

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE PEDIATRIA
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO SSXI

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE POSGRADO
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MEXICO

**“Correlación entre biomarcadores y la biopsia
hepática para el diagnóstico de fibrosis y
actividad necro-inflamatoria en pacientes
pediátricos con enfermedad hepática grasa no
alcohólica.”**

TESIS DE INVESTIGACION
No. De Registro R-2008-3603-27

PARA OBTENER EL GRADO DE

ESPECIALISTA EN

GASTROENTEROLOGIA Y NUTRICION PEDIATRICA

Tesista: Dr. Juan Antonio Orozco Barrios¹

Tutor: Dra. Judith Flores Calderón¹

Asesores: Dr. Segundo Morán Villota²
Dr. Guillermo Ramón García³

Servicio de Gastroenterología del Hospital de Pediatría CMN, Siglo XXI Instituto Mexicano del Seguro Social¹ Laboratorio de Investigación en Gastrohepatología² Departamento de patología³

RESUMEN

La fibrosis hepática se ha observado frecuentemente en biopsias hepáticas de niños que padecen de Enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA), en algunos casos la detección temprana y un tratamiento oportuno pueden evitar o detener la progresión; sin embargo debido al curso subclínico de la enfermedad algunos progresan y el diagnóstico se realiza cuando ya tienen fibrosis avanzada o han desarrollado cirrosis y sus complicaciones. La biopsia hepática es el método de elección para el diagnóstico, sin embargo no esta exenta de complicaciones por lo que se han propuesto a biomarcadores en suero para detectar fibrosis (Fibrotest) inflamación (Acti-test) y esteatosis hepática (Steato-test).

Objetivos:

Conocer el grado de correlación entre de las pruebas serológicas para la detección de fibrosis, esteatosis y grado de actividad inflamatoria y los hallazgos de la biopsia hepática en pacientes pediátricos con EHGNA.

Métodos:

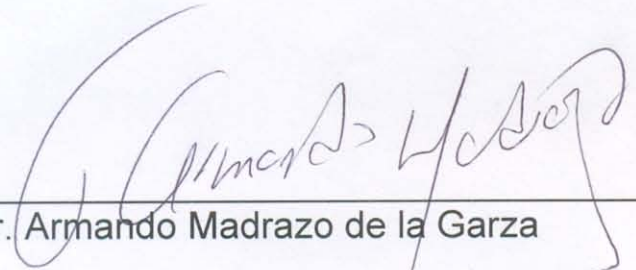
Se incluyeron en forma consecutiva todos los pacientes con diagnóstico de EHGNA, que se les realizó una biopsia hepática como parte de su estudio integral. A todos se les tomo 5 ml de sangre para ser procesada para el análisis de los biomarcadores. Las biopsias hepáticas se analizaron mediante el índice de Metavir y Kleiner por un mismo patólogo, quién determinó el grado de fibrosis, actividad necroinflamatoria y grado de esteatosis en cada una de ellas. Análisis:

Se realizaron promedios y desviación estándar (DE). La correlación entre los biomarcadores y los resultados del estudio histopatológico se evaluaron por medio de la prueba de Spearman. Se consideró significativos los resultados con un valor de $p: \leq 0.05$.

Resultados: Se incluyeron 21 niños con edad media 14 años (8 – 17 años), la media del IMC fue de 29.6 (DE +/- 3.7); 37% de los niños tuvieron un perfil de lípidos alterados, 20% con hipercolesterolemia, y 17% con hipertrigliceridemia. El índice de Fibrotest permitió establecer la presencia de fibrosis en el 80% de los pacientes, con una sensibilidad de 90%, y una especificidad del 100%. Con el resto de las mediciones, no se encontró correlación entre el grado de esteatosis y de actividad necroinflamatoria evaluado mediante el índice Actitest y Steatotest y los hallazgos histopatológicos en la biopsia hepática.

Conclusión: Estos resultados indican que la determinación de Fibrotest es útil para evaluar la presencia de fibrosis hepática en niños con EHGNA.

SINODALES:



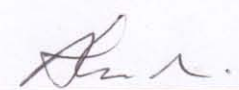
Dr. Armando Madrazo de la Garza



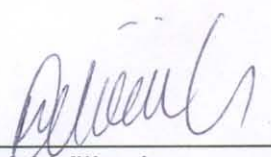
Dra. Ana Carlina Sepúlveda



Dra. Norma Angélica Rojas



Dra. Alicia Rodríguez Velasco



Dr. Miguel Ángel Villasis

Resumen.....	I
Indice.....	1
1. Marco Teórico	2
1.1. Generalidades de la enfermedad hepática grasa no alcohólica	
1.2. Generalidades de biopsia hepática	
1.3. Evidencias científicas de la utilidad del FibroTest.....	
1.4 Descripción del FibroTest	
1.5. Descripción del ActiTest.....	
1.6. Descripción del Fibromax.....	
a. Descripción del Esteatotest.....	
b. Descripción Nashtest	
1.7. Descripción de biomarcadores.....	
2. Planteamiento del Problema	6
3. Hipótesis.....	6
4. Objetivos.....	6
5. Material y Métodos.....	6
6. Variables.....	7
7. Análisis	10
8. Resultados.....	11
9. Discusión.....	12
9. Bibliografía	15
10. Anexos	19

1. MARCO TEORICO

1.1. Generalidades de la Enfermedad hepática grasa no alcohólica en la infancia (EHGNA).

La EHGNA es una síndrome clínico patológica en la cuál los hallazgos histológicos son semejantes a los encontrados en la hepatitis alcohólica pero en sujetos que pueden o no presentar elevación de enzimas hepáticas y no consumen alcohol. El espectro de la enfermedad es amplio, puede encontrarse desde hígado graso, esteatohepatitis con o sin fibrosis y evolucionar hasta la cirrosis.¹

La EHGNA se ha asociado a obesidad, hiperinsulinemia, hiperglucemia, hipertensión y dislipidemias por lo que actualmente se considera a EHGNA como parte del Síndrome Metabólico.² La frecuencia en niños obesos o con sobrepeso se ha reportado desde un 9.5 hasta un 42%.^{3,4}

La patogénesis es multifactorial; el depósito de ácidos grasos libres y triglicéridos en el hígado da lugar a inflamación y daño hepático mediante múltiples anomalías metabólicas en sujetos con un “factor genético adecuado”. El fenómeno primario implicado es la resistencia a la insulina. La hiperinsulinemia provoca un aumento en la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos, inhibición de la oxidación de ácidos grasos libres y acumulo de estos en el hígado dando lugar a la esteatosis. La necroinflamación se presenta por un incremento del estrés oxidativo, por acción de intermediarios citotóxicos dando lugar fibrosis y a una mayor producción de colágena por peroxidación lipídica.^{5,6}

La importancia de su detección radica en que es una enfermedad crónica, habitualmente asintomática, asociada a co-morbilidad y que tiene el potencial de evolucionar hacia la cirrosis, por lo que debe buscarse intencionadamente en todos aquellos niños con factores de riesgo.^{4,7,}

Las alteraciones metabólicas asociadas son: perfil de lípidos alterado, reportándose hipercolesterolemia entre un 37 a 46% e hipertrigliceridemia entre un 59 a 73% en niños obesos; otra alteración metabólica es la Diabetes tipo II reportada entre un 4.5 a 9%.⁸

Clínicamente la mayoría de los niños son obesos o con sobrepeso, asintomáticos, que en muchas ocasiones son referidos por el hallazgo de transaminasemia o hepatomegalia durante un examen de rutina. El síntoma que con mayor frecuencia llegan a presentar es dolor abdominal; a la exploración física se puede encontrar hepatomegalia hasta en un 59% de los casos y Acantosis nigricans en axilas y cuello hasta en un 77%.⁹

Se recomienda para la evaluación inicial determinar el índice de masa corporal (IMC) Kg/m², para detectar a aquellos con sobrepeso (> percentil 85) u obesidad (> percentil 95); índices bioquímicos que incluyan glicemia preprandial, perfil de lípidos, transaminasas y solicitar estudios específicos para descartar otras causas de enfermedad hepática crónica. El diagnóstico diferencial radica en descartar alguna condición crónica hepática especialmente aquellas en las que se puede encontrar esteatosis como son la enfermedad de Wilson, hepatitis por Virus C, fibrosis quística, deficiencia de alfa 1 antitripsina y hepatitis autoinmune; e investigar otras causas que también producen esteatosis como antecedente de uso de drogas hepatotóxicas (metotrexate, prednisona, L-asparaginasa) o nutrición parenteral.^{2,9,10}

El ultrasonido abdominal es un método de complementación diagnóstica para detección de hígado graso con una sensibilidad del 89% y una especificidad del 93%. La imagen sonográfica que habitualmente se observa es un hígado grande brillante e hiperecoico. Otros estudios se han empleado para detectar esteatosis hepática tales como la tomografía computada y resonancia magnética, sin embargo, además de ser costosos, al igual que el ultrasonido no han sido útiles para diferenciar entre una esteatosis simple de una esteatohepatitis, pero no se recomienda su uso rutinario.¹¹

El diagnóstico de sospecha se basa en el hallazgo de transaminasemia, con un ultrasonido compatible con hígado graso en un niño con algún factor de riesgo como obesidad, hiperglucemia e hiperlipidemia, después de haber descartado otras causas de enfermedad hepática crónica.³

La biopsia hepática es el estándar de oro para el diagnóstico definitivo. Hasta el momento no se ha llegado a un consenso de cuando realizar la biopsia en estos pacientes, pero en general esta indicada en aquellos pacientes obesos con factores de riesgo, tales como hiperlipidemia e hiperglucemia, que presentan transaminasemia persistente habitualmente por más de 3 meses, en los que se ha descartado otras causas de enfermedad hepática y que han fallado al manejo nutricional (persistencia del mismo peso o IMC, o cuya pérdida haya sido < 10% después de dieta y ejercicio).^{12,13}

Los hallazgos histológicos incluyen esteatosis macro y microvesicular en la mayoría de los casos, lipogranulomas en el 83%, la inflamación portal en el 79%, inflamación lobulillar en el 36%, cuerpos de Mallory en el 19%, degeneración balonoide en un 34%, fibrosis portal en un 60% y perivenular en un 19% y cirrosis en un 3%.⁷ A diferencia del paciente adulto, en niños la fibrosis portal suele ser mayor que la lobulillar. La intensidad de los hallazgos histológicos determina el grado de severidad y pronóstico. En pacientes adultos se ha reportado que la historia natural de la EHGNA varia de acuerdo al tipo histológico, los pacientes sin inflamación parece ser que tienen un curso benigno sin progresión histológica, en contraste con aquellos con esteatohepatitis que pueden progresar a cirrosis.¹² En niños no hay estudios longitudinales para establecer claramente la historia natural, sin embargo se ha encontrado que los niveles altos de transaminasas e insulina correlacionan con una mayor frecuencia con la presencia de esteatohepatitis y fibrosis.^{9,14}

1.2. La biopsia Hepática. En la práctica clínica habitual en Hepatología y Gastroenterología, la biopsia hepática es el método usual para la valoración de daño hepático en pacientes con enfermedad hepática crónica de diferente etiología ya que permite conocer la extensión y magnitud del daño necro-inflamatorio y fibrótico al hígado.¹⁵

Desafortunadamente, la biopsia de hígado tiene un serio error de muestreo, una alta variabilidad intra e inter-observador, es invasiva, costosa y no exenta de complicaciones.¹⁵⁻¹⁹ En pacientes adultos hasta un 30% experimentan dolor después del procedimiento, en biopsias por mini laparoscopia se reporta complicaciones severas en 1%, en biopsia percutánea en 0.2%, y la mortalidad se aproxima al 0.01%.²⁰ En niños se reporta complicaciones mayores en el 2.6% de los casos, siendo hemorragia la complicación mas frecuente²¹. Por ello, se han buscado métodos no invasivos que simplifiquen el diagnóstico como los biomarcadores.²² Para incrementar el valor diagnóstico de los biomarcadores, múltiples marcadores séricos se han combinado en modelos matemáticos para predecir fibrosis, como el fibrotest.

1.3 FibroTest. Desde la publicación del primer estudio en hepatitis C que incluía 323 pacientes en 1999,²³ otras publicaciones han confirmado y validado el valor diagnóstico de la combinación (FibroTest y ActiTest) como una alternativa a la biopsia de hígado en pacientes adultos^{24,25}. Los marcadores biológicos que utiliza esta prueba son fáciles de determinar y cuantificar. Afortunadamente, en el transcurso de los últimos años se ha logrado acumular experiencia clínica y las pruebas ha sido validada en pacientes adultos con hepatitis C crónica,²⁴ y hepatitis viral B²⁵. En el metanálisis en el que se incluyeron un total de 1679 pacientes adultos se reportó que el índice de Fibrotest con un valor de corte de 0.22 tiene una sensibilidad de 57% (95% IC 45-69%) y una especificidad 90% (87-92%).^{26,27} Recientemente se han realizado estudios similares en adultos con EHGNA, con resultados similares.²⁸⁻

30

1.4 Descripción del **Fibrotest**. (FT) El índice de fibrosis (FibroTest) combina la medida sanguínea de los siguientes cinco marcadores de fibrosis:^{26,29}

- a. Alfa2-macro globulina.
- b. Haptoglobina.
- c. Apolipoproteína A1.
- d. Bilirrubina total
- e. Gama-glutamyl-transpeptidasa

1.5 Descripción del **Actitest**. (ST) El índice de actividad (ActiTest) combina los mismos marcadores arriba mencionados además de los niveles de transaminasa glutámico pirúvica (TGP) también conocida como alaninoamino transferasa (ALT).^{26,29}

1.6. Descripción del **EsteatoTest** (ST). El EsteatoTest es un índice que combina 6 componentes, los 5 del Fibro-Test (arriba descrito), la ALT del ActiTest (ajustado por edad, género e índice de masa corporal), más glucosa sérica, triglicéridos y colesterol. Los puntajes del ST varían en el rango de cero a 1.00; los valores altos indican una mayor probabilidad de esteatosis significativa.³⁰

1.7 Descripción de los biomarcadores.

Alfa2-Macroglobulina. La alfa2-macro globulina (A2MG) es una proteína sintetizada por el hígado (hepatocitos, células de Ito o estelares y granulomas). Su concentración en suero aumenta en presencia de fibrosis hepática. La síntesis de A2MG se incrementa durante la activación de células estelares en el curso de la fibrogénesis. Inhibe las proteinasas, en particular la actividad de la colagenasa, con la que se incrementa la fibrosis inhibiendo la degradación de las proteínas de la matriz extracelular.³¹⁻³² Valores normales 102 a 259 mg/dL.

Haptoglobina. Es una proteína sintetizada por el hígado la cual disminuye en presencia de fibrosis.^{32,33} Esta reducción es independiente de la presencia de hemólisis o de insuficiencia hepática. Cuando ocurre la fibrosis, su regulación es opuesta a la de A2MG, lo cual puede ser explicado por los roles opuestos del Factor de Crecimiento Hepatocitario (HGF) y el Factor de Crecimiento Transformante (TGF beta 1) durante la fibrogénesis y la inflamación. Un aumento del HGF en el curso de fibrosis experimental, se asocia con una disminución de TGF beta 1, un incremento del A2MG y una disminución de la Haptoglobina. Los mismos resultados han sido reportados en pacientes con hepatitis C crónica confirmando que el HGF estimula la síntesis de A2MG y disminuye la síntesis de la haptoglobina.³⁴ Valores normales 36 a 195 mg/dL.

Apolipoproteína A1 (ApoA1) es una proteína sintetizada por el hígado, la cual transporta colesterol. En la fibrosis hepática, la liberación de ApoA1 de los hepatocitos es obstaculizada por las fibras de colágeno de la matriz extracelular (vía residuos de lisina e interacción de colágeno) y su transcripción se reduce igualmente.^{35,36} Diversos estudios han demostrado que los niveles séricos de ApoA1 decrecen en presencia de la fibrosis.³⁶ Valores normales 90 a 170 mg/dL.

Bilirrubina total. La bilirrubina es un pigmento que resulta de la degradación de los eritrocitos (hemoglobina), la cual es normalmente transportada en la sangre como bilirrubina indirecta, biotransformada por el hígado, y excretada en forma de bilirrubina directa. En la fibrosis hepática, la bilirrubina se incrementa. En la hepatitis crónica viral C se ha descrito una modificación de los transportadores de bilirrubina que puede explicar las diferencias vistas en las primeras fases de fibrosis en esta enfermedad.¹⁰ Valores normales 0.3 a 1.6 mg/dL.

Gama glutamil trans-peptidasa. La Gama glutamil trans-peptidasa (GGT) es una enzima sintetizada por los hepatocitos, la cual se incrementa con la fibrosis. Los mecanismos de este incremento son desconocidos. En algunos estudios se ha descrito que el incremento está asociado con el HGF, pero permanece independiente del aumento de las transaminasa y la bilirrubina. Aparte de la colestasis, otra hipótesis independiente es que el incremento de GGT se relaciona con un incremento del factor de crecimiento epidérmico durante la fibrogénesis.²² Valores normales 5 a 95 U/L.

Transaminasa glutámico pirúvica o alaninoamino transferasa (TGP o ALT). Esta es una enzima sintetizada por los hepatocitos, la cual se incrementa en suero cuando se presenta inflamación del tejido hepático y necrosis.^{3,10}
Valores normales

Otros parámetros requeridos. Para el cálculo adecuado de Steatotest: son colesterol, triglicéridos, glucosa y de transaminasa glutámico oxalacética (TGO) o aspartato aminotransferasa (AST).

Otros parámetros clínicos. la edad, el género así como el peso y talla para el cálculo del índice de masa corporal.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La frecuencia de EHGNA ha aumentado en nuestro medio se ha reportado que hasta el 87% de los pacientes presentan en las biopsias hepática algún grado de fibrosis y debido al carácter asintomático y evolución silenciosa de la enfermedad, la evaluación de la presencia de fibrosis a través de biomarcadores no invasivos facilitaría una evaluación temprana y pronóstico de la enfermedad sin necesidad de biopsia.

Las pruebas de FibroTest, ActiTest y Steato test parecen ser altamente confiables para la detección de fibrosis, actividad necroinflamatoria y esteatosis en pacientes adultos, existe poca experiencia en la población pediátrica y por lo tanto consideramos que es importante conocer la correlación entre los métodos no invasivos mediante biomarcadores y los hallazgos histológicos de la biopsia hepática en niños.

3. HIPOTESIS

La presencia de fibrosis, actividad necroinflamatoria y esteatosis hepática mediante la biopsia hepática tiene una correlación con un valor de $R= 0.6$ con los resultados de los biomarcadores mediante los índices de Fibrotest, Actitest y Steatotest.

4. OBJETIVO GENERAL.

Correlacionar los resultados de biomarcadores no invasivos de fibrosis, actividad inflamatoria y esteatosis con los resultados de la biopsia hepática en niños con diagnóstico de EHGNA.

4.1 OBJETIVO ESPECIFICO

1. Determinar la correlación entre el grado histopatológico de fibrosis y el índice de Fibrotest
2. Determinar la correlación entre la actividad necro-inflamatoria y esteatosis de la biopsia hepática con el índice de Actitest y Steatotest respectivamente.

5. MATERIAL Y METODOS.

Se trata de un estudio tipo prueba diagnóstica, que incluyó, de manera consecutiva, a todos los pacientes con diagnóstico de EHGNA atendidos en la clínica de Hepatología del Departamento de Gastroenterología del Hospital de Pediatría, del Centro Médico Nacional Siglo XXI, durante marzo del 2007 a agosto del 2008.

Este trabajo fue aprobado por el comité de investigación con el número: R-2008-3603-27

5.1 Criterios de inclusión:

1. Pacientes con diagnóstico de EHGNA a quienes se les realizó biopsia hepática bajo los siguientes criterios:
 - Niños con obesidad (IMC >p95) o sobrepeso (IMC>p85)
 - Transaminasemia (ALT y/o AST >40UI/L) después de haber sido sometidos a un programa de dieta de reducción y ejercicio por 3 meses sin pérdida de peso <10%.
 - Haber descartado otras causas de enfermedad hepática crónica: Hepatitis B (AgsVHB negativo) Hepatitis C (Anti-VHC negativo), Enfermedad de Wilson (Ceruloplasmina normal), Hepatitis Autoinmune (ANA, AML, AMT negativos), historia negativa de uso de drogas hepatotóxicas y nutrición parenteral)
2. Edad: 5 a 17 años
3. Hombres y mujeres.
4. Aceptaron una toma de muestra sanguínea (5ml), en ayunas, para la determinación de los biomarcadores requeridos en la prueba denominada Fibrotest, Actitest y Steatotest, mediante firma de el formato de consentimiento informado aprobado por el Comité de investigación.

5.2 Criterios de eliminación.

1. Pacientes que tuvieron un intervalo mayor a cuatro semanas entre la muestra de sangre para marcadores biológicos y la biopsia de hígado.
2. Pacientes en los cuales el Patólogo consideró que la biopsia hepática no era interpretable.
3. Datos clínicos y bioquímicos incompletos.
4. Suero lipémico o hemolizado
5. Suero obtenido después de una transfusión sanguínea

6. Variables de estudio

- a. Histopatológicas (esteatosis, fibrosis y actividad necro-inflamatoria)
- b. Bioquímicas: Biomarcadores (AST, ALT, Gamma GT, Bilirrubina total, Bilirrubina conjugada, glucosa en ayunas, colesterol triglicéridos, α 2 macro globulina, apolipoproteína, haptoglobina)
- c. Clínicas: edad, género, peso y talla y cálculo del índice de masa corporal (Kg/m²sc), hepatomegalia, acantosis nigricans.

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	ESCALA DE MEDICION	CATEGORIA
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento	Edad en años transcurrido desde el nacimiento.	Continua	Años
Sexo	Condición orgánica que distingue al hombre de la mujer	Características de los órganos sexuales que distinguen al hombre y a la mujer	Ordinal Dicotómica	Hombre Mujer
Fibrosis	Depositos de colageno como respuesta a un daño hepatico	Las biopsias serán evaluadas usando el sistema de puntaje METAVIR	Ordinal	Grados 1 a 4
Esteatosis	Depositos de grasa en higado en respuesta a resistencia a la insulina	Las biopsias serán evaluadas usando el sistema de puntaje KLEINER	Ordinal	Grado 1 a 3
Actividad necroinflamatoria	Presencia de celulas inflamatorias y	Marcador de actividad	Ordinal	Grado leve, moderado y severo

	necrosis en respuesta a daño hepático crónico			
Fibrotest	Índice utilizado para la detección de fibrosis que esta compuesto por	Marcador de fibrosis	Continua	Log 0.1 a 1 Val. Normal < 0.22
Actitest	Índice utilizado para determinar la actividad necroinflamatoria.	Marcador necro-inflamatorio	Continua	Log 0.1 a 1 Val. Normal <0.5
Steatotest.	Índice utilizado para determinar steatosis.	Marcador de hígado graso	Continua	Log 0.1 a 1 Val. Normal <0.5

6.1 Biopsia hepática y variables histopatológicas a estudiar.

1. Tejido hepático

La evaluación de las biopsias se realizó por un patólogo en forma ciega y en un solo tiempo conociendo únicamente el diagnóstico de base y la edad de los pacientes, sin saber la finalidad del estudio.

La muestra de tejido hepático requirió para su evaluación histopatológica:

1. Fijación en formol al 10%.
2. Bloque de parafina con la biopsia de hígado.
3. Contar por lo menos con 4 laminillas histológicas sin teñir.
4. Contar por lo menos con 4 laminillas teñidas, que incluyan al menos las tinciones de hematoxilina y eosina y Tricrómico de Masson.
5. Diámetro de la biopsia mayor a 25 mm o bien disponer de por lo menos 5 espacios porta para evaluación microscópica.

- Variables histopatológicas

2. Graduación de fibrosis:

El grado de fibrosis se determinó mediante el sistema de puntaje METAVIR.

Grado 0 (F0): no fibrosis

Grado 1 (F1): fibrosis porta

Grado 2 (F2): fibrosis portal + algunos septos interlobulillares

Grado 3 (F3): fibrosis portal + muchos septos

Grado 4 (F4): cirrosis.

La fibrosis avanzada se definió como fase 2, 3 o 4.^{7,38}

3. Graduación de la actividad Necro-inflamatoria: Grado 0: sin inflamación, grado 1: leve, grado 2: moderada; grado 3: intensa.^{7,38}

4. Grados de esteatosis; se clasifico como grados 0, 1, 2 o 3, dependiendo del grado del porcentaje de esteatosis en el parénquima.

Grado 0: <5%,

Grado 1: 5 a 32%

Grado 2: 33 a 66%

Grado 3: >66%.^{7,38}

5. Esteato-hepatitis se valoró con el “Puntaje de Esteato Hepatitis de origen no alcohólico” (NAS). El NAS específicamente incluye sólo características de actividad que son potencialmente reversibles a corto plazo. El NAS se define como la suma no ponderada de los puntajes para la esteatosis (0-3), para inflamación lobular (0-3) y para necrosis (0-2); variando así entre el rango de 0 a 8.

Puntaje de 0 a 2 : no diagnósticos

Puntajes de 5 o mayores diagnósticos.

Puntajes de actividad de 3 y 4 probable (dudoso).^{7,38}

6.2 Variables Bioquímicas

A todos los paciente incluidos se les realizó: Los biomarcadores (Actitest, fibrotest y Steatotest) cuyo análisis comprende: Proteínas específicas (Alfa 2 macroglobulina, haptoglobina y apolipoproteína), bilirrubinas, gamaglutamil transpeptidasa (GGT), alaninoaminotrasferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), colesterol, triglicéridos y glicemia sérica. Todas las muestras fueron tomadas al momento de su hospitalización para la toma de biopsia hepática, con las siguientes consideraciones:

- El volumen de la muestra de sangre obtenido fue de 3 ml en tubos sin anticoagulante.
- La muestra de Sangre se centrifugaron en un periodo máximo de 2 horas, después de la colección de la muestra de sangre.
- La centrifugación se ajusto (la velocidad y el tiempo) con las recomendaciones del fabricante del tubo.
- Las pruebas bioquímicas generalmente se procesan con el suero fresco. Sin embargo, el suero se almaceno no más de 72 hr. a una temperatura promedio de + 2°C a + 8°C, protegido de la luz para evitar la degradación de la Bilirrubina.
- El análisis de las proteínas específicas (Alfa2- macroglobulina, Haptoglobina, y Apolipoproteína A1) fue llevado a cabo en el suero almacenado en +2°C y/o +8°C no más allá de 5 días.
- Los lípidos y la hemólisis pueden alterar los resultados por lo que un suero hiperlipidémico o hemolizado se rechazaron y se volvieron a tomar.
- Todas las muestras se etiquetaron con el nombre completo del paciente y día de la toma.

El panel de marcadores bioquímicos llamado Fibrotest (FT), Actitest, y Fibromax fue desarrollado por Biopredictive Paris, (France, FibroSURE in the US patented artificial intelligence algorithm USPTO 6,631,330).

El índice de fibrotest (para la determinación de fibrosis) incluye: alfa 2 macroglobulina (A2M), apolipoproteína A1, haptoglobina, bilirrubinas totales y gamaglutamil transpeptidasa (GGT); el índice de Acti-test (para el grado de tejido necrótico-inflamatorio) combina los 5 marcadores del fibrotest más la determinación de ALT. Este panel tiene un valor predictivo en donde un índice de 0.7 correlaciona con grado de Fibrosis >2 por Metavir.

7. ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados se expresan en promedios y desviación estándar. Se consideró significativos los resultados al obtener un valor de $p \leq 0.05$.

Los valores de Fibrotest, Actitest y Steatotest se correlacionarán con los correspondientes grados de fibrosis, inflamación y esteatosis de cada uno de los pacientes, utilizando el coeficiente de correlación de Spearman.

Después de excluir a los pacientes con biopsia hepática no interpretable, se esperaba una correlación mínima de $r=0.6$ con un valor de $p<0.05$. El tamaño de muestra se estimó tomando como referencia una correlación $r=0.6$ (coeficiente de correlación de Spearman), con los siguientes supuestos: error alfa 5%, error Beta 20%, Con lo cual se obtuvo una muestra mínima de 18 pacientes.

Se calculó sensibilidad y especificidad con las siguientes fórmulas:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP + FN}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{VN}{VN + FP}$$

VP = verdaderos positivos

FN = Falsos negativos

VN = Verdaderos negativos

FP = Falsos positivos

8. Resultados.

Se incluyeron un total de 21 pacientes con EHGNA en un periodo comprendido de marzo 2007 hasta agosto del 2008.

Las características demográficas se muestran en la tabla No. 1. La edad promedio fue de 14 años, 13 (66.6%) eran de sexo masculino, el peso promedio fue de 68.5 K (DE \pm 16). Todos los pacientes se encontraban con IMC por arriba del percentil 85, con una media de IMC 29.5 (DS \pm 3.8); presentaron obesidad (IMC > al percentil 95) 11 niños (55%).

Al examen físico todos tuvieron acantosis nigricans en cuello y/o axilas e ingles, ninguno de los pacientes tuvo hepatalgia ni hepatomegalia; en los 21 casos estudiados el perfil de marcadores de autoinmunidad y el perfil viral para VHC y VHB fue negativo ; en todos los niveles de ceruloplasmina fueron normales. Ninguno tuvo antecedentes de uso de drogas hepatotóxicas, administración de nutrición parenteral o consumo de alcohol. El ultrasonido abdominal mostró cambios compatibles con hígado graso en todos los casos.

Los resultados de los parámetros bioquímicos se muestran en la tabla No.2. Se observó hipertrigliceridemia en 17% de los pacientes, hipercolesterolemia 20% e hiperglicemia en un 10% de los casos.

Los niveles séricos de los biomarcadores específicos para fibrosis mostraron en todos los niños con EHGNA valores de Alfa 2 macroglobulina elevados a comparación del grupo control (361.5 vs 246 mg/dL respectivamente, p 0.035). Los niveles de haptoglobina y apolipoproteína A1 estuvieron dentro de rangos normales en los 2 grupos sin diferencia significativa.

En todos los niños se realizó biopsia hepática por laparoscopia, en ningún caso se presentaron complicaciones inmediatas o tardías.

La evaluación histopatología mostró en base a las escala de METAVIR, fibrosis de diferentes grados en 20/21 (95%) de las biopsias analizadas, tuvieron

fibrosis algún grado de fibrosis 18 (90%); en las 21 biopsias se observó algún grado de necro-inflamación y esteatosis, en 10/21 (48%) la esteatosis fué severa (grado 3). (Tabla 3 y Fig. 1-3).

El índice promedio para Fibrotest, Actitest y Steatotest se muestra en la tabla 4. Se encontró que el índice de Fibrotest se encontraba en 18/21 pacientes en valores mayores a los referidos como normal, el Actitest en 2/21(9.5%) y Steatotest en 6/21 (28.5%).

Tomando un valor de corte de 0.22, descrito en el metanálisis realizado en adultos para diagnóstico de fibrosis hepática en la biopsia hepática a través del Fibrotest,²⁶ se observó en 18/20 pacientes, y solo en uno no hubo diagnóstico de fibrosis por Fibrotest ni en la biopsia hepática, con esta prueba la correlación entre los valores de fibrotest y fibrosis en la biopsia hepática fue $r=0.8$ (coeficiente de Spearman), se obtuvo una sensibilidad 90% (IC 95% 0.68 - 0.99), y una especificidad del 100% (tabla 5) (Gráfica 1).

Para el índice de Actitest y actividad necroinflamatoria en la biopsia hepática no se encontró correlación $r=0.024$ (Coeficiente de Spearman). Para el índice de Steatotest no hubo correlación con el grado de esteatosis encontrado en la biopsia hepática $r=0.033$ (Coeficiente de Spearman).

9. DISCUSION

Existen diversas causas que pueden dañar el hígado dando lugar a necroinflamación crónica, fibrosis y finalmente desarrollo de cirrosis. En los adultos las causas desencadenantes son habitualmente secundarias a infecciones por Virus de la Hepatitis B y C o ingesta crónica de alcohol; en la población pediátrica varían según la edad del niño; en lactantes predominan las colestasis neonatales y los defectos metabólicos mientras que en los niños mayores las causas son de origen autoinmune, secundarias a uso de drogas hepatotóxicas, post hepatitis y criptogénicas. Durante los últimos años el aumento en la prevalencia de obesidad ha dado lugar a un incremento de los casos con enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA) en la población general, en Estados Unidos aproximadamente un 30% de los adultos y 10% de los niños la padecen.^{2,9}

La EHGNA representa un espectro amplio de condiciones que van desde la presencia de hígado graso que por lo general su curso clínico es benigno y no progresivo, hasta la presencia de esteatohepatitis que es una forma más grave con el potencial de progresar a cirrosis y enfermedad hepática terminal.

La biopsia hepática es el indicador más confiable para el diagnóstico y establece la presencia de fibrosis, sin embargo no es un método inocuo y exento de complicaciones por lo que actualmente se han buscado técnicas no invasivas (biomarcadores) para la detección de fibrosis.^{15,22} Estos métodos se basan en la utilización de la combinación de biomarcadores séricos para la evaluación cuantitativa de fibrosis (FibroTest); de esteatosis (SteatoTest) y la determinación cuantitativa de actividad necroinflamatoria (ActiTest) a través de un índice que permite su correlación con la evaluación histopatológica de la biopsia hepática.^{24,30} Estos métodos han sido validados en adultos y existen poca experiencia en el grupo pediátrico. Estos marcadores séricos en pacientes adultos con hepatopatía crónica por diferentes causas se han validado para detección del grado de fibrosis comparados con la biopsia hepática, reportado un área bajo la curva ROC (Receiver Operating Characteristic) entre 0.79 y 0.88 para fibrosis por Metavir de F2 y entre 0.95 a 0.97 para F4.^{24,26,28}

En nuestro estudio en todos los casos el diagnóstico de EHGNA se realizó por biopsia, encontramos que un índice de Fibrotest de mayor a 0.22 permitió establecer la presencia o no de fibrosis de cualquier grado en el 95% de los pacientes, con una sensibilidad de 90%, y una especificidad del 100%. La importancia de identificar fibrosis con valores de Fibrotest por arriba de 0.22 es que nos permitiría conocer la presencia del daño causado al identificar fibrosis, por lo que en ellos se considera realizar la biopsia hepática para estadificar la fibrosis y establecer un pronóstico, sin embargo, en pacientes con valores de FT menores a 0.22 no se identificaría fibrosis hepática, por lo que en ese momento no someteríamos los pacientes a biopsia hepática evitando complicaciones y costos que implica esta.

Con el resto de las mediciones (Actitest, Nashtest y esteatotest), no se encontró correlación entre el grado de esteatosis y de actividad necroinflamatoria posiblemente relacionado a los valores de corte que fueron tomados de los de referencia en personas adultas y/o del tamaño de nuestra muestra que resulto pequeño para la validación de esta prueba.

La evaluación histopatológica con el método de Kleiner³⁸ permite determinar la cantidad en porcentaje de grasa hepática y el Steatotest mide la esteatosis a través de un índice que incluye los marcadores serológicos del fibrotest más los niveles de colesterol y triglicéridos; en nuestro estudio la correlación entre ambos parámetros fue muy baja (Coeficiente de Spearman $r=0.033$) lo que pudiera estar relacionado a que un bajo porcentaje de estos niños (37%) tuvieron un perfil de lípidos alterado.

En cuanto a la estimación del grado fibrosis, el índice de Fibrotest además de incluir el nivel de bilirrubinas totales y GGT determina los niveles de biomarcadores específicos para fibrosis como son la determinación de alfa 2 macroglobulina, proteína que se incrementa durante el proceso de fibrosis a nivel de la matriz extracelular;³¹ en todos los casos los niveles de esta proteína estuvieron incrementados a diferencia de la haptoglobulina y Apolipoproteína que se espera estén disminuidos durante el proceso de fibrosis y los cuales se

encontraron normales tanto en los niños con EHGNA como en los controles. Esta falta de disminución en los niveles séricos de haptoglobulina y apolipoproteína, en nuestros pacientes estudiados pudiera estar reflejando el bajo grado de fibrosis que se observó en sus biopsias.

La correlación que obtuvimos en nuestros casos para la estimación de fibrosis entre el índice de fibrotest y la biopsia fue de $r=0.8$ (Coeficiente de Spearman) con algún grado de fibrosis. Estos resultados son comparables con aquellos reportados en un grupo de niños con enfermedad hepática crónica de diferente etiología en los que se evaluó el grado de fibrosis mediante Fibrotest y Elastografía (Fibroscan) y en los cuales reportaron una correlación de Spearman de $r=0.84$ y $r=0.88$ respectivamente en niños con fibrosis avanzada³⁹.

Otro estudio en niños mostró que la elastografía (FibroScan), Fibrotest, y el índice de APRI (relación AST/plaquetas) tuvieron una correlación significativa con el grado de fibrosis evaluado por Metavir en la biopsia hepática, reportando una área bajo la curva (ROC) de 0.88, 0.73, y 0.73 respectivamente.⁴⁰

Una observación hecha en nuestro estudio está en relación a que los 21 casos fueron evaluados por presentar obesidad y transaminasemia en algún momento de la evolución, sin embargo un 40% tuvieron enzimas ligeramente aumentadas (entre 40-60 UI/L) al momento de la biopsia, en todos estos casos los hallazgos histopatológicos revelaron esteatohepatitis en todos y fibrosis en el 95% de los casos. Cuando se comparó Actitest con la actividad necroinflamatoria en la biopsia se obtuvo una correlación de Spearman de $r=0.024$, esta baja correlación consideramos se debió a que el índice de Actitest incluye como parámetros de inflamación hepática la ALT, enzima cuyos niveles resultaron solo ligeramente incrementados en 40% de los casos. Se ha reconocido que la EHGNA es una entidad que puede pasar desapercibida por mucho tiempo, su curso clínico puede ser silencioso y los niveles de transaminasas reportarse fluctuantes o normales, lo que enmascara la presencia de un hígado afectado; hasta un 25-30% de pacientes adultos pueden mostrar una elevación mínima de los niveles de transaminasas con

biopsia en las que se han observado fibrosis y/o cirrosis.⁴¹ En niños este hecho también ha sido reportado, Mofrad y cols observaron en 6/15 (40%) niños con enzimas hepáticas normales cambios histopatológicos con esteatohepatitis y fibrosis.^{3,42,43,44}

Por lo tanto la EHGNA es un diagnóstico que debe sospecharse en todos los niños obesos como causa de enfermedad hepática crónica con o sin transaminasemia importante.

El examen físico (presencia de hepatomegalia o acantosis nigricans), bioquímico y hematológico de rutina son de ayuda para detectar al paciente que pudiera tener EHGNA, sin embargo, hay biomarcadores que pueden detectar a aquellos niños con mayor riesgo de padecerla y de tener un mayor avance de la enfermedad por lo que es recomendable buscar intencionadamente datos relacionados con factores de riesgo como son la presencia de hiperlipidemia, Diabetes Mellitus, relación AST/ALT >1 e índice de HOMA (resistencia a la insulina),^{2,9} en estos casos la utilización de un marcador sérico para la detección de fibrosis como el (Fibrotest) nos puede ayudar a identificar a estos sujetos y dar un tratamiento oportuno si una necesidad inicial de realizar una biopsia.

En conclusión la determinación de FibroTest es una alternativa para evaluar la fibrosis hepática, ya que con valores bajos no sería necesario realizar biopsia hepática, y en valores altos la biopsia sería para determinar la gravedad de la fibrosis. El FibroTest representa una buena opción durante la evaluación inicial de los pacientes pediátricos para discriminar quienes cursan con fibrosis.

10. Bibliografía.

1. Rashid M, Roberts EA. Nonalcoholic steatohepatitis in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 48-53
2. Schwimmer JB, Deutsch R, Rauch JB, Behling C, Neubury R, Lavine J. Obesity, insulin resistance, and other clinicopathological correlates of pediatric non alcoholic fatty liver disease. *J Pediatric* 2003;143:500-5
3. Flores J, Gomez R, Rodríguez G, Morán S. Frequency of increased aminotransferases levels and associated metabolic abnormalities in obese and overweight children of an elementary school in Mexico City. *Ann Hepatol* 2005; 4:279-83
4. Adams LA, Talwalkar JA. Diagnostic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol* 2006;40(Suppl. 1): S34–8.
5. den Boer M, Voshol PJ, Kuipers F, et al. Hepatic steatosis: a mediator of the metabolic syndrome. Lessons from animal models. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24:644–649
6. Edmison Jhon, McCullough Artur, Pathogenesis of Non-Alcoholic Steatohepatitis: Human Data. *Clin. Liver Dis.* 2007;11:75-104
7. Schwimmer JB, Behling C, Newbory R, Nievergelt C, Schork NJ, Lavine JE. Histopathology of Pediatric Fatty liver Disease. *Hepatology* 2005;42:641-49
8. Reid AE. Nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2001; 121; 710–723.
9. Mager DR, Roberts EA. Nonalcoholic fatty liver disease in Children. *Clin Liver Dis* 2006;109-131
10. Fishbein MH, y cols. The spectrum of fatty liver in obese children and the relationship of serum aminotransferases to severity of steatosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 36: 54-61
11. Joseph AE, y cols. Comparison of liver histology with ultrasonography in assessing diffuse parenchymal liver disease. *Clin Radiol* 1991; 43: 26-31.
12. Hubscher S G Histological assessment of non-alcoholic fatty liver disease *Histopathology* 49, 450–465
13. Labayle D, Chaput JC, Albuissou F, Buffet C, Martin E, Etienne JP. Comparison of the histological lesions in tissue specimens taken from the

right and left lobe of the liver in alcoholic liver disease. *Gastroenterol Clin Biol* 1979;3:235-40.

14. Novili V, Marcellini M, Devito R, Ciampalini P, Piemonte F, Comparcola D, Startorelli MR, Angulo P. NAFLD in children: A prospective clinical-pathological study and effect of lifestyle advice. *Hepatology* 2006;44:458-465
15. Maharaj B, Maharaj RJ, Leary WP, Cooppan RM, Naran AD, Pirie D, Pudifin DJ. Sampling variability and its influence on the diagnostic yield of percutaneous needle biopsy of the liver. *Lancet* 1986;1:523-5.
16. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pylsopoulos NT, Feng ZZ, Reddy KR, Schiff ER. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2614-8.
17. Bedossa P, Dargère D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003, 38;1449-57.
18. Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, Grimaldi A, Poynard T, for the LIDO Study Group. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2005;128:1898-1906.
19. Poynard T, Ratziu V, Bedossa P. Appropriateness of liver biopsy. *Can J Gastroenterol*. 2000;14:543-8.
20. Cadranel JF, Rufat P, Degos F. Practices of liver biopsy in France: results of a prospective nationwide survey. For the Group of Epidemiology of the French Association for the Study of the Liver (AFEFL). *Hepatology* 2000;32:477-81.
21. Fox, Victor L.; Cohen, Mitchell B.; Whittington, Peter F.; Colletti, Richard B. Outpatient Liver Biopsy in Children: A Medical Position Statement of the North American Society for Pediatric Gastroenterology and Nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*. 23:213-216, October 1996.
22. Afdhal NH. Biopsy or biomarkers: is there a gold standard for diagnosis of liver fibrosis? *Clin Chem*. 2004;50:1299-300.
23. Le Calvez S, Thabut D, Messous D, Munteanu M, Ratziu V, Imbert-Bismut F, Poynard T. FibroTest has higher Predictive values than APRI for fibrosis

- diagnosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2004; 39: 862-3(Letter).
24. Poynard T, Imbert-Bismut F, Munteanu M, Messous D, Myers RP, Thabut D, Ratzu V, Mercadier A, Benhamou Y, Hainque B. Overview of the diagnostic value of biochemical markers of liver fibrosis (FibroTest, HCV FibroSure) and necrosis (ActiTest) in patients with chronic hepatitis C. *Comp Hepatol.* 2004;3:8.
 25. Myers RP, Tainturier MH, Ratzu V, Piton A, Thibault V, Imbert-Bismut F, Messous D, Charlotte F, Di Martino V, Benhamou Y, Poynard T. Prediction of liver histological lesions with biochemical markers in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol.* 2003;39:222-30.
 26. Halfan Philippe, and Cols. Independent prospective Multicenter Validation of Biochemical Markers (Fibrotest – Actitest) for the predicting of Liver Fibrosis and Activity in Patient with Chronic Hepatitis C. *Am J Gastroenterol.* 2006;101: 547-555.
 27. Naveau S, Raynard B, Ratzu V, Abella A, Françoise Imbert-Bismut F, Messous D, Beuzen F, Capron F, Thabut D, Munteanu M, Chaput JC, Poynard T. The diagnostic value of biomarkers for the prediction of liver fibrosis in patients with chronic alcoholic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005;3:167-74.
 28. Ratzu V, Le Calvez S, Imbert-Bismut F, Messous D, Charlotte F, Bonyhay L, Munteanu M, Poynard T. Diagnostic value of biochemical markers (Fibrotest) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2003;38:510A
 29. Imbert-Bismut F, Messous D, Thibaut V, Myers RB, Piton A, Thabut D, Devers L, Hainque B, Mercadier A, Poynard T. Intralaboratory analytical variability of biochemical markers of fibrosis (FibroTest) and activity (ActiTest) and reference ranges in healthy blood donors. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 323-33.
 30. Poynard T, Ratzu V, Charlotte F, Messous D, Munteanu M, Imbert-Bismut F, Massard J, Bonyhay L, Tahiri M, Thabut D, Cadranel JF, Le Bail B, de Ledinghen V; LIDO Study Group ; Diagnostic value of biochemical markers (NashTest) for the prediction of non alcoholic steato hepatitis in patients

with non-alcoholic fatty liver disease, BMC Gastroenterol. 2006 Nov 10;6:34

31. Naveau S, Poynard T, Benattar C, Bedossa P, Chaput JC. Alpha-2-macroglobulin and hepatic fibrosis. Diagnostic interest. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 2426-32.
32. Thabut D, Simon M, Myers RP, Messous D, Thibaut V, Imbert-Bismut F, Poynard T. Noninvasive prediction of fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 37: 1220-1
33. Bacq Y, Schillio Y, Brechot JF, De Muret A, Dubois F, Metman EH. Decrease of haptoglobin serum level in patients with chronic viral hepatitis C. *Gastroenterol Clin Biol* 1993; 17: 364-9.
34. Louagie HK, Brouwer JT, Delanghe JR, De Buyzere ML, Leroux-Roels GG. Haptoglobin polymorphism and chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1996; 25:10-4.
35. Mathurin P, Vidaud D, Vidaud M, Bedossa P, Paradis V, Ratzu V, Chaput JC, Poynard T. Quantification of apolipoprotein A-I and B messenger RNA in heavy drinkers according to liver disease. *Hepatology* 1996; 23: 44-51.
36. Paradis V, Laurent A, Mathurin P, Poynard T, Vidaud D, Vidaud M, Bedossa P. Role of liver extracellular matrix in transcriptional and post-transcriptional regulation of apolipoprotein A-I by hepatocytes. *Cell Mol Biol* 1996; 42: 525-34
37. McCullough AJ. The clinical features, diagnosis and natural history of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2004 ;8:521-33.
38. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, Liu YC, Torbenson MS, Unalp-Arida A, Yeh M, McCullough AJ, Sanyal AJ; Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2005;41 :1313-21.
39. De Ledinghen V, Le Bai BI, Foucher J, Castera L, Darriet M, Lamireau Th, *Hepatology* 2005 ; 42 : 472A. FibroScan® a new non-invasive method for the diagnosis of liver fibrosis in children: a prospective comparison with FibroTest-FibroSURE® and liver biopsy . *Hepatology* 2005 ; 42 : 472A
40. De Ledinghen V, Le Bail B, Rebouissoux L, Fournier C, Foucher J, Miette V, Castéra L, Sandrin L, Merrouche W, Lavrand F, Lamireau T. Liver

stiffness measurement in children using FibroScan: feasibility study and comparison with Fibrotest, aspartate transaminase to platelets ratio index, and liver biopsy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007 45(4):443-50

41. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. *Am J Gastroenterol* 2003;98:960-7
42. Leon A. Adams, Paul Angulo, MD Role of Liver Biopsy and Serum Markers of Liver Fibrosis in Non-alcoholic Fatty Liver Disease: *Clin Liver Dis* 2007 11 25–35
43. Kunde SS, Lazenby AJ, Clements RH, Abrams GA. Spectrum of NAFLD and diagnostic implications of the proposed new normal range for serum ALT in obese. *Hepatology* 2005; 42: 650-656
44. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, Sargeant C, Fisher RA, Luketic VA, Sterling RK, Shiffman ML, Stravitz RT, Sanyal AJ. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology.* 2003 ;37:1286-92.

11. ANEXOS.

Tabla No. 1 CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS DE LA POBLACIÓN

V aribles	EHGNA N=21
Sexo	
- Masculino	13 (65%)
- Femenino	7 (35%)
Edad (Rangos)	14 a (17 - 8)
Peso (DS)	68.5 (\pm 16)
IMC (DS)	29.5 (\pm 3.8)
Obesidad	11 (55%)
Sobrepeso	9 (45%)
Acantosis	20 (100%)

TABLA No. 2 RESULTADO DE PRUEBAS BIOQUIMICAS

VARIABLES	EHGNA N = 21
AST (U/L)	64 (\pm 23)
ALT (U/L)	42 (\pm 24.9)
AST / ALT	0.9 (\pm 0.05)
GGT (U/L)	52 (\pm 4.8)
Bilirrubina Total (mg/dL)	0.6 (\pm 0.6)
Trigliceridos (mg/dL)	194 (\pm 103)
Colesterol (mg/dL)	163 (\pm 23)
Glucosa (mg/dL)	87.25 (\pm 12)
Alfa 2 macroglobulina (mg/dL)	361.5 (\pm 23)
Haptoglobina (mg/dL)	95 (\pm 55)
Apolipoproteina (mg/dL)	146 (\pm 30)

Los resultados se presentan en medias y DE

TABLA No. 3 RESULTADO DE LAS BIOPSIAS HEPATICAS

Biopsia Hepática	Resultados
Metavir	
• Grado 0 (FO)	1 (5%)
• Grado 1 (F1)	12 (57%)
• Grado 2 (F2)	6 (29%)
• Grado 3 (F3)	2 (9%)
• Grado 4 (F4)	0
Esteatosis	
• Grado 0	0
• Grado 1	5 (24%)
• Grado 2	6 (28%)
• Grado 3	10 (48%)
Necro-Inflamación	
• Grado 0	0
• Grado 1	11 (52%)
• Grado 2	10 (48%)
• Grado 3	0

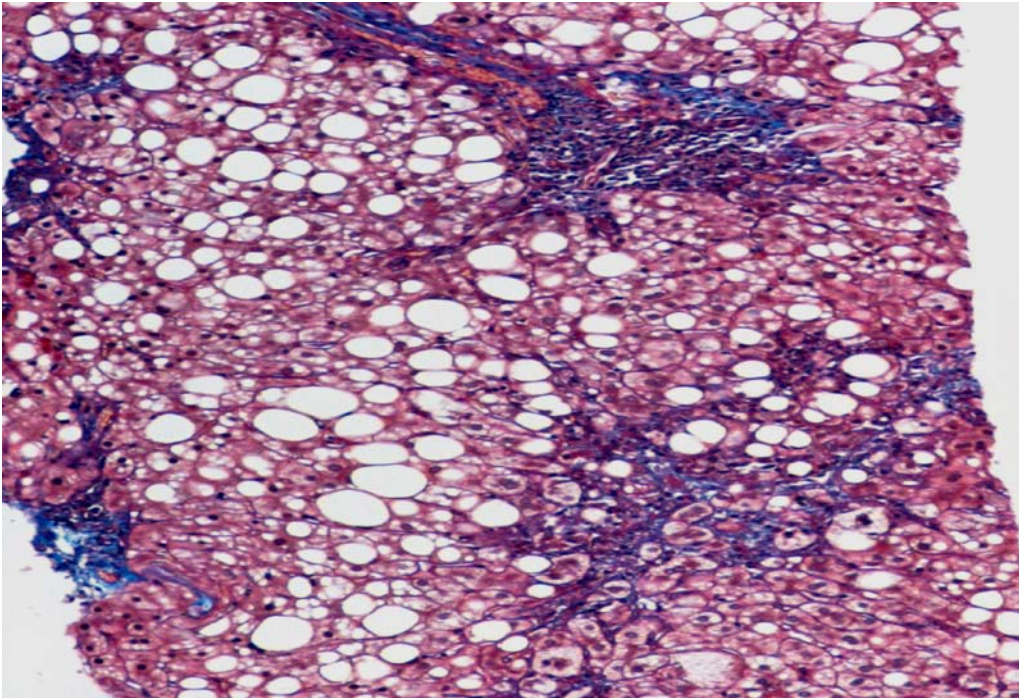
TABLA No. 4 RESULTADO DE INDICES PARA FIBROSIS

Biomarcadores	EHGNA (21)
Fibrotest	0.34 (DS ± 0.14)
Esteatotest	0.33 (DS ± 0.19)
Actitest	0.24 (DS 0.17)

TABLA No. 5 CORRELACION DE FIBROTEST Y METAVIR

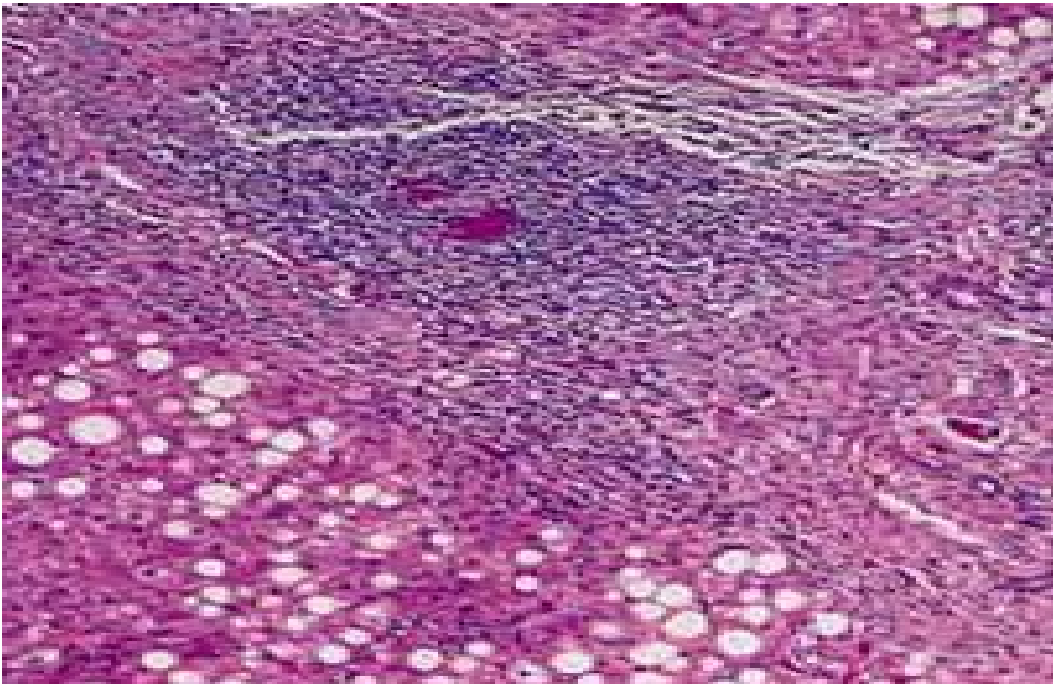
		Biopsia hepática	
		Sí	No
Fibrotest	Sí	18	0
	No	2	1
		20	1

FIGURA No. 1 FIBROSIS Y ESTEATOSIS



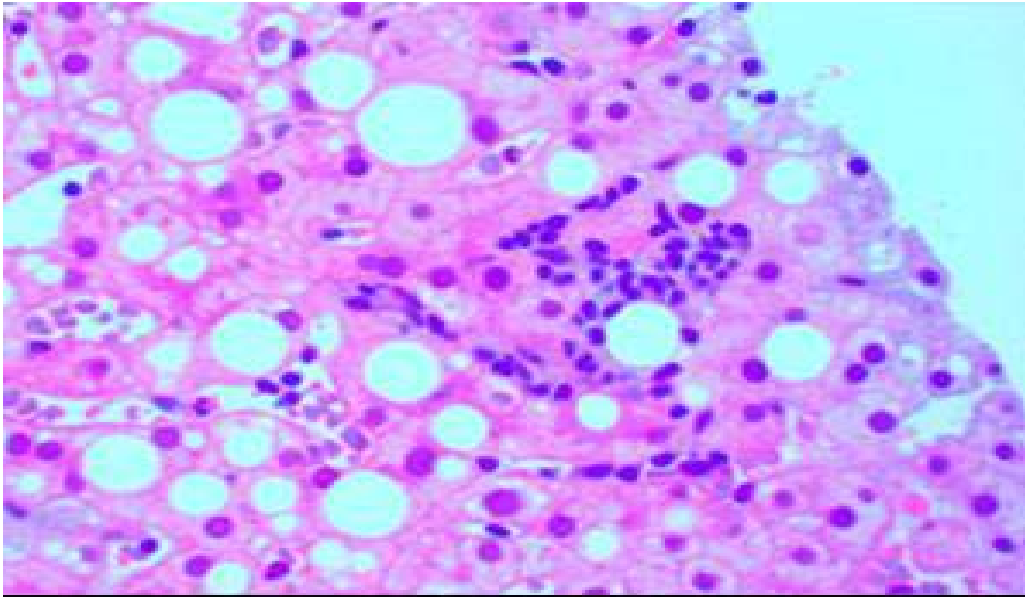
Hepatology 2005;42:641-49

FIGURA No. 2 FIBROSIS PERISINUSOIDAL



Hepatology 2005;42:641-49

FIGURA No. 3 LIPOGRANULOMA



Hepatology 2005;42:641-49