EHGNA los siguientes hallazgos: a) aumento de ecogenicidad respecto al riñón; b) áreas no comprometidas, definidas como zonas específicas del hígado sin infiltración grasa; c) visualización de la pared de vasos portales y diafragma; d) atenuación del sonido; y e) hepatomegalia.

La TC es aplicable para evaluar el engrosamiento del tejido adiposo subcutáneo abdominal y para medir la grasa del hígado. Detecta la esplenomegalia secundaria a hipertensión portal, sugiriendo fibrosis avanzada por EHGNA. La TC permite clasificar la EH mediante el cálculo de la relación de atenuación del hígado y del bazo; sus limitaciones son la dificultad para identificar las fases intermedias de fibrosis y su aplicación en programas de seguimiento debido a la radiación (29).

La RMN ofrece una evaluación precisa y rápida de la HE, incluso de un nivel inferior al 3 %. La fase de contraste de imagen permite la evaluación cuantitativa de la infiltración de grasa con buena correlación histológica, permitiendo diferenciar la EH de la EHNA mediante el uso de contraste y con una sensibilidad del 88 % (29-31).

– Nuevas técnicas de imagen:

- *Elastografía transitoria (FibroScan®)*: es un método no invasivo que evalúa la fibrosis hepática y parece ser más sensible que los marcadores serológicos (29). La precisión para evaluar la fibrosis avanzada y la cirrosis es buena pero es poco fiable en las personas obesas (IMC > 28), en presencia de ascitis y cuando los espacios intercostales son estrechos (30-32). Recientemente se ha incluido un nuevo parámetro denominado “Controlled Attenuation Parameter” (CAP), que permite valorar eficientemente la esteatosis y la fibrosis directamente mediante el FibroScan (33).

- *Espectroscopia por resonancia magnética de protones (ERM)*: mide la fracción de protones de grasa y los niveles de triglicéridos hepáticos (HTGC). Un HTGC > 5 % es el nivel de diagnóstico de EH. La ERM caracteriza los procesos metabólicos que intervienen en la regeneración celular, por lo que se puede evaluar cuantitativamente la intensidad de la esteato-

sis en la EHGNA. Un aumento de la relación ATP/ fosfato podría ser una señal de progresión a una fase avanzada de fibrosis. La ERM parece más específica que los anteriores procedimientos, pero es necesaria la validación mediante estudios controlados (29).

- *Fuerza de radiación acústica de impulsos (ARFI) o elastosonografía*: propuesta como un método alternativo al FibroScan, utiliza ondas acústicas para determinar la rigidez mecánica del hígado. Una ventaja del ARFI es que se integra en una ecografía convencional del sistema, y así, se puede realizar durante las pruebas estándar. Según datos preliminares la ARFI es eficaz para evaluar la fibrosis hepática, aunque su eficacia para la evaluación de la EHGNA aún no se ha establecido (32).
- *Elastografía por resonancia magnética*: posee una mayor precisión diagnóstica de la fibrosis y no se ve tan condicionada por el IMC (29).

Biopsia hepática

Es la prueba “*Gold Standard*” para la evaluación de la EHGNA. Clasifica a los pacientes según la intensidad de la esteatosis, grado de inflamación y estadio de fibrosis, y pronostica su evolución hacia cirrosis (4). El diagnóstico histológico se hace a través del estadiaje semicuantitativo modificado de Brunt (34), clasificando la actividad inflamatoria en grados de 0 a 3 y la fibrosis en estadios de 0 a 4 (Tabla III). Recientemente, el “NASH Clinical Research Network” ha desarrollado un nuevo score para la clasificación cuantitativa de la EHGNA, que incluye los siguientes criterios: esteatosis, inflamación lobulillar, balonización hepatocitaria, cuerpos de Mallory y fibrosis. Puede distin-

Tabla III. Clasificación modificada de Brunt

<i>Grado de esteatosis macrovesicular:</i>
0: no existe
1: < 33 %
2: 33-66 %
3: > 66 %
<i>Actividad necroinflamatoria:</i>
1: Leve: esteatosis < 60 %, pocos hepatocitos balonizados, escasos neutrófilos ± linfocitos, inflamación portal mínima o inexistente
2: Moderada: esteatosis, abundantes hepatocitos balonizados, numerosos neutrófilos, inflamación portal
3: Intensa: esteatosis panlobulillar, degeneración balonizante intensa, infiltración difusa por neutrófilos, inflamación portal
<i>Estadio de fibrosis:</i>
Perisinusoidal o pericelular
Perisinusoidal o pericelular y fibrosis portal o periportal
Perisinusoidal o pericelular, fibrosis portal y fibrosis en puentes focal o extensa
Cirrosis

guir la EH de la EHNA, y valora la fibrosis en 5 estadios; 0: ausencia de fibrosis, 1: fibrosis perisinusoidal o portal, 2: fibrosis perisinusoidal y portal/periportal, 3: fibrosis septal o en puentes, y 4: cirrosis (35).

Se considera un inconveniente de la biopsia hepática el que sea un método invasivo, sujeto a complicaciones y a errores inter- e intraobservador. Sin embargo, hoy en día se sigue utilizando en la mayoría de los centros, ya que a pesar de los avances tecnológicos no existe otro método que establezca una completa correlación entre la clínica, los datos analíticos y la biopsia (4).

TRATAMIENTO

Por ahora no hay un tratamiento estandarizado de la EHGNA (Tabla IV) y tampoco existe consenso sobre cuál es el más adecuado para cada paciente y el momento de comenzar. Sin embargo, la variedad de pautas terapéuticas y modos de actuación no son opciones excluyentes. En primer lugar debe evitarse el consumo de alcohol, así como los tratamientos con fármacos potencialmente hepatotóxicos.

Tabla IV. Tratamiento farmacológico y no farmacológico de la EHGNA

<i>Tratamiento no farmacológico</i>
<i>Cambios en el estilo de vida: dieta y ejercicio</i>
Evitar sedentarismo
Dieta equilibrada y rica en fibra vegetal
Ejercicio físico continuado
Evitar pérdida brusca de peso (como en la cirugía bariátrica)
<i>Cirugía bariátrica</i>
<i>Tratamiento farmacológico</i>
<i>Tratamiento de la resistencia a la insulina</i>
Tiazolidindionas
Metformina
Miméticos de incretinas
<i>Fármacos que inducen la pérdida de peso</i>
Orlistat
Sibutramina
Bloqueantes del receptor canabinoide: rimonabant
<i>Hipolipemiantes: estatinas</i>
<i>Agentes citoprotectores y antioxidantes</i>
Pentoxifilina
Ácido ursodesoxicólico
Tocoferol: vitamina E
N-Acetilcisteína
Betaína
<i>Bloqueantes de los receptores de angiotensina II (ARA II)</i>
<i>Otras opciones terapéuticas en investigación</i>
Antibióticos y probióticos
gonistas de los receptores farnesoide X
Flebotomías y terapia quelante de hierro
Suplementos de Omega 3
<i>Trasplante hepático</i>

Tratamiento no farmacológico

Modificaciones en el estilo de vida mediante dieta y ejercicio: suponen las principales bases terapéuticas. La pérdida de peso, a través de la restricción calórica, puede por sí misma mejorar las cifras de transaminasas, la resistencia a la insulina y en algunos casos los datos de la biopsia (esteatosis e inflamación lobulillar, sobre todo en los pacientes con fibrosis mínima). La mejor manera de perder peso de forma mantenida supone un cambio en la conducta alimentaria, reduciendo la ingestión calórica a 500-1.000 kcal/día. El objetivo supone una pérdida de peso en un 5-10 % durante 6 a 12 meses, ya que una pérdida más rápida o una dieta más estricta moviliza los ácidos grasos del hígado y puede provocar un aumento de la inflamación portal (36).

La práctica de ejercicio de intensidad mediana, como caminar 30-45 min/día a un ritmo continuado, mejora la sensibilidad a la insulina y la homeostasis de la glucosa (36), reduce la secreción de VLDL apolipoproteína B y previene la esteatosis, probablemente como resultado de la estimulación de la oxidación de lípidos y la inhibición de la síntesis de lípidos en el hígado a través de la activación de la vía AMPK (37). Estos beneficios del ejercicio son independientes de la pérdida de peso. Combinando la pérdida de peso mantenida por la dieta hipocalórica con el aumento de la actividad física, se reducen significativamente las enzimas hepáticas en pacientes obesos con EHNA (37).

Cirugía bariátrica: es una de las opciones más eficaces para lograr a largo plazo la pérdida de peso en pacientes con obesidad severa. Está indicada en pacientes con IMC > de 35 kg/m² con comorbilidad asociada o con IMC > 40 kg/m². Inicialmente se describieron casos de esteatosis severa producida por la rápida pérdida de peso, en especial con el *bypass yeyuno-ileal*; sin embargo, actualmente el *bypass gástrico-proximal* ha paliado este problema. La cirugía bariátrica en pacientes con EHGNA ha mostrado los efectos beneficiosos de la pérdida de peso sobre la histología hepática y la elevación enzimática del hígado (37-39).

Tratamiento farmacológico (Fig. 2)

Tratamiento de la resistencia a la insulina

Tiazolidinedionas: actúan sobre el receptor nuclear PPAR- γ de tejido adiposo, donde aumenta la lipogénesis y secuestra los ácidos grasos. Este receptor es, además, un marcador de adipocitos diferenciados y un factor de transcripción esencial en la expresión de adiponectina. El receptor se activa con estos fármacos y produce un efecto potenciador de la insulina, promueve la absorción de ácidos grasos en los adipocitos y su acumulación en forma de triglicéridos y, en consecuencia, se reduce la oferta de AGL hacia el hígado (37).

En una revisión sistemática sobre el valor de los sensibilizadores de insulina en pacientes con EHGNA, se demostró que la *pioglitazona* mejora todos los parámetros

de la histología hepática (40); sin embargo, después de la interrupción del tratamiento los niveles de transaminasas pueden volver a los valores basales (41). La eficacia de la *rosiglitazona* en la EHGNA se observó mediante el estudio FLIRT, donde se apreció un efecto significativo antiesteatogénico en el primer año, pero sin que existiera un beneficio adicional con el tratamiento más prolongado (42). La comercialización de la *rosiglitazona* fue suspendida por producir un aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular.

Metformina: es una biguanida sensibilizante a la insulina que se utiliza ampliamente en el tratamiento de la DM-2. Su diana se localiza en la mitocondria donde estimula la beta-oxidación y la actividad piruvato-cinasa, suprimiendo además la expresión de enzimas lipogénicas. Sus principales efectos son la reducción de la síntesis hepática de glucosa, el aumento de la captación de insulina en el musculoesquelético y en los adipocitos, y una disminución de la oxidación de AGL (43). Los niveles de transaminasas y el daño histológico se reducen en los pacientes con EHGNA tratados con metformina (44). En un metanálisis, se demostró que la metformina produce una cierta mejoría de la EH y la EHNA; según la mayoría de estudios, la metformina da lugar a una pérdida significativa en la resistencia a la insulina y a una reducción de peso en los pacientes con EHGNA (40). Sin embargo, en el momento actual las guías publicadas sobre EHGNA por la AASLD no recomiendan su uso (45).

Miméticos de incretinas: las incretinas –péptido inhibidor gástrico (GIP) y péptido similar al glucagón (GLP-1)– son proteínas del intestino que se secretan cuando se ingiere alimento y actúan estimulando la producción de insulina por las células beta del páncreas. Tienen diversos efectos extrapancreáticos incluyendo la regulación de la producción de glucosa hepática, la inhibición de la secreción exocrina del páncreas, los efectos cardioprotectores y cardioprotectores, la regulación del apetito y la saciedad, y la estimulación de los nervios sensoriales aferentes. Su uso actualmente se reserva para el tratamiento de la diabetes, aunque pudiera ser una opción terapéutica para la EHGNA (37).

Fármacos que inducen la pérdida de peso

Orlistat: produce una pérdida de peso moderada al reducir la absorción de grasas en un 30 % mediante la inhibición de las lipasas gástrica y pancreática (37). Existen estudios con resultados contradictorios en pacientes con EHGNA, donde no se ha observado pérdida de peso, ni mejoría de los valores de transaminasas ni de la histopatología en pacientes con sobrepeso, en comparación con la ingestión de dieta hipocalórica y suplementos de vitamina E. Debido a que el orlistat produce un síndrome de malabsorción intestinal se recomienda la administración suplementaria de vitaminas (46).

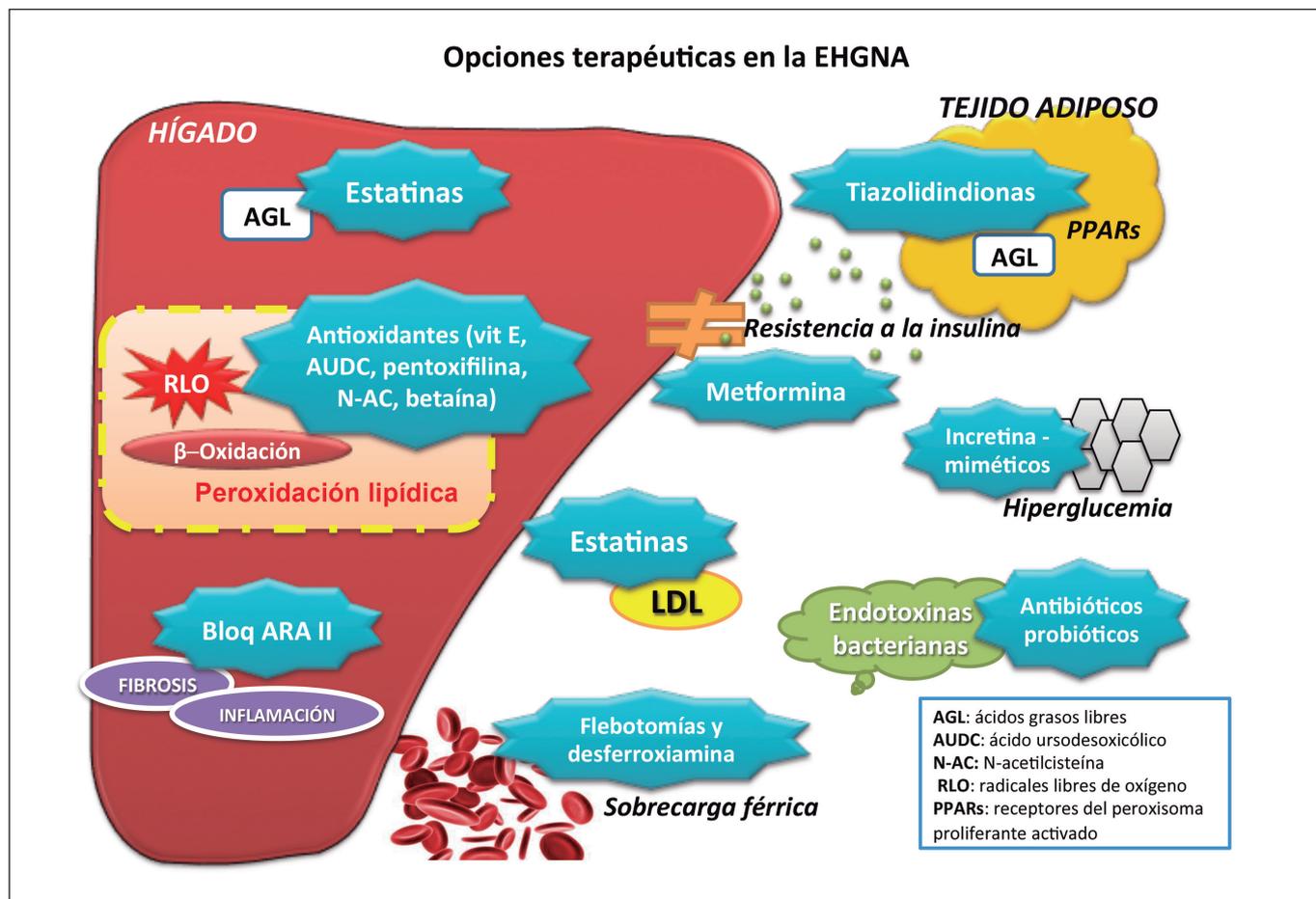


Fig. 2. Mecanismo de acción del tratamiento farmacológico de la EHGNA (autor: Verónica Martín).

Sibutramina: es un inhibidor de la recaptación de serotonina y norepinefrina en el sistema nervioso central que aumenta la saciedad e induce la pérdida de peso; está asociada con una disminución de las transaminasas con un discreto aumento de la fosfatasa alcalina y con reducción de la EH determinada por ecografía. Todavía se desconocen sus efectos a largo plazo (37).

Bloqueantes del receptor cannabinoide: rimonabant

El rimonabant es un antagonista selectivo del receptor cannabinoide tipo 1, localizado en el hígado, adipocitos, musculoesquelético y páncreas. Los endocannabinoides participan en la patogénesis de la EHGNA y su inactivación puede disminuir la apoptosis celular en los pacientes con fibrosis. Se ha visto que un año de tratamiento con rimonabant reduce significativamente las enzimas hepáticas en pacientes con sobrepeso u obesos con DM-2 en comparación con placebo. Sin embargo, actualmente se ha retirado del mercado a causa de los efectos adversos, tales como el aumento de depresión y conductas suicidas en

algunos pacientes, por lo que se interrumpieron los ensayos clínicos sobre los bloqueadores de los endocannabinoides en la EHGNA (37).

Hipolipemiantes: estatinas

Las estatinas producen una inhibición competitiva de la HMG-CoA reductasa que conduce a la disminución de las LDL en sangre. Tienen efectos pleiotrópicos por sus propiedades antiinflamatorias, inmunomoduladoras y antioxidantes, así como en la disfunción endotelial y en la biodisponibilidad del óxido nítrico. Sus efectos adversos más importantes son la hepatotoxicidad y la miopatía, que dependen de un mecanismo idiosincrático (47). En la mayoría de los pacientes con EHGNA existen varios componentes del síndrome metabólico, siendo la enfermedad cardiovascular la primera causa de muerte, y razón por la que está indicado el tratamiento con estatinas. Sus efectos terapéuticos incluyen una disminución de las transaminasas y de la esteatosis, determinada por ecografía, así como mejoría histológica de la inflamación hepática (37).

En un estudio reciente no se evidenció ningún efecto beneficioso del tratamiento con simvastatina sobre los parámetros bioquímicos e histológicos en pacientes obesos con EHGNA (48). Por el contrario, se ha demostrado una disminución significativa de las transaminasas con atorvastatina (49). También se ha observado la eficacia de la rosuvastatina en pacientes con dislipemia e hígado graso, así como la reducción del riesgo cardiovascular (50). Queda aún por demostrar si la fibrosis hepática se ve favorablemente afectada por el tratamiento con estatinas (51).

Agentes citoprotectores y antioxidantes

El estrés oxidativo participa en la patogénesis de la EHGNA, por lo que los antioxidantes pudieran disminuir el daño hepático mediado por radicales libres (52).

- *Pentoxifilina*: inhibe la síntesis de TNF- α , por lo que parece tener un efecto favorable sobre la actividad enzimática del hígado, inhibiendo más la oxidación lipídica que un placebo (53). Su efecto es dosis dependiente y por periodos prolongados, revirtiendo cuando se suspende el tratamiento.
- *Ácido ursodesoxicólico (AUDC)*: es un ácido biliar hidrofílico con propiedades estabilizadoras de membrana, citoprotectoras e inmunomoduladoras, que parece disminuir la AST y la esteatosis por ecografía, con dosis elevadas (15-20 mg/kg/día) y mantenidas durante periodos prolongados de tiempo (2 años). Sin embargo, los resultados son contradictorios y son necesarios estudios aleatorizados y controlados que comprueben la mejoría histológica en los pacientes con EHGNA (54).
- *Tocoferol*: la vitamina E inhibe la expresión intrahepática de TGF- β , la activación de las células estrelladas, la peroxidación lipídica y la formación de anión superóxido, y suprime las citocinas proinflamatorias como el TNF- α . En diversos estudios se ha demostrado la eficacia del uso de vitamina E a dosis variable (300-1.200 UI/día durante al menos 6 meses) en la normalización de las cifras de transaminasas, pero no se ha apreciado un claro beneficio de la inflamación lobulillar ni de la fibrosis hepática (37). Esta vitamina aumenta su eficacia en combinación con las tiazolidinedionas, metformina o AUDC. En un estudio realizado en ratones obesos se observó que el tocoferol podría proteger contra la EHNA al disminuir daños en el hígado, la peroxidación de lípidos y la inflamación, sin modificar la masa corporal o la esteatosis hepática. Aún no se han definido los mecanismos por los cuales actúa en pacientes con EHGNA (55).
- *N-acetilcisteína*: incrementa los niveles de glutatión en el hígado protegiéndolo del estrés oxidativo. A dosis de 1-1,2 g/día disminuyen los niveles de ALT y GGT, aunque dichos efectos favorables parecen no ser duraderos ni tener eficacia para disminuir de inflamación histológica (37).

- *Betaína*: es un metabolito de la colina que parece proteger al hígado del depósito de triglicéridos y del estrés oxidativo, a través del aumento de los niveles de S-adenosilmetionina (36). Se ha observado que produce una disminución de las transaminasas y de la esteatosis ecográfica, así como cierta mejoría histológica (37).
- *Bloqueantes de los receptores de angiotensina II (ARA II)*: inhiben la proliferación de las células estrelladas, disminuyendo la fibrosis y la inflamación. Se ha demostrado que el tratamiento con losartán reduce significativamente la concentración plasmática de TGF- β 1, ferritina sérica y transaminasas, así como la necroinflamación y la fibrosis hepáticas en pacientes con EHGNA e hipertensión. El telmisartán es bloqueante de los receptores de angiotensina tipo I y modulador PPAR-c, que ha demostrado tener también efectos activadores de los PPAR-a en el hígado con mejoría en la citolisis y necroinflamación, y con mayor efectividad comparado con el losartán (37).

Otras opciones terapéuticas en investigación

- *Antibióticos y probióticos*: en modelos animales el tratamiento con polimixina B y metronidazol reduce el sobrecrecimiento bacteriano intestinal, con disminución de endotoxinas y del grado de esteatosis e inflamación hepáticas, probablemente por la menor producción de TNF- α . Los altos niveles de enterobacterias fueron identificados más en las ratas cirróticas que en las sanas, y el tratamiento con bifidobacterias redujo los niveles de enterobacterias (27). Los preparados orales de probióticos, *Escherichia coli* no-patógenas y gentamicina reduciendo en modelos animales la translocación bacteriana atenuaron el daño hepático, disminuyendo los niveles de TNF- α , IL-6, IL-10 e IL-12. Estos datos sugieren que el sobrecrecimiento bacteriano intestinal y la alteración de la barrera epitelial quizás sean una posible diana terapéutica en los pacientes con EHGNA (27).
- *Melatonina*: la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial (CRM) se encuentra disminuida en pacientes con EHNA, atribuyéndose al peroxinitrito un papel patogénico. La melatonina, un captador de peroxinitrito, puede normalizar la morfología hepática, la disfunción mitocondrial y la actividad de la CRM en modelos animales (52).
- *Agonistas de los receptores farnesoide X (FXR)*: se incluyen en la familia de receptores hormonales nucleares, regulado por los ácidos biliares, cuya activación juega un papel importante en la homeostasis del colesterol, metabolismo de la glucosa y sensibilidad a la insulina. Un agonista semisintético del FXR, el INT-747, aumenta la secreción de insulina, mejora el almacenamiento de lípidos en adipocitos y la secreción

de adiponectina y leptina; el tratamiento con INT-747 se asoció con una mejoría de los niveles de glucosa, de los marcadores de fibrosis y pérdida de peso (56).

- *Flebotomías y terapia quelante de hierro*: la depleción de hierro es beneficiosa respecto a respuesta coronaria, disfunción endotelial, secreción de insulina, acción insulínica y control metabólico de la DM-2. Las flebotomías en pacientes con EHGNA y sobrecarga de hierro hepático asociado a resistencia a la insulina pueden disminuir el riesgo de fibrosis, cáncer o enfermedad cardiovascular (57). La desferroxamina (quelante de hierro) atenúa la lesión de la mucosa intestinal, disminuyendo la translocación bacteriana y los niveles de endotoxina de la circulación portal y sistémica. Esta observación sugiere que el hierro participa en la patogenia de la EHGNA (57).
- *Suplementos de Omega-3*: este ácido graso poliinsaturado se ha estudiado en pacientes con EHGNA, comparándolo con placebo, observando que el Omega-3 puede reducir la grasa intrahepática aún cuando no se ha definido la dosis ideal del tratamiento (58).

Trasplante hepático

Está indicado en pacientes con cirrosis por EHNA en estadios terminales. Aunque la evolución del trasplante suele ser buena, la esteatosis puede recidivar en la mayoría de los pacientes, sin llegar a desarrollar esteatohepatitis ni fibrosis. Las causas de la recurrencia se desconocen aunque puede que sean múltiples: hipertrigliceridemia, obesidad, diabetes y tratamiento con corticoides (15,36).

La esteatosis grave e incluso la moderada puede ser causa de disfunción primaria del injerto, por lo que se rechazan como donantes los órganos con esteatosis macrovesicular > 10-30 % (según el centro) o los pacientes con los IMC > 28 (8). Los posibles mecanismos para explicar esta disfunción del injerto pueden ser la disminución de la capacidad para generar trifosfato de adenosina y la generación de metabolitos tóxicos. Por el contrario, los hígados con esteatosis microvesicular pueden usarse de manera más segura para el trasplante (59). En los hígados trasplantados por indicaciones distintas a la EHGNA, el riesgo de desarrollar esteatosis *de novo* es de un 20 %, pudiendo estar relacionado con el aumento de peso que ocurre durante los 2 primeros años después del trasplante, así como el uso de corticoides (59).

CONCLUSIONES

La EHGNA es una enfermedad de prevalencia en aumento, que suele ser parte del síndrome metabólico y se asocia con enfermedades como DM tipo 2 y obesidad. En su patogenia intervienen factores como el estrés oxidativo y las citocinas proinflamatorias.

La prueba de elección actual para el diagnóstico de la EHGNA es la biopsia hepática. Sin embargo, existe un número creciente de pruebas diagnósticas “no invasivas”, que pueden ayudar a limitar el uso de la biopsia. Entre ellas destacan los índices serológicos (SteatoTest®, FibroTest®, NFL) o las pruebas de imagen (ecografía, FibroScan®).

El tratamiento de la EHGNA se basa principalmente en la corrección de los factores causales (diabetes, obesidad, síndrome metabólico). La modificación del estilo de vida, principalmente la dieta y el ejercicio físico, son pilares fundamentales para corregir y evitar la progresión de la EHGNA a cirrosis y CHC. Las diferentes aproximaciones farmacológicas que han sido ensayadas no han sido efectivas de una manera significativa. En última instancia, en estadios avanzados de la enfermedad hepática secundaria a la EHNA, el trasplante hepático es una alternativa eficaz.

BIBLIOGRAFÍA

1. 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.
2. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunello F, Carucci P, et al. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: From cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2002;123:134-40.
3. Bellentani S, Scaglioni F, Marino M, Bedogni G. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis* 2010;28:155-61.
4. Romero FP. Will non-invasive testing replace liver biopsy in the diagnosis and follow-up of non-alcoholic steatohepatitis (NASH)? *Rev Esp Enferm Dig* 2009;101:521-7.
5. Moreno-Sanchez D. Epidemiology and natural history of primary nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterol Hepatol* 2006;29:244-54.
6. Daly AK, Ballestri S, Carulli L, Loria P, Day CP. Genetic determinants of susceptibility and severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2011;5:253-63.
7. Solís-Herruzo JA, Solís-Munoz P. Genetic factors in non-alcoholic fatty liver disease. *Rev Esp Enferm Dig* 2008;100:195-201.
8. Zain SM, Mohamed R, Mahadeva S, Cheah PL, Rampal S, Basu RC, et al. A multi-ethnic study of a PNPLA3 gene variant and its association with disease severity in non-alcoholic fatty liver disease. *Hum Genet* 2012;131:1145-52.
9. Machado MV, Cortez-Pinto H. Non-invasive diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease - A critical appraisal. *J Hepatol* 2012;Nov 23 (Epub ahead of print).
10. Targher G, Marra F, Marchesini G. Increased risk of cardiovascular disease in non-alcoholic fatty liver disease: causal effect or epiphenomenon? *Diabetologia* 2008;51:1947-53.
11. Solís Herruzo JA, García Ruiz I, Pérez Carreras M, Muñoz Yague MT. Non-alcoholic fatty liver disease. From insulin resistance to mitochondrial dysfunction. *Rev Esp Enferm Dig* 2006;98:844-74.
12. Hashimoto E, Tokushige K. Prevalence, gender, ethnic variations, and prognosis of NASH. *J Gastroenterol* 2011;46(Supl. 1):63-9.
13. Schindhelm RK, Dekker JM, Nijpels G, Bouter LM, Stehouwer CD, Heine RJ, et al. Alanine aminotransferase predicts coronary heart disease events: A 10-year follow-up of the Hoorn Study. *Atherosclerosis* 2007;191:391-6.
14. Bonora E, Targher G. Increased risk of cardiovascular disease and chronic kidney disease in NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012;9:372-81.
15. Inoue K, Kodama T, Daida H. Pentraxin 3: A novel biomarker for inflammatory cardiovascular disease. *Int J Vasc Med* 2012;2012:657025.doi. 10:1155/2012/657025. Epub 2012 Jan 14.
16. Medina J, Fernández-Salazar LI, García-Buey L, Moreno-Otero R. Approach to the pathogenesis and treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Diabetes Care* 2004;27:2057-66.

17. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998;114:842-5.
18. Medina J, Moreno-Otero R. Pathophysiological basis for antioxidant therapy in chronic liver disease. *Drugs* 2005;65:2445-61.
19. Majano PL, García-Monzón C, López-Cabrera M, Lara-Pezzi E, Fernández-Ruiz E, García-Iglesias C, et al. Inducible nitric oxide synthase expression in chronic viral hepatitis. Evidence for a virus-induced gene upregulation. *J Clin Invest* 1998;101:1343-52.
20. García-Monzón C, Majano PL, Zubia I, Sanz P, Apolinario A, Moreno-Otero R. Intrahepatic accumulation of nitrotyrosine in chronic viral hepatitis is associated with histological severity of liver disease. *J Hepatol* 2000;32:331-8.
21. Carter-Kent C, Zein NN, Feldstein AE. Cytokines in the pathogenesis of fatty liver and disease progression to steatohepatitis: Implications for treatment. *Am J Gastroenterol* 2008;103:1036-42.
22. Sanz-Cameno P, Medina J, García-Buey L, García-Sánchez A, Borque MJ, Martín-Vilchez S, et al. Enhanced intrahepatic inducible nitric oxide synthase expression and nitrotyrosine accumulation in primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 2002;37:723-9.
23. García-Monzón C, Martín-Pérez E, Iacono OL, Fernández-Bermejo M, Majano PL, Apolinario A, et al. Characterization of pathogenic and prognostic factors of nonalcoholic steatohepatitis associated with obesity. *J Hepatol* 2000;33:716-24.
24. Kaser S, Moschen A, Cayon A, Kaser A, Crespo J, Pons-Romero F, et al. Adiponectin and its receptors in non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2005;54:117-21.
25. Luo R, Li X, Jiang R, Gao X, Lu Z, Hua W. Serum concentrations of resistin and adiponectin and their relationship to insulin resistance in subjects with impaired glucose tolerance. *J Int Med Res* 2012;40:621-30.
26. Aller R, De Luis DA, Izaola O, Gonzalez Sagrado M, Conde R, Pacheco D, et al. Lys656Asn polymorphism of leptin receptor, leptin levels and insulin resistance in patients with non alcoholic fatty liver disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012;16:335-41.
27. Ilan Y. Leaky gut and the liver: A role for bacterial translocation in nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2012;18:2609-18.
28. Mallat A, Lotersztajn S. Endocannabinoids and liver disease. I. Endocannabinoids and their receptors in the liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008;294:G9-12.
29. Fierbinteau-Braticevici C, Dina I, Petrisor A, Tribus L, Negreanu L, Carstoiu C. Noninvasive investigations for non alcoholic fatty liver disease and liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2010;16:4784-91.
30. Festi D, Schiumerini R, Marzi L, Di Biase AR, Mandolesi D, Montrone L, et al. Review article: The diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease - availability and accuracy of non-invasive methods. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;37:392-400.
31. Wilson SR, Rosen IE, Chin-Sang HB, Arenson AM. Fatty infiltration of the liver - an imaging challenge. *J Can Assoc Radiol* 1982;33:227-32.
32. Friedrich-Rust M, Romen D, Vermehren J, Kriener S, Sadet D, Herrmann E, et al. Acoustic radiation force impulse-imaging and transient elastography for non-invasive assessment of liver fibrosis and steatosis in NAFLD. *Eur J Radiol* 2012;81:e325-31.
33. de Ledinghen V, Vergniol J, Foucher J, Merrouche W, le Bail B. Non-invasive diagnosis of liver steatosis using controlled attenuation parameter (CAP) and transient elastography. *Liver Int* 2012;32:911-8.
34. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: A proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999;94:2467-74.
35. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;41:1313-21.
36. Cobo Martin M, Fernandez Gil P, Crespo J. Treatment of fatty liver disease. *Gastroenterol Hepatol* 2008;31:229-38.
37. Kaser S, Ebenbichler CF, Tilg H. Pharmacological and non-pharmacological treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Int J Clin Pract* 2010;64:968-83.
38. Mingrone G, Panunzi S, De Gaetano A, Guidone C, Iaconelli A, Lecceci L, et al. Bariatric surgery versus conventional medical therapy for type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2012;366:1577-85.
39. Carlsson LM, Peltonen M, Ahlin S, Anveden A, Bouchard C, Carlsson B, et al. Bariatric surgery and prevention of type 2 diabetes in Swedish obese subjects. *N Engl J Med* 2012;367:695-704.
40. Shyangdan D, Clar C, Ghouri N, Henderson R, Gurung T, Preiss D, et al. Insulin sensitizers in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review. *Health Technol Assess* 2011;15:1-110.
41. Lutchman G, Modi A, Kleiner DE, Promrat K, Heller T, Ghany M, et al. The effects of discontinuing pioglitazone in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2007;46:424-9.
42. Ratziu V, Charlotte F, Bernhardt C, Giral P, Halbron M, Lenaour G, et al. Long-term efficacy of rosiglitazone in nonalcoholic steatohepatitis: Results of the fatty liver improvement by rosiglitazone therapy (FLIRT 2) extension trial. *Hepatology* 2010;51:445-53.
43. Akcam M, Boyaci A, Pirgon O, Kaya S, Uysal S, Dundar BN. Therapeutic effect of metformin and vitamin E versus prescriptive diet in obese adolescents with fatty liver. *Int J Vitam Nutr Res* 2011;81:398-406.
44. Duseja A, Das A, Dhiman RK, Chawla YK, Thumbaru KT, Bhadada S, et al. Metformin is effective in achieving biochemical response in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) not responding to lifestyle interventions. *Ann Hepatol* 2007;6:222-6.
45. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: Summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003;37:1202-19.
46. Harrison SA, Fecht W, Brunt EM, Neuschwander-Tetri BA. Orlistat for overweight subjects with nonalcoholic steatohepatitis: A randomized, prospective trial. *Hepatology* 2009;49:80-6.
47. Argo CK, Loria P, Caldwell SH, Lonardo A. Statins in liver disease: A molehill, an iceberg, or neither? *Hepatology* 2008;48:662-9.
48. Nelson A, Torres DM, Morgan AE, Fincke C, Harrison SA. A pilot study using simvastatin in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: A randomized placebo-controlled trial. *J Clin Gastroenterol* 2009;43:990-4.
49. Gómez-Domínguez E, Gisbert JP, Moreno-Monteagudo JA, García-Buey L, Moreno-Otero R. A pilot study of atorvastatin treatment in dyslipidemic, non-alcoholic fatty liver patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;23:1643-7.
50. Nakahara T, Hyogo H, Kimura Y, Ishitobi T, Arihiro K, Aikata H, et al. Efficacy of rosuvastatin for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis with dyslipidemia: An open-label, pilot study. *Hepatol Res* 2012;42:1065-72.
51. Athyros VG, Tziomalos K, Gossios TD, Griva T, Anagnostis P, Kargiotis K, et al. Safety and efficacy of long-term statin treatment for cardiovascular events in patients with coronary heart disease and abnormal liver tests in the Greek Atorvastatin and Coronary Heart Disease Evaluation (GREACE) Study: A post-hoc analysis. *Lancet* 2010;376:1916-22.
52. Solís Herruzo JA, Solís Muñoz P. Melatonin and oxidative stress. *Rev Esp Enferm Dig* 2009;101:453-9.
53. Zein CO, Lopez R, Fu X, Kirwan JP, Yerian LM, McCullough AJ, et al. Pentoxifylline decreases oxidized lipid products in nonalcoholic steatohepatitis: New evidence on the potential therapeutic mechanism. *Hepatology* 2013;56:1291-9.
54. Ratziu V, de Ledinghen V, Oberti F, Mathurin P, Wartelle-Bladou C, Renou C, et al. A randomized controlled trial of high-dose ursodesoxycholic acid for nonalcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2011;54:1011-9.
55. Chung MY, Yeung SF, Park HJ, Volek JS, Bruno RS. Dietary alpha- and gamma-tocopherol supplementation attenuates lipopolysaccharide-induced oxidative stress and inflammatory-related responses in an obese mouse model of nonalcoholic steatohepatitis. *J Nutr Biochem* 2010;21:1200-6.
56. Adorini L, Pruzanski M, Shapiro D. Farnesoid X receptor targeting to treat nonalcoholic steatohepatitis. *Drug Discov Today* 2012;17:988-97.
57. Guillygomarc'h A, Mendler MH, Moirand R, Laine F, Quentin V, David V, et al. Venesection therapy of insulin resistance-associated hepatic iron overload. *J Hepatol* 2001;35:344-9.
58. Parker HM, Johnson NA, Burdon CA, Cohn JS, O'Connor HT, George J. Omega-3 supplementation and non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol* 2012;56:944-51.
59. Sanyal AJ. AGA technical review on nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002;123:1705-25.