

11215



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
ISSSTE  
SUBDIRECCION GENERAL MEDICA  
CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"

RESISTENCIA A LA INSULINA Y FACTORES  
PREDICTORES DE FIBROSIS EN LA  
ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHOLICA

**TESIS DE POSGRADO**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
**ESPECIALIDAD EN GASTROENTEROLOGIA**

PRESENTA

**DRA. BEATRIZ BARRANCO FRAGOSO**



MEXICO. D. F.

2006

m341459



Universidad Nacional  
Autónoma de México

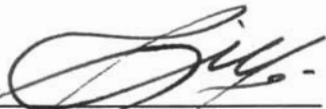


**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**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. MAURICIO DI SILVIO LOPEZ  
SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN



DRA. MAYRA VIRGINIA RAMOS GOMEZ  
PROFESOR TITULAR Y ASESOR DE TESIS



DRA. BEATRIZ BARRANCO FRAGOSO



SUBDIRECCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA  
UTM A.L.

*Por que desdichado es  
quien desdecha la sabiduría y la instrucción  
y vana es su esperanza,  
sin frutos sus trabajos e inútiles sus obras.*

*Del libro de la Sabiduría.*

*A mis padres, José Antonio y María de los Angeles,  
gracias por darme la vida y por esas palabras  
de aliento inagotables. Los adoro.  
a mis hermanos, Octavio y Ricardo  
por creer en mí y ser parte fundamental en mi camino.*

*A José Alberto,  
gracias por llegar a mi vida y compartir conmigo  
esa virtuosidad que de tus manos emana,  
por que con ella alimentas día a día  
mi alma y mi corazón.*

INTRODUCCIÓN .....	1
ANTECEDENTES .....	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	11
OBJETIVOS .....	12
JUSTIFICACIÓN .....	13
HIPOTESIS .....	13
MATERIAL Y METODOS .....	14
CRITERIOS DE INCLUSIÓN .....	17
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN .....	18
CRITERIOS DE ELIMINACIÓN .....	18
ANALISIS ESTADISTICO .....	24
RECURSOS .....	24
RESULTADOS .....	26
DISCUSIÓN. ....	39
CONCLUSIÓN .....	41
ANEXO .....	43
BIBLIOGRAFÍA .....	44

## INTRODUCCIÓN

El hígado graso no alcohólico es una condición que cobra cada vez un mayor reconocimiento debido a que esta enfermedad puede progresar hacia la cronicidad. Una amplia gama de términos han sido utilizados para describir esta entidad, incluyendo hepatitis grasa, enfermedad de Laennec no alcohólica, hepatitis diabética y finalmente esteatohepatitis no alcohólica.

El término esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) fue acuñado por primera vez por Ludwig en 1980 para describir los hallazgos histopatológicos en los pacientes con este padecimiento en ausencia de ingesta de alcohol.

La enfermedad por hígado graso no alcohólico es actualmente el término preferido, ya que este se refiere a un amplio espectro en el daño hepático, que va desde la esteatosis simple a la esteatohepatitis, fibrosis avanzada y cirrosis <sup>1</sup>.

La esteatohepatitis representa solo una etapa dentro del espectro del hígado graso no alcohólico, mismo que debe ser diferenciado de la esteatosis con o sin hepatitis resultante de causas secundarias como el

daño producido por drogas, ya que estas condiciones tienen diferente patogenia y pronóstico.

La esteatohepatitis no alcohólica se caracteriza por presentar cambios grasos en el hígado con varios grados de inflamación y fibrosis, similares a aquellos por enfermedad por ingesta crónica de alcohol pero en este caso en ausencia significativa de ingesta del mismo.

Aunque generalmente se comporta de forma indolente, esta puede progresar a la enfermedad avanzada en un 15 a 20% de los pacientes afectados <sup>2</sup>.

Varios estudios han determinado la prevalencia de la esteatohepatitis no alcohólica. En Estados Unidos, la prevalencia de hígado graso no alcohólico en la población general es del 13 al 15% <sup>3</sup>.

Estos datos han sido obtenidos de un número de estudios que utilizan varios criterios para su diagnóstico. Según Wanless y Lentz, se ha encontrado esta entidad en el 18.5% en obesos y en 2.7% de no obesos en autopsias. <sup>4</sup>

En poblaciones del Noroeste, la prevalencia en la población general por biopsia es del 1 al 5% y figura entre la segunda y tercera causas de



enfermedad hepática en Norteamérica, y se ha sugerido que muchos casos de cirrosis criptogénica fueron debidos a esteatohepatitis alcohólica no reconocida <sup>2</sup>.

En nuestra población, se cuentan con varias cifras. Reyes y cols. reportaron una serie de 97 pacientes voluntarios, 70 de ellos fueron no diabéticos y 27 de ellos diabéticos. Solo en 15 casos se indicó biopsia confirmando esteatohepatitis en 10 (10.3%). La prevalencia en diabéticos fue del 18.5% y en no diabéticos de 7.1% <sup>5</sup>.

De la Mora y cols, describieron en un estudio retrospectivo una revisión de 2963 biopsias en un periodo de 10 años en el INNSZ, al buscar variables clínicas, bioquímicas y de imagen, sólo 16 pacientes presentaron esteatohepatitis no alcohólica, quienes fueron predominantemente mujeres (7/1) con edad promedio de 30 años y sólo 11 de ellos eran obesos. No encontraron correlación bioquímico / histológica <sup>6</sup>.

En un estudio realizado por Espiricueta y cols, se encontró que un 84% (22 de 26) de pacientes con esteatohepatitis tenían diabetes y todos tenían un índice de masa corporal elevado <sup>7</sup>.

En relación al género, se ha estimado en varias series de pacientes que la enfermedad es más avanzada en las mujeres, sugiriendo un curso más agresivo <sup>2</sup>.

La sobrevida en los pacientes con esteatohepatitis no alcohólica a 5 y 10 años ha sido estimada del 67% y del 59% respectivamente, frecuentemente asociada a condiciones comórbidas<sup>8</sup>. Se reconoce actualmente que el hígado graso no alcohólico es la manifestación hepática del síndrome metabólico <sup>9,10</sup>.

El hecho de que aproximadamente 47 millones de individuos en Estados Unidos tengan síndrome metabólico, el hígado graso no alcohólico representa un gran problema de salud.

La historia de diabetes, obesidad o dislipidemia es común. La presencia simultánea de estas incrementa significativamente el riesgo de manifestar etapas más avanzadas de la enfermedad <sup>11</sup>

Se ha descrito un incremento en el número de pacientes con índice de masa corporal normal, aunque estos individuos pueden presentar obesidad central y resistencia oculta a la insulina.

Habitualmente se sospecha esta enfermedad por la presencia de transaminasemia detectada durante la evaluación bioquímica rutinaria o durante el tratamiento de la dislipidemia. A pesar del espectro clínico de la esteatohepatitis no alcohólica, la biopsia hepática representa el único medio de evaluación de la presencia y extensión de cambios necroinflamatorios específicos y fibrosis.

Existen diez variables histológicas comúnmente descritas, sin embargo, Brunt y cols. clasificaron a la esteatohepatitis en leve, moderada y severa en base al grado de esteatosis, balonización de los hepatocitos en la zona 3 e inflamación portal e intraacinar, además se encontró asociación entre los niveles más altos de aspartato-aminotransferasa con grados severos de esteatohepatitis<sup>12</sup>.

El desarrollo de esteatosis, esteatohepatitis, fibrosis hepática progresiva y cirrosis son comúnmente el resultado de varias anomalías metabólicas que tienen lugar en un ambiente genético alterado.

La resistencia a la insulina es común en pacientes con esteatohepatitis no alcohólica <sup>9,13</sup>. La insulina modula señales intracelulares al activar al menos 9 vías post-receptoras a través del receptor de la insulina ocupado

por la actividad de la tirosin cinasa. Estos defectos parecen tener mayor preponderancia en los estados de resistencia a la insulina<sup>14</sup>. Paradójicamente, aunque algunas señales están alteradas, otras pueden estar sobre activadas como resultado de un estado hiperinsulinémico. El principal mecanismo de la resistencia a la insulina es la retroalimentación negativa del sustrato tipo 1 del receptor de la insulina (SRI/1) debido al exceso de ácidos grasos libres <sup>14</sup>.

La sensibilidad a la insulina también esta regulada por mediadores peptídicos. En el tejido adiposo, especialmente la grasa mesentérica, la cual el flujo venoso se dirige directamente al hígado, es una rica fuente de citocinas y péptidos hormonales que regulan la actividad de la cascada metabólica. Ejemplos de ello incluyen al factor de necrosis tumoral alfa, angiotensinógeno, inhibidor del factor activador del plasminógeno tipo 1, leptinas y componentes del complemento.

Con frecuencia, el estrés oxidativo representa el mecanismo central en el daño hepatocelular en pacientes con esteatohepatitis no alcohólica, estos incluyen a los sistemas del citocromo p450, beta oxidación peroxisomal y reclutación de células inflamatorias <sup>8,13</sup>.

Este fenómeno representa un defecto intra hepático a nivel mitocondrial, que podría hacer más susceptibles a los hepatocitos al daño mediado por radicales libres, que por microscopia electrónica demuestran defectos estructurales <sup>15</sup>.

#### ANTECEDENTES.

La Esteatohepatitis no alcohólica requiere la exclusión, entre otras, de la enfermedad por abuso de alcohol, considerando que el consumo diario de menos de 20 gr. en las mujeres y 30 gr. en los hombres pueden ser suficientes para causar hígado graso no alcohólico en algunos pacientes (350 ml de cerveza, 120 ml de vino, 45 ml de licor contienen 10 gr. de alcohol) <sup>16</sup>.

Otras causas, tales como virus, enfermedades autoinmunes, factores hereditarios o metabólicos, antecedente de ingesta de drogas o exposición a toxinas, deben descartarse.

Aunque esta enfermedad puede ocurrir en niños, típicamente es diagnosticada entre la cuarta y quinta décadas de la vida. La mayoría cursan asintomáticos, aunque algunos manifiestan fatiga, letargo, dolor en

hipocondrio derecho en cerca del 30% de los casos al momento del diagnóstico <sup>14</sup>.

El diagnóstico de la enfermedad por hígado graso no alcohólico usualmente se sospecha en sujetos con elevación asintomática de las aminotransferasas, hallazgos ultrasonográficos que sugieren esteatosis o bien por la presencia de hepatomegalia inexplicable.

Las pruebas de funcionamiento hepático tienen un valor predictivo escaso con respecto al diagnóstico histológico <sup>17</sup>.

La hepatomegalia se encuentra en más del 25% de los pacientes aunque este es subestimado dependiendo de la complejión corporal.

Para el diagnóstico de la resistencia a la insulina se han empleado varias pruebas, uno de ellos el HOMA (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) resulta de un modelo matemático basado en el producto de la insulina de ayuno y los niveles de glucosa que proveen medidas similares de la sensibilidad a la insulina <sup>13</sup>.

Este se calcula multiplicando la insulina de ayuno en mU/ml por la glucosa en micromolas, entre 22.5. Aunque no representa el estándar de oro para

el diagnóstico de resistencia a la insulina, es técnicamente sencillo de realizar y aceptado en consenso de literatura internacional <sup>18</sup>.

También se ha descrito una relación de aspartato/aminotransferasa mayor a 1. En base a lo anterior, se han descrito varios predictores clínicos de la severidad de la enfermedad antes de realizar un diagnóstico histológico, siendo estos, edad entre los 40 y 50 años, grado de severidad de la obesidad, diabetes o hiperlipidemia, particularmente la hipertrigliceridemia <sup>16</sup>.

Al respecto se cuentan con algunos reportes de la literatura mundial. Dixon y cols <sup>19</sup>, encontraron en un estudio prospectivo que incluyó a 105 sujetos con obesidad severa sometidos a colocación de banda gástrica y realización de biopsia hepática, que el 26% de ellos presentaban esteatohepatitis no alcohólica y 12% presentaba fibrosis lo cual confirmó su significancia al correlacionarlo con la distribución central de grasa y algunos datos clínicos del síndrome metabólico como predictores importantes de fibrosis.

Demostraron además que el índice de resistencia a la insulina es el mejor predictor de esteatosis en la zona 3, inflamación y fibrosis. También se

encontró a la hipertensión como factor predictor independiente de EHNA, particularmente de fibrosis de la zona 3.

El grado de significancia que ha adquirido la resistencia a la insulina ha llevado a determinar su presencia en pacientes infectados por el virus de la hepatitis C. Hui y cols<sup>21</sup>, realizaron un estudio de casos y controles demostrando que en sujetos sin historia de diabetes mellitus, la presencia de resistencia a la insulina se encuentra en los pacientes con Hepatitis C comparado con sujetos sanos. Más aún, estos están asociados con un alta progresión de fibrosis.

Estos hallazgos finalmente han planteado la posibilidad de establecer un tratamiento con fármacos que mejoren la sensibilidad a la insulina, entre ellos las tiazolidinedionas como la pioglitazona.

Promrat y cols<sup>21</sup>, llevaron a cabo un estudio piloto que incluyó a 18 pacientes con EHNA, a quienes se les dió tratamiento con pioglitazona por 48 semanas a una dosis de 30 mg diarios, obteniendo normalización en la cifra de transaminasas en el 72% de los casos así como mejoría desde punto de vista histológico. Sin embargo, la mayor limitación en este estudio es la falta de un grupo control y del seguimiento, no obstante, al



disminuir la lipólisis y con ello, la liberación de ácidos grasos libres, se redistribuye la grasa hepática hacia la periferia, reduciendo así el daño hepatocelular secundario, por lo que no se descarta que, a futuro sea el tratamiento de elección en esta enfermedad.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente se reconoce que la Esteatohepatitis no alcohólica representa una enfermedad crónica que ha cobrado importancia por su creciente prevalencia a nivel mundial. Varios estudios sugieren que en algunos pacientes la evolución de la enfermedad puede seguir desde un curso indolente hasta la enfermedad avanzada. La presencia de cirrosis se ha documentado en 7 a 26% de los casos en el momento del diagnóstico y se piensa que la cirrosis criptogénica es la expresión final de la esteatohepatitis no alcohólica<sup>1</sup>. Aunque existen datos que demuestran que ciertos desórdenes bioquímicos y metabólicos se asocian con una enfermedad potencialmente progresiva, aún no es clara su asociación con

la presencia de resistencia a la insulina entre pacientes asintomáticos, de ahí que cobra gran importancia el practicar procedimientos diagnósticos invasivos y no invasivos en todo paciente con factores de riesgo de adquirir esta enfermedad, para ofrecer oportunamente un tratamiento que evite la progresión hacia la fibrosis y finalmente la cirrosis.

#### **OBJETIVOS.**

1. Determinar que la resistencia a la insulina está presente en todos los pacientes con esteatohepatitis no alcohólica comparado con sujetos sanos.
2. Determinar que no existe correlación clínica ni bioquímica con el grado de afección histológica.
3. Determinar si en nuestra serie de casos, los factores predictores de fibrosis son los mismos que los reportados en la literatura.

## JUSTIFICACION

Con este estudio se pretenden obtener resultados no publicados en la literatura nacional. Consideramos que todos los pacientes con esteatohepatitis no alcohólica presentan resistencia a la insulina. Pretendemos realizar una mejor evaluación de los enfermos al confirmar esta alteración bioquímica ya que ello permitirá ofrecer nuevos tratamientos a este grupo particular de pacientes para evitar la progresión de la enfermedad.

## HIPOTESIS

Ho. Todos los pacientes con esteatohepatitis no alcohólica cursan con resistencia a la insulina.

H1. No existe diferencia histológica entre los pacientes con esteatohepatitis no alcohólica que cursan con elevación de alaninaminotransferasa (ALT) y entre aquellos sin elevación de la misma, por lo que los niveles de transaminasas no representan un parámetro bioquímico que refleje el grado de afección ni progresión histológica de la enfermedad.

por lo que los niveles de transaminasas no representan un parámetro bioquímico que refleje el grado de afección ni progresión histológica de la enfermedad.

## MATERIAL Y METODOS

Estudio de casos y controles, en el que se incluyeron a 15 pacientes con el diagnóstico de esteatohepatitis no alcohólica del período de 1998 al 2003, que fueron estudiados por transaminasemia ( dos veces lo normal o más) y/o hepatomegalia sin causa aparente y que fueron sometidos a la realización de biopsia hepática dirigida por ultrasonido o por tomografía axial computadorizada programada en el servicio de Gastroenterología del Centro Medico Nacional "20 de Noviembre" del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE).

A todos ellos se les realizó previamente historia clínica y exploración física confirmando el diagnóstico de esteatohepatitis no alcohólica por biopsia hepática, según la clasificación de Brunt (*tabla 1*). Posteriormente se les realizó valoración del estado nutricional en función del índice de masa corporal expresado en  $\text{kg}/\text{m}^2$  el cual se interpretó de la siguiente manera:

normal; de 20 a 24 kg/m<sup>2</sup>, sobrepeso; 25 a 30 kg/m<sup>2</sup>, y obesidad; > 30 kg/m<sup>2</sup>.

Así mismo, se determinó el diámetro de cadera expresado en centímetros, considerado como anormal en hombres cuando fue > 102 cm y en mujeres cuando fue > 88 cm.

Se les tomó una determinación de glucosa, insulina, péptido C, colesterol, triglicéridos, colesterol de alta densidad (HDL), y se utilizó la cifra reportada al momento del diagnóstico clínico de Alanin-aminotransferasa (ALT), Aspartato-aminotransferasa (AST), Fosfatasa Alcalina (FA) y Deshidrogenasa láctica (DHL) .

La resistencia a la insulina fue calculada por el método de HOMA (Homeostasis Model Assessment), mediante la siguiente fórmula:  $(\text{glu (mmol/l)})(\text{insulina (mUI/L)}) / 22.5$ , considerándolo como anormal cuando fue mayor a 2.5.

Finalmente, se realizaron las mismas pruebas de laboratorio a sujetos sanos, los cuales fueron pareados por edad y sexo y que representaron al grupo control, incluyendo un ultrasonido hepático que descartara la presencia de esteatosis y/o hepatomegalia.

**Tabla 1. Sistema de puntaje Histológico en la Esteatohepatitis no Alcohólica\*.**

Característica	puntaje	Descripción
I. Esteatosis	0	Menos del 5% de células
	1	Entre el 5 a 25% de células
	2	Entre el 25 a 50% de células
	3	Entre el 50 a 75% de células
	4	Más del 75% de células
II. Daño Hepatoceular (balonización/apoptosis)	0	Sin daño
	1	Confinado a zona 3, menos del 50% de involucro a vena central
	2	Confinado a zona 3, más del 50% involucro a vena central
	3	Involucro a zona 2 y 3 (1/3 a 2/3 del parénquima)
	4	Involucro panacinar (más de 2/3 parénquima)
III. Inflamación del parénquima	0	Sin inflamación
	1	Menos de un foco por cada dos campos 20x
	2	Un foco por cada dos campos 20x a un foco por cada campo 20x
	3	Uno a dos focos por campo 20x
	4	Más de dos focos por campo 20x
IV. Inflamación portal	0	Sin inflamación
	1	<25% de campo portal
	2	25-50% campo portal
	3	50-75% campo portal
	4	>75% campo portal
V. Fibrosis	0	Sin fibrosis
	1	Fibrosis perisinusoidal/pericelular
	2	Periportal
	3	Fibrosis en puente
	4	Distorsión difusa y regenerativa
VI. Cuerpos de Mallory	0	Sin cuerpos de Mallory
	1	Menos de 2 en 10 campos 20x
	2	De 2 en 10 campos 20x o 1 por campo 20x
	3	1 a 3 por campo 20x
	4	Más de 3 por campo 20x

- Según Brunt y cols.

## Grupo testigo.

Se incluyeron a 15 sujetos sanos como grupo control, pareados por edad y sexo según el grupo de pacientes en cuestión. Ninguno de ellos tenía antecedente de ingesta de alcohol mayor a 20 gr. / día, ni obesidad, hipertensión ni diabetes mellitus. También se descartó en ellos, la presencia de enfermedades tiroideas, autoinmunes, por depósitos de hierro, mediante la determinación de perfil tiroideo, anticuerpos antinucleares, perfil de inmunoglobulinas y cinética de hierro.

## CRITERIOS DE INCLUSION.

- ⇒ Pacientes con historia de transaminasemia sin causa aparente mayor a dos veces la cifra normal. (*Apéndice A*)
- ⇒ Presencia de hepatomegalia y/o esteatosis documentada por ultrasonido
- ⇒ Diagnóstico de esteatohepatitis no alcohólica por biopsia hepática
- ⇒ Pacientes no diabéticos y diabéticos sin evidencia de enfermedad autoinmune.

#### CRITERIOS DE EXCLUSION.

- ⇒ Mujeres con ingesta de alcohol mayor a 20 gr./día
- ⇒ Hombres con ingesta de alcohol mayor a 30 gr./día
- ⇒ Biopsias con otras causas conocidas de enfermedad hepática
- ⇒ Infección por virus de hepatitis B y/o C
- ⇒ Enfermedad hepática de origen granulomatoso
- ⇒ Hemocromatosis hereditaria y/o secundaria
- ⇒ Uso conocido de metotrexate, tamoxifén y/o corticosteroides
- ⇒ Perfil tiroideo anormal.
- ⇒ Presencia de otras enfermedades autoinmunes.

#### CRITERIOS DE ELIMINACION.

- ⇒ Aquellos pacientes en quienes no se obtuvo el resultado de laboratorio solicitado.
- ⇒ Pacientes en quienes no fue posible su localización para la toma de muestras.



⇒ Finalmente pacientes que, aunque tuvieran un diagnóstico clínico y bioquímico presuntivo, no cuenten con el diagnóstico histológico confirmatorio por no contar con muestra suficiente.

**Tabla 2. Cédula de recolección de datos.**

Nombre:			Edad:	Sexo:	Registro:
Peso:	Talla:	IMC:	Cadera:	Síntomas:	
Hipertensión: si ( ) no ( )			Diabetes: si ( ) no ( )		
Dislipidemia: si ( ) no ( )			Hepatomegalia: si ( ) no ( )		
AST:			COLESTEROL TOTAL:		
ALT:			COLESTEROL HDL:		
RELACION AST/ALT:			TRIGLICERIDOS:		
FA:			INSULINA:		
DHL:			PEPTIDO C:		
GLUCOSA:			REL.PEPTIDO C	HOMA:	
			/INSULINA:		

**Pacientes.** Se incluyeron a 15 pacientes que fueron vistos en el servicio de consulta externa de Gastroenterología del CMN "20 de Noviembre" ISSSTE, por transaminasemia sin causa aparente, del período de 1998 al 2003 y que, tras descartar otras causas de hepatopatía, fueron sometidos a la realización de biopsia hepática dirigida por ultrasonido o tomografía axial computadorizada, confirmando el diagnóstico de esteatohepatitis no alcohólica. Posteriormente, se les realizó una evaluación clínica que incluyó medidas antropométricas y pruebas de laboratorio.

Las medidas antropométricas incluyeron; peso (expresado en kilogramos), talla (expresada en metros), Índice de Masa Corporal (IMC) expresado en  $\text{kg}/\text{m}^2$  y que fue calculado por el índice Quetlet<sup>21</sup>, de tal manera que el sobrepeso fue definido por un IMC de 25 a 29  $\text{kg}/\text{m}^2$  y la obesidad por un  $\text{IMC} \geq 30 \text{ Kg. } /\text{m}^2$  y finalmente el diámetro de cadera, expresada en centímetros siendo anormal cuando en el hombre fue  $\geq 102 \text{ cm}$  y en la mujer  $\geq 88 \text{ cm}$ .

**Valoración Histológica.** Las muestras obtenidas por biopsia hepática fueron revisadas por un patólogo experto en hígado. El grado histológico (un puntaje derivado del grado de esteatosis, balonización de los hepatocitos, inflamación del parénquima, inflamación portal, fibrosis y presencia de cuerpos de Mallory) fueron determinadas utilizando la clasificación de Brunt y cols<sup>12</sup>.

Para cada variable histológica se le dio un puntaje del 0 al 4. cada muestra obtenida fue examinada utilizando tinciones para hematoxilina-eosina (H&E), tricrómico de Masson, Acido Periódico de Schiff (PAS) y tinción azul Prusiano de Perl.

**Estudios de laboratorio.** Después de un período de ayuno de 10 horas (nocturno), se realizaron tomas de sangre venosa para determinar los niveles de los siguientes estudios:

Glucosa, colesterol total, colesterol de alta densidad (HDL), triglicéridos, insulina y péptido C. Todos los estudios fueron llevados a cabo antes de las 9.00 AM. Los niveles de Insulina y Péptido C fueron determinados por la técnica de Quimioluminiscencia (Equipo Immulite, MIYMSA, Medidores Industriales y Medios S.A. de C.V ), mientras que las cifras de glucosa,

colesterol y triglicéridos, así como las enzimas hepáticas fueron determinadas por la técnica de Turbidimetría ( Equipo Synchron CX-7, Laboratorios Beckman). *Ver Apéndice A*

La clasificación de Diabetes Mellitus e intolerancia a la glucosa fueron realizados basados en las guías de la Asociación Americana de Diabetes<sup>9</sup>.

El diagnóstico de síndrome metabólico y/o síndrome de resistencia a la insulina fue realizado según los criterios del panel de tratamiento de Adultos III (ATP III). *Ver Apéndice B.*

**Resistencia a la insulina.** La resistencia a la insulina fue calculada por el método HOMA (homeostasis model Assessment) por medio de la ecuación que a continuación se describe:

$$(\text{Insulina sérica en ayuno})(\text{Glucosa sérica en ayuno})/22.5$$

donde la insulina es expresada en mUI/L y la glucosa en mmol/L. La resistencia a la insulina determinada por éste método correlaciona estrechamente con otras técnicas más complejas, tales como el método de pinza euglicémica<sup>18</sup>.

Finalmente, para tomar en cuenta el efecto de la fibrosis hepática avanzada sobre los altos niveles de insulina que forman parte de una depuración alterada, se determinó la secreción de insulina utilizando la relación Péptido C/insulina.

El péptido C y la insulina son secretadas en cantidades equimolares, y el Péptido C no es depurado en forma significativa por el hígado, así que esta relación muestra la hiperinsulinemia debida a degradación alterada (relación baja) y distinguirla de la hipersecreción (relación normal).

**Grupo control:** voluntarios sanos. 15 sujetos aparentemente sanos con pruebas de función hepática normales y sin historia de diabetes mellitus fueron incluidos. Fueron pareados por edad y sexo.

Se les realizaron las mismas determinaciones antropométricas y de laboratorio para determinar la resistencia a la insulina, así como la realización de ultrasonido hepático (equipo HDI, ATL, Ultramark 9, Laboratorios Ultrasound System) para descartar la presencia de hepatomegalia y/o esteatosis y los resultados fueron comparados entre los dos grupos.

## ANALISIS ESTADISTICO.

Las variables continuas fueron resumidas en promedio y desviación estándar y las variables categóricas en frecuencia y porcentajes. El coeficiente de correlación de Pearson fue utilizado para determinar la asociación entre variables continuas y ordinales.

El método de Chi cuadrada (prueba exacta de Fisher) fue utilizada para evaluar la significancia en las diferencias entre proporciones y variables categóricas. Para variables ordinales se utilizó el modelo de regresión logística y el análisis de regresión lineal. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas cuando el valor  $p < 0.05$

Fueron utilizados para éste análisis los programas Epi Info 6.02, Statistica versión 5 y minitab versión 13.1

## RECURSOS

### *Humanos.*

- Médico patólogo experto en la interpretación de biopsias hepáticas.
- Médico radiólogo en la realización e interpretación de ultrasonido hepático
- Servicio de laboratorio clínico para la toma y realización de estudios.

- Médico Residente de tercer año en Gastroenterología.

Experto en estadística para el análisis e interpretación del estudio.

### *Físicos*

#### Instalaciones hospitalarias

- Determinación de insulina y péptido C por Técnica de Quimioluminiscencia, Equipo Immulite, MIYMSA, Medidores Industriales y Medios S.A. de C.V
- Determinación de estudios bioquímicos por técnica de Turbidimetría, Equipo Synchron CX7, Laboratorios Beckman
- Determinación de Estudios Inmunológicos por técnica de Inmunofluorescencia bajo microscopio de fluorescencia
- Determinación de Inmunoglobulinas y transferrina por técnica de Nefelometría, Equipo BN2, Laboratorios Behring
- Realización de Ultrasonido Hepático con equipo HDI, ATL, Ultramark Laboratorios Ultrasound System.

## RESULTADOS

### Características de los pacientes y Hallazgos histológicos.

Las características demográficas de los 15 pacientes se encuentran listadas en la tabla 3.

La edad promedio fue de  $42.9 \pm 11.6$  años (rango, 23–64 años); 10 (67%) fueron mujeres y el promedio del IMC fue de  $28.26 \pm 3.59$  kg/m<sup>2</sup>. (rango 25.1–35.6 kg/m<sup>2</sup>). De ellos, 4 (24%) fueron obesos. La distribución central de grasa (circunferencia de cadera  $\geq 102$  cm en hombres  $\geq 88$  cm en mujeres) se encontró en 2(40%) y 9(90%) respectivamente.

2(13%) fueron pacientes hipertensos, 1(7%) con diabetes y 1(7%) con intolerancia a la glucosa.

Siguiendo los criterios ATP III, 4(27%) cumplieron al menos 3 criterios para integrar síndrome metabólico.

Tanto los niveles de aspartato aminotransferasa (AST) como los de alanin aminotransferasa (ALT) se encontraron elevados ( $>40$  mg/dl) en 13 pacientes.



**Tabla 3. Características Demográficas de 15 pacientes con EHNA.**

n	15
SEXO	
mujeres	10 (67)
hombres	5(33)
IMC (kg/m2)	
sobrepeso (25-29 kg/m2)	11 (73)
obesos ( $\geq 30$ kg/m2)	4 (24)
hipertensión arterial ( $\geq 140/90$ mmHg o en tratamiento)	2 (13)
Glucosa en ayuno ( $> 110$ mg/dl)	2 (13)
Diabetes	1 (7)
HDL	
mujeres ( $<50$ mg/dl)	9 (90)
hombres ( $>40$ mg/dl))	5 (100)
diametro de cadera	
hombres ( $>102$ cm)	2 (40)
mujeres ( $>88$ cm)	9 (90)
Síndrome metabólico	4 27)

### Histopatología.

En las muestras obtenidas por biopsia hepática se encontraron varios grados de infiltración grasa y necroinflamación compatibles con esteatohepatitis no alcohólica en todos los pacientes. *Tabla 4*

**TABLA 4. Hallazgos histológicos en pacientes con EHNA.**

esteatosis	%
0	0
1	7(46)
2	3(20)
3	3(20)
4	2(14)
<b>infiltrado portal</b>	
0	3(20)
1	4(27)
2	2(13)
3	2(13)
4	4(27)
<b>fibrosis</b>	
0	9(60)
1	2(13)
2	0
3	3(20)
4	1(7)
<b>daño hepatocelular</b>	
0	4(27)
1	4(27)
2	4(27)
3	2(13)
4	1(6)
<b>inflamación del parénquima</b>	
0	5(33)
1	3(20)
2	6(40)
3	0
4	1(7)
<b>cuerpos de mallory</b>	
0	8(53)
1	2(13)
2	2(13)
3	1(8)
4	2(13)

La esteatosis grado 1 se encontró en 7 pacientes (46%), grado 2 en 3 pacientes (20%), grado 3 en 3 pacientes (20%) y grado 4 en 2 pacientes (14%). La esteatosis grado 1 se define como aquella que abarca entre el 5 al 25% de las células del parénquima. *Figura 1 A.*

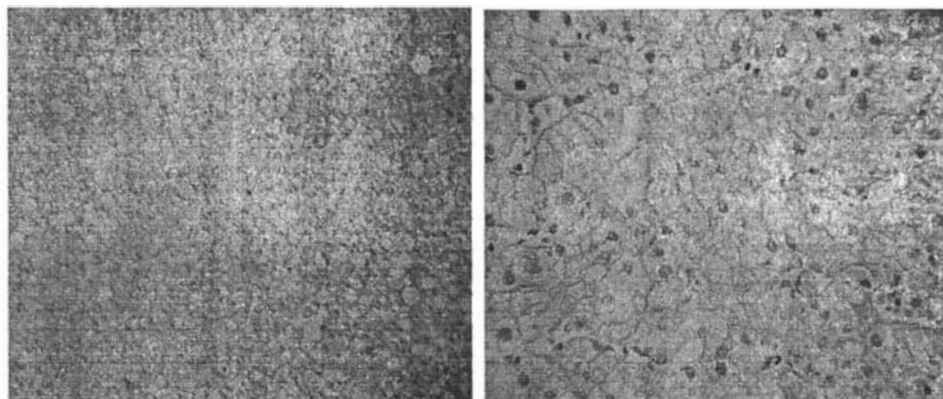
El daño hepatocelular se encontró en 11 pacientes (73%). De ellos, 4 pacientes (36%) presentaron daño grado 1 y 4 (36%) grado 2. Este hallazgo se fundamenta por la presencia de apoptosis celular y degeneración hidrópica de los hepatocitos. *Figura 1B.*

La inflamación del parénquima se observó en 11 pacientes, siendo más frecuente el grado 2, que se observó en 6 pacientes (54%). *Figura 2 A.*

La inflamación portal se observó en 12 pacientes, de los cuales 4 (33%) fue grado 1 y 4(33%) grado 4. *Figura 2B.*

Los cuerpos de Mallory se encontraron solo en 7 pacientes, de los cuales solo 2 (28%) fueron grado 4. *Figura 3 A, 3B.*

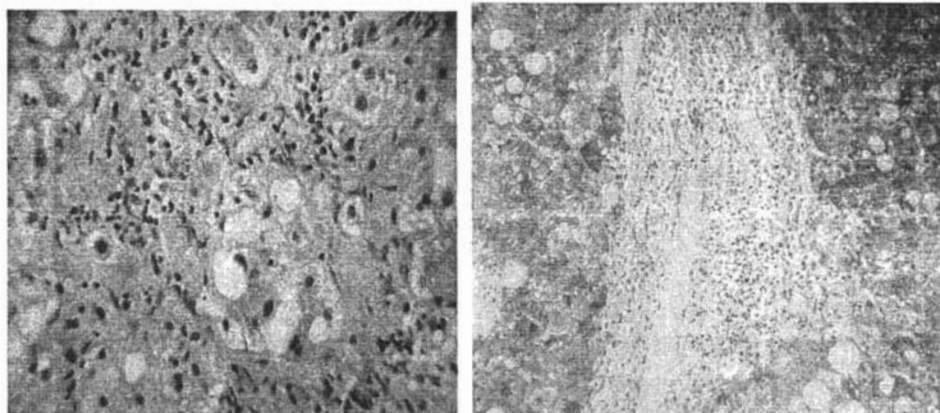
Finalmente, la fibrosis se encontró en 6 pacientes, de los cuales 2(34%) fue grado 1, 3 pacientes (50%) grado 3 y 1 paciente (16%) grado 4. *figura 4*



A

B

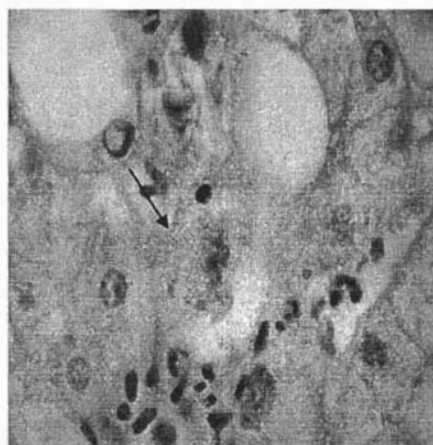
**Figura 1.** Hallazgos en una muestra obtenida por biopsia hepática. El panel A muestra esteatosis micro y macro vesicular. El panel B representa el daño hepatocelular grado 2 .Nótese la presencia de balonización de los hepatocitos confinada a la zona 3, en más del 50% e involucro a la vena central. (tricrómico de Masson).



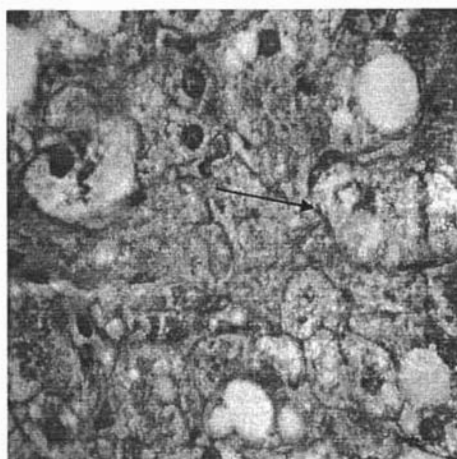
A

B

**Figura 2.** Cambios inflamatorios en Esteatohepatitis no alcohólica. Panel A. Nótese la presencia de linfocitos y mononucleares en más de un foco por cada campo con objetivo 20 x..Panel B. Inflamación portal moderada que afecta típicamente a tríada portal.(tricrómico de Masson)

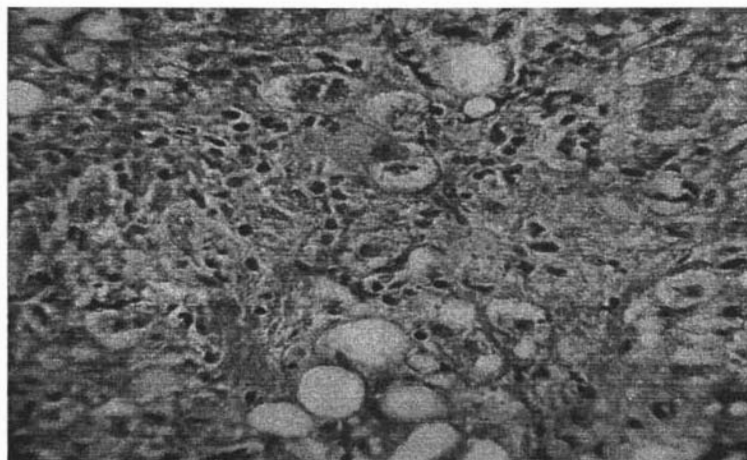


A



B

**Figura 3. Cuerpos de Mallory. Se encuentran en cerca de la mitad de los pacientes afectados por esteatohepatitis no alcohólica y usualmente se localizan hacia la zona 3. Estos son marcadores de daño hepatocelular . (ver flechas)**



**Figura 4. La característica inicial del patrón de fibrosis en EHNA es el depósito de colágeno perivenular, pericelular y perisinusoidal en la zona 3, identificado por la tinción azul.**

## **Tolerancia a la Glucosa, Resistencia a la Insulina y síndrome de resistencia a la insulina.**

### **Tolerancia a la glucosa.**

Las alteraciones de la tolerancia a la glucosa fueron observadas en 2 pacientes (13%) 1 de ellos con diabetes mellitus tipo 2 que estaba en tratamiento con glibenclamida y 1 con intolerancia a la glucosa ( glucosa sérica a los 120 minutos  $\geq$  140 mg/dL pero  $<$  200 mg/dL)

### **Resistencia a la insulina.**

De los 15 pacientes estudiados, 11 (73%) presentaron resistencia a la insulina medida por HOMA La hiperinsulinemia solo se encontró en 1 paciente (7%) y los niveles de Péptido C estuvieron incrementados en 2 pacientes (13%) .

### **Síndrome de resistencia a la Insulina**

De los 15 pacientes estudiados, 4 (27%) cumplieron los criterios mínimos para síndrome de resistencia a la insulina .De los 11 pacientes que no, 7 presentaban resistencia a la insulina y distribución central de grasa, difiriendo de los otros en los niveles de triglicéridos, ausencia de hipertensión arterial y bajos niveles de colesterol HDL.

## Estudio de casos y controles

Para evaluar la influencia de la resistencia a la insulina sobre la esteatohepatitis no alcohólica, el grupo de pacientes fue comparado con el grupo control, el cual fue pareado por edad y sexo (*tabla 5*)

Se encontró que la resistencia a la insulina medida por el método HOMA tuvo una diferencia estadísticamente significativa en el grupo de pacientes comparados con el control. ( $4.25 \pm 2.22$  vs.  $1.67 \pm 0.83$  respectivamente,  $p= 0.002$ ).

También existieron diferencias significativas en la cifra de ALT; ( $151.70 \pm 98.73$  vs  $21.13 \pm 3.35$  respectivamente,  $p= 0.0004$ ), en la cifra de AST; ( $126.72 \pm 81.79$  vs  $20.66 \pm 11.45$  respectivamente,  $p= 0.00008$ ), en la cifra de insulina; ( $16.77 \pm 7.84$  vs  $7.84 \pm 10.29$  respectivamente  $p= 0.0002$ ) y en la cifra de péptido C; ( $1152.86 \pm 375.25$  vs  $622.06 \pm 227.10$  respectivamente,  $p= 0.0001$ ).

En nuestro grupo no hubo diferencias significativas en la cifra de colesterol total, triglicéridos ni en las relaciones AST/ALT ni Péptido C / insulina.

El IMC fue otra variable con diferencia significativa, al encontrar el valor  $p = 0.0001$ .

**TABLA 5. Comparación entre sujetos con EHNA y sujetos sanos.**

	EHNA	SIN EHNA	VALOR P
N	15	15	
edad	42.93+11.69		
IMC	28.26+3.59	23.68+1.95	0.0001
ALT	151.70+98.73	21.13+3.35	0.0004
AST	126.72+81.79	20.66+11.45	0.00008
REL AST_ALT	0.98+0.47	0.95+0.40	NS
FA	104.61+56.46	66.20+19.69	0.014
DHL	288.73+245.67	143.40+30.84	0.0009
TGC (mmol/L)	2.16+1.65	1.36+0.60	NS
COL (mmol/L)	4.98+1.23	4.87+1.35	NS
GLU (mmol/L)	5.60+1.13	4.75+0.68	0.017
INSULINA	16.77+7.84	7.84+3.20	0.0002
PEPTIDO C	1152.86+375.25	622.06+227.10	0.0001
HOMA	4.25+2.22	1.67+0.83	0.0002
REL PEPTIDOC_INS	86.94+75.27	95.95+74.57	NS

En base a lo anterior, en el grupo de pacientes afectados determinamos la correlación que existe entre el grado de afección histológica con las cifras de ALT, AST, IMC y la resistencia a la insulina. Así, se obtuvo un coeficiente de correlación de pearson de 0.6021 entre la inflamación del parénquima y la resistencia a la insulina y un coeficiente de 0.7012 para la fibrosis con valores p de 0.018 y 0.004 respectivamente. *Tabla 6*



Tabla 6. Coeficientes de correlación y grado de significancia para los grados de afección histológica.

	ESTEATOSIS	DAÑO HEPATOCELULAR	INFL. PARENQUIMA	INFL. PORTAL	CUERPOS DE MALLORY	FIBROSIS
IMC	0.326 p=.236	-0.4429 p=.098	0.1099 p=.697	-0.1747 p=.533	-0.2882 p=.298	-0.0448 p=.874
ALT	0.0501 p=.859	0.2915 p=.292	0.0962 p=.733	0.1235 p=.661	0.2355 p=.398	0.0551 p=.845
AST	-0.1215 p=.666	0.5046 p=.055	0.3194 p=.246	0.4121 p=.127	0.2957 p=.285	0.4529 p=.090
HOMA	0.178 p=.526	0.1806 p=.520	0.6021 p=.018	0.4431 p=.098	0.4372 p=.103	0.7012 p=.004

Estos hallazgos además fueron relativamente proporcionales, ya que se observó que a mayor cifra obtenida por HOMA, el grado de inflamación parenquimatosa fue mayor. *Figuras 5 y 6*

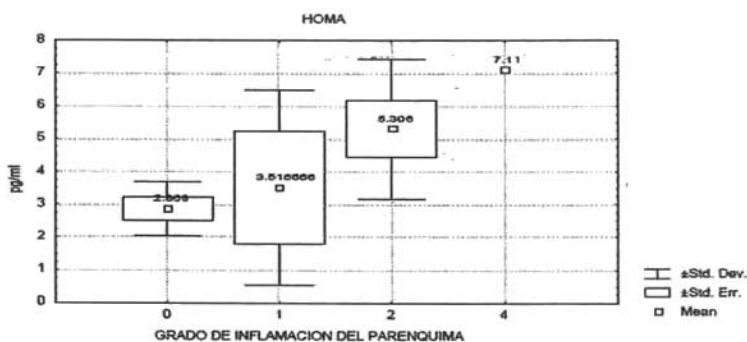
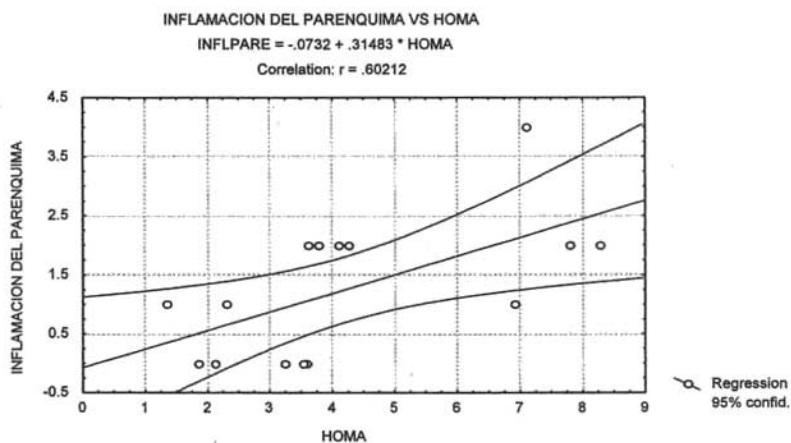
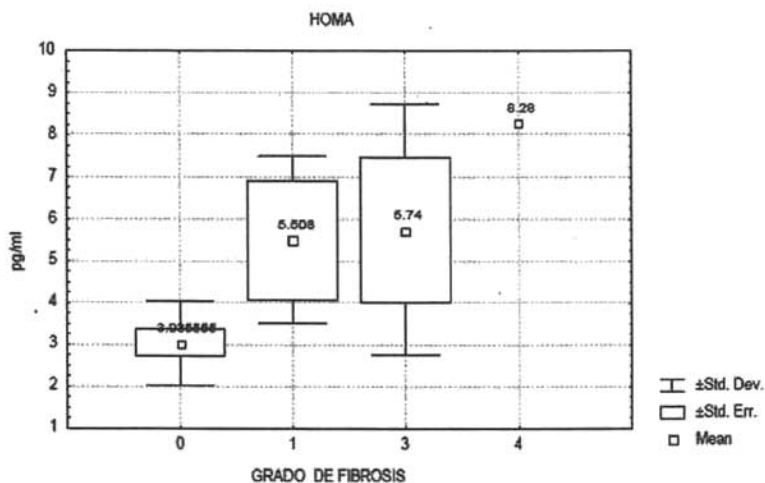


figura 5. Gráfica de caja y bigote que demuestra la correlación entre el grado de afección parenquimatosa e índice HOMA.



**Figura 6.** Diagrama de dispersión lineal que demuestra la asociación de HOMA con la presencia de inflamación del parénquima.

Así mismo, existió una distribución similar en relación a la presencia de resistencia a la insulina medida por HOMA y fibrosis. *Figuras 7 y 8.*



**Figura 7.** Grafica de caja y bigote que muestra la correlación entre el grado de fibrosis y HOMA

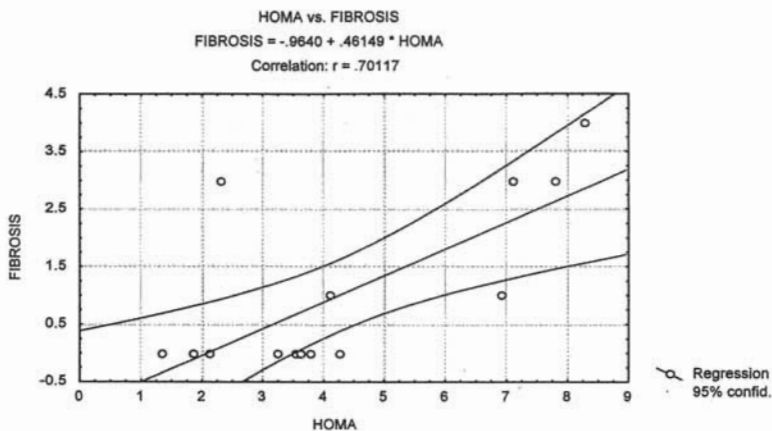


Figura 8. Diagrama de dispersión que indica el grado de correlación entre HOMA y fibrosis.

Por el contrario, en nuestra serie de pacientes, no se obtuvo una correlación entre la severidad de la esteatohepatitis no alcohólica y las cifras de transaminasas *figura 9*.

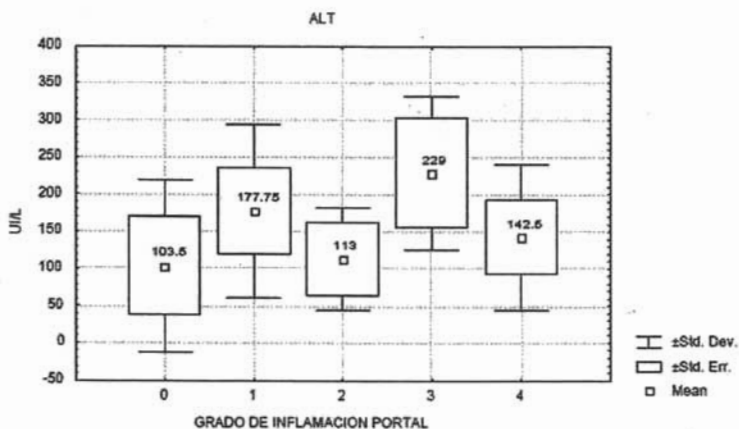
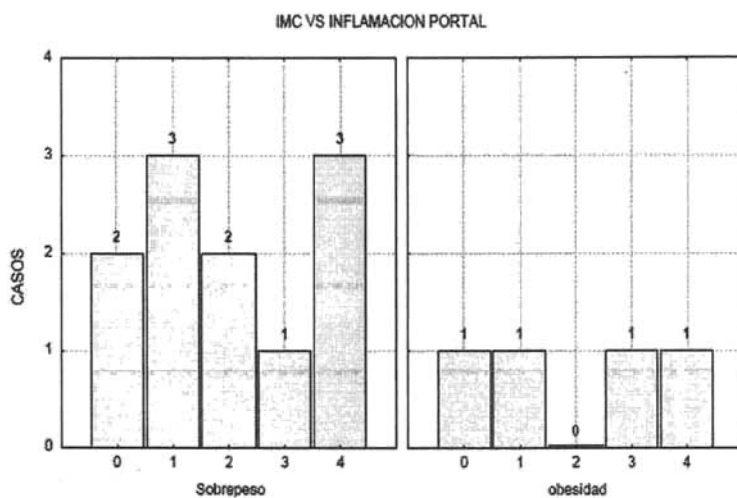


figura 9. Gráfica de caja y bigote y su correlación entre inflamación portal y niveles de Alanín-aminotransferasa .

Finalmente, no se obtuvo una correlación significativa entre los pacientes con sobrepeso y obesidad con el grado de afección histológica *figura 10*.



**figura 10. pacientes con sobrepeso y obesidad en EHNA. el grado de inflamación portal no se asoció al grado de obesidad.**

El modelo final para los predictores independientes de fibrosis por análisis de regresión lineal incluyó a la edad, el índice de masa corporal, la relación AST/ALT y a la resistencia a la insulina medida por HOMA (*tabla 7*). Estas variables fueron ajustadas como ordinales, para la variable edad se clasificaron en función de grupo etario por década (1-4), para el IMC en dos grupos (1-2) en función de la existencia de sobrepeso y obesidad,

para la relación AST/ALT en dos grupos (1-2) para aquellos menores a 1 y para aquellos mayores a 1 y finalmente para la resistencia a la insulina

medida por HOMA en dos grupos (1-2) para aquellos con HOMA menor a 2.5 y aquellos con  $HOMA \geq 2.5$

Concluyendo que, solo la resistencia a la insulina medida por HOMA fue el único predictor de fibrosis con un coef. 0.80, OR (2.23) IC 95% (0.08-61.14).

ESTA TESIS NO SALE DE LA BIBLIOTECA

Tabla 7. Tabla de Regresión Logística.

Variable	Coef	SE Coef	Z	P	Odds Ratio 95% CI		
					Lower	Upper	
Const(1)	15.351	7.540	2.04	0.042			
Const(2)	16.578	7.753	2.14	0.032			
Const(3)	18.850	8.407	2.24	0.025			
EDAD	-0.2960	0.1452	-2.04	0.042	0.74	0.56	0.99
IMC	-4.658	2.738	-1.70	0.089	0.01	0.00	2.03
AST_ALT	-0.681	1.059	-0.64	0.520	0.51	0.06	4.03
HOMA	0.802	1.690	0.47	0.635	2.23	0.08	61.14

## DISCUSION.

El presente estudio demuestra la asociación de EHNA con el síndrome metabólico. La obesidad, diabetes, hipertensión e hiperlipidemia han sido repetidamente reportados en la enfermedad por hígado graso no

alcohólico, pero su presencia simultánea incrementa el riesgo de estadios más severos de la enfermedad <sup>8</sup>.

El modelo HOMA utilizado en este estudio ha sido validado y ampliamente utilizado para determinar el grado de resistencia a la insulina en estudios epidemiológicos. El HOMA-IR representa aproximadamente el 65% de la variabilidad de la sensibilidad a la insulina evaluada por la técnica de pinza euglicémica<sup>18</sup>. Este método predice fuertemente el desarrollo de diabetes tipo 2, independiente del grado de obesidad, distribución de grasa corporal y estado de tolerancia a la glucosa.

La resistencia a la insulina y la diabetes mellitus son predictores independientes de la severidad de la fibrosis en EHNA <sup>22</sup>, El hallazgo más importante en nuestro estudio es que es que la resistencia a la insulina medida por HOMA es un predictor del grado de inflamación del parénquima, grado de fibrosis y tasa de progresión de la misma, independientemente de otros factores conocidos incluyendo a la edad, sexo, antecedentes previos de ingesta de alcohol, cuenta plaquetaria e inflamación portal<sup>23</sup>.

Existen mecanismos posibles que explican el papel de la resistencia a la insulina en la fibrogénesis hepática. La hiperinsulinemia puede estimular directamente a las células estelares para proliferar y secretar matriz extracelular<sup>24</sup>. Más aún, los altos niveles de glucosa y la hiperinsulinemia causan retroalimentación positiva sobre el factor de crecimiento conectivo<sup>25</sup>, una citocina involucrada en la patogénesis de la fibrosis en las enfermedades hepáticas<sup>26</sup>.

## CONCLUSION.

En conclusión, la resistencia a la insulina parecer ser casi invariable en pacientes con EHNA, independientemente del peso corporal.

La hiperinsulinemia en estos pacientes es una clara consecuencia de la hipersecreción de las células beta del páncreas y no el resultado de la extracción hepática disminuida.

Nuestros datos soportan la hipótesis de que la resistencia a la insulina puede incrementar la tasa de progresión de fibrosis. Ciertas estrategias deben ser implementadas para mejorar la sensibilidad a la insulina particularmente enfocadas a evitar la progresión de la enfermedad.

Independientemente de la presencia o no de obesidad y diabetes tipo 2, la curva de tolerancia oral a la glucosa, glucosa de ayuno y niveles de insulina para evaluar la presencia de resistencia a la insulina deben ser realizados en forma sistemática en todos aquellos pacientes con EHNA, al mismo tiempo evaluar la presencia o no de síndrome metabólico.



## ANEXO

### Apéndice A. Valores normales de laboratorio.

Aspartato Aminotransferasa (AST)	10-42 mg/dl
Alanin Aminotransferasa (ALT)	10-40 mg/dl
Fosfatasa Alcalina (FA)	32-92 mg/dl
Deshidrogenasa Láctica (DHL)	91-180 mg/dl
Glucosa	70-110 mg/dl
Triglicéridos	35-160 mg/dl
Colesterol total	100-200 mg/dl
Colesterol de alta densidad (HDL)	29-80 mg/dl
Péptido C	298-1324 UI/ml
Insulina	5-27 UI/ml
HOMA	Menor a 2.5 mmol/L
Relación AST/ALT	Mayor a 1

### Apéndice B. Criterios para Síndrome Metabólico (Criterios del Panel III de Tratamiento de Adultos).

1. Obesidad Abdominal	Circunferencia de cadera >102cm en hombres
	Circunferencia de cadera >88 cm en mujeres
2. Hipertrigliceridemia	≥ 150 mg/dl
3. Colesterol HDL bajo	< 40 mg/dl en hombres
	< 50 mg /dl en mujeres
4. Hipertensión arterial	≥130/85 mm Hg
	o en tratamiento conocido
5. Glucosa en ayuno	≥ 110 mg/dl

---

## BIBLIOGRAFIA

1. Mofrad P, Sanyal A. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. Clinical Perspectives in Gastroenterology 2003;5:2 <http://www.medscape.com/viewarticle/449315>
2. Harrison S, Maj, MC, et al. Non alcoholic Steatohepatitis. What We Know in the New Millenium, Am J Gastroenterol 2002; 97:2714-24.
3. Sanyal A, AGA Technical Review on Nonalcoholic Fatty Liver Disease. Gastroenterology 2002; 123: 1705-1725.
4. Wanless IR, Lentz JS. Fatty LiverHepatitis (steatohepatitis) and obesity: An autopsy study with análisis of risks factors. Hepatology. 1990; 12:1106-10.
5. Bernal R, Saenz A, et al. Prevalencia de la Esteatohepatitis no Alcohólica (EHNA).Estudio comparativo con diabéticos. Rev Gastroenterol Mex 2000; 65(2):58-62.
6. De la Mora G, Olivera M, et al. Esteatohepatitis no Alcohólica: Experiencia de 10 años en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. Rev Invest Clin 1994; 46:85-92.
7. Espiricueta C, Maya K. Factores de Riesgo para Esteatohepatitis no Alcohólica. Rev. Gastroenterol Mex 2001; 66(S):138.
8. Marchesini G, Bugianesi E, et al. Nonalcoholic Fatty Liver, Steatohepatitis and the Metabolic Syndrome. Hepatology 2003; 37:917-923.
9. Pagano G, Pacini G, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis,Insulin Resistance, and Metabolic Síndrome: Further evidence for an Etiologic Association. Hepatology 2002; 35:367-72.
10. Marchesini G, Brizi M, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. A Feature of the Metabolic Syndrome. Diabetes 2001; 50:1844- 1850.

- 
11. Chalasani N, Deeg M, et al. Metabolic and Anthropometric Evaluation of Insulin Resistance in Nondiabetic Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2003; 98:1849- 1855.
  12. Brunt E, Janney C, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis: A proposal for Grading and Staging the Histological Lesions. *Am J Gastroenterol*. 1999; 94:2467-2474.
  13. Chitturi A, Abeygunasekera S, et al. NASH and Insulin Resistance: Insulin Hypersecretion and Specific Association with the Insulin Resistance Síndrome. *Hepatology* 2002; 35:373-379.
  14. Neuschwander-Tetri B, Caldwell S, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis: Summary of an AASLD Single Topic Conference *Hepatology* 2003; 37:1202-19.
  15. Sanyal A, Campell-Sargent C, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis: Association of Insulin Resistance and Mitochondrial Abnormalities. *Gastroenterology*.2001; 120:1183-1192.
  16. Angulo P, Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *N Engl J Med* 2002; 346(16): 1221-29.
  17. Mofrad P, Contos M, et al. Clinical and Histologic Spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology* 2003; 37:1286-1292.
  18. Bonora E, Targher G et al. Homeostasis Model Assessment Closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2000; 23(1):57-63.
  19. Dixon J, Bhatal P, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Predictors of Nonalcoholic Steatohepatitis and Liver Fibrosis in Severely Obese. *Gastroenterology*.2001

- 
20. Hui J, Sud A. Et al. Insulin Resistance Is Associated with Chronic Hepatitis C and Virus infection Fibrosis Progression. *Gastroenterology* 2003;125:1695-1704
  21. Promrat K, Lutchman G. Et al. A pilot study of pioglitazone treatment for nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2004; 39:196.
  22. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999;30:1356-1362.
  23. Marcellin P, Asselah T, Boyer N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36:s47-56.
  24. Svegliati-Baroni G, Ridolfi F, Di Sario A, Casini A, Marucc L. Insulin and insulin-like growth factor-1 stimulate proliferation and Type I collagen accumulation by human hepatic stellate cells: differential effects on signal transduction pathways. *Hepatology* 1990; 29:1743-1751.
  25. Paradis V, Perlemuter G. High glucose and hyperinsulinemia stimulate connective tissue growth factor expression: a potential mechanism involved in progression to fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2001; 34:738- 744.
  26. Paradis V, Dargere D, Vidaud M. Expression of connective tissue Growth factor in experimental rat and human in liver fibrosis. *Hepatology* 1999;30:968-976.