



**Universidad Nacional Autónoma de México**

**Programa de Maestría en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la  
Salud**

**“ASOCIACIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO FIBROBLASTICO  
21 (FGF-21) CON ARTERIOPATIA CAROTÍDEA SUBCLINICA EN  
PACIENTES CON HEPATOPATIA ASOCIADA A HÍGADO GRASO  
NO ALCOHÓLICO”**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS**

**PRESENTA:**

**LIZ NICOLE TOAPANTA YANCHAPAXI**

**TUTOR:**

**ERWIN CHIQUETE ANAYA**

**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR  
ZUBIRÁN**

**CIUDAD DE MÈXICO, DICIEMBRE 2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Dr. Ignacio García Juárez**

Departamento de Gastroenterología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y  
Nutrición Salvador Zubirán.

**Dr. Carlos Aguilar Salinas**

Departamento de Endocrinología y Metabolismo de Lípidos. Instituto Nacional de  
Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

**Dr. Isidoro Aczel Sánchez Cedillo,**

Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado y del  
Hospital 20 de noviembre,

## Tabla de contenido

ÍNDICE DE FIGURAS .....	5
ÍNDICE DE TABLAS .....	6
PREFACIO .....	7
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>8</b>
1.1 HEPATOPATÍA POR HÍGADO GRASO .....	8
1.2 ASOCIACIÓN CON SÍNDROME METABÓLICO .....	11
1.3 RIESGO CARDIOVASCULAR EN HÍGADO GRASO .....	12
1.4 RIESGO CARDIOVASCULAR SUBCLÍNICO.....	15
1.5 EVALUACIÓN DE LA FIBROSIS Y ESTEATOSIS HEPÁTICA.....	17
1.6 FACTOR DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO 21 (FGF-21) .....	27
1.7 FACTOR DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO 21 (FGF-21) Y RIESGO CARDIOVASCULAR .....	31
<b>2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>32</b>
<b>3 JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>32</b>
<b>4 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>33</b>
<b>5 HIPÓTESIS .....</b>	<b>33</b>
<b>6 OBJETIVOS .....</b>	<b>33</b>
6.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	34
<b>7 METODOLOGÍA .....</b>	<b>34</b>
7.1 POBLACIÓN Y MUESTRA .....	34
7.2 ESTUDIOS DE LABORATORIO Y GABINETE.....	36
7.2.1 Índices para el diagnóstico de hígado graso.....	37
7.2.2 Elastografía de transición (Fibroscan <sup>®</sup> + CAP).....	39
7.2.3 Factor de crecimiento fibroblástico-21.....	39
7.2.4 Ultrasonido de abdomen .....	40
7.2.5 Ultrasonido Doppler dúplex carotídeo.....	41
7.2.6 Medición del grosor íntima-media carotídeo por ultrasonido Doppler dúplex .....	42
7.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	43
<b>9 RESULTADOS.....</b>	<b>45</b>
9.1 ELASTROGRAFIA DE TRANSICIÓN .....	55
9.2 ULTRASONIDO DE ABDOMEN.....	56
9.3 ULTRASONIDO CAROTÍDEO .....	56
9.4 FACTOR DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO-21 .....	57
9.5 ANÁLISIS DE CORRELACIÓN .....	57
9.6 ANÁLISIS DE DESEMPEÑO DIAGNÓSTICO .....	61
<b>10 DISCUSIÓN.....</b>	<b>66</b>

11	CONCLUSIÓN .....	76
12	BIBLIOGRAFÍA.....	78

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Diagrama de flujo de pacientes incluidos y excluidos del estudio.....	45
--	----

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Pruebas no-invasivas de esteatosis hepática .....	20
<b>Tabla 2.</b> Marcadores de imagen para esteatosis hepática .....	26
<b>Tabla 3.</b> Valores de normalidad IMT carotídea en población mexicana .....	42
<b>Tabla 4.</b> Características clínicas de los pacientes .....	46
<b>Tabla 5.</b> Características antropométricas de los pacientes. ....	50
<b>Tabla 6.</b> Resultados de laboratorio en la población evaluada. ....	52
<b>Tabla 7.</b> Herramientas de predicción no invasivas que reflejan el contenido de grasa hepática en pacientes con sospecha de NAFLD. ....	54
<b>Tabla 8.</b> Correlaciones bivariadas de Pearson asociadas a CAP (n=86).....	57
<b>Tabla 9.</b> Correlaciones bivariadas de Pearson asociadas a LAP ajustado para FGF-21 sin valores atípicos.....	59
<b>Tabla 10.</b> Análisis de desempeño diagnóstico de diferentes puntos de corte de LAP para la correcta identificación de casos con esteatosis en nivel S2-S3 por CAP.....	60
<b>Tabla 11.</b> Análisis de desempeño diagnóstico de diferentes puntos de corte de FLI para la correcta identificación de casos con esteatosis en nivel S2-S3 por CAP.....	62
<b>Tabla 12.</b> Análisis de desempeño diagnóstico de diferentes puntos de corte de TyG para la correcta identificación de casos con esteatosis en nivel S2-S3 por CAP.....	63
<b>Tabla 13.</b> Análisis de desempeño diagnóstico de diferentes puntos de corte de NAFLD-LFS para la correcta identificación de casos con esteatosis en nivel S2-S3 por CAP. ....	64
<b>Tabla 14.</b> Análisis de desempeño diagnóstico de diferentes puntos de corte de HSI para la correcta identificación de casos con esteatosis en nivel S2-S3 por CAP.....	65

## **PREFACIO**

*A mis padres, Ramiro y Luisa por ayudarme a seguir mis sueños.*

*A mis hermanos Franklin y Omar por todo su apoyo y consejos aún a distancia.*

*A Erwin por su invariable ayuda y paciencia durante todo este proceso.*

*A Ignacio por ser un mentor y una fuente de apoyo incondicional.*

*Gracias a todos, y cada uno de los colaboradores de este proyecto, sin ustedes  
este trabajo no sería una realidad.*



## **1. Introducción**

La enfermedad hepática es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. Diferentes factores tales como infecciones por virus de hepatitis C (HCV), consumo de alcohol y la obesidad se encuentran asociados. El hígado graso no alcohólico (NAFLD), se define como la acumulación excesiva de grasa dentro de los hepatocitos en ausencia de un consumo excesivo de alcohol y se considera patológica cuando esta afecta a >5 % de los mismos [1,2]. Involucra un amplio espectro que se extiende desde la esteatosis simple, la infiltración grasa con inflamación (NASH), fibrosis y cirrosis [3,4] y la única cura factible en su etapa terminal es el trasplante hepático, sin embargo se conoce que esta patología puede recurrir aún luego de la cirugía.

### **1.1 Hepatopatía por hígado graso**

En México, de acuerdo al Instituto Nacional de Estadística y Geografía, la cirrosis hepática y otras enfermedades crónicas del hígado representan la quinta causa de muerte en la población general desde el 2000 hasta el 2013 (un 6.3 % del total en 2000, un 5.5 % en 2010 y un 5.5 % en 2013). Cuando se divide por género, en hombres representa la 5ª causa, y en mujeres entre la 7ª y 6ª causa, de acuerdo al año analizado [5].

En los últimos años se ha observado un incremento en la prevalencia de esta enfermedad. Se estima que la prevalencia global de NAFLD es del 24 % [6]. Las tasas de prevalencia más altas se han reportado en América del Sur con un 31 %, Oriente medio con 32 %, Asia 27 %, Estados Unidos (24 %), Europa (23 %) y África (14 %) [6]. Cuando se evalúa su cambio en el tiempo, en 2003 se reportó una prevalencia de 6.3 % y en 2011 fue del 17.6 % cuando se valora por un incremento en los valores de transaminasas [5]. Si se divide por género, se considera que NAFLD tiene una mayor prevalencia en hombres [2], con una prevalencia global de 30 – 40 % en hombres y 15 – 20 % en mujeres [7] y con una incidencia anual del 6.0 % [8]. Cabe recalcar que en pacientes de descendencia mexicana, la prevalencia de NAFLD puede ser hasta del 33 % [9,10]

La obesidad es el principal factor de riesgo para NAFLD. En los últimos años, se ha observado un incremento en el índice de masa corporal (IMC) en la población. Para 1980, un 28 % de la población presentaba un IMC >25, pero en 2013, un 39 % lo presentaba [11]. Al momento, se conoce que un 80 % de pacientes con NAFLD tienen sobrepeso u obesidad, un 72% tienen dislipidemia y hasta un 44 % ha recibido el diagnóstico de diabetes mellitus (DM) tipo 2 [3]. En un seguimiento a 11 años plazo se ha estimado que los pacientes con NAFLD son más propensos a desarrollar DM y síndrome metabólico (SM) cuando se los compara con controles pareados [2]. Se considera que aquellos con una edad mayor de 45 años y con diagnóstico de DM tipo 2 tienen riesgo de fibrosis avanzada y mayor riesgo de desenlaces hepáticos [3]. Además se

sabe que estas dos condiciones están asociadas con resistencia a la insulina y con enfermedad cardiovascular (CVD) [2]. Cuando se evalúa la presencia de NASH, de los pacientes descritos previamente, entre un 5 % – 40 % desarrollará esteatohepatitis, misma que está caracterizada por esteatosis, lesión hepatocelular (presencia de balonización, cuerpos de Mallory-Denk), e inflamación [12,13]. Sin embargo, pese a la asociación entre NAFLD y obesidad, las dos condiciones no coexisten necesariamente y es posible que la presencia de NAFLD ayude a distinguir entre los individuos obesos metabólicamente sanos y los enfermos [2].

NAFLD es una enfermedad que tiene diferentes grados de progresión y diferentes manifestaciones clínicas y su diversidad refleja el impacto de ambiente, el microbioma, el metabolismo, comorbilidades y los factores genéticos de riesgo [2,3]. Algunos de los pacientes con NASH son asintomáticos sin datos clínicos relevantes durante décadas, pero algunos pueden progresar de forma rápida. En pacientes con NASH, con algún grado de fibrosis, el riesgo de muerte por enfermedad hepática se incrementa por un factor de 50 a 80 en pacientes con NASH con un grado F3 o F4 de fibrosis [3]. Hoy en día, NAFLD es una de las principales indicaciones para trasplantes en Estados Unidos [6,13].

Algo que es importante recalcar, es que la carga clínica de esta patología no se ha confinado a la morbilidad y mortalidad hepática (sea cirrosis, falla hepática y carcinoma hepatocelular) [14]. Se considera que esta es una enfermedad

multisistémica por lo que puede afectar a varios órganos y vías regulatorias [11]. Además, se ha observado que puede estar ligada a otras enfermedades crónicas como apnea, cáncer colorrectal, osteoporosis, psoriasis y enfermedad renal [10–12] lo que la convierte en una de las enfermedades crónicas que a futuro requerirá de importantes medidas sanitarias y que a su vez necesitará de marcadores tempranos de la misma. Al momento se estima que NAFLD produce un gasto médico anual directo de aproximadamente \$100 billones de dólares [3].

## **1.2 Asociación con síndrome metabólico**

NAFLD se considera que puede ser el equivalente hepático del SM [3] y se ha observado que hasta un 60.5 % de estos pacientes cumplen los criterios de SM e incluso presentan factores como obesidad abdominal que ha su vez esta asociada con esteatosis. La asociación entre NAFLD y SM es bidireccional lo que significa que no solo el SM incrementa el riesgo de NAFLD, sino que a su vez incrementa las características y comorbilidades asociadas [DM e hipertensión arterial (HAS)] [15]. Es por eso que se ha podido describir la presencia de NAFLD en pacientes con condiciones asociadas a SM como síndrome de ovario poliquístico, diabetes gestacional, entre otros [2]. La resistencia a la insulina se ha reconocido durante varios años como un componente de la patogénesis de NAFLD debido a que la resistencia a la insulina en el tejido adiposo incrementa el influjo de ácidos grasos libres (AGL) al hígado y la hiperinsulinemia sistémica incrementa la lipogénesis hepática [2],

mientras que la resistencia a la insulina periférica contribuye a la hipertrigliceridemia y a la acumulación intrahepática de grasa. Lo importante es que la resistencia a la insulina empeora con la progresión de la enfermedad, y si bien, el mejorar la resistencia a la insulina puede ayudar a mejorar NASH, este manejo puede no ser suficiente para atenuar la progresión de NASH [15].

Hasta un 5 % de los pacientes con HAS tienen NAFLD, y éste se ha asociado a cambios en la rigidez arterial, remodelado miocárdico, enfermedad renal y falla cardíaca [15]. En un ensayo a 6.2 años se ha observado que existe un riesgo alto de progresión de fibrosis e incluso el antagonismo del sistema renina angiotensina podría mejorar NASH y la fibrosis hepática [15].

Se ha reconocido que la grasa hepática junto a la inflamación sistémica son condiciones que pueden contribuir a la disfunción miocárdica sistólica y diastólica, sin embargo, estos cambios pueden no observarse en individuos obesos metabólicamente sanos, pero se conoce que SM es una constelación de factores de riesgo cardiovasculares por lo que se convierte en un cofactor importante para los efectos cardiovasculares subclínicos y la mortalidad global en NAFLD [15].

### **1.3 Riesgo cardiovascular en hígado graso**

Si bien la esteatosis hepática puede ser asintomática no es enteramente benigna, ya que el acúmulo de lípidos en los hepatocitos en personas con un

stress metabólico sistémico puede incrementar el riesgo de CVD y de cáncer [3,13]. Incluso en un estudio longitudinal, hasta un 22 % de los pacientes con esteatosis desarrollaron fibrosis y un 44 % desarrollaron NASH [15] y éste es un factor condicionante para un mayor riesgo.

Se ha estimado que los pacientes con NAFLD tienen dos veces más posibilidad de morir por una CVD que por enfermedad hepática, y esto se encuentra asociado a factores como DM, HAS y obesidad [15]. En un seguimiento de  $26.4 \pm 5.6$  años, el riesgo cardiovascular fue de HR 1.55, (IC95% 1.1–2.15) [6]. En un meta-análisis de 34,000 pacientes, con NAFLD (con diagnóstico por ultrasonido o biopsia), con una media de seguimiento de 6.9 años, se observó que un 65% presentaban un incremento en el riesgo de desarrollar eventos cardiovasculares fatales y no-fatales [15], por lo que se ha considerado que CVD puede dictar el desenlace en pacientes con NAFLD de forma más frecuente y a una mayor extensión que la enfermedad hepática [14]. En otro estudio, se ha estimado que un 40 a 45 % de las muertes en NAFLD se asocian a CVD [14]. En pacientes diagnosticados de NAFLD en un servicio de tamizaje médico, un 5.1 % de pacientes a 5 años desarrollaron nuevos eventos cardiovasculares (5 enfermedad arterial coronaria, 6 accidente cerebrovascular de tipo isquémico, 1 accidente cerebrovascular de tipo hemorrágico) en un periodo de 5 años.

Se ha demostrado además, que existe una asociación entre NAFLD y el incremento de riesgo de enfermedad coronaria [14]. En un estudio de 10,153

pacientes coreanos con un screening ocupacional, NAFLD se asoció a un incremento en el *score* de calcio de arteria coronaria (CAC) de forma independiente a índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR por sus siglas en inglés), características de SM, coexistencia de factores de CVD y evidencia previa de CVD [2], pero también en los últimos años se ha observado asociación con el riesgo de cardiomiopatía (en especial disfunción ventricular izquierda e hipertrofia), calcificaciones en válvulas cardíacas (con predominio en válvula aórtica) y arritmias (en especial fibrilación atrial) [14,15]. Sin embargo, también existen asociaciones entre NAFLD y otros factores de riesgo cardiovascular no tradicionales como niveles elevados de ácido úrico, niveles bajos de 25-hidroxivitamina D y niveles bajos de adiponectina [16].

Un meta-análisis realizado por Oni y cols. (2013), mostró una asociación independiente entre NAFLD y los factores de riesgo tradicionales, y se observó que factores como el grosor de íntima media (GIM) carotídea, dislipidemia aterogénica, disfunción endotelial y la rigidez arterial están todos implicados [14,15,17]. Cuando se evalúa los estudios de GIM, se aprecia que estos pacientes tienden a tener mayor edad, son fumadores, y presentan factores de riesgo metabólico [18,19]. En el estudio de Brea y cols. (2005), se detalla que los pacientes con NAFLD tienen un GIM de  $0.70 \pm 0.20$  mm vs.  $0.54 \pm 0.13$ mm y el riesgo de un aumento en el GIM en pacientes con NAFLD es de OR 8.4 (2.49–29.4,  $p=0.001$ ) [19]. Se ha observado que NAFLD se asocia a la presencia de estenosis carotídea en un 12.9 % [20] y la prevalencia de placa

carotídea en este grupo puede ser del 21.9 % al 29.9 % [2,20]. Otro factor que se ha descrito en los pacientes de NAFLD es una reducción en la respuesta vasodilatadora en relación a isquemia de la arteria braquial (considerado un marcador de disfunción endotelial). En pacientes mexicanos asintomáticos con diagnóstico reciente de NAFLD, el riesgo estimado por la escala de Framingham (FRS-CHD) mayor al 20 %, fue de 3.7 % (15 de 1,028 pacientes), y éste riesgo fue mayor en pacientes con estadio de fibrosis avanzada (10 %, IC95% 9.2–10.7) [9], lo que nos dá una magnitud del problema, sin embargo, en un país con un alto índice de obesidad no se conoce el riesgo en pacientes libres de DM y HAS. Se debe tener en cuenta que la FRS-CHD no evalúa la grasa hepática o visceral [2].

#### **1.4 Riesgo cardiovascular subclínico**

La aterosclerosis es una enfermedad crónica, progresiva y multifactorial [21], que tiene una fase asintomática prolongada. Durante muchos años puede ser subclínica y finalmente se va a expresar como CVD, cerebrovascular o enfermedad arterial periférica [21]. La detección en la fase subclínica es importante ya que se puede prevenir la progresión de la enfermedad. Para la detección, diferentes herramientas se han implementado como el puntuación de CAC, GIM, carga de placa carotídea, velocidad de onda de pulso, índice tobillo-braquial [21].



Con relación al riesgo cardiovascular subclínico, también se ha apreciado una asociación con NAFLD, en particular con un incremento en la rigidez arterial, disfunción circulatoria endotelial o incremento en las placas ateroscleróticas. En un meta análisis reciente, que incluyó 12 estudios con una evaluación de 42,410 sujetos, en el que se evaluó la asociación de esteatosis hepática con aterosclerosis subclínica, se apreció que el CAC fue mayor en pacientes con NAFLD y presentó un OR de 1.64 (IC95% 1.42–1.89) [4], e incluso se observó que niveles elevados de alanino aminotransferasa (ALT) se asocian con un incremento de aterosclerosis subclínica (1.77; IC95% 1.19–2.34).

En otro análisis retrospectivo de 8,020 pacientes masculinos con NAFLD, el riesgo de desarrollar aterosclerosis subclínica es de HR=1.23 (1.13–1.35,  $p<0.001$ ) cuando se compara NAFLD persistente contra aquellos sin NAFLD [22] sin embargo, se ha observado que la esteatosis hepática puede ser auto-limitada y no siempre se acompaña de resistencia a la insulina [20].

Cuando se evalúa la asociación de NAFLD con GIM, se conoce que los pacientes con mayor fibrosis asociada a NAFLD, pueden tener 2.02 veces más riesgo de GIM elevado, 2.21 veces más riesgo de placa carotídea y 2.37 veces más riesgo de rigidez arterial vs. pacientes sin fibrosis avanzada [22] por lo que el riesgo de CVD aumentaría a medida que progresan los estadios de la enfermedad hepática lo que nos lleva a determinar si es necesario el tamizaje regular en esta población y en particular en aquellos que son candidatos a trasplante hepático, pero aún no se conoce el umbral desde el cual se debe

iniciar el mismo, ya que hay estudios que postulan que NAFLD que no se acompaña de esteatohepatitis o de fibrosis es insuficiente para incrementar el riesgo cardiovascular [23], sin embargo en estudios de cohorte mexicana en Estados Unidos, se ha sugerido que NAFLD puede estar asociado con un riesgo temprano en pacientes <45 años y con incremento de GIM [2].

Debido a que la fibrosis se considera asociada a riesgo cardiovascular, es importante diferenciar desde que estadio se produce este. Hoy en día se conoce que la fibrosis es el factor pronóstico más importante en NAFLD [3,12,22].

### **1.5 Evaluación de la fibrosis y esteatosis hepática**

El diagnóstico de la fibrosis hepática se ha basado tradicionalmente en la biopsia hepática, misma que es considerada como el estándar de referencia [2]. Para su evaluación se utilizan diferentes escalas como la de Knodell, Ishak y la del grupo colaborativo METAVIR [24,25], sin embargo, se considera un estándar imperfecto [26], ya que existe hasta un 33 % de error en el diagnóstico, con limitantes y desventajas tales como el carácter invasivo, error de muestreo (tamaño de la muestra de 1/50,000 del total de la masa hepática, se requiere por lo menos 15 mm, con una evaluación óptima con 25 mm de longitud y se requiere por lo menos una toma de muestra con una aguja 16 [2,27], la calidad irreproducible de la muestra en función de la longitud y tamaño del tejido (coeficiente de variación de 45 % – 35 %), así como la de

depender para su evaluación de la experiencia del patólogo (error del observador) [3]. Además, debido a consideraciones éticas, se evita la toma de muestras múltiples y los resultados tienden a ser representativos solamente cuando se trata de una enfermedad relativamente avanzada.

Hoy en día, disponemos de métodos no invasivos para la evaluación de los pacientes. Se tienen dos acercamientos diferentes: 1. Biológico: basado en la cuantificación de biomarcadores en muestras de suero. 2. El físico: basado en la medición de la rigidez hepática. Si bien estos son considerados complementarios, se basan en principios diferentes [1,27], ya que los marcadores séricos indican varias condiciones clínicas y se han asociado con fibrosis, mientras que la rigidez hepática corresponde a una propiedad del parénquima [27].

Dentro de la primera categoría para una enfermedad como NAFLD, en el caso de estadiar la enfermedad hepática para fibrosis, Fibrosis-4 (FIB-4) y Score Fibrosis NAFLD (NFS por sus siglas en inglés) han sido validados de forma externa y han presentado resultados consistentes. Estos tests han mostrado valores predictivos negativos (VPN) >90 % y se consideran como una línea de triaje [27], sin embargo otros marcadores como NAFLD score, Diabetes score (BARD por sus siglas en inglés), Fibrotest ®, entre otros, se encuentran disponibles, pero aún requieren de validación en pacientes de bajo riesgo.

Los marcadores séricos tienen poca sensibilidad y especificidad para NASH y en un inicio no se encontraban comercialmente disponibles. Con el tiempo, varios biomarcadores no invasivos inicialmente utilizados para evaluación de fibrosis se han vuelto disponibles y estos han llevado a la creación de diferentes índices y paneles para evaluar la esteatosis hepática a fin de determinar el riesgo individual de un paciente para esteatosis simple o para NASH [2] (**Tabla 1**). Algunos de ellos ya cuentan con estudios en diferentes poblaciones tanto asiáticas como americanas, sin embargo muchos de ellos no cuentan con validación en población mexicana de bajo riesgo.

Entre los índices conocidos tenemos al índice de hígado graso (FLI por sus siglas en inglés), índice de esteatosis hepática (HSI por sus siglas en inglés), la puntuación de hígado graso (NAFLD–LFS por sus siglas en inglés), el producto de acumulación de lípidos (LAP por sus siglas en inglés) entre otros, estos índices lo que buscan es identificar el riesgo incrementado de esteatosis [2]. Dado que HAS y DM se han asociado a NAFLD, muchos de estos índices lo han incluido en sus variables, sin embargo no se conoce su desempeño en población de bajo riesgo y los puntos de corte deben ser analizados para producir la mejor discriminación en poblaciones especiales.

**Tabla 1.** Pruebas no-invasivas de esteatosis hepática

PRUEBA	DESCRIPCIÓN	EXACTITUD	REPRODUCIBILIDAD	RESPUESTA	FACTIBILIDAD	LIMITACIONES
Índice de hígado Graso (FLI)	IMC, Circunferencia de cintura (CC), Triglicéridos (Tg), GGT	AUC 0.84 (Sn 87 %, Es 64 %)	No se ha probado	Moderada	Fácil de realizar, parámetros disponibles en consulta. Puede ser pronostico.	Estándar de referencia subóptimo
Índice de esteatosis hepática (HSI)	Radio AST:ALT, IMC, sexo femenino, Diabetes mellitus (DM)	AUC 0.81 (Sn 93 %, Es 92 %)	Si	Débil	Alto, parámetros disponibles en consulta	Estándar de referencia subóptimo
Puntuación de hígado graso (NAFLD-LFS)	SM, DM, Insulina ayunas, Radio AST:ALT (ayunas)	AUC 0.86 – 0.87 (Sn 86 %, Es 71 %)	Si	Ninguna	Intermedio (insulina puede no estar disponible)	Dificultad ya que insulina no se realiza de rutina.
Producto de acumulación de lípidos (LAP)	CC, Tg	AUC 0.79 (0.76 – 0.83)	Si	NA	Alto, parámetros disponibles en consulta	Estándar de referencia subóptimo
SteatoTest	Seis componentes de Fibrotest-ActiTest + IMC, colesterol, Tg, glucosa ajustada para edad y sexo.	AUC 0.79 – 0.80 (Sn 85 - 100 %, Es 83 – 100 %)	Si	NA	Intermedio (fórmula tiene propiedad intelectual)	FibroTest-ActiTest no se encuentra disponible en todas las regiones y tiene costo elevado.

Modificado de: Wong et al. <https://doi.org/10.1038/s41575-018-0014-9>. AUC: Area bajo la curva. AST: Aspartato aminotransferasa. ALT: alanino aminotransferasa. CC: Circunferencia cintura. IMC: Índice de masa corporal. GGT: Gamma glutamil transpeptidasa. Sn: Sensibilidad. Es: Especificidad. SM: Síndrome metabólico. Tg: Triglicéridos, DM: Diabetes mellitus

El FLI, Bedogni et al [28]), incluye IMC, circunferencia de cintura (CC), triglicéridos y gamma-glutamyl transferasa (GGT). La fórmula que se utilizó fue

$$FLI = \left( e^{0.953 \cdot \log_e(\text{triglycerides}) + 0.139 \cdot \text{BMI} + 0.718 \cdot \log_e(\text{ggt}) + 0.053 \cdot \text{waist circumference} - 15.745} \right) / \left( 1 + e^{0.953 \cdot \log_e(\text{triglycerides}) + 0.139 \cdot \text{BMI} + 0.718 \cdot \log_e(\text{ggt}) + 0.053 \cdot \text{waist circumference} - 15.745} \right) \times 100.$$

Se considera que tiene una exactitud moderada para el diagnóstico de NAFLD por ultrasonido con una certeza del algoritmo para el diagnóstico de 0.84 (IC95% 0.81–0.87) [28]. En un estudio italiano, correlacionó con resistencia a la insulina, y pudo predecir mortalidad global, asociada al hígado y por cáncer [1]. Se considera que con un puntaje menor de 30, NAFLD debería ser descartado (con un ratio de verosimilitud negativa de 0.2); si el score se encuentra entre 30 y 60 es no concluyente y si se encuentra >60 indica que NAFLD está presente con un ratio de verosimilitud positiva de 4.3.

El HSI, descrito por Lee JH [29]), se basa en 3 variables: ratio de aspartato aminotransferasa (AST)/ALT, IMC y DM. Se utiliza la ecuación:  $HSI = 8 \times \text{ALT}/\text{AST} + \text{IMC} (+ 2 \text{ si tiene DM tipo 2, } + 2 \text{ si es mujer})$ . El IMC se determina mediante la ecuación de  $\text{Peso (kg)} / \text{Talla al cuadrado (m}^2\text{)}$ . Tiene una exactitud moderada para determinar esteatosis por ultrasonido [1]. Se describió que el score tiene un área bajo la curva (AUC) de 0.812 (IC95% 0.801–0.824). Se considera que un valor menor a 30 tiene una sensibilidad de 93.1 % para descartar el diagnóstico de esteatosis y un valor >36 detecta NAFLD con una especificidad de 92.4 % [29].

Dado que los dos métodos previos se utilizaron en conjunto con el ultrasonido hepático, su papel para discriminar la esteatosis hepática leve vs. moderada-severa aún se encuentra en estudio en las diferentes poblaciones.

NAFLD–LFS, con base en el estudio de Kotronen et al [30]) cuenta con un estándar de referencia más sensible que es la resonancia magnética por espectroscopia [1]. La fórmula descrita para NAFLD–LFS =  $- 2.89 + 1.18 \times \text{SM}$  (Si: 1, No: 0) +  $0.45 \times \text{DM tipo 2}$  (Si: 2, No: 0) +  $0.15 \times \text{Insulina in mU/L}$  +  $0.04 \times \text{AST in U/L}$  –  $0.94 \times \text{AST/ALT}$ . Se describió que el puntaje presenta una buena exactitud con un AUC de 0.86 en el grupo de validación. Para esta fórmula, se describió que un punto de corte de -0.640 predice el incremento de grasa hepática con una sensibilidad del 86 % y especificidad del 71 %, diagnosticado por resonancia magnética [30].

LAP, incluye 3 variables: CC (cm), triglicéridos (mmol/L) y género. La fórmula se establece como: LAP hombres =  $(\text{CC} - 65) \times \text{triglicéridos}$ ; LAP mujeres =  $(\text{CC} - 58) \times \text{triglicéridos}$ . En un inicio se utilizó para diagnosticar SM, sin embargo en otro estudio en base a los datos del modelo se consideró que un incremento de un punto se asoció con un riesgo de 4.28 (IC95% 3.2–5.5) de presentar esteatosis hepática severa, lo que nos ayudaría en el diagnóstico. Se considera que este índice puede discriminar entre pacientes con esteatosis y sin esteatosis con un AUC de 0.78 (IC95% 0.72–0.83) [2,30].

Entre los paneles disponibles para el diagnóstico de esteatosis hepática tenemos a SteatoTest (Biopredictive, Paris, Francia), FibroTest-ActiTest: niveles de bilirrubinas, GGT,  $\alpha_2$  macroglobulina, haptoglobina, ALT, apolipoproteína AI (Biopredictive), sin embargo estos requieren de un costo adicional al del laboratorio ya que la fórmula es propiedad de sus autores respectivos [1], lo que limita su uso a gran escala. Algunas características se describen en la **tabla 1**.

En la segunda categoría de métodos no invasivos, tenemos a la elastografía de transición por ultrasonido (ET) (FibroScan®, Echosens Paris, Francia). Esta fue aprobada por la FDA en abril de 2013, y al poseer características como bajo costo, reproducibilidad, rapidez para su obtención y ausencia de efectos adversos, lo vuelve una herramienta útil en la práctica diaria [1,13].

La ET mide la rigidez hepática a través de una onda de baja frecuencia (50 Hz) que se propaga de forma elástica por el parénquima hepático, mediante la ecuación de  $E=3\rho v^2$  y utiliza una sección del hígado que es de aproximadamente 1 cm de diámetro y 4 cm de longitud (25 mm – 65 mm por debajo de la superficie cutánea con la sonda M y de 35 – 75 mm con la sonda XL), lo cual es 100 veces mayor en tamaño a una biopsia hepática estándar, y por ello, puede ser más representativa del parénquima hepático completo [27]. Entre más rígido sea el tejido, más rápido se propagará la onda. Este se realiza con el paciente en decúbito supino, con el brazo derecho elevado para facilitar



el acceso al lóbulo hepático derecho. La punta de la sonda se coloca junto con gel entre el 9 y 11vo espacio intercostal. Se considera un procedimiento fallido luego de que no se puede obtener resultados en 10 mediciones consecutivas [27].

El resultado se expresa en unidades de kilo Pascal (kPa) con rangos entre 1.5 a 75 kPa. El estudio se considera adecuado cuando se obtienen por lo menos 10 resultados válidos, con una tasa de éxito por arriba del 60 % y con un rango intercuartilar (RIQ) menor del 30 % de la mediana de las medidas de la resistencia hepática [27]. Con los datos obtenidos en el metanálisis de 50 estudios de Friedrich-Rust [32] se estimó que el AUC para el diagnóstico de fibrosis significativa, fibrosis grave y cirrosis fue de 0.84, 0.89 y 0.94, respectivamente, sin embargo, esta estimación puede estar influenciada por el tipo de enfermedad hepática y por la prevalencia de cada estado de fibrosis ya que si los estadios extremos de fibrosis (F0 – F4) están sobre-representados la sensibilidad y especificidad de un método diagnóstico va a ser mayor que en los estadios intermedios [27]. Lo que se sabe es que en NAFLD, la ET, puede ser de interés para excluir con confianza los estadios de fibrosis severa y cirrosis con un VPN de 90 % [1,27,33].

Al momento en que se realiza la ET, se puede obtener el parámetro de atenuación controlada (CAP) (**Tabla 2**). Este es un método para determinar el grado de esteatosis al medir el grado de atenuación por ultrasonido de la grasa hepática y va de valores de 100 a 400 dB/m [1]. CAP ha mostrado una alta

sensibilidad para detectar esteatosis de bajo grado (tan bajo como 10 %) [33]. A niveles mayores, se indica una esteatosis más pronunciada y al momento se encuentra incorporado en las sonda M y XL. Se ha estimado que su AUC es de 0.82 para cualquier grado de esteatosis [1]. La exactitud se ha determinado como mayor en pacientes con >S1 (>302 dB/m) con un AUC de 0.87 (RIQ: 0.82–0.92), sensibilidad 0.80 (RIQ: 0.75–0.84), especificidad 0.83 (RIQ: 0.69–0.92) [35]. En otro ensayo se observó que CAP se asocia al grado de esteatosis: OR=13.59, p=0.037, con IMC: OR=4.34, p<0.001 y con triglicéridos séricos: OR=13.59, p=0.037 y que su AUC para >S1, S2 y S3 fue de 0.92, 0.64 y 0.58, respectivamente en pacientes obesos y en pacientes no-obesos para >S1 fue de 0.99 y >S2 fue de 0.99 [36]. Cuando se evalúa el papel de CAP en pacientes asintomáticos se observó que CAP se encuentra asociado con anormalidades metabólicas como incremento de IMC, elevación en ALT, niveles altos de insulina y triglicéridos e incluso con la edad y correlaciona de forma adecuada con el ultrasonido hepático.

**Tabla 2.** Marcadores de imagen para esteatosis hepática

PRUEBA	DESCRIPCIÓN	EXACTITUD	REPRODUCIBILIDAD	RESPUESTA	FACTIBILIDAD	LIMITACIONES
Ultrasonido hepático (US)	Ecogenicidad o brillo depende del grado de la dispersión en el tejido (mayor grasa, > mayor dispersión)	AUC 0.93 para diagnóstico esteatosis (Sn 50 – 80 %, Es 80 – 100 %)	Kappa: 0.54 a 0.92 para intra-observador y 0.44 a 1.00 en inter-observador	NA	* Fácil de realizar e interpretar * No produce radiación * Disponible de forma amplia * Bajo costo	* Baja sensibilidad en esteatosis leve * Depende de operador * Reducción de Sn y Es en pacientes obesos y con fibrosis avanzada
Parametro de atenuación controlada (CAP)	Medición del grado de atenuación por US por la grasa hepática en un proceso simultáneo a ET.	AUC 0.82 para cualquier esteatosis (Sn 69 %, Sp 82 %)  AUC 0.86 en estadio 2 y 3 (Sn 77 %, Es 81 %)  AUC 0.88 para fase 3 (Sn 88 %, Es 78 %)	Coefficiente de correlación concordancia 0.82	NA	* Evaluación inmediata de esteatosis * Ambulatorio * Medición simultanea de fibrosis * Tasa de fallo < 10%	Incorporado a ET
MRI-PDFF	PDFF se puede añadir a MRI	AUC 0.99 para cualquier grado de esteatosis (Sn 96 %, Es 100 %)	Coefficiente de correlación intraclase > 0.90	NA	No se afecta por obesidad	Costoso Requiere de tiempo Requiere MRI

Modificado de: Wong et al. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology volume 15, pages461–478 (2018). AUC: Area bajo la curva. ET: Elastografía de transición. MRI-PDFF: Resonancia magnética. PDFF: fraccion grasa de densidad de protones. Sn: Sensibilidad. Es: Especificidad. NA: No disponible

## 1.6 Factor de crecimiento fibroblástico 21 (FGF-21)

La familia de los factores de crecimiento comprenden 22 miembros que se extienden desde FGF-1 hasta FGF-23 y que se agrupan en siete subfamilias [35,36]. De estos, existen 3 miembros que son liberados en la circulación y muestran efectos endocrinos: FGF-19 (asociado con síntesis de colesterol y de ácidos biliares), FGF-21 (regula el metabolismo de glucosa y lípidos) y FGF-23 (que controla los niveles circulantes de fósforo) [37,38].

El gen de FGF-21 se encuentra localizado en el cromosoma 19. Es un polipéptido de 209 residuos de aminoácidos cuya síntesis hepática se produce por activación del receptor activado por proliferador de peroxisoma  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) [38,39]. Se conoce que comparte 146 aminoácidos con el ortólogo murino (79 % de identidad) [39]. La fuente primaria del FGF-21 es el hígado y los adipocitos son considerados una fuente secundaria, pero en estos, el FGF-21 se produce en respuesta a agonistas PPAR $\gamma$  o el alimento [8]. La actividad de FGF-21 depende del cofactor  $\beta$ -Klotho que incrementa la actividad de los receptores FGF. Cuando se produce la combinación de expresión específica de tejido  $\beta$ -Klotho y los subtipos de receptor de FGF, se puede obtener selectividad de tejido en la acción de FGF-21.

FGF-21 es importante en el rol de carbohidratos, lípidos y además protege contra el estrés oxidativo y se involucra en el gasto de energía y pérdida de peso [37]. Los efectos metabólicos de FGF-21 en el metabolismo de glucosa y de los lípidos involucra a PPAR  $\alpha$  (hígado) y PPAR  $\gamma$  (adipocitos). La PPAR  $\gamma$  que se activa con la ingesta promueve la producción de FGF-21 en adipocitos pero no en el hígado y actúa por el sistema autocrino para amplificar la actividad de PPAR  $\gamma$  sin cambios en los niveles sistémicos de FGF-21 [38]. La función de FGF-21 en el tejido adiposo es incrementar la captación de glucosa al incrementar la expresión de GLUT-1 [38] y a su vez incrementa la degradación de triglicéridos en adipocitos. En el caso de FGF-21 derivado de hígado, este si produce un incremento en los niveles circulantes para que pueda ejercer sus efectos sistémicos. La liberación se produce por un estímulo de los AGL durante el ayuno (predominio en ratones) y por los carbohidratos luego de la ingesta; incluso se ha observado que el uso de fibratos (agonistas PPAR  $\alpha$ ) pueden inducir la expresión de FGF-21 [38]. Para que FGF-21 se vuelva biológicamente relevante es importante una concentración suprafisiológica de AGL [38], por ende, niveles elevados se han observado durante la lactancia o en tratamiento con hormona de crecimiento. FGF-21 es un mecanismo que se encuentra involucrado en la comunicación entre el hígado y el cerebro para mantener la homeostasis de glucosa durante el ayuno prolongado [37]. La expresión hepática de FGF-21 tiene estímulos fisiológicos como nutrición (restricción de proteínas, ingesta de fructosa), ejercicio (insulina pancreática y glucagón) y por el ciclo circadiano [39].

En el caso de enfermedades metabólicas el nivel de FGF-21 se incrementa en pacientes obesos, con hipertrigliceridemia, con tolerancia a la glucosa alterada, DM2 y en enfermedad arterial carotídea [8], sin embargo la razón por la que se produce este incremento aún sigue en estudio e incluso se ha propuesto una posible resistencia a FGF-21 [39]. En el caso de la obesidad, hay estudios que sugieren que la obesidad y la resistencia a la insulina pueden producir resistencia a FGF-21 en humanos [38], e incluso las concentraciones sanguíneas de FGF-21 se pueden asociar con el IMC y con la masa grasa tanto corporal como visceral, epicárdica y pericárdica [39], sin embargo otros estudios sugieren una respuesta compensatoria. Lo cierto es que en el caso de pacientes con un *bypass* gástrico, los niveles de FGF-21 no disminuyen pese a la reducción en peso y grasa [39]. En el caso de los lípidos, FGF-21 induce la oxidación de ácidos grasos para incrementar la producción de energía por los diferentes sustratos lo que incrementa la cetogénesis tanto en hígado como en tejido adiposo. Al producirse ácidos grasos en tejido adiposo, estos son luego transformados en lipoproteínas ricas en triglicéridos (como VLDL) por el hígado y quilomicrones por el intestino y posteriormente son metabolizadas por la lipoprotein lipasa [37]. FGF-21 incrementa la actividad de lipoprotein lipasa en músculo esquelético y tejido adiposo para inducir la eliminación de triglicéridos. Lo cierto es que los efectos difieren en ratones y humanos, así como en niños y adultos.

En el caso de hígado, la expresión y síntesis de FGF-21 se encuentra incrementada en enfermedades hepáticas, en pacientes con resecciones hepáticas y diversos estudios han mostrado que los niveles de FGF-21 se encuentran elevados en pacientes con NAFLD, y que estos se encuentran elevados en pacientes que desarrollan NAFLD vs. no NAFLD en seguimientos a 3 años con valores de 319.12 pg/mL vs. 199.10 pg/mL,  $p < 0.001$  [8,37]. Además, se ha observado que los niveles de FGF-21 basales pueden ser un predictor independiente del desarrollo de NAFLD (OR: 3.635 (IC95% 1.085–12.173);  $p < 0.05$ ), lo que ha llevado a la propuesta del modelo de FGF-21 para predecir NAFLD [8]. Estos hallazgos podrían dar la noción de que este marcador está elevado en una etapa temprana de la enfermedad, mucho antes que el diagnóstico por ultrasonido sea posible y dado que su expresión cambia en diferentes grados de esteatosis en tejido hepático (Grado 1 del 6 – 33 % vs. grado 0 del 1 – 5 %) medido mediante expresión de mRNA [40] se debería considerar como una opción potencial en el diagnóstico.

Otras enfermedades en las que se ha involucrado el papel de FGF-21 son las enfermedades óseas, ya que se ha observado que a niveles elevados de FGF-21 se tiene una peor microarquitectura ósea (disminución del número de trabéculas y un incremento en la separación de trabéculas) [39], también en las lipodistrofias ya sean congénitas o adquiridas o en enfermedades mitocondriales se han apreciado alteraciones por lo que convierte a esta biomolécula en una blanco potencial para diferentes especialidades.

## **1.7 Factor de crecimiento fibroblástico 21 (FGF-21) y riesgo cardiovascular**

Niveles elevados de FGF-21 se asocian a perfiles lipídicos aterogénicos, con presencia de hipertrigliceridemia, incremento en lipoproteína de alta densidad (LDL) total y baja en lipoproteína de alta densidad (HDL) [39]. Todas estas alteraciones que involucran relaciones tanto dependientes como independientes del hígado y relaciones con el papel de esta hormona en las complicaciones vasculares merece ser evaluado. También se ha ligado a FGF-21 con aterosclerosis, sin embargo, la vía para este aún esta en estudio. Aún no se conoce si una alteración en los niveles séricos de FGF-21 son la base para la patogénesis cardiovascular, lo cierto es que su administración exógena puede producir efectos en la mayoría de CVD [21].

En el caso de riesgo cardiovascular y FGF-21 se ha reportado niveles elevados en pacientes con enfermedad coronaria y en pacientes con DM con presencia de placas carotídeas [39]. Se considera que FGF-21 puede modificar la captura de lipoproteínas, un mecanismo que puede explicar la asociación con las placas ateroscleróticas [38], sin embargo otras alteraciones como presencia de enfermedad coronaria y de infarto agudo de miocardio también han sido asociadas con la presencia de esteatosis hepática. Conforme al diseño de nuestro estudio, evaluamos a continuación la evidencia con relación al GIM.

En un estudio de 670 pacientes se observó que los niveles de FGF-21 elevados fueron un factor de riesgo para GIM en mujeres ( $r=0.32$ ) pero no en hombres ( $r=0.06$ ) en el modelo de regresión [41]. Esta asociación podría estar



presente ya que el FGF-21 podría ser secretado por las células endoteliales en respuesta a lesión endotelial. En un estudio en pacientes diabéticos de reciente diagnóstico, se observó que los niveles de FGF-21 fueron mayores en pacientes con aterosclerosis subclínica 261.3 ng/L vs. 114.9 ng/L (no aterosclerosis),  $p < 0.001$  y que esta relación fue positiva con el GIM en mujeres [42].

## **2 Planteamiento del problema**

Hasta donde sabemos, nunca antes se ha evaluado la asociación potencial del FGF-21 con la arteriopatía carotídea subclínica, en pacientes con hepatopatía asociada a NAFLD. Se conoce al menos parcialmente el papel de cada uno de los integrantes de esta vinculación (*i.e.*, FGF-21, hígado graso y arteriopatía subclínica), pero no la relación que existen entre estos 3 factores y su significado clínico, ya que esta asociación podría funcionar como un marcador temprano de riesgo cardiovascular (*i.e.*, arteriopatía subclínica).

## **3 Justificación**

La arteriopatía carotídea subclínica es de mayor magnitud en pacientes con NAFLD en comparación con sujetos sin esta condición médica, pero con factores de riesgo vascular comparables. Por otro lado, se sabe que los niveles de FGF-21 paralelizan la magnitud de la acumulación de lípidos en el NAFLD, por lo que recientemente se ha propuesto como un novedoso biomarcador de esta

hepatopatía. Más aún, los niveles de FGF-21 se encuentran más elevados entre individuos con mayor GIM, pero no se ha determinado si este factor de crecimiento media la relación entre NAFLD y la arteriopatía carotídea subclínica.

#### **4 Pregunta de investigación**

¿Existe una correlación significativa entre los niveles séricos de FGF-21, el GIM carotídeo y la magnitud de la esteatosis hepática en pacientes con hepatopatía por NAFLD?

#### **5 Hipótesis**

Los niveles séricos de FGF-21 mostrarán una correlación positiva con el GIM carotídeo y con el grado de esteatosis determinado por el parámetro de atenuación controlada (CAP, por sus siglas en inglés; Fibroscan®).

#### **6 Objetivos**

El objetivo general de este estudio es determinar si existe una correlación entre los niveles séricos de FGF-21 con el GIM carotídeo y con la magnitud de esteatosis determinada por CAP.

## **6.1 Objetivos específicos**

Dentro de los objetivos específicos se buscó:

- Evaluar si existe correlación significativa entre los niveles de FGF-21 en suero y la magnitud del GIM.
- Evaluar si existe correlación significativa entre los niveles de FGF-21 en suero y la magnitud del CAP.
- Evaluar si existe correlación significativa entre la magnitud del CAP y la magnitud del GIM.
- Evaluar el desempeño de las fórmulas FLI, LAP, NAFLD–LFS, HSI, en pacientes mexicanos con NAFLD y arteriopatía carotídea subclínica.

## **7 Metodología**

Este es un estudio de diseño prospectivo, observacional y transversal que incluye pacientes con NAFLD mayores de 18 años de edad, reclutados de noviembre del 2017 a diciembre de 2018.

### **7.1 Población y muestra**

Todos los pacientes fueron evaluados después de un ayuno nocturno de 10 – 12 horas y firma del consentimiento informado. Se les realizó un cuestionario detallado sobre su historia médica personal, familiar y farmacológica (el cuestionario incluyó preguntas sobre historia de DM, HAS, malignidad, accidente

cerebrovascular, tabaquismo, consumo de alcohol y uso de medicamentos en los últimos 3 meses) (**anexo 1**). Se realizó un examen físico detallado y se tomaron datos de medidas antropométricas, incluyendo el peso corporal (en Kg), la estatura (en metros), ambos medidos en una balanza calibrada y con ropa ligera. Se calculó el IMC (calculado como peso en kg dividido por la altura en metros al cuadrado). La CC se midió usando una cinta métrica evaluando hasta el medio cm más cercano al punto medio entre el borde inferior de la caja torácica y la cresta iliaca. La circunferencia de la cadera se tomó en el área más ancha sobre los trocánteres. Para la medición de la tensión arterial tanto sistólica como diastólica, se utilizó un esfigmomanómetro de mercurio después de que el paciente se encontró sentado durante al menos 5 minutos. Se realizaron dos medidas y se utilizó la media para el análisis.

Se incluyeron pacientes de ambos géneros, con una edad  $\geq 18$  años y con una glicemia en ayuno  $< 100$  mg/dL, sin diagnóstico conocido de DM (definida como glucosa en ayunas  $> 126$  mg/dL), HAS o uso de metformina o estatinas.

Se excluyeron pacientes con diagnóstico de DM, fumadores o con consumo de alcohol  $> 30$  g/día, con insuficiencia cardíaca, malignidad al momento del estudio, enfermedad hematológica, enfermedad renal crónica, infección activa, antecedente de enfermedad vascular cerebral (EVC) aguda, con seropositividad para hepatitis B (HVB) o HCV, con Child-Pugh B o C, así como otra etiología de su

hepatopatía como hemocromatosis o enfermedad de Wilson. Pacientes con alguna cirugía o trauma en los últimos 6 meses, así como a mujeres embarazadas o en periodo de lactancia también se excluyeron. Con relación al uso de medicamentos, se excluyeron pacientes con consumo de esteroides, estrógenos, tamoxifeno, valproato, diltiazem, amiodarona, metotrexato durante los últimos 3 meses.

Se consideró como criterio de eliminación a pacientes con presencia de aterosclerosis carotídea subclínica al momento del ultrasonido, que presentaran suero hiperlipémico o una glucosa en ayuno  $>100$  mg/dL.

## **7.2 Estudios de laboratorio y gabinete**

Todas las muestras de laboratorio se tomaron tras un ayuno de 8 a 10 horas. Se tomaron tubos con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y con plasma para su posterior análisis tanto en el laboratorio del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, como en el laboratorio del Departamento de Gastroenterología. Todas las mediciones se realizaron en el mismo laboratorio y utilizando técnicas de laboratorio estándar.

Se registró los resultados de: biometría hemática, química sanguínea (glucosa, nitrógeno ureico en sangre (BUN), creatinina), insulina, hemoglobina glicosilada,

niveles séricos de colesterol, triglicéridos, LDL, HDL, ALT, AST, GGT, proteínas, albúmina.

### 7.2.1 Índices para el diagnóstico de hígado graso

Con los datos obtenidos se procedió a determinar el punto de corte de los diferentes índices para el diagnóstico de NAFLD con un grado de esteatosis S2-S3. Considerando que algunos de los índices tienen como componente a la presencia de DM, se consideró que al adaptar este índice a la población aquí descrita su desempeño fuese distinto al esperado, por lo que se procedió a realizar un análisis de desempeño diagnóstico. Los índices utilizados fueron:

- a) El HSI, descrito por Lee JH [29]), se basa en 3 variables: radio de AST/ALT, IMC y DM. Se utiliza la ecuación:  $HSI = 8 \times ALT/AST + IMC$  (+ 2 si tiene DM tipo 2, + 2 si es mujer). El IMC se determina mediante la ecuación de peso (kg) / talla al cuadrado ( $m^2$ ). Se considera que un valor menor a 30 tiene una sensibilidad de 93.1 % para descarta el diagnóstico de esteatosis y un valor > 36 detecta NAFLD con una especificidad de 92.4 % [29].
  
- b) Se realizó el calculo de NAFLD–LFS, con base en el estudio de Kotronen et al [30]). En este se determinó que la fórmula  $NAFLD-LFS = - 2.89 + 1.18 \times SM$  (Si: 1, No: 0) + 0.45 x DM tipo 2 (Si: 2, No: 0) + 0.15 x Insulina in mU/L + 0.04 x AST in U/L – 0.94 x AST/ALT. Para esta fórmula, un punto de corte de -0.640 predice el incremento de grasa hepática con una sensibilidad del

86 % y especificidad del 71 %, diagnosticado por resonancia magnética [30].

- c) El FLI, Bedogni et al [28]), incluye IMC, CC, triglicéridos y GGT. La fórmula que se utilizó fue  $LI = (e^{0.953 \cdot \log_e(\text{triglycerides}) + 0.139 \cdot \text{BMI} + 0.718 \cdot \log_e(\text{ggt}) + 0.053 \cdot \text{waist circumference} - 15.745}) / (1 + e^{0.953 \cdot \log_e(\text{triglycerides}) + 0.139 \cdot \text{BMI} + 0.718 \cdot \log_e(\text{ggt}) + 0.053 \cdot \text{waist circumference} - 15.745}) \times 100$ . Se considera que con un score menor de 30 NAFLD debería ser descartado (con un radio de verosimilitud negativa de 0.2), si el score se encuentra entre 30 y 60 es no concluyente y si se encuentra >60 indica que NAFLD esta presente con un radio de verosimilitud positiva de 4.3) [28].
- d) LAP, incluye 3 variables: CC (cm), triglicéridos (mmol/L) y género [31]. La fórmula se establece como: LAP hombres = (CC - 65) x triglicéridos; LAP mujeres = (CC - 58) x triglicéridos. En base a los datos del modelo se considero que un incremento de un punto se asoció con un riesgo de 4.28 (IC95% 3.2–5.5) de presentar esteatosis hepática severa. Se considera que puede discriminar entre pacientes con esteatosis y sin esteatosis con un AUC de 0.78 (IC95% 0.72–0.83) [31].

### **7.2.2 Elastografía de transición (Fibroscan® + CAP)**

Se realizó a los pacientes una ET con un equipo Fibroscan 502 Touch model con CAP (echosens®), equipado con las sonda mediana (M) y extra grande (XL). El CAP se realiza al mismo tiempo que la ET y sirve para cuantificar el porcentaje de infiltración grasa del hígado. Para este estudio se solicitó un ayuno de >6 horas. Para la realización del estudio, el paciente se recuestó sobre una camilla en posición horizontal con la mirada hacia arriba y con mano derecha debajo de su cabeza. Sobre la parte inferior del costado derecho del tórax se colocó una sonda que puede ser estándar (M) o grande-sobrepeso (XL), según las características de cada paciente. Estas sondas llevan acopladas en su punta un ultrasonido que mide la velocidad de propagación de una onda elástica previamente producida por un pulso mecánico, el cual sentirá en la forma de una leve presión sobre la piel, que no produce dolor. Se realizó 10 mediciones con un rango intercuartilar (IQR) <30 % de la media y una tasa de éxito de >60 % para que se considere apropiado el estudio [36]. Para poder evaluar a los pacientes se tomó el valor numérico y se clasificó a los pacientes en categorías según los parámetros determinados por el fabricante para CAP: S0: <233; S1: 233 – 268.4; S2: 268.5 – 301.2; S3: > 301.2

### **7.2.3 Factor de crecimiento fibroblástico-21**

Para la medición de FGF21, se tomaron muestras de suero obtenido de sangre periférica de cada paciente, almacenadas -70 °C, mismas que 24 horas antes de su uso se mantuvieron a 2–8 °C. Se utilizó un kit de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima FGF21 (OriGene Technologies, Inc®) que cuenta con una



sensibilidad <10 pg/mL. Las muestras de suero se diluyeron 3:1 antes del ensayo y luego se añadieron 100 µl de sueros, calibradores y controles de calidad diluïdos a placas de microvaloración de 96 pocillos recubiertas con un anticuerpo policlonal purificado por afinidad - FGF21 humano. El ensayo se llevó a cabo de acuerdo con el protocolo del fabricante. Se construyó una curva de calibración en un rango de 0 a 2,000 pg/mL trazando los valores de absorbancia a 450 nm frente a las concentraciones de FGF21 de los calibradores. Se determinó las variaciones intra e inter-ensayo para este estudio. Todas las muestras fueron debidamente codificadas y se encuentran bajo resguardo en el Departamento de Gastroenterología.

#### **7.2.4 Ultrasonido de abdomen**

Mediante un equipo de ultrasonido Siemens Acuson 2000, con un ayuno de 6 horas, y un solo operador entrenado con una adecuada curva de aprendizaje, se realizó un ultrasonido hepático con transductor convexo multifrecuencia en escala de grises. Se visualizó los 8 segmentos hepáticos, la vena porta, el páncreas y la relación hepatorenal. Se obtuvieron además imágenes en Doppler color y mediante análisis espectral del flujo a nivel del hilio de la vena porta. Se utilizó una escala semicuantitativa para describir la presencia de hígado graso según lo descrito por Saadeh et al. Grado 0, ecogenicidad normal; Grado 1, incremento difuso ligero en la ecogenicidad en el parénquima hepático con una visualización normal del diafragma y del los bordes de los vasos intrahepáticos; Grado 2, incremento moderado difuso de los ecos finos con un impedimento ligero de la

visualización de los vasos intrahepáticos y del diafragma; Grado 3, marcado incremento de los ecos finos con pobre o no visualización de los bordes de los vasos intrahepáticos, del diafragma y del lobulos posterior derecho del hígado [45].

### **7.2.5 Ultrasonido Doppler dúplex carotídeo**

Mediante equipo de alta resolución Sonosite M Turbo con transductor 10-5 MHz se cuantificó el número de placas de ateroma (señales hiperecogénicas de la íntima >1 mm) presentes en las carótidas comunes y carótidas internas. En los sitios donde existió en corte axial una obstrucción potencialmente  $\geq 50\%$ , se realizó estimación del grado de estenosis con el método Doppler (medición de velocidades de flujo, para determinar el mismo con las categorías:  $\geq 50\%$ ,  $\geq 70\%$ , estenosis.

Se tomaron mediciones de velocidades de flujo a nivel de: carótida común, carótida interna, carótida externa y arteria vertebral en forma bilateral y mediante modo B búsqueda y descripción de placas de aterosclerosis con búsqueda de repercusión hemodinámica.

La determinación de GIM se realizó en arteria carótida común bilateral en pared anterior y posterior medida a 1 cm de bifurcación carotídea con búsqueda en

diferentes angulaciones de acuerdo a protocolo internacional mencionado en los antecedentes.

**Tabla 3.** Valores de normalidad GIM carotídea en población mexicana

<b>Mujeres</b>	<b>Valor en mm (IC del 95%)</b>
25–34 años	0.571 (0.564–0.578)
35–44 años	0.601 (0.589–0.613)
45–54 años	0.651 (0.635–0.667)
55–64	0.685 (0.659–0.712)
<b>Hombres</b>	
25–34	0.571 (0.560–0.582)
35–44	0.614 (0.598–0.629)
45–54	0.647 (0.630–0.663)
55–64	0.685 (0.659–0.710)

### 7.2.6 Medición del grosor íntima-media carotídeo por ultrasonido Doppler dúplex

Se realizó un ultrasonido (US) Doppler de arterias cervicales (carótida común, carótida interna, carótida externa y arterias vertebrales) a todos los pacientes con el fin de determinar el GIM, mediante equipo de alta resolución Sonosite M Turbo con transductor 10-5 Mhz con protocolo vascular y de determinación de GIM

carotídeo, mediante un *software* integrado en el equipo, que toma múltiples mediciones y que provee el dato de la más alta medición del GIM y la media de dichas mediciones, con el fin de ajustar por la variabilidad en la medición del GIM en sístole (mediciones con resultados artificialmente más bajos) y diástole (mediciones con resultados artificialmente más altos).

### **7.3 Análisis estadístico**

Las características clínicas y demográficas se resumieron como medias y desviaciones estándar cuando fue pertinente o sino se expresaron como mediana con su RIQ.

La prueba  $\chi^2$  de Pearson fue usada para comparar las frecuencias de variables nominales cualitativas, entre dos grupos, o para evaluar la homogeneidad en la distribución de dichas variables entre tres o más grupos. En la prueba  $\chi^2$  se empleó la corrección de Yates cuando la frecuencia de una calificación de alguna variable nominal en un grupo determinado (casillero de la tabla de 2x2) fue  $<5$ , y la prueba exacta de Fisher cuando dicha frecuencia fue  $= 0$ .

La prueba t de Student se usó en la comparación de variables cuantitativas continuas de distribución normal, entre dos grupos, o ANOVA en más de dos grupos. La prueba U de Mann-Whitney se empleó en la comparación de

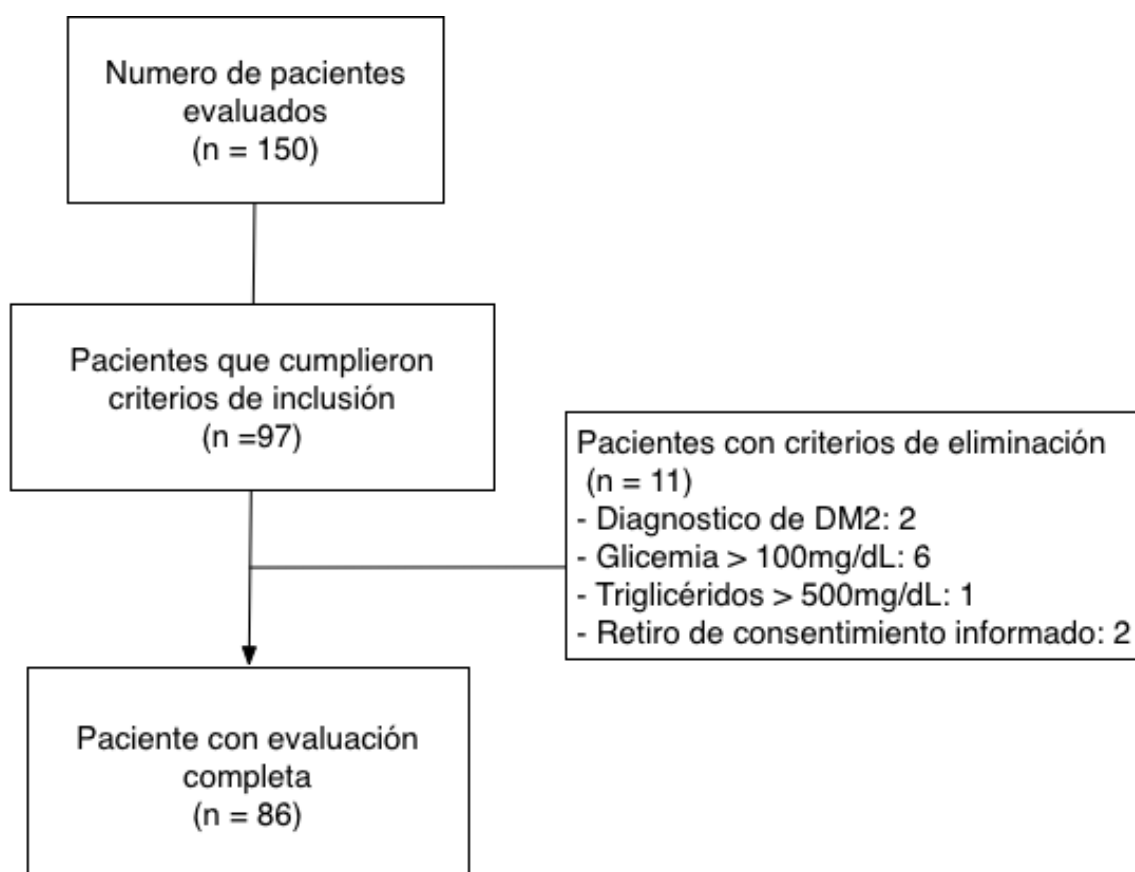
medianas, para variables continuas no paramétricas, entre dos grupos, o Kruskal-Wallis en más de dos grupos. Se usó la prueba de correlación de Pearson para evaluar la asociación lineal entre dos variables cuantitativas continuas y el valor de la correlación resultante (rho de Pearson) fue elevada al cuadrado para obtener el coeficiente de determinación. Todos los valores de p para comparaciones y correlaciones se calcularon a dos colas y consideraron como significativos cuando  $p < 0.05$ .

Para determinar el desempeño diagnóstico de cada uno de los índices, se realizó el cálculo de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP), VPN, razón de verosimilitud positiva (LR +) y negativa (LR -). Para cada uno de los valores se determinó el intervalo de confianza 95 %. La exactitud se estimó a través del AUC y la eficiencia según el método de Youden.

Las correlaciones entre GIM y varios parámetros clínicos y bioquímicos fueron examinados por correlación de Pearson. Se realizó un modelo de regresión lineal para evaluar la asociación entre niveles de CAP y los parámetros bioquímicos y fenotípicos. Todo el análisis se realizó con el programa SPSS v24 para Mac.

## 9 Resultados

De 150 pacientes inicialmente evaluados, 97 cumplieron los criterios de inclusión y 86 que contaron con la información completa fueron analizados para los objetivos del estudio (**Figura 1**).



**Figura 1:** Diagrama de flujo de pacientes incluidos y excluidos del estudio.

Ochenta y seis pacientes fueron finalmente analizados (mediana de edad: 41.5 años; RIQ: 31.75–49 años, 51.2 % hombres). Las características demográficas se muestran en la **tabla 4**.

**Tabla 4.** Características clínicas de los pacientes

	<b>Global (n=86)</b>	<b>Masculino (n=44)</b>	<b>Femenino (n=42)</b>	<b>p*</b>
<b>Edad, mediana (IQR), años</b>	41.5 (31.75–49)	35.5 (30–48)	45 (36–51)	0.029
<b>Estado civil n, (%)</b>				0.378
Soltero	27 (31.4)	15 (34.1)	12 (28.6)	
Casado	45 (52.3)	21 (47.7)	24 (57.1)	
Union libre	10 (11.6)	7 (15.9)	3 (7.1)	
Divorciado	4 (4.7)	1 (2.3)	3 (7.2)	
<b>Escolaridad, mediana (IQR), años</b>	17 (14.88–20)	18 (16.25–21)	16 (14–18)	0.03
<b>Ocupación n,(%)</b>				0.001
Personal de salud	32 (37.2)	18 (40.9)	14 (33.3)	
Profesional	20 (23.3)	10 (22.7)	10 (23.8)	
Hogar	13 (15.1)	1 (2.3)	12 (28.6)	
Empleado de gobierno	12 (14)	4 (9.1)	3 (7.1)	
<b>Antecedentes familiares, n (%)</b>				
Si	77 (89.5)	39 (88.6)	38 (90.5)	0.781
<b>Familiares afectados, n (%)</b>				0.266
Ninguno	9 (10.5)			
Uno	16 (18.6)	11 (28.2)	5 (13.2)	
Dos	39 (45.3)	18 (46.2)	21 (55.3)	
Tres	19 (25.6)	10 (25.6)	12 (31.6)	
<b>Familiar afectado, n=160 (%)</b>				
Padre	65 (40.63)	33 (42.86)	32 (38.55)	0.531
Madre	61 (38.13)	29 (37.66)	32 (38.55)	
Hermanos	34 (21.25)	15 (19.48)	18 (21.68)	
Hija	1 (0.63)	0	1 (1.20)	

\*Se estimó la p para la diferencia entre masculino y femenino.

El 76.7 % (n=66) de los pacientes residen en la Ciudad de México, y un 23.3 % (n=20) residen en el Estado de México, Morelos o Michoacan; sin embargo, solo el 68.7 % (n=59) nacieron en la Ciudad de México. Un 31.39 % (n=27) migraron a la ciudad a lo largo de sus estudios universitarios o por sus empleos.

Cuando se evaluó los antecedentes familiares, solo un 10.5 % (n=9), reportó familiares sanos. Se detectó 160 familiares afectados por alguna comorbilidad, algunos de ellos con más de 1 comorbilidad al momento del estudio (215 comorbilidades descritas). De los familiares afectados un 78.76 % (n=126) fueron los padres y un 21.25 % (n=34) fueron sus hermanos. Se reportó un hijo con DM. En los familiares afectados, un 31.16 % (n=67) tiene HAS; un 26.51 % (n=57) tiene DM; un 3.26 % (n=7) ha tenido un infarto agudo de miocardio; un 1.86 % (n=4) ha presentado un evento cerebrovascular o dislipidemia. Un 91.9 % (n=79) reportaron familiares sin antecedentes de infecciones virales hepatitis A (HVA), HVB, HVC o infección por virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Se reportaron 4 familiares con NAFLD y de estos dos recibieron un trasplante hepático ortotópico por esta causa. Se reportaron así mismo, 4 familiares con cirrosis hepática (etiología viral) y dos familiares con un trasplante hepático (por colangitis biliar primaria y uno asociado a infección por VHC, (**Tabla 4**).

Cuando se estudió factores de riesgo para enfermedades hepáticas, un 8.1 % (n=7) había recibido una transfusión. Un 64 % (n=55) presentó alguna cirugía



durante su vida, con una media de 2 cirugías por paciente. Entre los procedimientos más reportados se encontraron los procedimientos dentales y gineco-obstétricos. Ningún paciente reportó algún procedimiento de hemodiálisis. Un 86 % (n=74) reportó nunca haber presentado hepatitis A. Solo un 3.5 % (n=3) reportó que su pareja presentaba alguna infección viral (VHC), sin embargo cuando se realizó la serología a los pacientes, ninguno presentó infección por VHC.

El 56% refirió consumo de alcohol, con una mediana de edad de inicio de 18 años (RIQ: 16–20). De los pacientes con consumo, estos refirieron un total de 2 episodios por mes, con un consumo de 19.2 g/mes (RIQ: 12.2–38.4). Ninguno de los pacientes reportó consumo de tabaco o narcóticos.

En cuanto a ejercicio, solo un 40.7 % (n=35) reportó algún tipo de actividad física. Esta se realizaba en una mediana de 2 horas por semana, con un predominio de las actividades aeróbicas.

Un 39.5 % (n=34) de los pacientes reportaron alguna comorbilidad, con uso de dosis estable de medicamento durante los últimos 6 meses (en especial en los padecimientos endocrinológicos como hipotiroidismo o hipertiroidismo n=7, y cardiológicos (taquicardia supraventricular n=1). El resto de pacientes reportó el

uso ocasional de medicamentos de venta libre con predominio de analgésicos no esteroideos, sin embargo ninguno de estos fármacos se consumió en las 4 semanas previas al ingreso al protocolo de estudio. Cuando se evaluó sobre el uso de productos para pérdida de peso (de origen natural, venta libre o farmacológicos) un 34.9 % (n=30) reportaron su consumo en algún momento de su vida, con una mediana de uso de 1 mes; ninguno con consumo de los mismos en los últimos 3 meses previo al ingreso al protocolo. Un 45.2 % (n=19) de las mujeres reportaron el consumo vs. un 25 % (n=11) de los hombres,  $p=0.049$ . Un 36.7 % (n=11) del personal de salud reportó el consumo.

En cuanto a las características antropométricas, el peso tuvo una media de 77.5 kg (RIQ: 69.8–87) y la talla 164 cm (RIQ: 156.75–171), con un IMC 28.58 kg/m<sup>2</sup> (RIQ: 25.63–31.44). Se estimó el índice cintura-cadera (ICC) que fue de 0.96 (RIQ: 0.92–1.03) y el índice cintura-talla (ICT) de 0.61 (RIQ: 0.55–0.64). De forma posterior se realizó un análisis de las características clínicas con el fin de que se pudiese estimar indicadores fenotípicos importantes en la población. Las diferencias por género se especifican en la **Tabla 5**.

**Tabla 5.** Características antropométricas de los pacientes.

	<b>Global (n=86)</b>	<b>Masculino (n=44)</b>	<b>Femenino (n=42)</b>	<b>P*</b>
Peso, mediana (RIQ), kg	77.5 (69.8 – 87)	80.20 (71.85 – 88.60)	71.75 (67 – 86.25)	0.04
Talla, mediana (RIQ), cm	164 (156.75 – 171)	171 (164 – 171)	157 (154.75 – 162.25)	< 0.001
Circunferencia de cintura, mediana (RIQ), cm	98.5 (92 – 105)	98.25 (91.25 – 105.86)	98.5 (92 – 104.63)	0.610
Circunferencia de cadera, mediana (RIQ), cm	99.75 (92.38 – 107.13)	96.5 (90.25 – 103.0)	103.75 (95.75 – 114.5)	0.002
Bizq, mediana (RIQ), cm	30.5 (28 – 32.65)	30 (28 – 32.37)	31 (28 – 33)	0.659
Bder, mediana (RIQ), cm	31 (28.5 – 32.5)	31 (28.13 – 32.0)	31.5 (28.5 – 32.5)	0.491
IMC, mediana, (RIQ)	28.58 (25.63 – 31.44)	27.83 (24.71 – 30.65)	29.5 (27.33 – 33.99)	0.063
Normal (18.5 – 24.9)	17 (19.8)	11 (25)	6 (14.3)	
Sobrepeso (25 – 29.9)	39 (45.3)	20 (45.5)	19 (45.2)	
Obesidad (30 a > 40)	30 (34.9)	13 (29.55)	17 (40.48)	
Índice cintura/cadera, mediana, (RIQ)	0.96 (0.92 – 1.03)	1.03 (1.01 – 1.06)	0.92 (0.89 – 0.98)	< 0.001
Índice cintura/cadera, n (%) anormal *	84 (97.7)	44 (100)	40 (95.2)	
Índice cintura–talla, mediana, (RIQ)	0.61 (0.55–0.64)	0.58 (0.54 – 0.63)	0.62 (0.59 – 0.65)	0.026
Índice cintura–talla anormal (>0.50), n (%)	82 (95.3)	41 (93.2)	41 (97.6)	
Conicity index, mediana, (RIQ)	1.30 (1.25 – 1.36)	1.32 (1.27 – 1.38)	1.29 (1.25 – 1.35)	0.108

**RIQ:** Rango intercuartilar. **Kg:** kilogramos. **Cm:** centímetros. **Bizq:** brazo izquierdo. **Bder:** brazo derecho. **IMC:** Índice de masa corporal.

\*Se estimó la p para la diferencia entre masculino y femenino.

Dentro de los pacientes con un IMC en obesidad, un 19.8 % (n=17), se encontraban en obesidad grado I (IMC 30–34.9), un 12.8 % (n=11) se encontraban en obesidad grado II (IMC 35–40) y un 2.3 % (n=2), se encontraban en obesidad grado III (IMC > 40). En cuanto a los hombres, un 22.7 % (n=10) se encuentra en obesidad grado I, mientras que en las mujeres el 21.4 % (n=9) se encuentran en obesidad grado II.

A todos los pacientes se les realizó estudios de laboratorios. Para que los pacientes se pudiesen incluir en el protocolo, contaban con una glucosa en ayuno <100 mg/dL, y una hemoglobina glucosilada <6 %. Los resultados se muestran en la **tabla 6**.

**Tabla 6.** Resultados de laboratorio en la población evaluada.

	<b>Global (n=86)</b>
Leucocitos, mediana (RIQ), cel x mm <sup>3</sup>	5.95 (4.5 – 6.7)
Hemoglobina, mediana (RIQ), g/dL	15.85 (14.87 – 17.02)
Hematocrito, mediana (RIQ), %	46.35 (43.4 – 49.75)
HCM, mediana (RIQ), pg	31 (29.8 – 31.73)
VCM, mediana (RIQ), fL	90.4 (87.72 – 92.85)
Plaquetas, mediana (RIQ), cel x mm <sup>3</sup>	244.5 (205.5 – 276.5)
Glucosa, mediana (RIQ), mg/dL	85.5 (80 – 91)
BUN, mediana (RIQ), mg/dL	13 (10.88 – 15.02)
Creatinina, mediana (RIQ), mg/dL	0.81 (0.66 – 0.88)
Bilirrubina Total, mediana (RIQ), mg/dL	0.62 (0.49 – 0.80)
ALT, mediana (RIQ), U/L	23.1 (16.0 – 34.17)
AST, mediana (RIQ), U/L	20 (17 – 26)
Fosfatasa Alcalina, mediana (RIQ), U/L	78 (58 – 93)
GGT, mediana (RIQ), U/L	25 (19 – 40.25)
Albumina, mediana (RIQ), g/dL	4.51 (4.30 – 4.79)
Colesterol, mediana (RIQ), mg/dL	200.65 (172 – 223.50)
Triglicéridos, mediana (RIQ), mg/dL	142.5 (103.5 – 218)
HDL, mediana (RIQ), mg/dL	45 (39 – 52.25)
LDL, mediana (RIQ), mg/dL	128 (106 – 145.25)
Insulina, mediana (RIQ), uUI/mL	9.44 (6.51 – 14.09)
HBA1c mediana (RIQ), %	5.50 (5.3 – 5.7)

**RIQ:** rango intercuartilar. **HCM:** hemoglobina corpuscular media. **VCM:** volumen corpuscular medio. **BUN:** nitrógeno ureico. **ALT:** alanino aminotransferasa. **AST:** aspartato aminotransferasa. **GGT:** gammaglutamil transferasa. **HDL:** Lipoproteína de alta densidad. **LDL:** Lipoproteína de baja densidad. **HBA1c:** Hemoglobina glicosilada.

Con el fin de excluir otras causas de hepatopatías se solicitó un perfil viral a los participantes. Es interesante observar que hasta un 53.5 % (n=46) de los participantes no cuentan con inmunización para HVB. Ninguno de los pacientes fue reactivo para VHC y en uno de los participantes se requirió una carga viral de VHC para determinar la negatividad.

Diferentes reportes han considerado que la presencia de SM, IMC, DM, el valor de insulina en ayunas y los parámetros de transaminasas pueden ser importantes herramientas de predicción. Se procedió a estimar la presencia de NAFLD mediante las diferentes herramientas no invasivas que reflejan la presencia de esteatosis hepática para determinar su utilidad en esta cohorte de pacientes **(Tabla 7)**.

Dentro de los pacientes evaluados, tomando en consideración los factores para síndrome metabólico disponibles, un 81.4 % (n=70) de los pacientes lo presentaba.

**Tabla 7.** Herramientas de predicción no invasivas que reflejan el contenido de grasa hepática en pacientes con sospecha de NAFLD.

	<b>Global (n=86)</b>	<b>Masculino (n=44)</b>	<b>Femenino (n=42)</b>	<b>p</b>
<b>Variable</b>				
<b>Síndrome metabólico, n (%)</b>				
Cintura	63 (73.3)	28 (63.6)	35 (83.3)	0.039
Triglicéridos	39 (45.3)	24 (54.5)	15 (33.7)	0.080
HDL	43 (50)	21 (47.7)	22 (52.4)	0.666
HAS	-	-	-	-
Hiperglicemia	-	-	-	-
<b>Síndrome metabólico, n (%)</b>				
No	16 (18.6)	10 (22.7)	6 (14.3)	0.598
Un componente	18 (20.9)	8 (18.2)	10 (23.8)	
Dos componentes	29 (33.7)	13 (29.5)	16 (38.1)	
Tres componentes	23 (26.7)	13 (29.5)	10 (23.8)	
<b>Insulinorresistencia</b>				
<b>HOMA 1, mediana (IQR)</b>	2.05 (1.28 – 2.99)	2.16 (1.15 – 3.16)	1.98 (1.52 – 2.96)	0.641
<b>HOMA 2, mediana (IQR)</b>	1.21 (0.81 – 1.75)	1.24 (0.76 – 1.86)	1.21 (0.91 – 1.67)	0.728
<b>HOMA</b>				
HOMA1 > 2.6, n (%)	29 (33.7)	16 (36.4)	13 (31.7)	0.649
HOMA2 > 1.67, n (5)	27 (31.4)	17 (38.6)	10 (24.4)	0.159
<b>Índice Triglicéridos-HDL</b>				
Más de 3, n (%)	46 (53.5)	29 (65.9)	17 (40.5)	0.018
<b>Severidad Hígado graso</b>				
FLI, mediana (RIQ)	66.07 (43.92 – 88.35)	67.2 (44.33 – 89.25)	62.9 (42.4 – 80.78)	0.310
FLI				0.529

FLI < 30, n (%)	12 (14)	7 (15.9)	5 (11.9)	
FLI 30 – 60, n (%)	24 (27.9)	10 (22.7)	14 (33.3)	
FLI > 60, n (%)	50 (58.1)	27 (61.4)	23 (54.8)	
HSI, mediana (RIQ)	37.15 (34.05 – 40.10)	34.75 (31.75 – 37.08)	39.75 (37.40 – 41.40)	<0.001
HSI				
HSI < 30, n (%)	4 (4.7)	0	4 (9.1)	0.117
HSI > 36, n (%)	53 (61.6)	17 (38.6)	36 (85.7)	<0.001
NAFLD-LFS, mediana (RIQ)	-0.34 (-1.22 – 0.69)	-0.075 (-1.39 – 1.05)	-0.46 (-1.05 – 0.40)	0.463
Índice triglicéridos-glucosa, mediana (RIQ)	4.7 (4.56 – 4.94)	4.76 (4.62 – 4.96)	4.63 (4.49 – 4.86)	0.032
LAP index, mediana (RIQ)	63.76 (41.07 – 97.78)	67.63 (40.32 – 100.53)	60.05 (39.98 – 96.57)	0.439

**RIQ:** Rango intercuartilar. **HDL:** Lipoproteína de alta densidad. **HAS:** Hipertensión arterial sistémica. **HOMA:** índice de resistencia a la insulina. **FLI:** Índice de Hígado Graso. **HSI:** índice de esteatosis hepática. **NAFLD–LFS:** puntuación de hígado graso. **LAP:** producto de acumulación de lípidos.

### 9.1 Elastografía de transición

La mediana de la elastografía de transición (ET) fue de 4.40 Kpa (RIQ: 3.57–5.10 Kpa). Todos los pacientes se encontraban en un estadio F0. En cuanto a CAP, la mediana en decibeles fue de 306.5 (RIQ: 281.5–337.25), lo que corresponde en la estratificación a un 22.1 % (n=19) en estadio S1, un 23.3 % (n=20) en estadio S2 y un 54.7 % (n=47) en estadio S3.



## **9.2 Ultrasonido de abdomen**

En los pacientes evaluados, tras realizar un análisis en escala de grises de los 8 segmentos hepáticos, la vena porta, el páncreas y la relación hepatorenal, se pudo detectar esteatosis en un 75.6 % (n=65), con predominio de un patrón difuso 72.1 % (n=62). Solo 3 pacientes presentaron un patrón geográfico. Con relación al grado de esteatosis, el grado I o leve fue documentado en 34.9 % (n=30), mientras que solo 9 pacientes presentaron una esteatosis severa. La mediana de tamaño hepático fue de 14.2 cm (RIQ: 13.5–15.75), con un 37.2 % (n=32) pacientes con hepatomegalia al momento del estudio. Debido a la alta resolución del equipo, se intentó evaluar la presencia de esteatosis pancreática y fue posible en un 40.7 % (n=35), sin embargo la mitad de los pacientes pese a un estudio hepático positivo no demostró afectación en esta glándula. En el análisis de Doppler color y análisis espectral, el flujo a nivel del hilio de la vena porta tuvo una mediana de 18.8 cm/s (RIQ: 15.65–22.08) y el diámetro de la porta fue de 10.50 mm (RIQ: 9.50–11.33).

## **9.3 Ultrasonido carotídeo**

En todos los pacientes se realizó un ultrasonido carotídeo para determinar el GIM. En los 86 pacientes, el GIM máximo global fue 0.64 (RIQ: 0.57–0.71) y la media de GIM global fue de 0.64 (RIQ: 0.57–0.71), con una mediana de 0.65 (RIQ: 0.58–0.72) para mujeres y 0.64 (RIQ: 0.55–0.71) para hombres,  $p=0.432$ . Con relación a los otros parámetros, el GIM máximo derecho fue 0.69 (RIQ: 0.61–0.76); GIM media derecha fue 0.63 (RIQ: 0.57–0.71); GIM máxima izquierda 0.69 (0.62–0.79); GIM media izquierda 0.64 (RIQ: 0.56–0.71). Solo en 3 pacientes femeninas con

una mediana de edad de 61 (RIQ: 45–61), se pudo detectar la presencia de placa carotídea, misma que no comprometía la luz.

#### 9.4 Factor de crecimiento fibroblástico-21

Se realizó un análisis de FGF-21 en las muestras obtenidas de los pacientes. La mediana fue de 331.5 pg/mL (RIQ: 246–481), sin embargo se obtuvo valores atípicos en 13 pacientes. Por sexo, la mediana para mujeres fue 342 pg/mL (RIQ: 236.25–453.75) y para los hombres fue 325.5 pg/mL (RIQ: 249–586.5) ( $p=0.772$ ). No se encontró una correlación entre los niveles séricos de FGF-21 y el IMC.

#### 9.5 Análisis de correlación

Cuando se realizó el análisis de correlación considerando las tres variables objetivo, no se demostró asociación entre FGF-21, GIM y grado de esteatosis medido por CAP. Sin embargo se realizó un análisis de correlaciones bivariadas asociadas a CAP. Los resultados se muestran en la **tabla 8**.

**Tabla 8.** Correlaciones bivariadas de Pearson asociadas a CAP (n=86).

	<b>Correlación ( r )</b>	<b>p</b>
Grado Esteatosis US	0.602	<0.001
NAFLD–LFS	0.486	<0.001

Circunferencia de cintura, cm	0.480	<0.001
Patrón de esteatosis	0.455	<0.001
FLI	0.424	< 0.001
US Abdomen esteatosis	0.423	<0.001
Índice cintura talla	0.411	< 0.001
Peso, kg	0.393	< 0.001
Insulinemia	0.388	< 0.001
Cintura-Triglicéridos	0.386	< 0.001
HOMA 2	0.386	< 0.001
HOMA 1	0.372	< 0.001
IMC	0.371	< 0.001
ALT, U/L	0.352	0.001
Circunferencia de cadera, cm	0.349	0.001
LAP	0.344	0.001
Tamaño Hígado, cm	0.340	0.001
Brazo derecho, cm	0.338	0.001
<i>Conicity index</i> >1.30	0.338	0.001
Brazo izquierdo, cm	0.335	0.002
AST, U/L	0.306	0.040

**US:** Ultrasonido. **NAFLD-LFS:** puntuación de hígado graso. **FLI:** Índice de Hígado Graso. **HSI:** índice de esteatosis hepática. **HOMA:** índice de resistencia a la

insulina. **IMC**: Índice de masa corporal. **ALT**: alanino aminotransferasa. **LAP**: producto de acumulación de lípidos. **AST**: aspartato aminotransferasa.

De forma posterior se realizó un análisis ajustado para los valores atípicos de FGF-21. En este análisis se observó que LAP presenta correlación tanto con FGF-21, CAP y GIM. Otras correlaciones presentes se muestran en la **Tabla 9**.

**Tabla 9.** Correlaciones bivariadas de Pearson asociadas a LAP ajustado para FGF-21 sin valores atípicos.

	<b>Correlación ( r )</b>	<b>Valor p</b>
Triglicéridos-Glucosa	0.870	< 0.001
Triglicéridos	0.839	< 0.001
Tg/HDL	0.800	< 0.001
Cintura-Triglicéridos	0.775	< 0.001
FLI	0.774	< 0.001
NAFLD-LFS	0.579	< 0.001
Cintura, cm	0.566	< 0.001
IMC	0.564	< 0.001
Brazo izquierdo, cm	0.517	< 0.001
Índice cintura talla	0.520	< 0.001
Brazo derecho, cm	0.492	< 0.001

Tamaño del hígado	0.488	< 0.001
HDL	-0.479	< 0.001
HOMA 1	0.479	< 0.001
HOMA 2	0.476	< 0.001
Insulina	0.473	< 0.001
Cadera	0.430	< 0.001
Grado Esteatosis US	0.423	< 0.001
Grasa páncreas	0.417	< 0.001
GIM IZq	0.360	0.002
GIM Global	0.356	0.002
CAP decibeles	0.358	0.002
Leucocitos, cel x mm <sup>3</sup>	0.355	0.002
ALT, U/L	0.349	0.002
HSI	0.339	0.003
AST, U/L	0.318	0.006
GIM derecha	0.309	0.008
FGF-21 pg/mL	0.249	0.034

**Tg:** Triglicéridos. **HDL:** Lipoproteína de alta densidad. **FLI:** Índice de Hígado Graso. **NAFLD-LFS:** puntuación de hígado graso. **IMC:** Índice de masa corporal. **HOMA:** índice de resistencia a la insulina. **US:** Ultrasonido. **GIM:** Grosor de íntima media. **CAP:** Parámetro de atenuación controlada. **ALT:** alanino aminotransferasa. **HSI:**

índice de esteatosis hepática. **AST**: aspartato aminotransferasa. **LAP**: producto de acumulación de lípidos.

## **9.6 Análisis de desempeño diagnóstico**

A todos los pacientes se les calculó los 5 índices determinados previamente (**Tablas 10-14**). Para cada uno de los índices se determinó diferentes puntos de corte para determinar la presencia de esteatosis grado S2-S3. De cada uno de los índices, se determinó sensibilidad, especificidad, VPP, VPN, LR +, LR -, exactitud y eficiencia con sus respectivos IC95%, con el fin de buscar un adecuado balance para el punto de corte. En el caso de LAP, un punto de corte >30 fue el que mejor exactitud presentó de todos los índices. Para el caso de FLI, un punto de corte >20 fue el de mayor exactitud. En el caso de NAFLD-LFS, TyG y HSI, un punto de corte mayor o igual al percentil 10 fue el de mayor exactitud.

**Tabla 10.** Análisis de desempeño diagnóstico de diferentes puntos de corte de LAP para la correcta identificación de casos con esteatosis en nivel S2-S3 por CAP.

	<b>Sensibilidad (IC95%)</b>	<b>Especificidad (IC95%)</b>	<b>VPP (IC95%)</b>	<b>VPN (IC95%)</b>	<b>LR + (IC95%)</b>	<b>LR – (IC95%)</b>	<b>Exactitud</b>	<b>Eficiencia</b>
<b>LAP</b>								
<b>&gt; 10</b>	1 (0.946 – 1)	0	0.779 (0.681 – 0.854)	0	1 (1 – 1)	0	0	0
<b>&gt; 20</b>	0.97 (0.898 – 0.992)	0	0.774 (0.674 – 0.85)	0	0.97 (0.93 – 1.012)	§	0.755	-0.03
<b>&gt; 30</b>	0.896 (0.8 – 0.948)	0.316 (0.154 – 0.54)	0.822 (0.719 – 0.893)	0.462 (0.232 – 0.709)	1.31 (0.954 – 1.796)	0.329 (0.126 – 0.868)	0.767	0.212
<b>&gt; 40</b>	0.806 (0.696 – 0.883)	0.421 (0.231 – 0.637)	0.831 (0.722 – 0.903)	0.381 (0.208 – 0.591)	1.392 (0.932 – 2.079)	0.461 (0.225 – 0.945)	0.720	0.227
<b>&gt; 50</b>	0.672 (0.553 – 0.772)	0.474 (0.273 – 0.683)	0.818 (0.697 – 0.898)	0.29 (0.161 – 0.466)	1.278 (0.807 – 2.018)	0.692 (0.386 – 1.244)	0.627	0.146
<b>&gt; 60</b>	0.582 (0.463 – 0.693)	0.579 (0.363 – 0.769)	0.830 (0.699 – 0.911)	0.282 (0.165 – 0.438)	1.382 (0.786 – 2.432)	0.722 (0.448 – 1.162)	0.581	0.161
<b>&gt; 70</b>	0.448 (0.335 – 0.566)	0.737 (0.512 – 0.882)	0.857 (0.706 – 0.937)	0.275 (0.171 – 0.409)	1.703 (0.766 – 3.779)	0.749 (0.531 – 1.058)	0.511	0.185

<b>&gt; 80</b>	0.418 (0.307 – 0.537)	0.737 (0.512 – 0.882)	0.848 (0.691 – 0.933)	0.264 (0.164 – 0.396)	1.589 (0.711 – 3.547)	0.790 (0.564 – 1.106)	0.488	0.155
<b>&gt; 90</b>	0.358 (0.254 – 0.478)	0.789 (0.567 – 0.915)	0.857 (0.685 – 0.943)	0.259 (0.163 – 0.384)	1.697 (0.673 – 4.303)	0.814 (0.606 – 1.09)	0.453	0.147
<b>&gt; 100</b>	0.269 (0.177 – 0.385)	0.947 (0.754 – 0.991)	0.947 (0.754 – 0.991)	0.269 (0.177 – 0.385)	5.075 (0.728 – 35.812)	0.772 (0.645 – 0.924)	0.418	0.216
<b>&gt; 110</b>	0.209 (0.129 – 0.321)	0.947 (0.754 – 0.991)	0.933 (0.702 – 0.988)	0.254 (0.167 – 0.366)	3.943 (0.557 – 28.291)	0.835 (0.71 – 0.982)	0.372	0.156
<b>&gt; 120</b>	0.179 (0.106 – 0.287)	0.947 (0.754 – 0.991)	0.923 (0.667 – 0.986)	0.247 (0.162 – 0.356)	3.377 (0.472 – 24.533)	0.867 (0.743 – 1.011)	0.348	0.126
<b>&gt; 130</b>	0.164 (0.094 – 0.271)	1 (0.832 – 1)	1 (0.741 – 1)	0.253 (0.169 – 0.362)	§	0.836 (0.752 – 0.929)	0.348	0.164
<b>&gt; 140</b>	0.149 (0.083 – 0.253)	1 (0.832 – 1)	1 (0.722 – 1)	0.25 (0.166 – 0.358)	§	0.851 (0.77 – 0.94)	0.337	0.149

---

**LAP:** producto de acumulación de lípidos. **CAP:** Parámetro de atenuación controlada. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo. **LR +:** razón de verosimilitud positiva. **LR -:** razón de verosimilitud negativa.



**Tabla 11.** Análisis de desempeño diagnóstico de diferentes puntos de corte de FLI para la correcta identificación de casos con esteatosis en nivel S2-S3 por CAP.

FLI	Sensibilidad (IC95%)	Especificidad (IC95%)	VPP (IC95%)	VPN (IC95%)	LR + (IC95%)	LR - (IC95%)	Exactitud	Eficiencia
> 10	0.985 (0.92 – 0.997)	0.053 (0.009 – 0.246)	0.786 (0.687 – 0.86)	0.500 (0.095 – 0.905)	1.040 (0.931 – 1.161)	0.283 (0.019 – 4.325)	0.779	0.038
> 20	0.970 (0.898 – 0.992)	0.158 (0.055 – 0.376)	0.802 (0.703 – 0.875)	0.600 (0.231 – 0.882)	1.152 (0.944 – 1.406)	0.190 (0.034 – 1.051)	0.790	0.128
> 30	0.910 (0.818 – 0.958)	0.316 (0.154 – 0.54)	0.824 (0.722 – 0.894)	0.500 (0.254 – 0.746)	1.330 (0.972 – 1.823)	0.285 (0.103 – 0.779)	0.779	0.226
> 40	0.836 (0.729 – 0.906)	0.368 (0.191 – 0.59)	0.824 (0.716 – 0.896)	0.389 (0.203 – 0.614)	1.323 (0.924 – 1.896)	0.446 (0.2 – 0.991)	0.732	0.204
> 50	0.731 (0.615 – 0.823)	0.526 (0.317 – 0.727)	0.845 (0.731 – 0.916)	0.357 (0.207 – 0.542)	1.542 (0.94 – 2.535)	0.511 (0.285 – 0.913)	0.686	0.257
> 60	0.627 (0.507 – 0.733)	0.579 (0.363 – 0.769)	0.84 (0.715 – 0.917)	0.306 (0.18 – 0.469)	1.489 (0.852 – 2.603)	0.644 (0.394 – 1.056)	0.616	0.206
> 70	0.463 (0.349 – 0.581)	0.789 (0.567 – 0.915)	0.886 (0.74 – 0.955)	0.294 (0.187 – 0.43)	2.194 (0.886 – 5.45)	0.681 (0.494 – 0.939)	0.534	0.252
> 80	0.358 (0.254 – 0.478)	0.895 (0.686 – 0.971)	0.923 (0.759 – 0.979)	0.283 (0.185 – 0.408)	3.411 (0.883 – 13.121)	0.717 (0.566 – 0.908)	0.476	0.253
> 90	0.209 (0.129 – 0.321)	1 (0.832 – 1)	1 (0.785 – 1)	0.264 (0.176 – 0.376)	§	0.791 (0.699 – 0.895)	0.383	0.209

**FLI:** Índice de Hígado Graso. **CAP:** Parámetro de atenuación controlada. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo. **LR +:** razón de verosimilitud positiva. **LR -:** razón de verosimilitud negativa.

**Tabla 12.** Análisis de desempeño diagnóstico de diferentes puntos de corte de TyG para la correcta identificación de casos con esteatosis en nivel S2-S3 por CAP.

<b>TyG</b>	<b>Sensibilidad (IC95%)</b>	<b>Especificidad (IC95%)</b>	<b>VPP (IC95%)</b>	<b>VPN (IC95%)</b>	<b>LR + (IC95%)</b>	<b>LR – (IC95%)</b>	<b>Exactitud</b>	<b>Eficiencia</b>
<b>P10 (&gt; 4.47)</b>	0.925 (0.837 – 0.968)	0.105 (0.029 – 0.314)	0.785 (0.682 – 0.861)	0.286 (0.082 – 0.641)	1.034 (0.874 – 1.224)	0.714 (0.149 – 3.369)	0.744	0.030
<b>P25 (&gt; 4.55)</b>	0.806 (0.696 – 0.883)	0.368 (0.191 – 0.59)	0.818 (0.709 – 0.893)	0.35 (0.181 – 0.567)	1.275 (0.888 – 1.835)	0.527 (0.245 – 1.131)	0.709	0.174
<b>P50 (&gt; 4.70)</b>	0.537 (0.419 – 0.651)	0.579 (0.363 – 0.769)	0.818 (0.68 – 0.905)	0.262 (0.153 – 0.411)	1.276 (0.72 – 2.261)	0.800 (0.503 – 1.269)	0.546	0.116
<b>P75 (&gt; 4.93)</b>	0.284 (0.19 – 0.401)	0.842 (0.624 – 0.945)	0.864 (0.667 – 0.953)	0.250 (0.16 – 0.368)	1.797 (0.594 – 5.428)	0.850 (0.665 – 1.088)	0.406	0.126
<b>P90 (&gt; 5.05)</b>	0.119 (0.062 – 0.218)	0.947 (0.754 – 0.991)	0.889 (0.565 – 0.98)	0.234 (0.153 – 0.34)	2.245 (0.302 – 17.025)	0.93 (0.81 – 1.067)	0.302	0.066

**TyG:** Triglicéridos y Glucosa. **CAP:** Parámetro de atenuación controlada. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo. **LR +:** razón de verosimilitud positiva. **LR -:** razón de verosimilitud negativa.

**Tabla 13.** Análisis de desempeño diagnóstico de diferentes puntos de corte de NAFLD–LFS para la correcta identificación de casos con esteatosis en nivel S2-S3 por CAP.

NAFLD–LFS	Sensibilidad (IC95%)	Especificidad (IC95%)	VPP (IC95%)	VPN (IC95%)	LR + (IC95%)	LR – (IC95%)	Exactitud	Eficiencia
<b>P10</b> (> -2.32)	0.955 (0.875 – 0.984)	0.263 (0.118 – 0.488)	0.818 (0.718 – 0.888)	0.625 (0.306 – 0.863)	1.296 (0.985 – 1.704)	0.171 (0.045 – 0.658)	0.800	0.218
<b>P25</b> (> -1.22)	0.818 (0.709 – 0.893)	0.421 (0.231 – 0.637)	0.831 (0.722 – 0.903)	0.400 (0.219 – 0.613)	1.413 (0.947 – 2.108)	0.432 (0.207 – 0.9)	0.729	0.239
<b>P50</b> (> -0.34)	0.591 (0.47 – 0.701)	0.737 (0.512 – 0.882)	0.886 (0.76 – 0.95)	0.341 (0.216 – 0.495)	2.247 (1.031 – 4.892)	0.555 (0.374 – 0.824)	0.623	0.328
<b>P75</b> (> 0.69)	0.303 (0.206 – 0.422)	0.947 (0.754 – 0.991)	0.952 (0.773 – 0.992)	0.281 (0.186 – 0.401)	5.717 (0.825 – 40.164)	0.736 (0.608 – 0.891)	0.447	0.250
<b>P90</b> (> 1.90)	0.136 (0.073 – 0.239)	1 (0.832 – 1)	1 (0.701 – 1)	0.25 (0.166 – 0.358)	§	0.864 (0.785 – 0.951)	0.329	0.136

**NAFLD–LFS:** puntuación de hígado graso. **CAP:** Parámetro de atenuación controlada. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo. **LR +:** razón de verosimilitud positiva. **LR -:** razón de verosimilitud negativa.

**Tabla 14.** Análisis de desempeño diagnóstico de diferentes puntos de corte de HSI para la correcta identificación de casos con esteatosis en nivel S2-S3 por CAP.

<b>HSI</b>	<b>Sensibilidad (IC95%)</b>	<b>Especificidad (IC95%)</b>	<b>VPP (IC95%)</b>	<b>VPN (IC95%)</b>	<b>LR + (IC95%)</b>	<b>LR – (IC95%)</b>	<b>Exactitud</b>	<b>Eficiencia</b>
<b>P10 (&gt;32)</b>	0.940 (0.856 – 0.977)	0.316 (0.154 – 0.54)	0.829 (0.729 – 0.897)	0.600 (0.313 – 0.832)	1.374 (1.007 – 1.876)	0.190 (0.059 – 0.602)	0.802	0.256
<b>P25 (&gt;35)</b>	0.791 (0.679 – 0.871)	0.474 (0.273 – 0.683)	0.841 (0.732 – 0.911)	0.391 (0.222 – 0.592)	1.504 (0.964 – 2.343)	0.441 (0.227 – 0.857)	0.720	0.265
<b>P50 (&gt;38)</b>	0.493 (0.377 – 0.609)	0.684 (0.46 – 0.846)	0.846 (0.703 – 0.928)	0.277 (0.169 – 0.418)	1.560 (0.771 – 3.157)	0.741 (0.504 – 1.091)	0.534	0.177
<b>P75 (&gt;41)</b>	0.254 (0.165 – 0.369)	0.842 (0.624 – 0.945)	0.850 (0.64 – 0.948)	0.242 (0.155 – 0.358)	1.608 (0.526 – 4.909)	0.886 (0.697 – 1.126)	0.383	0.096
<b>P90 (&gt;45)</b>	0.104 (0.052 – 0.2)	1 (0.832 – 1)	1 (0.646 – 1)	0.241 (0.16 – 0.345)	§	0.896 (0.825 – 0.972)	0.302	0.104

**HSI:** índice de esteatosis hepática. **CAP:** Parámetro de atenuación controlada. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo. **LR +:** razón de verosimilitud positiva. **LR -:** razón de verosimilitud negativa.

## 10 Discusión

Con las características del presente estudio, no es posible demostrar una correlación estadísticamente significativa que sea  $>0.300$  (estadístico rho de Pearson) entre FGF-21 y GIM o el grado de esteatosis medido por CAP, que se consideró la hipótesis principal del proyecto de investigación. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis de que existe una correlación significativa entre los niveles de FGF-21, con el grado de esteatosis determinado por CAP y con la arteriopatía carotídea subclínica determinada por GIM. De igual forma en nuestra muestra no se logró determinar diferencias entre los niveles séricos de FGF-21 y las diferentes magnitudes (cuartiles) de arteriopatía carotídea subclínica, expresada por el GIM medido por ultrasonido dúplex. Dado que entre participantes con cualquier grado de esteatosis no fue posible identificar mediante FGF-21 o GIM a aquellos con esteatosis avanzada, en exploraciones secundarias, este estudio sí pudo demostrar que índices clínicos previamente validados en población sana y con esteatosis, tienen la capacidad de identificar a participantes con esteatosis avanzada entre el grupo de personas con cualquier grado de esteatosis. De estos índices, el NAFLD-LFS resulta con un mejor desempeño diagnóstico, mientras que el índice LAP podría ser superior en la práctica clínica dada su facilidad para el cálculo y obtención de los datos necesarios para ello, y que adicionalmente, fue LAP el índice que correlacionó significativamente con FGF-21, GIM y CAP. LAP correlaciona con otros valores como índice triglicéridos-glucosa, o cintura-triglicéridos, pero a su vez correlaciona con diferentes parámetros antropométricos. En análisis de correlaciones bivariadas, se observó que CAP

correlaciona con el grado de esteatosis por US, NAFLD–LFS, CC y FLI lo que permite determinar de mejor manera aquellos pacientes candidatos a ET si no se dispone de fácil acceso a la misma.

Desde cerca del año 2000, el interés en el papel de las diferentes biomoléculas en la fisiopatología de NAFLD ha incrementado y hoy en día su investigación se ha extendido a su rol en el diagnóstico y el tratamiento de esta enfermedad. FGF-21, ha llamado la atención por su papel en el metabolismo de la glucosa y de los lípidos sin embargo su función, descrita en un inicio en ratones, presenta diferencias en humanos y estas se deberán considerar a fin de poder interpretar algunos resultados aquí descritos.

FGF-21 en los humanos, se considera en condiciones basales que se expresa casi de forma exclusiva en el hígado y en humanos sanos, existe una variación interindividual que puede extenderse desde los 5 pg/mL hasta los 5 ng/mL [39], una variabilidad que podría dificultar su medición pero que podría explicar el rango de los valores que observamos en nuestra cohorte que se extienden desde 153 pg/mL hasta 10,482 pg/mL, sin que eso signifique un error en la técnica de medición. Además, si bien antes se describía que podría existir una alteración en los niveles de FGF-21 por las concentraciones de AGL, hoy se sabe que en humanos existe una disminución de los valores circulantes de FGF-21 en lugar de un incremento y esto se ha explicado por el alto metabolismo que existe en los

ratones [39], por lo que nuestros valores no corresponderían a una alteración por esta vía. Así mismo, la elevación no se puede asociar al ayuno (efecto descrito en ratones), ya que en humanos, este efecto solo se observa luego de un ayuno de 7 días [39] y el ayuno en nuestro estudio estuvo estandarizado a 8 – 10 horas para toda la cohorte. Si bien es cierto que FGF-21 presenta un ritmo circadiano, con niveles de nadir a las 8:30 am [39], este se ha estudiado luego de 72 horas de ayuno, y este no es el caso de nuestros pacientes, y al estandarizar la toma de muestra a todos los pacientes se reduciría el efecto de este fenómeno.

Si se evalúa el efecto de una dieta, la ingesta de azúcar (dietas ricas en carbohidratos), en particular fructosa provoca cambios en los niveles sanguíneos de FGF-21 que pueden ser de hasta 3.4 veces en humanos [39], a las 2 horas de la ingesta, poco se conoce con relación al uso de una dieta rica en fructosa a largo plazo por lo que no podríamos conocer si nuestros valores pueden estar afectados por este efecto ya que esta no fue una variable evaluada. Con relación a la glucosa, ésta solo produce un efecto modesto y el incremento en los niveles de FGF-21 es de forma tardía en los humanos, sin embargo en nuestra población, ningún paciente es diabético. Hoy en día se sabe que FGF-21 actúa en un sistema de recompensa en el cerebro para regular la ingesta de comida [39], sin embargo no se sabe si los niveles elevados son un reflejo de la activación de este sistema o cual puede ser su papel a largo plazo, pero abre el camino para investigar si los niveles elevados en nuestros pacientes pueden ser un reflejo de este mecanismo. Dado que las dietas cetogénicas se encuentran en la luz actualmente, se debe

saber que en humanos sanos y obesos, este tipo de dieta no produce incrementos en los niveles séricos de FGF-21 e incluso puede producir niveles bajos de FGF-21 junto a una dieta con restricción calórica [39]; en nuestro caso no se puede conocer el efecto de esta dieta ya que no fue una variable evaluada. Dado que FGF-21 puede estar asociada a la composición de macronutrientes en ratones[39], en estudios posteriores en humanos se deberá considerar esta variable también, sin embargo en esta población entendemos que el control puede ser difícil a diferencia de los ratones.

Se ha hablado durante algún tiempo del efecto del ejercicio en los niveles de FGF-21 [46], y se conoce que el ejercicio agudo puede elevar estos valores a través de lipólisis del tejido adiposo y la producción de estrés endoplásmico en el hígado. Cuando se revisó la actividad física de aquellos pacientes con niveles >1,000 pg/mL, 11 pacientes se reportaron como sedentarios, e incluso en aquellos con niveles >10,000 pg/mL se observó el mismo patrón por lo que esta no podría ser una posible explicación en nuestra cohorte.

Con relación a los niveles elevados de insulina, se ha descrito que el músculo esquelético puede producir niveles elevados, sin embargo este incremento no se produce en los niveles circulantes [39], por lo que no podría afectar a nuestros resultados, pese a que un 33.7 % presenta un HOMA1 alterado y un factor a



considerar es que puede existir una supresión de FGF-21 del hígado por insulina en humanos [39].

Respecto a los fármacos que podrían alterar los valores de FGF-21, se ha descrito que el uso fibratos, puede elevar los niveles [39], sin embargo, ninguno de nuestros pacientes había sido diagnosticado de dislipidemia o se encontraba en tratamiento previo.

En el caso de las alteraciones metabólicas asociadas con FGF-21, se ha descrito asociaciones con el IMC, sin embargo, esto no fue demostrado en nuestro estudio cuando se tomó en consideración la evaluación global de valores de FGF-21. Cuando se realizó un análisis por IMC, el 17.9 % (n=7) de los pacientes con sobrepeso presentaron niveles de FGF-21 >1,000 pg/mL, un 5.9 % (n=1) de los pacientes con obesidad grado I presentó esta alteración y en los de obesidad grado 2 un 9.1 % (n=1) lo presentó, sin embargo 4 pacientes presentaron niveles elevados >1,000 pg/mL con un IMC normal, lo que nos llevaría a pensar que la fuente de FGF-21 circulante en nuestra población podría no depender del tejido adiposo sino de hígado como fuente primaria, lo que estaría en acorde con la fisiopatología de esta biomolécula.

En cuanto a la asociación de NAFLD con IMC elevado, se considera que un 58 % de los pacientes con sobrepeso y un 90 % de obesos morbidos tiene NAFLD [47], sin embargo en nuestra población se observó la asociación con sobrepeso en un 45.3 % de los pacientes y con obesidad en un 34.9 % de pacientes. Estos resultados podrían explicar también la falta de asociación de FGF-21 con IMC.

Tras realizar un análisis con un punto de corte máximo de FGF-21 de 1,000 pg/mL, se obtuvo una asociación entre LAP, GIM y FGF-21. Se ha descrito que los pacientes metabólicamente afectados presentan resistencia a la insulina, aumento de la masa grasa visceral, depósito ectópico de grasa en hígado e incremento en GIM, todos estos parámetros muestran correlación en nuestra población con LAP y algunos de ellos muestran una relación con CAP, sin embargo consideramos que se podría incrementar el tamaño de muestra y considerar un análisis con una población de pacientes sanos y en una población con todos los componentes de síndrome metabólico a fin de poder estudiar la variabilidad que pueda existir y dar un contexto para la interpretación de estos hallazgos en pacientes de bajo riesgo pero con un riesgo potencial a largo plazo. En pacientes de bajo riesgo se puede apreciar una asociación y un aumento de niveles de FGF-21 incluso mayor a 2 veces sobre el valor que en pacientes metabólicamente sanos [39], sin embargo aún se desconoce un punto de corte desde el que se podría considerar perjudicial en este tipo de pacientes o incluso que se convierta en un factor de riesgo a ser medido. En nuestro caso estos valores podrían poner de manifiesto el rol inicial de la adiposidad.

Cuando revisamos otras correlaciones importantes con LAP en pacientes con valores de FGF-21 menores a 1,000 pg/mL, encontramos asociación con triglicéridemia ( $r=0.83$ ), y esto va en asociación con la observación de que valores altos de FGF-21 se asocian con perfiles de lípidos aterogénicos [39]. Si bien nosotros no pudimos demostrar la hipótesis primaria, se ha descrito que valores elevados de FGF-21 en pacientes con SM se puede asociar con incremento en GIM, rigidez arterial y formación de placa, y se ha considerado que puede existir una relación dependiente o independiente de contenido graso [39]. En nuestro caso, al ser pacientes de bajo riesgo, una posible explicación es que la edad temprana del diagnóstico aún no permite observar la asociación, por lo que sería importante considerar un seguimiento en la cohorte para determinar la evolución de las complicaciones y la posibilidad de que esta asociación cambie.

Lo cierto es que hasta ahora, no se ha podido determinar una biomolécula clave para estos fines, sino que se ha requerido la creación de paneles que permitan la evaluación y aún queda mucho por explorar con relación a la fisiopatología y las diferencias que existen entre los modelos murinos y en humanos.

Hoy en día, cada vez tenemos más datos con relación a la prevalencia de NAFLD, y en un país como México, en donde la prevalencia es alta una sospecha diagnóstica temprana es oportuna, sin embargo, al momento no se dispone de un

equipo como Fibroscan® de forma amplia en la república, y dado el costo del mismo, el uso de escalas clínicas se debería considerar ya que se puede realizar de forma rápida y sencilla con parámetros de laboratorio disponibles en cualquier consulta. Dado que en la práctica clínica la diferenciación de una esteatosis moderada (>S2) es de utilidad, se evaluó el punto de corte de las diferentes escalas clínicas para determinar la presencia de esteatosis >S2-S3 utilizando CAP como un método confirmatorio en pacientes de bajo riesgo.

Diferentes índices fueron evaluados. Para LAP, FLI, TyG, NAFLD-LFS y HSI se buscó la exactitud como parámetro de un adecuado balance entre sensibilidad, especificidad, VPP, VPN, LR +, LR -, para identificar pacientes con una esteatosis >S2-S3. Cabe recalcar que muchos de estos índices fueron comparados contra ultrasonido, biopsia hepática o resonancia magnética, pero no contra Fibroscan®, un dato que puede cambiar su interpretación. Para el caso de LAP, el punto de corte > 30 presentó una adecuada exactitud para identificar este tipo de pacientes. En el caso de FLI, un valor >20, fue el que mostró una exactitud de 0.790. Para el caso de TyG, NAFLD-LFS y HSI, un valor por arriba del percentil 10 (>4.47, > 2.32, >32), reveló una exactitud de 0.744; 0.8 y 0.802 respectivamente.

En el caso de LAP, esta evalúa la CC y concentración de triglicéridos, ambas medidas de bajo costo y que se pueden obtener en consulta. Se ha evaluado el papel de LAP en el diagnóstico de NAFLD con una AUC de 0.78, sin embargo son

pocos los estudios que han evaluado LAP en asociación con la severidad de la esteatosis. En el estudio de Dai et al [48], se observó una asociación entre la severidad de NAFLD con el logLAP con un OR=4.34, IC95% 3.96–4.76, por lo que se debería considerar esta asociación, pero no podemos extrapolar estos datos dadas las características de nuestra población.

Si evaluamos cada uno de los índices, en el caso de FLI, este tendría un valor a considerar en nuestra población, ya que al evaluar el IMC, CC, triglicéridos y GGT, puede ser reproducible, ya que estos valores son fácilmente evaluables en la población general. La mayoría de estudios evalúan a FLI para el diagnóstico de NAFLD [28,47,49,50]. En el estudio de Bedogni et al [28], los autores propusieron un punto de corte >60 para el diagnóstico de esteatosis, sin embargo en el estudio de Radu et al [51], se propuso un punto de corte de 86.90 con AUC de 0.596, para la discriminación entre esteatosis <S1 vs. >S2-S3. En el estudio de Perazzo et al [52], evaluaron el uso de FLI con un punto de corte de >57.5 para esteatosis moderada, sin embargo en nuestro estudio, consideramos que para detección un punto de corte >20, puede tener importancia y nuestra exactitud fue mayor que la reportada, sin embargo es difícil extrapolar resultados por la población única de la que disponemos y aún consideramos que se podría probar estos hallazgos en una población de mayor tamaño.

El TyG fue descrito como una herramienta más para determinar la presencia de esteatosis en pacientes asintomáticos [53], con un punto de corte de 4.58 con un AUC de 0.856. No existen estudios al momento en pacientes mexicanos para determinar el punto de corte para diagnóstico, ni estudios para evaluar la severidad de la esteatosis. En nuestro caso un valor  $>4.47$  (P10), mostró un AUC 0.744, sin embargo es para determinar  $>S2-S3$ , por lo que estos resultados deberán ser estudiados en otros pacientes con más factores de riesgo.

En el caso de NAFLD-LFS, y de HSI, debemos recordar los parámetros que lo conforman para su interpretación. En el caso de NAFLD-LFS, este involucra el uso de presencia de SM, presencia de DM (un criterio de exclusión en nuestro estudio), insulina en ayuno, TGP y radio TGO/TGP. En nuestra población, un 18.6 % no presentaba ningún factor para SM, por lo que esto puede explicar el valor más alto que reportamos y la diferencia en AUC con el estudio de Perazzo et al [52] para discriminar esteatosis moderada que fue de 0.769. Se deberá analizar a largo plazo la posibilidad de simplificar esta ecuación o la utilidad en pacientes de bajo riesgo. En el caso de HSI, las variables utilizadas fueron radio TGO/TGP, IMC y DM (criterio de exclusión en nuestra población). En nuestro caso la exactitud fue de 0.832 para un punto de corte  $>32$ , diferente al punto de corte reportado por otros autores [29,47,52], esto dado por el desenlace que evaluamos. En el caso de Perazzo et al, su exactitud fue de 0.800 para esteatosis moderada y en nuestro caso fue de 0.802, lo que en una población como la nuestra se debería considerar un punto de corte más bajo en estudios posteriores.

Nuestro estudio tiene varias limitaciones. Primero, es un estudio de un solo centro. Segundo al incluir pacientes sin todos los componentes del SM (principalmente DM), mismos que condicionan la aparición de alteraciones en el GIM, creemos que los cambios aún no son evidentes dado el estadio temprano de la enfermedad que tienen nuestros pacientes. Tercero, al ser una población muy cerca de los pacientes sanos, se requiere un seguimiento más extenso para poder determinar su riesgo cardiovascular. Por último es posible que el tamaño de muestra sea aún pequeño como para detectar diferencias sutiles entre CAP, FGF-21 y GIM. Por lo tanto, se requiere un estudio prospectivo con un seguimiento comparativo de otros grupos poblacionales (controles sanos y aquellos afectados con todos los factores de riesgo de SM) para determinar el riesgo cardiovascular subclínico que los pacientes pueden presentar.

## **11 Conclusión**

Con las características del presente estudio, no se demuestra correlación significativa entre FGF-21 con GIM y con el grado de esteatosis medido por CAP. Es posible que sí exista correlación que, aunque pequeña ( $<0.300$ ), no pudiese ser identificada con el tamaño de muestra de este estudio. Más aún, no se logró determinar diferencias entre los niveles séricos de FGF-21 y las diferentes magnitudes (cuartiles) de arteriopatía carotídea subclínica, expresada por el GIM medido por ultrasonido dúplex, sin embargo se pudo observar que los índices

antropométricos sí presentan relación con el grado de esteatosis, por lo que se podrían utilizar en la práctica clínica diaria como método de tamizaje aún en pacientes asintomáticos. En exploraciones secundarias, índices como LAP, NAFLD-LFS tienen la capacidad de identificar a participantes con esteatosis avanzada entre el grupo de personas con cualquier grado de esteatosis. Asimismo, el índice LAP se asocia directamente tanto a la magnitud de CAP, como de FGF21 y GIM, lo que sugiere que estos tres últimos factores, aunque no relacionados directamente entre sí, podrían ser epifenómenos del trastorno del metabolismo energético.



## 12 Bibliografía

- [1] Wong VW-S, Adams LA, de Lédinghen V, Wong GL-H, Sookoian S. Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH—current progress and future promise. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2018;1.
- [2] Buckley AJ, Thomas EL, Lessan N, Trovato FM, Trovato GM, Taylor-Robinson SD. Non-alcoholic fatty liver disease: Relationship with cardiovascular risk markers and clinical endpoints. *Diabetes Res Clin Pract* 2018;144:144–52. doi:10.1016/j.diabres.2018.08.011.
- [3] Diehl AM, Day C. Cause, Pathogenesis, and Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. *N Engl J Med* 2017;377:2063–72. doi:10.1056/NEJMra1503519.
- [4] Kapuria D, Takyar VK, Etzion O, Surana P, O’Keefe JH, Koh C. Association of hepatic steatosis with subclinical atherosclerosis: Systematic Review and meta-analysis. *Hepatol Commun* 2018;2:877–887.
- [5] Kanwal F, Kramer JR, Duan Z, Yu X, White D, El-Serag HB. Trends in the Burden of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in a United States Cohort of Veterans. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc* 2016;14:301-308.e1-2. doi:10.1016/j.cgh.2015.08.010.
- [6] Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;15:11–20. doi:10.1038/nrgastro.2017.109.
- [7] Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol* 2015;62:S47-64. doi:10.1016/j.jhep.2014.12.012.
- [8] Li H, Dong K, Fang Q, Hou X, Zhou M, Bao Y, et al. High serum level of fibroblast growth factor 21 is an independent predictor of non-alcoholic fatty liver disease: a 3-year prospective study in China. *J Hepatol* 2013;58:557–63. doi:10.1016/j.jhep.2012.10.029.
- [9] Moreno-Del Castillo MC, Sanchez-Rodriguez A, Hernandez-Buen Abad JJ, Aguirre-Valadez J, Ruiz I, Garcia-Buen Abad R, et al. Importance of Evaluating Cardiovascular Risk and Hepatic Fibrosis in Patients With Newly Diagnosed Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc* 2018. doi:10.1016/j.cgh.2018.07.039.
- [10] Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol* 2015;62:S47-64. doi:10.1016/j.jhep.2014.12.012.
- [11] Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet Lond Engl* 2014;384:766–81. doi:10.1016/S0140-6736(14)60460-8.
- [12] Gao B, Tsukamoto H. Inflammation in Alcoholic and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Friend or Foe? *Gastroenterology* 2016;150:1704–9. doi:10.1053/j.gastro.2016.01.025.

- [13] Alkhoury N, Poordad F, Lawitz E. Management of nonalcoholic fatty liver disease: Lessons learned from type 2 diabetes: Alkhoury, Poordad, Lawitz. *Hepatol Commun* 2018;2:778–85. doi:10.1002/hep4.1195.
- [14] Anstee QM, Mantovani A, Tilg H, Targher G. Risk of cardiomyopathy and cardiac arrhythmias in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2018.
- [15] Friedman SL, Neuschwander-Tetri BA, Rinella M, Sanyal AJ. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nat Med* 2018;24:908–22. doi:10.1038/s41591-018-0104-9.
- [16] Anstee QM, Targher G, Day CP. Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013;10:330–44. doi:10.1038/nrgastro.2013.41.
- [17] Oni ET, Agatston AS, Blaha MJ, Fialkow J, Cury R, Sposito A, et al. A systematic review: burden and severity of subclinical cardiovascular disease among those with nonalcoholic fatty liver; should we care? *Atherosclerosis* 2013;230:258–67. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2013.07.052.
- [18] Targher G, Bertolini L, Padovani R, Rodella S, Zoppini G, Zenari L, et al. Relations between carotid artery wall thickness and liver histology in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Care* 2006;29:1325–30. doi:10.2337/dc06-0135.
- [19] Brea A, Mosquera D, Martín E, Arizti A, Cordero JL, Ros E. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with carotid atherosclerosis: a case-control study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1045–50. doi:10.1161/01.ATV.0000160613.57985.18.
- [20] Guo Y-C, Zhou Y, Gao X, Yao Y, Geng B, Cui Q-H, et al. Association between Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Carotid Artery Disease in a Community-Based Chinese Population: A Cross-Sectional Study. *Chin Med J (Engl)* 2018;131:2269. doi:10.4103/0366-6999.241797.
- [21] Yafei S, Elsewy F, Youssef E, Ayman M, El-Shafei M. Fibroblast growth factor 21 association with subclinical atherosclerosis and arterial stiffness in type 2 diabetes. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev* 2019;13:882–8. doi:10.1016/j.dsx.2018.12.007.
- [22] Chen Y, Xu M, Wang T, Sun J, Sun W, Xu B, et al. Advanced fibrosis associates with atherosclerosis in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. *Atherosclerosis* 2015;241:145–50. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.05.002.
- [23] Ghouri N, Preiss D, Sattar N. Liver enzymes, nonalcoholic fatty liver disease, and incident cardiovascular disease: a narrative review and clinical perspective of prospective data. *Hepatol Baltim Md* 2010;52:1156–61. doi:10.1002/hep.23789.
- [24] European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD), European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2016;64:1388–402. doi:10.1016/j.jhep.2015.11.004.

- [25] Blond E, Disse E, Cuerq C, Drai J, Valette P-J, Laville M, et al. EASL-EASD-EASO clinical practice guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease in severely obese people: do they lead to over-referral? *Diabetologia* 2017;60:1218–22. doi:10.1007/s00125-017-4264-9.
- [26] Cleveland E, Bandy A, VanWagner LB. Diagnostic challenges of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis* 2018;11:98–104.
- [27] European Association for Study of Liver, Asociacion Latinoamericana para el Estudio del Higado. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J Hepatol* 2015;63:237–64. doi:10.1016/j.jhep.2015.04.006.
- [28] Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, et al. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol* 2006;6. doi:10.1186/1471-230X-6-33.
- [29] Lee J-H, Kim D, Kim HJ, Lee C-H, Yang JI, Kim W, et al. Hepatic steatosis index: A simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis* 2010;42:503–8. doi:10.1016/j.dld.2009.08.002.
- [30] Kotronen A, Peltonen M, Hakkarainen A, Sevastianova K, Bergholm R, Johansson LM, et al. Prediction of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Liver Fat Using Metabolic and Genetic Factors. *Gastroenterology* 2009;137:865–72. doi:10.1053/j.gastro.2009.06.005.
- [31] Taverna MJ, Martínez-Larrad MT, Frechtel GD, Serrano-Ríos M. Lipid accumulation product: a powerful marker of metabolic syndrome in healthy population. *Eur J Endocrinol* 2011;164:559–67. doi:10.1530/EJE-10-1039.
- [32] Friedrich-Rust M, Ong M-F, Martens S, Sarrazin C, Bojunga J, Zeuzem S, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology* 2008;134:960–74. doi:10.1053/j.gastro.2008.01.034.
- [33] Wong VW-S, Vergniol J, Wong GL-H, Foucher J, Chan HL-Y, Le Bail B, et al. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010;51:454–62. doi:10.1002/hep.23312.
- [34] Kwak M-S, Chung GE, Yang JI, Yim JY, Chung SJ, Jung SY, et al. Clinical implications of controlled attenuation parameter in a health check-up cohort. *Liver Int* 2018;38:915–23. doi:10.1111/liv.13558.
- [35] Eddowes PJ, Sasso M, Allison M, Tsochatzis E, Anstee QM, Sheridan D, et al. Accuracy of FibroScan Controlled Attenuation Parameter and Liver Stiffness Measurement in Assessing Steatosis and Fibrosis in Patients With Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 2019. doi:10.1053/j.gastro.2019.01.042.
- [36] Chan W-K, Nik Mustapha NR, Mahadeva S. Controlled attenuation parameter for the detection and quantification of hepatic steatosis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2014;29:1470–6. doi:10.1111/jgh.12557.

- [37] Cuevas-Ramos D, Aguilar-Salinas CA. Modulation of energy balance by fibroblast growth factor 21. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2017;30. doi:10.1515/hmbci-2016-0023.
- [38] Cuevas-Ramos D, Aguilar-Salinas CA, Gómez-Pérez FJ. Metabolic actions of fibroblast growth factor 21: *Curr Opin Pediatr* 2012;24:523–9. doi:10.1097/MOP.0b013e3283557d22.
- [39] Staiger H, Keuper M, Berti L, Hrabě de Angelis M, Häring H-U. Fibroblast Growth Factor 21—Metabolic Role in Mice and Men. *Endocr Rev* 2017;38:468–88. doi:10.1210/er.2017-00016.
- [40] Li H, Fang Q, Gao F, Fan J, Zhou J, Wang X, et al. Fibroblast growth factor 21 levels are increased in nonalcoholic fatty liver disease patients and are correlated with hepatic triglyceride. *J Hepatol* 2010;53:934–40. doi:10.1016/j.jhep.2010.05.018.
- [41] Chow WS, Xu A, Woo YC, Tso AW, Cheung SC, Fong CH, et al. Serum fibroblast growth factor-21 levels are associated with carotid atherosclerosis independent of established cardiovascular risk factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013;33:2454–2459.
- [42] Xiao Y, Liu L, Xu A, Zhou P, Long Z, Tu Y, et al. Serum fibroblast growth factor 21 levels are related to subclinical atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol* 2015;14. doi:10.1186/s12933-015-0229-9.
- [43] Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology* 2007;45:846–54. doi:10.1002/hep.21496.
- [44] McPherson S, Stewart SF, Henderson E, Burt AD, Day CP. Simple non-invasive fibrosis scoring systems can reliably exclude advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Gut* 2010;59:1265–9. doi:10.1136/gut.2010.216077.
- [45] Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002;123:745–50.
- [46] Cuevas-Ramos D, Almeda-Valdés P, Meza-Arana CE, Brito-Córdova G, Gómez-Pérez FJ, Mehta R, et al. Exercise Increases Serum Fibroblast Growth Factor 21 (FGF21) Levels. *PLoS ONE* 2012;7:e38022. doi:10.1371/journal.pone.0038022.
- [47] Graffigna M, Catoira N, Soutelo J, Azpelicueta A, Berg G, Perel C, et al. Diagnóstico de esteatosis hepática por métodos clínicos, bioquímicos y por imágenes. *Rev Argent Endocrinol Metab* 2017;54:37–46. doi:10.1016/j.raem.2016.12.001.
- [48] Dai H, Wang W, Chen R, Chen Z, Lu Y, Yuan H. Lipid accumulation product is a powerful tool to predict non-alcoholic fatty liver disease in Chinese adults. *Nutr Metab* 2017;14:49. doi:10.1186/s12986-017-0206-2.
- [49] Ze EY, Kim BJ, Jun DH, Kim JG, Kang H, Lee DY. The Fatty Liver Index: A Simple and Accurate Predictor of Colorectal Adenoma in an Average-Risk Population. *Dis Colon Rectum* 2018;61:36–42. doi:10.1097/DCR.0000000000000973.

- [50] Motamed N, Sohrabi M, Ajdarkosh H, Hemmasi G, Maadi M, Sayeedian FS, et al. Fatty liver index vs waist circumference for predicting non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2016;22:3023. doi:10.3748/wjg.v22.i10.3023.
- [51] Radu CI, Cri DA. How can we predict steatosis using biochemical markers (SteatoTest and Fatty liver index)? 2011;3:8.
- [52] Perazzo H, Benseñor I, Mill JG, Pacheco AG, da Fonseca M de JM, Griep RH, et al. Prediction of Liver Steatosis Applying a New Score in Subjects from the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health: *J Clin Gastroenterol* 2018;1. doi:10.1097/MCG.0000000000001007.
- [53] Simental-Mendía LE, Simental-Mendía E, Rodríguez-Hernández H, Rodríguez-Morán M, Guerrero-Romero F. The product of triglycerides and glucose as biomarker for screening simple steatosis and NASH in asymptomatic women. *Ann Hepatol* 2016;15:715–20. doi:10.5604/16652681.1212431.