



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MEDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

FACTORES GENÉTICOS Y MODULADORES DE LA EPIGENÉTICA
ASOCIADOS A LA PROGRESIÓN DE LA ESTEATOSIS/ESTEATOHEPATITIS
NO ALCOHOLICA EN NIÑOS Y ADOLESCENTES

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS

PRESENTA:

REBECA IVONNE GONZALEZ RODRIGUEZ

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'R. Gonzalez', located to the right of the student's name.

TUTOR:

DR. CARLOS JIMENEZ GUTIERREZ
DR SALUD PUBLICA. ICMC. SNI
HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZALEZ"

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'C. Jimenez', located to the right of the tutor's name.

CIUDAD DE MEXICO, ENERO 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

INDICE

Nota Aclaratoria	3
Resumen	4
1.Introducción	5
2.Marco de referencia	12
3.Planteamiento del problema	18
4.Justificación	18
5.Objetivos	18
5.1 General	18
5.2 Específicos	19
5.3 Exploratorios	19
6.Hipótesis	19
7.Diseño del Estudio	19
8.Material y Métodos	20
8.1 Universo de estudio	20
8.2 Tamaño de la muestra	20
8.3 Criterios de selección	22
8.4 Variables de estudio	24
8.5 Descripción de procedimientos	30
8.5.1 Descripción General del Estudio	30
9.Análisis Estadístico	33
10.Aspectos Éticos	37
11.Resultados	37
12.Discusión	45
13.Conclusiones	53
14.Referencias Bibliográficas	54
15.Anexos	68

NOTA ACLARATORIA

Durante el año 2020, debido a la pandemia producida por SARS-COV2 se realizó la Reconversión hospitalaria ante la pandemia de la COVID-19, oficialmente anunciado por las autoridades de la Comisión Coordinadora de Institutos Nacionales de Salud y Hospitales de Alta Especialidad, el 29 de marzo del 2020. En éste, se consideraron tres fases, en las que participaron seis hospitales, tanto de la Ciudad de México, como del Estado de México.

Por ello, oficialmente el Hospital General “Dr. Manuel Gea González”, Secretaría de Salud, es uno de los Hospitales Generales que, hasta el día de hoy, siguen siendo parte de esta estrategia nacional. La dinámica interna que se vivió a partir del 18 de marzo del 2020, permitió ser testigo del cierre cuasi-inmediato de algunos servicios y el cierre total de las actividades académicas presenciales de pregrado y posgrado, con el consecuente impacto en la ausencia de atención y paralización total de las dinámicas de investigación.

En este mismo sentido, el Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas (PMDCMOS. UNAM) bajo la dirección de la Dra. María Teresa Fortoul Van der Goes, bajo la decisión colegiada del Subcomité Académico (SA), instruyó a todos los responsables de las sedes del programa a facilitar el proceso de avance y conclusión de los estudios de investigación de los estudiantes del posgrado. Ello supone entre otras acciones, la modificación de los objetivos y la metodología del estudio, con acuerdo del tutor y el responsable de la sede, sin que ello requiera aprobación por escrito del SA.

En el caso de esta tesis de grado, con fecha octubre del 2020, se notificó y solicitó al Subcomité Académico: i. mantener el diseño de cohorte del estudio, ii. presentar la medición basal o visita 1 de la cohorte, iii. el análisis estadístico y los resultados de las variables clínicas y de laboratorio de interés. En el pleno, la Dra. María Teresa Fortoul Van der Goes, bajo la decisión colegiada del Subcomité Académico (SA) dió el Visto Bueno.

RESUMEN

Introducción. La Enfermedad del Hígado Graso No Alcohólico afecta a casi la cuarta parte de la población mundial. En 2020, un panel internacional de expertos propone el término MAFLD (Metabolic-associated fatty liver disease: MAFLD, por sus siglas en inglés) o Hígado graso asociado a disfunción metabólica, con el objetivo de reflejar la fisiopatología y los factores de riesgo de esta enfermedad. MAFLD es la hepatopatía crónica más frecuente en niños y adolescentes y el inicio de MAFLD en etapas tempranas de la vida confiere mayor riesgo de progresión de la enfermedad.

Objetivo. Evaluar el grado de asociación entre los factores genéticos y moduladores de la epigenética con la progresión de la esteatosis/esteatohepatitis no alcohólica en niños y adolescentes

Diseño del estudio. Estudio Observacional, Analítico, Prospectivo, Longitudinal

Descripción general del estudio. Escolares y adolescentes (6 a 16 años) con diagnóstico de esteatosis/esteatohepatitis no alcohólica que reúnan los criterios de selección, previo consentimiento informado y asentimiento del menor. Tamaño de la muestra: 176 sujetos. Se realizó historia clínica y exploración física, así como evaluación antropométrica, elastografía transitoria y determinación de microbiota fecal.

Análisis estadístico. Para el análisis univariado, todas las variables sociodemográficas, clínicas y de laboratorio se analizarán en función de sus características. El análisis bivariado será realizado en dos escenarios. El primero, comprenderá la relación entre la variable dependiente, respecto a las variables independientes. En segundo orden, se realizará análisis estratificando por sexo. Para el modelo multivariado, se realizará un modelo logístico multinomial.

Resultados. Se presentan resultados transversales, de la visita basal, de una cohorte de 93 sujetos que fueron atendidos del 01 de marzo al 18 de marzo de 2020. La edad promedio fue de 12.12 años, IC95%: 11.63 a 12.60; el 61.3% (n=57) fueron hombres, y el 38.7% (n=36) mujeres. El 88.2% en conjunto presentaron sobrepeso y obesidad, siendo el 68.8% (n=64) los que tenían obesidad y el resto sobrepeso; mientras que el 11.8% (n=11) estaban en categoría de normopeso. Para la esteatosis hepática no alcohólica (db/m) según grados, el 36.6% (n = 34) fueron clasificados como esteatosis grado 1, el 24.7% (n =23) como grado 2 y el 38.7% (n = 36) como grado 3.

Al contrastar las variables de estudio en función de los grados de la esteatosis hepática, se observaron diferencias altamente significativas ($p = 0.000$) para IMC, Triglicéridos, FA, FAST, Actividad física, Sedentarismo, % Firmicutes, % Bacteroidetes, % Proteobacterias; significativas ($p < 0.05$) para cHDL, ALT, AST, GGT, Ácido úrico, APRI; y marginal ($p = 0.05$) para Colesterol. El modelo final, solo incluyó las variables sexo, actividad física y sedentarismo. Al observar el grado 2 y 3 de la esteatosis hepática no alcohólica, se puede observar que en relación al sexo, los niños en comparación de las niñas, tienen 4.4 veces mayor riesgo de presentar esteatosis hepática no alcohólica, y el riesgo puede llegar a ser tan grande como 15 veces. En el grado 3, el riesgo es de 12.5 veces en los niños en comparación de las niñas, y se observa el aumento desmedido del riesgo, dado por el valor superior del IC95% de 64 veces. Por último, se observa un aumento del riesgo entre el grado 2 a 3, de 8 veces el riesgo para los niños (OR = 4 a OR = 12), aunque como hemos reiterado hay empalme entre los IC95%, reiterando el sesgo aleatorio. En relación a la actividad física, se observa que ésta es protectora. Por último, respecto al sedentarismo, aún cuando en el análisis bivariado se observa una tendencia (conforme aumenta el grado de la esteatosis hepática no alcohólica el tiempo promedio de sedentarismo aumenta), en el multivariado no se observa un efecto de éste, ya que en ambos grados (2 a 3) el riesgo está sobre la línea de no efecto.

Conclusiones. Se observó una mayor frecuencia de esteatosis hepática en varones, lo cual ha sugerido que las hormonas sexuales pueden jugar un papel significativo en la predisposición y/o expresión de la esteatosis hepática. En tanto, la actividad física puede ser un factor potencialmente reversible de esteatosis hepática. El vínculo entre la actividad física y la grasa hepática destaca los efectos positivos de un estilo de vida físicamente activo.

Palabras clave (mesh). *Fatty liver, disease progression, child, adolescent,*

1. INTRODUCCION

Definición y espectro clínico de la Enfermedad por Hígado Graso No Alcohólico. La Enfermedad del Hígado Graso No Alcohólico (NAFLD, por sus siglas en inglés) se caracteriza por una acumulación excesiva de grasa hepática en ausencia de consumo de alcohol, enfermedades genéticas o fármacos que ocasionen esteatosis. La esteatosis hepática describe la acumulación anormal de grasa que afecta a más del 5% de los hepatocitos. NAFLD es la hepatopatía crónica más frecuente en niños y adolescentes, y comprende un espectro clínico que varía desde la esteatosis simple a esteatohepatitis no alcohólica (NASH, por sus siglas en inglés), con o sin fibrosis y que puede evolucionar hacia cirrosis y carcinoma hepatocelular [1].

Prevalencia de la Enfermedad del Hígado Graso No Alcohólico en niños y adolescentes. Anderson et al (2015), realizaron una revisión sistemática y meta análisis de la prevalencia de NAFLD en sujetos de 1 a 19 años. La prevalencia media combinada de NAFLD en población general fue del 7.6% (IC95%: 5.5-10.3%) y 34.2% (IC95%: 27.8-41.2%) en clínicas de obesidad infantil. La prevalencia fue mayor en el sexo masculino e incrementó conforme el Índice de Masa Corporal (IMC) era mayor [2]. Schwimmer et al (2006), reportaron una prevalencia de NAFLD de 38% en niños obesos, predominando en adolescentes hispanos (11.8%) comparado a los caucásicos (8.6%) y afroamericanos (1.5%) [3]. Xanthakos et al (2014), en un estudio transversal de 41 adolescentes (13-19 años) con obesidad mórbida, reportó que 83% presentaron NAFLD (20% NASH) [4]. En Cuba, un estudio de 44 niños obesos (4-16 años), evidenció que el 48% tenían hígado graso [5], y en Venezuela se reportó prevalencia de 65% entre niños con sobrepeso y obesidad [6]. En México, los estudios sobre NAFLD en niños menores de 18 años son mínimos, con defectos metodológicos significativos [7, 8].

Fisiopatología de la Enfermedad del Hígado Graso No Alcohólico. La fisiopatología de la NAFLD comienza con dos eventos principales: la acumulación intrahepática de ácidos grasos, lo cual está asociado con resistencia a la insulina (RI); y el incremento en la susceptibilidad de los hepatocitos derivado de daño secundario a estrés oxidativo, disfunción mitocondrial, sobreproducción y liberación de citocinas proinflamatorias [9]. La carga excesiva de ácidos grasos libres es la causa crucial de esteatosis hepática [10]. Se ha sugerido la teoría “multiple hit” (múltiples impactos), para explicar el daño hepático progresivo que ocurre en los niños con NAFLD, en la cual intervienen factores genéticos y epigenéticos, estos últimos relacionados al estilo de vida sedentario con patrones de alimentación basados en dietas hipercalóricas y con alto contenido en fructosa, aunados a disfunción de la microbiota intestinal así como alteraciones en la homeostasis de los oligoelementos, críticos para la progresión de la enfermedad y el desarrollo de etapas inflamatorias y fibróticas más graves (NASH) [11].

Factores genéticos relacionados a progresión de NASH: PNPLA-3. Tanto en niños como en adultos, varios polimorfismos genéticos (SNPs), fueron identificados por estudios de asociación al genoma completo (GWAS), como cofactores importantes en el inicio de NAFLD y su progresión. Estos SNPs ocurrieron en genes implicados en la regulación de la acumulación de lípidos en hepatocitos, estrés oxidativo, resistencia a la insulina y fibrogénesis [12]. Se dispone de una vasta cantidad de evidencia del gen de la patatin fosfolipasa 3 (PNPLA-3) en niños, en particular para el alelo G de la variante rs738409 (I148M), el cual se correlaciona fuertemente con el incremento de esteatosis hepática e inflamación, independientemente de otros factores de riesgo como el IMC, la resistencia a la insulina y el estado metabólico [13-16]. Los diferentes grados de progresión de la enfermedad entre los sujetos, las diferencias étnicas y raciales, sugieren la teoría que las variaciones genéticas y el entorno ambiental interactúan estrechamente para determinar el fenotipo de la enfermedad y la progresión a formas más avanzadas de NASH.

En niños y adolescentes obesos, rs1260326, un polimorfismo (SNP) en el regulador de glucoquinasa (GCKR), se asoció con triglicéridos elevados, lipoproteína de muy baja densidad e hígado graso, y esta última asociación fue particularmente significativa en los hispanos. La sinergia entre los polimorfismos de PNPLA3 y GCKR aumentaron la susceptibilidad al hígado graso en niños y adolescentes obesos [17]. En adolescentes, los SNP rs738409 en PNPLA3 (asociados además con la gravedad de la enfermedad [18]), rs1044498 en ENPP1 y rs780094 en GCKR fueron fuertemente asociados con MAFLD en comparación con los controles adultos. Se demostró que los pacientes con los alelos menores de rs1260326/rs780094 tenían niveles disminuidos de la proteína GCKR había disminuido los niveles de proteína GCKR, mientras que los portadores G/G rs738409 G/G mostraron una regulación a la baja de la vía del retinol [19]. En adolescentes indo asiáticos con sobrepeso/obesidad, el polimorfismo rs738409 C>G de PNPLA3 y 455 T >C de APOC3 se asociaron con MAFLD y obesidad [20].

Además, la variante de proteína I148M de PNPLA3 programa la cantidad de grasa en células hepáticas, incrementando el riesgo de desarrollar MAFLD alrededor de 50% y elevando los índices de daño hepático en hispanos [21, 22]. Esta variante se asoció significativamente con niveles elevados de ALT, niveles bajos de colesterol HDL y menor IMC z-score, y la asociación con niveles altos de ALT fue más significativa para los niños mexicanos delgados con MAFLD, aunque los niños con sobrepeso u obesos eran más propensos a tener mayores niveles de ALT [23]. Además, la variante I148M fue inversamente asociada con la tasa estimada de filtración glomerular en niños cuando MAFLD fue confirmado histológicamente [24].

Factores moduladores de la epigenética relacionados a progresión de NASH.

- **Patrón de alimentación.** La dieta occidental caracterizada por un consumo excesivo de carbohidratos (principalmente fructosa), grasas saturadas y con

menor contenido de fibra y de ácidos grasos omega 3, se ha relacionado a pacientes con NAFLD/NASH [25, 26]. Evidencia reciente sugiere que la alimentación con alto contenido en fructosa aumenta el riesgo de NAFLD y NASH. La fructosa puede modular a las enzimas lipogénicas aumentando la expresión del elemento regulador de esteroles de la proteína de unión-1c (SREBP-1c) y la proteína del elemento de unión sensible a los carbohidratos (CREBP) [27]. La acumulación de grasa hepática inducida por fructosa resulta en gluconeogénesis y disminución de la oxidación de grasas [28-30]. El consumo crónico de fructosa induce resistencia a la leptina lo cual acelera el alto contenido de grasa inducido por la obesidad [31]. Una mayor ingesta de ácidos grasos saturados (AGS) también se correlaciona con NAFLD, con un grado de ingesta proporcional al grado de esteatosis [32, 33]. En adultos, la cantidad de ingesta de AGS se correlaciona positivamente con el grado de desarrollo de resistencia a la insulina y NASH [34]. Sin embargo, la interacción compleja entre las grasas saturadas y fructosa con las células hepáticas en maduración está menos estudiada. Los niños y adolescentes son los mayores consumidores de fructosa [35, 36], con evidencia emergente de que esto puede estar implicado en el desarrollo y la gravedad de la NAFLD posiblemente a través del aumento de la permeabilidad intestinal y la translocación de endotoxina [37, 38].

- **Disbiosis intestinal.** La disbiosis intestinal puede promover la translocación de bacterias y sus productos en la circulación portal, la activación de la inflamación a través de receptores de señalización en los hepatocitos y la progresión de esteatosis simple a esteatohepatitis no alcohólica (NASH). Las bacterias están representadas en un 95% por cuatro filos principales: Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria y Proteobacteria. El vínculo entre la disbiosis intestinal y la obesidad/NAFLD se caracteriza por una mayor prevalencia de Firmicutes y una menor prevalencia de Bacteroidetes en individuos obesos versus delgados, y por una menor prevalencia de Bacteroidetes en pacientes con NASH versus obesos sin NASH [38].

- **Sedentarismo y actividad física.** El vínculo entre la actividad física y la grasa hepática destaca los efectos positivos de un estilo de vida físicamente activo sobre la resistencia a la insulina, la intolerancia a la glucosa y la diabetes mellitus tipo 2 [39, 40]. La actividad física debería, teóricamente, ayudar a la prevención y/o progresión de NAFLD a través de su relación recíproca con el control de la glucosa, y se ha demostrado que mejora la histología hepática cuando se utiliza como parte de una intervención de estilo de vida junto con la dieta y la pérdida de peso [1, 40].

Diagnóstico de la Enfermedad del Hígado Graso No Alcohólico. La biopsia hepática es el estándar de referencia para el diagnóstico de NAFLD [41-43]; sin embargo, al ser un estudio invasivo, la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) recomienda realizarla bajo criterios específicos debido a las complicaciones asociadas como sangrado, perforación de algún órgano adyacente, o muerte [43].

Existen otras herramientas diagnósticas como la tomografía computada (TC), pero debido al riesgo de radiación no es recomendable como estudio de rutina [44]. En tanto, la resonancia magnética (RM), debido a su costo y la necesidad de sedación en niños, no se considera como una herramienta útil de tamizaje [45]. El ultrasonido hepático (US), es un procedimiento no invasivo con amplia difusión y costo reducido, considerado alternativa para el diagnóstico de NAFLD [46, 47]. La hiperecogenicidad y heterogeneidad imagenológica comparado con el riñón o el bazo, establecen la sospecha de esteatosis si esta afecta a más del 20% de los hepatocitos [48], con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 90% [49]; sin embargo, tiene las limitantes de ser operador dependiente y no detectar estadios tempranos de NAFLD.

Finalmente, han surgido nuevas tecnologías como la Elastografía Transitoria (ET), la cual se basa en que la velocidad de la propagación de una onda de corte elástica depende de la rigidez (o elasticidad) del medio. Permite obtener 2 mediciones: el parámetro de atenuación controlada (CAP, expresado en dB/m), indicador de esteatosis hepática y el LSM (Liver Stiffness Measurement,

expresado en kPa) como indicador de rigidez hepática, que es proporcional al grado de fibrosis hepática [50].

Progresión de la Enfermedad del Hígado Graso No Alcohólico. No disponemos en la actualidad de ningún modelo matemático validado que, mediante datos clínicos y/o analíticos, cuantifique la probabilidad de enfermedad histológica avanzada o la de evolución de una fase histológica a otra, lo que denominaremos velocidad de progresión. Es probable que NASH sea el principal impulsor de la progresión de la fibrosis hepática. La ET es fiable para el diagnóstico de cirrosis hepática (Estadio 4 de Fibrosis o F4) y de fibrosis significativa (Estadio de fibrosis 2 o superior, F2). La ET permite evitar la biopsia hepática en el 90% de los pacientes con cirrosis y hasta en el 70% de los pacientes con fibrosis significativa cuando se combina con otros métodos no invasivos [50]. Carecemos de investigaciones que examinen posibles factores predictivos de progresividad lesional. Los estudios se han centrado, en señalar ciertas circunstancias que hacen más probable la existencia de una enfermedad hepática avanzada en el momento de la biopsia inicial, si bien es admisible que esos factores indiquen también cierta probabilidad evolutiva [51]. Por lo anterior y una vez revisada la evidencia disponible, se considera que la ET en conjunto con índices bioquímicos pueden orientar como marcadores de progresión de daño hepático.

Marcadores de progresión de NAFLD/NASH. Nobili et al (2008), evaluaron la eficacia de la ET en la identificación de diferentes grados de fibrosis en una cohorte de 67 sujetos (35 varones) con NASH con edad entre los 4 y 17 años (media 13.6 ± 2.44 años). Se excluyeron causas secundarias de esteatosis. Se realizó evaluación bioquímica, ET y biopsia hepática, esta última se estadificó según la clasificación de Brunt (≥ 1 a cualquier fibrosis, ≥ 2 fibrosis significativa y ≥ 3 fibrosis avanzada). Se confirmó NASH en 52 pacientes (32 niños, 20 niñas). La ET fue factible en 50 pacientes con NASH, y fallida en 2 pacientes debido a IMC >35 kg/m². Los valores de la curva ROC para la evaluación de los estadios ≥ 1 , ≥ 2 y ≥ 3 de fibrosis fueron 0.977, 0.992 y 1 respectivamente. Valores de ET entre 7 y 9 kPa predicen los estadios 1 o 2 de fibrosis, pero no pueden discriminar entre

estas dos etapas y los valores de ET de al menos 9 kPa están asociados con la presencia de fibrosis avanzada [52].

Alkhoury et al (2012), evaluaron prospectivamente el rendimiento del Pediatric NAFLD Fibrosis Index (PNFI), ET y su combinación en la predicción de fibrosis clínicamente significativa (F2) en 67 niños (46 varones) con NAFLD, con edad entre los 5.5 y 11.3 años. El estadio de fibrosis se estadificó con NASH Clinical Research Network. El estadio 2 de Fibrosis (F2) fue considerado significativo. Diez pacientes tuvieron fibrosis estadio 2-3 y 57 pacientes tuvieron estadios 0-1. Los valores de PNFI y de ET fueron significativamente mayores en pacientes con fibrosis significativa ($p < 0.05$). Los valores de la curva ROC para predecir fibrosis significativa por PNFI y ET fue de 0.747 y 1.00 respectivamente ($p = 0.005$). El uso combinado de PNFI y ET podría predecir la presencia o ausencia clínica de fibrosis significativa en 98% de los niños con NAFLD [53].

Desai et al (2016), evaluaron el grado de esteatosis determinado por CAP y su correlación con biopsia hepática en adolescentes. La esteatosis se estadificó en 4 grados: sin esteatosis (S0, $< 5\%$); leve (S1, 5-30%); moderado (S2, 31-60%), y grave (S3, $> 60\%$). Se analizaron 69 pacientes (62% varones). La mediana de IMC fue 22.6 kg/m². El valor de la media de CAP para sujetos sin esteatosis fue 198 ± 37 vs 290 ± 47 para aquellos con esteatosis ($p < .0001$) y 313 ± 25 dB/m para pacientes con esteatosis grave ($p < .0001$). Asimismo, la mediana de CAP fue estadísticamente significativa en pacientes con esteatosis grave ($p = .004$) [54].

Newsome (2019), propuso un constructo (FAST score) para la identificación de actividad fibrótica y progresión en pacientes con NASH. Dicho score incluye la realización de fibroscan con determinación de CAP y LSM, así como la determinación de aspartato aminotransferasa (AST). El estudio se realizó prospectivamente en 7 centros británicos. La biopsia hepática fue evaluada por 2 patólogos expertos. El fibroscan se realizó dentro de las 2 primeras semanas de haberse efectuado la biopsia hepática. Tras la validación de fibroscan y biopsia hepática, se desarrolló y aplicó el score en 335 pacientes. La curva ROC de este score fue 0.83 (IC 0.78-0.87). El puntaje FAST proporciona una manera eficiente

de identificar de manera no invasiva a pacientes en riesgo con NASH progresiva que merecen consideración para un tratamiento adicional [55].

Tratamiento para la Enfermedad del Hígado Graso No Alcohólico.

Según la guía de tratamiento de NAFLD de la NASPGHAN [1], se recomienda un tratamiento integral que incluya modificaciones al estilo de vida que favorezca la pérdida ponderal. No existe un tratamiento farmacológico que haya demostrado beneficio en la mayoría de los pacientes con NAFLD y opciones como la cirugía bariátrica debe considerarse de forma individualizada en pacientes con NAFLD y otras comorbilidades.

2. MARCO DE REFERENCIA.

Factores genéticos asociados a la progresión de NASH. Desde el punto de vista etiológico, la susceptibilidad individual a desarrollar NAFLD/NASH a una edad temprana, representa una compleja interacción entre genotipo y ambiente. Estudios de agregación familiar, estudios de heredabilidad, de genes candidato y más recientemente, estudios de asociación al genoma completo (GWAS), indican un componente genético importante en la fisiopatología de la NAFLD y su progresión a NASH. Romeo et al (2008), publicaron el primer GWAS enfocado a la esteatohepatitis no alcohólica en adultos [56]. Se incluyeron 383 sujetos con ancestría hispana, 696 con ancestría caucásica y 1032 con ancestría africana, todos residentes de EUA. El diagnóstico de NAFLD se realizó mediante resonancia magnética. Se analizaron 9229 SNPs no sinónimos. Como resultado principal se identifica a la variante I148M (SNP 738409) del gen adiponutrina (también llamado patatin-like phospholipase domain-containing 3 gene, PLPLA3), fuertemente asociada a la NAFLD ($p= 5.9 \times 10^{-10}$). El alelo de riesgo de esta variante fue más común en hispanos (frecuencia del alelo menor de 0.49), lo cual concuerda con los datos epidemiológicos que indican que esta población presenta una mayor susceptibilidad a desarrollar NAFLD (45% en latinos vs 33% y 24% en caucásicos y afroamericanos, respectivamente). En este mismo estudio, se reportó una segunda variante de secuencia en el gen PLPLA3 (rs6006460), la

cual provoca un cambio del aminoácido serina por isoleucina en el codón 453 (S453I) en la proteína correspondiente. De manera conjunta, estas dos variantes alélicas explican el 72% de la variación étnica en la presencia de esteatosis en la población de estudio [56].

Giudice [57], Speliotes [58] et al han demostrado que PNPLA3 I148M aumenta el riesgo de NAFLD sin un fuerte efecto sobre los componentes del síndrome metabólico, pero la grasa abdominal (que está estrechamente relacionada con los componentes del síndrome metabólico) puede impulsar el efecto dañino de este polimorfismo sobre el hígado. Marzuillo et al [59], reportaron en niños obesos, que la pérdida de peso puede disminuir el efecto de este polimorfismo. McGeoch et al [60] sugirieron que los pacientes con PNPLA3 I148M mostraron la mayor respuesta a la dieta restringida en fructosa. Wang et al [61] revelaron que la actividad física y el comportamiento sedentario puede modular el efecto de la variante de PNPLA3 en la NAFLD en niños. Estas evidencias proporcionan nuevas pistas sobre la función del gen PNPLA3.

Otro estudio más reciente a gran escala sobre la variación genética en NAFLD, adoptó una estrategia de múltiples etapas, con una primera etapa exploratoria mediante meta análisis en distintas poblaciones (Reykjavik study, old order Amish study, Family Heart Study y Framingham Heart Study) con la esteatosis hepática diagnosticada por TC. En esta etapa se genotiparon 2.4 millones de SNPs en más de 7100 individuos. La segunda etapa consistió en el análisis de 45 loci independientes que en el estudio exploratorio sobrepasaron el punto de corte para el valor de significancia p de 5×10^{-3} , en un subgrupo de 592 sujetos sometidos a biopsia hepática para el diagnóstico histológico de NAFLD. Cinco SNPs se asociaron significativamente con fenotipos relacionados con la NAFLD, dentro o cerca de los genes PNPLA3 (rs738408), NCAN (rs2228603), PPP1R3B (rs4240624), GCKR (rs780094) y LYPLAL1 (rs12137855). Estas variantes alélicas fueron consistentes en la asociación a mayor riesgo de esteatosis hepática identificada mediante TC y a la alteración histológica correspondiente a NASH. La variante en NCAN (rs2228603), gen que codifica para una molécula de adhesión, se asoció a menores niveles de colesterol de baja densidad (LDL) y triglicéridos

en suero [62]. Lo anterior indica que la región correspondiente a estos marcadores es particularmente relevante para la enfermedad. La asociación de este SNP ha sido replicada en distintas poblaciones, y se ha asociado a cirrosis y progresión de enfermedad hepática, incluso en población mestiza mexicana [63, 64].

Otros estudios similares han identificado otras variantes génicas asociadas a progresión de NAFLD/NASH. La variante rs780094 en el gen GCKR está asociada a esteatosis hepática. El gen GCKR regula el almacenamiento y utilización de la glucosa, así como la secreción de insulina y tiene una importante contribución en la lipogénesis *de novo* y en el contenido hepático de triglicéridos en humanos [65, 66]. Se ha identificado a la variante I148M/PNPLA3 como un factor asociado al desarrollo acelerado de NAFLD en niños mexicanos [67].

Dieta rica en carbohidratos (fructosa) y grasas y progresión de NASH. Mosca et al (2017), investigaron si las concentraciones de ácido úrico (AU) y el consumo de fructosa en la dieta están asociados a NASH en niños y adolescentes. El estudio se realizó en enero de 2012 a noviembre de 2014. Se incluyó a los pacientes en los que se identificó esteatosis hepática por US y se excluyó a pacientes con esteatosis secundaria a otras patologías. Se realizó evaluación antropométrica y bioquímica y según las recomendaciones de ESPGHAN se efectuó biopsia hepática, la cual fue evaluada por el puntaje de NASH Clinical Research Network. Se aplicó un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos a todos los pacientes tras la biopsia hepática. Se estudiaron niños obesos con NAFLD (n = 271). NASH fue diagnosticado por un puntaje de actividad NAFLD ≥ 5 y el algoritmo FLIP. Se produjo NASH en el 37,6% de los pacientes. La hiperuricemia fue detectada en el 47% de los pacientes con NASH comparado con 29.7% de pacientes no NASH (p = 0.003). Tanto la concentración de AU (OR = 2.488, IC 95%: 1.87–2.83, p = 0.004) y el consumo de fructosa (OR = 1.612, IC 95% 1.25–1.86, p = 0.001) fueron asociados independientemente con NASH, después del ajuste para múltiples (y todos) los factores de confusión medidos. El consumo de fructosa fue independientemente asociado con

hiperuricemia (OR = 2.021, 95% IC: 1,66–2,78, p = 0,01). Estos datos fueron confirmados utilizando el algoritmo FLIP [68].

Nier A et al (2018), en el estudio HoFI realizado en Alemania entre abril de 2009 y diciembre 2010 investigaron si el patrón dietético y los marcadores de permeabilidad intestinal difieren entre los niños con sobrepeso con y sin NAFLD. Datos antropométricos, ingesta dietética, parámetros metabólicos y marcadores de la inflamación, así como la permeabilidad intestinal, se evaluaron en niños con sobrepeso (n = 89, edad: 5-9 años) y controles sanos de peso normal (n = 36, edad: 5-9 años). Dieciséis niños con sobrepeso presentaban datos tempranos de NAFLD, por ejemplo, esteatosis grado 1 según lo determinado por ultrasonido. Niveles de endotoxinas bacterianas, proteína de unión a lipopolisacáridos (LBP) y marcadores proinflamatorios como la interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral (FNT) fueron significativamente mayor en los niños con sobrepeso con NAFLD en comparación con el otro grupo. La energía total y la ingesta de carbohidratos fueron mayores en los niños con NAFLD (p =0.06). La mayor ingesta de carbohidratos se debió principalmente al contenido de fructosa total y la ingesta de glucosa derivada de un consumo significativamente mayor de bebidas azucaradas. Los resultados sugirieron que una alimentación con alto contenido en azúcar podría contribuir al desarrollo de las primeras etapas de NAFLD en niños con sobrepeso [69].

Ramon-Krauel et al [70], comparó un pequeño grupo (17 pacientes) de niños obesos con hígado graso (detectado por RMS) y la eficacia de una dieta de bajo índice glucémico vs una dieta baja en lípidos, sobre el contenido de grasa hepática. En ambos grupos se detectó disminución de niveles de ALT y de la fracción de grasa hepática por RMS, sin diferencia significativa entre ambos grupos. Recientemente, se informó que en una cohorte de 243 pacientes italianos con obesidad y NAFLD, una pobre adherencia a la dieta mediterránea se asoció a NASH, resistencia a la insulina y valores elevados de proteína C reactiva. Por lo tanto, se ha sugerido a la dieta mediterránea como estrategia terapéutica en niños con obesidad y NAFLD [71, 72]. Sin embargo, se requieren más estudios para confirmar esta observación. Dowla et al [73], realiza un ensayo controlado

aleatorizado en 40 pacientes con NAFLD de 9 a 18 años para comparar los efectos de una dieta restringida en carbohidratos vs una dieta restringida en grasas.

Sedentarismo y progresión de NASH. Hattar et al (2011), evaluaron la actividad física en niños hispanos obesos con esteatosis hepática. Se estudiaron 57 niños (edades entre 8 y 16 años), los cuales se dividieron en 3 grupos: 20 niños obesos con NASH (demostrada por biopsia hepática), 20 niños obesos sin hepatopatía y 17 niños con IMC normal sin hepatopatía. Se aplicó un cuestionario para evaluar actividad física, actitud nutricional y comportamiento de alimentación. 74% de los pacientes de la cohorte eran hombres. Entre los sujetos con NASH, se encontró que el 100% de los pacientes con fibrosis 2 y 3 tenían comportamiento sedentario comparado a aquellos con fibrosis grado 1 o sin fibrosis ($p < 0.05$) [74].

Gronbaek et al (2012), examinaron los efectos de un campamento para pérdida de peso y el grado de NAFLD en niños daneses con obesidad. Estudiaron 117 niños (IMC $28.0 \pm 3.6 \text{ kg/m}^2$, edad 12.1 ± 1.3 años), el programa de ejercicio fue de intensidad moderada, con una duración de 1 hora/día y se realizó dieta restrictiva. Se realizó antropometría y US para la detección de esteatosis hepática. 71 niños continuaron el seguimiento. Se detectó pérdida ponderal de $7.1 \pm 2.7 \text{ kg}$ durante el campamento. Al basal, 43% de los pacientes tenían hiperecogenicidad y 18% heterogeneidad en el US relacionada a esteatosis hepática, la cual disminuyó a 30% y 4% respectivamente; el 50% presentaban transaminasas elevadas ($>25 \text{ UI/L}$) y sensibilidad a la insulina disminuida. Estas anomalías fueron relacionadas mutuamente y mejoraron significativamente durante el campamento ($p < 0.05$). Hubo mejoría en la grasa hepática tras los 12 meses de seguimiento [75].

Disbiosis intestinal y progresión de NASH. Zhu et al [76], examinaron la composición de microbiota intestinal y los niveles de etanol en la sangre de niños sanos, niños obesos y niños con NASH. Solo unas pocas diferencias fueron evidentes en la composición de la microbiota de NASH en comparación con los

pacientes obesos sin enfermedad hepática, e incluyó diferencias entre los filios, las familias, y géneros en *Proteobacteria*, *Enterobacteriaceae* y *E. coli*, respectivamente. Algunos de estos cambios incluyeron más bacterias productoras de alcohol, asociadas a un aumento significativo en los niveles de etanol en sujetos con NAFLD en comparación con niños obesos y sanos. Además, niveles mayores de etanol fueron detectados específicamente en correlación con NASH. Con todo, estos resultados sugieren que la producción de etanol puede actuar como una hepatotoxina, contribuyendo al desarrollo de NAFLD y su progresión a NASH.

Otros factores asociados a progresión de NAFLD y NASH. El ácido úrico es un producto del metabolismo de la purina en humanos y se origina a partir de hipoxantina después de una doble catálisis enzimática por la xantina oxidasa en el hígado. En 2 meta análisis de estudios prospectivos se demostró un riesgo significativamente mayor de NAFLD en sujetos con niveles elevados de ácido úrico en comparación con aquellos con niveles menores. Se informó un efecto de dosis-respuesta lineal entre ácido úrico y NAFLD, por cada aumento de 1 mg de ácido úrico conduce a un incremento del 21% en el riesgo de NAFLD [77, 78].

La hiperferritinemia se detecta en aproximadamente un tercio de los pacientes con NAFLD y SM, y sus niveles parecen estar directamente relacionados con la gravedad de la RI [79,80]. Estudios in vitro han sugerido que la insulina podría determinar una rápida y marcada estimulación de la captación de hierro por los adipocitos, por redistribución de los receptores de transferrina desde un compartimento de la membrana intracelular a la superficie celular. La sobrecarga sistémica de hierro puede promover el inicio de DM secundario a una alteración en la función de las células B pancreáticas debido al depósito intraparénquima de hierro. Debido al estrés oxidativo, las células B son menos sensibles a la estimulación de glucosa y mueren por apoptosis con la consecuente reducción en la producción de insulina [81]. Bugianesi et al [82], demostraron que los niveles elevados de ferritina son marcadores de grave daño histológico. Manousou et al

[83], evaluaron la relación entre la ferritina sérica y las características del síndrome metabólico con respecto a la inflamación histológica y / o fibrosis en 111 pacientes con NAFLD. La ferritina resultó un buen predictor de enfermedad hepática avanzada, con respecto tanto a NASH como a fibrosis. Kowdley et al [84], demostraron que la ferritina sérica elevada es un predictor independiente de gravedad histológica y fibrosis avanzada en pacientes con NAFLD.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

¿Cuáles son los factores genéticos y moduladores de la epigenética asociados a la progresión de la esteatosis no alcohólica en niños y adolescentes?

4. JUSTIFICACIÓN.

Considerando el incremento acelerado de sobrepeso y obesidad a nivel mundial, donde México ocupa uno de los primeros lugares, aunado al diagnóstico de NAFLD/NASH con las consecuencias devastadoras a mediano y largo plazo que ello implica, y que incluso en niños sin obesidad (evaluados antropométricamente) se ha identificado en 7% a 13% la presencia de esta patología metabólica hepática, mientras que en niños obesos esta patología puede presentarse hasta el 50-80% de los casos, yace la importancia de identificar los factores genéticos y moduladores de la epigenética asociados con la progresión de la esteatosis no alcohólica en niños y adolescentes del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL (PRINCIPAL)

Evaluar el grado de asociación entre los factores genéticos y moduladores de la epigenética con la progresión de la esteatosis no alcohólica en niños y adolescentes.

5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

OBJETIVO ESPECIFICO PRIMARIO

Evaluar el grado de asociación del polimorfismo PNPLA3 rs738409, la gravedad de la obesidad, una alimentación con alto contenido en fructosa y grasa y el sedentarismo, respecto a la progresión de la esteatosis no alcohólica en una cohorte de niños y adolescentes.

OBJETIVO ESPECIFICO SECUNDARIO

Evaluar el grado de asociación de la disbiosis intestinal respecto a la progresión de la esteatosis no alcohólica en una cohorte de niños y adolescentes.

5.3 OBJETIVOS EXPLORATORIOS

Analizar el grado de asociación de niveles elevados de ferritina y ácido úrico, respecto a la progresión de la esteatosis no alcohólica en una cohorte de niños y adolescentes.

Analizar el grado de asociación de variables bioquímicas (glucosa, insulina, triglicéridos, colesterol, ALT, AST, FA, GGT) respecto a la progresión de la esteatosis no alcohólica en una cohorte de niños y adolescentes.

6. HIPÓTESIS.

El polimorfismo PNPLA3 rs738409, la gravedad de la obesidad, una alimentación con alto contenido en fructosa y grasa y el sedentarismo, son factores asociados respecto a la progresión de la esteatosis no alcohólica en una cohorte de niños y adolescentes.

7. DISEÑO. Estudio de Cohorte.

Estudio Observacional, Analítico, Prospectivo, Longitudinal.

Control de la asignación de los factores de estudio: Observacional.

Finalidad: Analítica.

Inicio del estudio en relación con la cronología de los hechos: Prospectivo.

Secuencia temporal: Longitudinal.

8. MATERIALES Y MÉTODO.

8.1. UNIVERSO DE ESTUDIO: Escolares y adolescentes (6 a 16 años), con diagnóstico de esteatosis no alcohólica por medio de elastografía transitoria.

El diagnóstico de esteatosis hepática se realizó utilizando los puntos de corte sugeridos para su detección por medio de elastografía transitoria. No se realizó biopsia hepática debido a ser un procedimiento invasivo, del cual ya se han mencionado los criterios para realizarlo en la sección de introducción.

Población de estudio: Escolares y adolescentes (6 a 16 años) con diagnóstico de esteatosis no alcohólica por medio de elastografía transitoria que acudan al Centro de Atención Metabólica Integral para el Niño y el Adolescente perteneciente a la Subdirección de Pediatría del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”, en un período comprendido de 12 meses.

8.2. TAMAÑO DE LA MUESTRA

El cálculo del número necesario de sujetos a estudiar se realizará, considerando los datos publicados por Anderson (2015), sobre la prevalencia de esteatosis hepática no alcohólica en niños y adolescentes.

Particularmente, se considerarán los resultados globales de dos de los gráficos de bosque del meta-análisis, donde se compara la prevalencia de esteatosis hepática no alcohólica entre niños y adolescentes, hombres vs mujeres en población general y en población hospitalaria, a través de la medida de asociación de razón de momios (Odds Ratio).

POBLACIÓN GENERAL

OR = 1.63

IC95% = 1.10 a 2.41

Prevalencia = 7.5

POBLACIÓN HOSPITALARIA

OR = 2.02

IC95% = 1.59 a 2.58

Prevalencia = 34.19

Posteriormente, para la estimación del número necesario de sujetos a estudiar, a través de la estimación global de una razón de momios (odds ratio), se utilizará la distribución del número de sujetos necesarios para estimar una razón de momios (odds ratio), que se deriva de los escenarios teóricos de la fórmula $P2=(P1 \cdot OR)/[1+P1 \cdot (OR-1)]$.

Los cálculos considerados, fueron para dos escenarios: para una potencia del 80 y 90. Para cada una de ellas, se consideraron, dentro de las estimaciones estandarizadas de la distribución del número de sujetos necesarios para estimar una razón de momios, una OR = 1.5 y una segunda OR = 2. La proporción asumida fue del 0.35.

A continuación, se muestra los cuatro escenarios de número de sujetos a estudiar.

POTENCIA = 80	POTENCIA = 90
P1 = 0.35 Alfa Hipótesis Unilateral = 0.05	P1 = 0.35 Alfa Hipótesis Unilateral = 0.05
OR = 2	OR = 2
N = 106 sujetos	N = 146 sujetos
P1 = 0.35	P1 = 0.35

Alfa Hipótesis Unilateral = 0.05	Alfa Hipótesis Unilateral = 0.05
OR = 1.5	OR = 1.5
N = 315 sujetos	N = 436 sujetos

Con base en estos supuestos estadísticos, y considerando la dinámica de atención de la Clínica de Obesidad del Hospital General Dr Manuel Gea González, donde se asumirá una pérdida del 20%, se ajustará tamaño de muestra de 176 sujetos.

8.3. CRITERIOS DE SELECCION

Criterios de Inclusión.

- Cualquier sexo.
- Edad de 6 a 16 años.
- Normopeso, sobrepeso y obesidad definido por percentilas de índice de masa corporal (ver definiciones operacionales).
- Diagnóstico de esteatosis hepática por medio de elastografía transitoria.
- Consentimiento y asentimiento informado verbal y escrito.
- Acudir a todas las consultas.

Criterios de exclusión.

Pacientes con diagnóstico de esteatosis hepática secundaria a otras patologías (1) el cual se encuentre consignado en el expediente, o en los casos en los que por medio de interrogatorio dirigido y por evaluación clínica se descartará:

- Esteatosis hepática secundaria a hepatitis viral (hepatitis B, hepatitis C, hepatitis D, citomegalovirus, virus de Epstein-Barr).
- Esteatosis hepática secundaria a hepatitis autoinmune.
- Esteatosis hepática secundaria a trastornos metabólicos (aminoacidurias, trastornos de la síntesis de ácidos biliares, trastornos del metabolismo de carbohidratos, trastornos de glicosilación, trastornos de lípidos y ácidos grasos, trastornos mitocondriales, acidemias orgánicas, trastornos peroxisomales, deficiencia de citrina, enfermedad de Wilson, fibrosis

quística, síndrome de Shwachman-Diamond, deficiencia de alfa-1-antitripsina).

- Esteatosis hepática secundaria a enfermedad inflamatoria intestinal (Enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa crónica), enfermedad celíaca o trastornos anatómicos del tracto biliar (colangitis esclerosante).
- Esteatosis hepática secundaria a trastornos endocrinos (diabetes no controlada, trastornos tiroideos, deficiencia de 21-a-hidroxilasa, hiperlipidemia no controlada).
- Esteatosis hepática secundaria a etiología quirúrgica (Bypass gástrico, procedimiento de Whipple, asa ciega).
- Esteatosis hepática secundaria a uso de nutrición parenteral total.
- Esteatosis hepática secundaria a fármacos (nifedipino, diltiazem, tamoxifen, estrógenos, amiodarona, metotrexate, terapia antiretroviral, ácido valproico).
- Esteatosis hepática secundaria a toxinas o alcohol (consumo de alcohol superior a 140 gramos/semana).
- Desnutrición.

Criterios de eliminación

- Desarrollo de comorbilidad hepática de cualquier etiología, diferente de la NAFLD que modifique los niveles de rigidez y elasticidad del tejido hepático o los patrones de inflamación.
- Necesidad de tratamiento farmacológico que modifique el impacto de los factores moduladores de la epigenética sobre la evolución de la NAFLD
- Solicitud de alta voluntaria del estudio.

8.4. VARIABLES DE ESTUDIO

Variables Independientes		Variables Dependientes	
Variable de interés	Defunción Operacional	Variable de Interés	Definición Operacional
Sexo	Nominal dicotómica 1.Masculino 2.Femenino	Esteatosis medida por Elastografía Transitoria (db/m)	Catagórica 1.S0: 0 a 233 2.S1: 234 a 268 3.S2: 269 a 300 4.S3: 301 a 400
Edad	Cuantitativa continua (años)	Fibrosis hepática medida por Elastografía Transitoria (kPa)	Catagórica 1.F0-F1: <7 2.F2: 7-8.7 3.F3: 8.8-10.3 4.F4: >10.3
Peso	Cuantitativa continua (kg)		
Talla	Cuantitativa continua (cm)		
Indice de Masa Corporal (IMC)	Cuantitativa continua (kg/m ²)		
Normopeso	Cualitativa (Catagórica)		
Sobrepeso	Cualitativa (Catagórica)		
Obesidad	Cualitativa (Catagórica)		
ALT	Cuantitativa continua (IU/L)		
AST	Cuantitativa continua (IU/L)		
FA	Cuantitativa continua (IU/L)		
GGT	Cuantitativa continua (IU/L)		
Plaquetas	Cuantitativa continua (10 ³ UL)		
Glucosa	Cuantitativa continua (mg/dL)		
Insulina	Cuantitativa continua (uUI/mL)		
Triglicéridos	Cuantitativa continua (mg/dL)		
Colesterol	Cuantitativa continua (mg/dL)		
Colesterol HDL	Cuantitativa continua (mg/dL)		
Colesterol LDL	Cuantitativa continua (mg/dL)		
Ferritina	Cuantitativa continua (ng/mL)		
Ácido úrico	Cuantitativa continua (mg/dL)		
Actividad física	Cuantitativa continua (min/día)		
Sedentarismo	Cuantitativa continua (min/día)		
Contenido de fructosa en dieta	Cuantitativa continua (gramos/día)		
Contenido de grasa en dieta	Cuantitativa continua (gramos/día)		
Perfil de microbiota intestinal <i>Bacteroidetes</i> <i>Firmicutes</i> <i>Actinobacteria</i> <i>Proteobacteria</i>	Cuantitativa continua Abundancia relativa (porcentaje)		
Polimorfismo rs738409 de PNPLA3 (C/G, I148M)	Catagórica Genotipos 1.CC 2.CG 3.GG		

Definición Conceptual

- Esteatosis hepática: acumulación anormal de grasa que afecta a más del 5% de los hepatocitos, definida por técnicas de imagen, cuantificación directa o estimación histológica [1]. Para el protocolo se definirá acorde a la clasificación de estadios definidos por valores de elastografía transitoria.
- Fibrosis hepática: esteatosis o esteatohepatitis no alcohólica con puentes de fibrosis periportal, portal o sinusoidal [1]. Para el protocolo se definirá acorde a la clasificación de estadios definidos por valores de elastografía transitoria.
- Elastografía transitoria (ET): se basa en el hecho de que la velocidad de la propagación de una onda de corte elástica depende de la rigidez (o elasticidad) del medio. Cuanto más duro es el medio, más rápido se propaga la onda de corte. Se obtendrán 2 mediciones: el parámetro de atenuación controlada (CAP, expresado en dB/m), como indicador de esteatosis y LSM (Liver Stiffness Measurement, expresado en kPa) como indicador de rigidez hepática [50].
- Sexo: la totalidad de las características de las estructuras reproductivas y sus funciones, fenotipo y genotipo, que diferencian al organismo masculino del femenino [85].
- Edad: tiempo transcurrido a partir del nacimiento del paciente, expresado en años [85].
- Peso: indicador de masa corporal total necesario para detectar alteraciones en el estado nutricional; se expresará en kilogramos. Para evitar errores de registro, se pedirá al paciente que se retire el calzado y la ropa, se otorgará una bata pesándolo en la báscula la cual estará en una superficie plana. Antes de pesar al paciente se registrará que la báscula esté en ceros (00). Para una correcta medición, el sujeto debe estar en posición erecta y relajada, con la vista fija en un plano horizontal. Las palmas de las manos extendidas y descansando lateralmente en los muslos; con los talones ligeramente separados, los pies formando una uve (V) ligera y sin hacer movimiento alguno [86].
- Talla: se compone de la suma de cuatro componentes: las piernas, la pelvis, la columna vertebral y el cráneo; es un indicador de crecimiento lineal expresado

en centímetros. La determinación se realizará con un estadímetro portátil. Antes de iniciar la medición se pedirá al paciente que se retire el calzado y se quite cualquier objeto que traiga en la cabeza ya que estos pueden alterar los datos observados y dificultar el registro de la talla. Se medirá de pie, de espalda a la pared, los talones, pantorrillas, glúteos, espalda y cabeza deberán estar totalmente recargados en la pared. La línea media del cuerpo deberá coincidir con la línea media de la cinta del estadímetro. El antropometrista se ubicará a la izquierda del paciente, y con su mano izquierda tomará la barbilla del sujeto, a fin de controlar la cabeza y orientarla hacia el plano de Frankfort; con su mano derecha deslizará la pieza móvil de manera vertical hasta colocar la parte coronal de la cabeza formando un ángulo de 90 grados y procederá a registrar el dato observado [86].

- Índice de masa corporal (IMC): es un indicador antropométrico que se calculará al dividir el peso (en kilogramos) entre la estatura (en metros) al cuadrado, y se expresará como kg/m^2 [86].
- Normopeso: indicador nutricional establecido si el IMC se encuentra entre el percentil 15 y < 85 en niños (mayores de 5 años) y adolescentes [87, 88].
Sobrepeso: indicador nutricional establecido si el IMC es superior al percentil 85 pero inferior al percentil 95 [87, 88].
- Obesidad: acumulación excesiva de grasa corporal que puede ser perjudicial para la salud. En niños y adolescentes el diagnóstico se establece si el IMC es superior al percentil 95 o si el IMC es mayor a 2 DE [87, 88].
- ALT: enzima del metabolismo intermedio, que cataliza la transferencia de alanina al ácido acetoglutárico, formando ácido oxalacético y ácido pirúvico. [89-91]. Los valores de referencia se ajustarán acorde a edad y sexo según la Guía de Práctica Clínica de NAFLD en niños y adolescentes. Estos puntos de corte son 22 mg/dL para niñas y 26 mg/dL para niños [1].
- AST: enzimas del metabolismo intermedio, que catalizan la transferencia de grupos amino del ácido aspártico al ácido acetoglutárico, formando ácido oxalacético y ácido pirúvico [89-91]. Los valores normales de AST para niños > 2 son 15-40 IU/L, en tanto para niñas > 2 años son de 13-35 IU/L [90].

- Fosfatasa Alcalina (FA): enzima que cataliza la conversión de un monoéster ortofosfórico y agua en un alcohol y ortofosfato. [89-91]. Los valores normales de FA en niños y adolescentes son de 20 a 120 IU/L [90].
- Gamaglutamil transferasa (GGT): prueba de función hepática, denominada enzima de colestasis, cuya función es romper determinados enlaces entre moléculas y transferir grupos gamma glutamil [89-91]. Los valores normales de GGT para niños de 4 a 10 años son 5-32 IU/L, en tanto para adolescentes los valores son de 5-24 IU/L [90].
- Plaquetas: son partículas celulares esenciales para el normal desarrollo de la hemostasia y cumplen un rol protagónico en los desórdenes tanto trombóticos como hemorrágicos. Las plaquetas tienen su origen en la fragmentación citoplasmática del megacariocito [92]. Su utilidad diagnóstica radica en que son utilizadas para el cálculo de índices o scores para evaluar fibrosis hepática. Los valores normales de plaquetas para niños y adolescentes son de 150 a 450 x 10³ UL [90].
- Glucosa: es un monosacárido cuya función principal es producir energía para el ser vivo y poder llevar a cabo los procesos que ocurre en el cuerpo como: la digestión, multiplicación de células, reparación de tejidos, entre otros. Asimismo, la glucosa es uno de los principales productos de las fotosíntesis y combustible para la respiración celular [85]. Los valores normales de glucosa para niños y adolescentes son de 60-100 mg/dl [90].
- Insulina: hormona proteica segregada por las células beta del páncreas. La insulina desempeña un papel fundamental en la regulación del metabolismo de la glucosa, generalmente promoviendo la utilización celular de la glucosa. También es un regulador importante del metabolismo proteico y lipídico [85]. Los valores normales de insulina para niños y adolescentes son de 1.9 a 23 uUI/mL [90].
- Triglicéridos: lípidos plasmáticos insolubles en medio acuoso [93]. Los valores normales de triglicéridos para niños y adolescentes son de 40 a 150 mg/dL [90].

- Colesterol: forma parte de las membranas celulares, sirve como precursor de todas las hormonas esteroideas, ácidos biliares, y de la vitamina D [93]. Los valores recomendados de colesterol para niños y adolescentes son menores a 200 mg/dL [90].
- Colesterol HDL (c-HDL): lipoproteína de alta densidad. El c-HDL se produce en el hígado y en el intestino. La principal proteína de las HDL es la apo A-I (peso molecular 28 000 Da), encargada del destino de las HDL. [93]. Los valores recomendados de c-HDL para niños y adolescentes son mayores a 35 mg/dL [90].
- Colesterol LDL (c-LDL): lipoproteína de baja densidad. Las c-LDL son sintetizadas en el hígado: Tienen una concentración alta de colesterol y moderada de fosfolípidos, y no contienen triglicéridos. Su apolipoproteína asociada de mayor importancia es apo B-100. Debido a su alta aterogenicidad, es de gran interés clínico, típicamente representa entre 60-70% del colesterol sérico total y su función es transportar el colesterol desde el hígado hacia los tejidos periféricos [93]. Los valores recomendados de c-LDL para niños y adolescentes son menores a 130 mg/dL [90].
- Ferritina: es una proteína intracelular compuesta de una cubierta proteínica formada por 24 subunidades que rodea un núcleo que puede almacenar hasta 4000 o 4500 átomos de hierro [85]. Los valores recomendados de ferritina en niños de 6 meses a 16 años son de 7-140 ng/mL [90].
- Ácido úrico: producto de oxidación, vía xantino oxidasa, de oxipurinas tales como la xantina y la hipoxantina. Producto final de oxidación del catabolismo de la purina en seres humanos [85]. Los valores recomendados de ácido úrico en niños de 6 a 11 años son de 2.2 a 6.6 mg/dL; en tanto, para adolescentes varones de 12 a 19 años los valores recomendados son de 3.0 a 7.7 mg/dL y para adolescentes mujeres los valores recomendados son de 2.7 a 5.7 mg/dL [90].
- Actividad física: movimientos corporales de un ser humano o de un animal como fenómeno conductual [85]. La evaluación de la actividad física será por

medio del cuestionario de actividad física y sedentarismo empleado en la ENSANUT-MC 2016 [94].

- Sedentarismo: comportamiento que involucra un bajo gasto energético y, a menudo se lleva a cabo en una postura sentada o reclinada [85]. La evaluación del sedentarismo será por medio del cuestionario de actividad física y sedentarismo empleado en la ENSANUT-MC 2016 [94].
- Fructosa: monosacárido que se encuentra en frutas dulces y la miel, soluble en agua, alcohol o éter [85].
- Grasa: ésteres glicerol de un ácido graso o de una mezcla de ácidos grasos. Son importantes en la dieta como fuente de energía [85].
- Perfil de microbiota intestinal: composición cuantitativa y cualitativa de la microbiota. Los cambios pueden conducir a la alteración de la interacción microbiana-huésped o desequilibrio homeostático que puede contribuir a un estado de enfermedad a menudo con inflamación [95]. Aproximadamente el 98% de todas las especies bacterianas que componen la microbiota intestinal pertenecen a los siguientes filos: Firmicutes (64%) y Bacteroidetes (23%), que representan la mayor parte de la microbiota intestinal además de Proteobacteria (8%) y Actinobacteria (3%) [96]. El filo Firmicutes contiene más de 250 géneros, incluido *Lactobacillus* [97]. El phylum Bacteroidetes, similar a Firmicutes, se encuentra en el intestino delgado y grueso, especialmente en el colon, y abarca varios géneros, como *Bacteroides*, *Flavobacteria* y *Sphingobacteriales*, siendo *Bacteroides thetaiotaomicron* uno de los más abundantes [98]. Para fines del protocolo, sólo se describirá el valor porcentual de la microbiota intestinal.
- Polimorfismo rs738409 de PNPLA3: polimorfismo de nucleótido único de una citosina por guanina (C/G) en el codón 148 del gen de adiponutrina o PNPLA3 (patatin-like phospholipase domain-containing 3 gene), fuertemente asociado a la NAFLD [56].

8.5. DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTOS.

8.5.1 Descripción General del Estudio

Etapas 1: Identificación y captación de pacientes.

- Una vez aprobado el protocolo de investigación, previo consentimiento informado y asentimiento del menor, se incluirán en el estudio sujetos de 6 a 16 años, que acudan al Centro de Atención Metabólica Integral del Niño y el Adolescente del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” durante el tiempo comprendido de 12 meses. La captación de pacientes inició el mes de marzo de 2020, siendo suspendida el 23 de marzo de 2020 debido a declaración de contingencia epidemiológica por COVID19.
- Se efectuará historia clínica completa y exploración física, así como evaluación antropométrica mediante determinación de peso, talla e IMC mediante medidor de composición corporal marca Tanita SC331s.
- Para la evaluación de la rigidez hepática (LSM) y el parámetro de atenuación controlada (CAP), se utilizará elastografía con onda de corte a través de Fibroscan®, acorde con las instrucciones del fabricante. Se utilizará transductor de 3.5 MHz con diámetro de 7 mm para medir simultáneamente LSM y CAP. Con el niño en decúbito dorsal, se identificará la región hepática libre de las estructuras vasculares mayores. La punta del transductor se colocará sobre la piel entre las costillas a nivel del lóbulo derecho del hígado y se registrarán los valores de LSM en kPa, calculándose la mediana de 10 mediciones individuales. CAP representa la medición de la atenuación de las ondas del ultrasonido en el hígado a 3.5 MHz medidos al mismo tiempo que el LSM. El valor final de CAP el cual varía de 100 a 400 decibeles por metro (dB/m) se calculará como la mediana de 10 mediciones individuales. Una vez obtenidos los valores de CAP y LSM se estadificarán acorde a los valores previamente mencionados.

Etapa 2: Ingreso de pacientes a la cohorte.

- Una vez que se identificó que el paciente reunió los criterios de inclusión, adicional a la exploración física y evaluación antropométrica, se aplicarán cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos y de evaluación de actividad física y sedentarismo, los cuales se describen a continuación.
- Aplicación de cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos. La información de la dieta se obtendrá por medio de un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos, el cual se aplicará por nutrióloga certificada. La ingesta de energía y nutrientes se calculará mediante una base de datos de composición de alimentos del USDA usando el software Food Processor (ESHA). Se registrará el consumo de fructosa y grasa en gramos totales, en kilocalorías y en porcentaje respecto a la energía total consumida.
- Aplicación de cuestionario para la evaluación de actividad física y sedentarismo. Se aplicará cuestionario validado en población mexicana para medir actividad física y conducta sedentaria. Los adolescentes y niños, se clasificarán como físicamente activos si realizan 420 minutos de actividad física moderada/vigorosa los 7 días a la semana y físicamente inactivos si no cumplen con este criterio. Los resultados identificados se incorporarán en formato de recolección de información ensamblada para los fines del estudio.
- Asimismo, en la consulta basal se obtendrán 5 mL de sangre total, los cuales se centrifugarán para la obtención de plasma para la medición de AST, ALT, FA, GGT, plaquetas, glucosa, insulina, triglicéridos, colesterol total, c-HDL, c-LDL, ácido úrico y ferritina.
- De forma paralela, durante el desarrollo de esta etapa, se realizarán la evaluación de microbiota fecal y la determinación del polimorfismo genético.

Evaluación y determinación de microbiota fecal.

Descripción del procedimiento.

- Se realizará toma de muestra de materia fecal para llevar a cabo análisis microbiológico, evaluación de abundancia, diversidad y estabilidad a través de

la técnica de PCR cuantitativo (qPCR, Polymerase Chain Reaction cuantitativa o en tiempo real con un equipo Light cycler 480), al inicio del estudio.

- Para la extracción del DNA total de las muestras de materia fecal se utilizará el kit comercial ZR Fecal DNA MiniPrep™ (Zymo Research, USA), de acuerdo al protocolo del fabricante, como se menciona a continuación. De manera general la extracción del DNA por este kit incluye: obtención de un lisado, eliminación de impurezas, ajuste de pH y sales para evitar favorecer la unión del DNA a la membrana de sílica, lavado y elución del DNA, para lo cual, se transferirán 250 µL de muestra de heces clarificadas en solución salina de fosfatos (PBS) al tubo (ZR Bashing Bead Lysis), se adicionarán 750 µL de la solución de lisis del kit y se agitará a máxima velocidad por 10 minutos con ayuda de un vortex Genie 2 de Scientific Industries, Inc.; enseguida se centrifugará a 4°C ≥10 000 g/1 minuto en la centrífuga Legend Micro 21R de Thermo Scientific, el sobrenadante se transferirá a 400 µL en la columna (Zymo-Spin™ IV Spin Filter) con tubo colector, luego se centrifugará a 7 000 g/1 minuto; al filtrado se adicionarán 200 µL de buffer (Fecal DNA Binding Buffer), la mezcla se filtrará en la columna con tubo colector (Zymo-Spin™ IIC Column) y de nuevo se centrifugará a 10 000 g/ 1minuto; enseguida se le adicionará 500 µL de fecal DNA Wash Buffer y nuevamente se centrifugará a 10 000 g/ 1 minuto; para eluir el DNA soportado en la membrana de la columna se adicionarán 50 µL de DNA Elution Buffer y se incubará a temperatura ambiente por 2 minutos, posteriormente se centrifugará a 10 000 g/ 30 segundos; el filtrado se pasará por la columna (Zymo-Spin™ IV-HRC Spin Filter) que previamente se colocó en un tubo eppendorf de 1.5 mL estéril, finalmente se centrifugará a 8 000 g/ 1 minuto. Para inactivar las DNasas, se incubará a 90°C/ 10 minutos. La cuantificación espectrofotométrica del DNA total obtenido se medirá a una longitud de onda (λ) (260/280) en el espectrofotómetro NanoDrop One de Thermo Scientific. El DNA total se almacenará a -70°C hasta su estudio.
- La cuantificación de cada phylum bacteriano (Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacterias y Proteobacterias) se llevó a cabo por qPCR. Se amplificará y

se cuantificará siguiendo la metodología de Bergstrom. Se utilizarán los iniciadores específicos para la región que codifica para el 16S rRNA para cada phylum bacteriano y se cuantificarán con SYBER Green en unidades arbitrarias de fluorescencia:

Primer	Fylum	Secuencia
U1	Universal	ACTCCTACGGGAGGCAGCAGT AGCTGACGACAACCATGCAG
F1	Firmicutes	TGAAACTYAAAGGAATTGACG ACCATGCACCACCTGT
B1	Bacteroidetes	GGARCATGTGGTTTAATTCGATGAT GTATTACCGCGGCTGCTGGCAC
A1	Actinobacteria	GCGTGCTTAACACATGCAAGTC CACCCGTTTCCAGGAGCTATT

Realización de estudio genético. Se encuentra pendiente en cuanto las condiciones epidemiológicas lo permitan con la finalidad de aportar mayor información al presente protocolo.

- Realización de estudio genético. Para realizar la extracción de DNA genómico de sangre total, se obtendrá una muestra de sangre total en tubos con anticoagulante (EDTA). Se obtendrá una alícuota de 1.0 mL y el resto será almacenado a -20°C. La extracción de DNA, se realizará con el kit QIAamp 96 DNA Blood Kit (Qiagen, Hilden, Germany). La pureza y concentración del DNA será evaluada con NanoDrop ND 100. Para la genotipificación de la variante alélica rs738409 de PNPLA3 se realizará mediante PCR en tiempo real con sondas TaqMan, en el sistema StepOne (Applied Biosystems) para la cuantificación absoluta de fluorescencia y el análisis de discriminación alélica. Se obtendrán frecuencias alélicas y genotípicas y se analizará si estas se distribuyen de acuerdo a lo esperado por la ley del equilibrio de Hardy Weinberg.

Etapa 3: Análisis y difusión de resultados.

Para la realización del análisis de resultados y su difusión por medio de la escritura de productos de investigación, participarán el investigador principal, los investigadores asociados y el investigador asociado principal.

9. ANALISIS ESTADISTICO

ANALISIS UNIVARIADO.

Toda la información será capturada en una base de datos en excel, diseñada previamente para este propósito.

Toda la información se verificará mediante la evaluación de consistencias y se realizarán las modificaciones correspondientes. La fuente directa de la información será el expediente clínico de los pacientes incluidos.

La base será transferida al paquete estadístico para las ciencias sociales (SPSS), donde se definirán los nombres de las variables y las opciones de respuesta.

Para el análisis univariado, todas las variables sociodemográficas, clínicas y de laboratorio se analizarán en función de sus características.

Para las variables cualitativas, se realizarán frecuencias simples y se reportará la proporción y el número de sujetos correspondiente a cada categoría; para las variables cuantitativas, se reportará la distribución percentilar (5, 10, 25, 50, 75, 90, 95), las medidas de tendencia central (media aritmética e IC95%) y las de dispersión (mediana).

ANALISIS BIVARIADO.

El análisis bivariado será realizado en dos escenarios. El primero, comprenderá la relación entre la variable dependiente Esteatosis Hepática No Alcohólica, respecto a todas las variables independientes sociodemográficas, clínicas y de laboratorio respectivas: Sexo, Edad, IMC (Kg/m²), CAP (dB/m), E (kPa), Glucosa (mg/dL),

Insulina (uUI/mL), HOMA-IR, Triglicéridos (mg/dL), Colesterol (mg/dL), c-HDL (mg/dL), c-LDL (mg/dL), ALT (UI/L), AST (UI/L), GGT (UI/L), FA (UI/L), Ácido Úrico (mg/dL), Ferritina (ng/mL), Plaquetas ($10^3/uL$), APRI, FAST, Kilocalorías (Kcal), Hidratos de Carbono (g), Fructosa (g), Fibra (g), Proteínas (g), Lípidos (g), % Hidratos de Carbono, % Fructosa, % Proteínas, % Lípidos, % Hidratos de carbono simples, Actividad Física (minutos/día), Sedentarismo (minutos/día), % Firmicutes, % Bacteroidetes, % Proteobacterias.

En segundo orden, continuando con la relación entre la variable dependiente Esteatosis Hepática No Alcohólica, se realizará análisis estratificando por sexo, respecto a todas las variables independientes sociodemográficas, clínicas y de laboratorio respectivas. Acorde a la evidencia clínica y científica, mostrada en el marco conceptual, acorde al Gráfico de Bosque (Funnel Plot) de Anderson (2015) [2], el riesgo es mayor en los niños en comparación a las niñas, la variable sexo, se definió, en ambos escenarios, para las variables cuantitativas, para cada una de las categorías de Estatosis Hepática No Alcohólica (Grado I, II, III), para el contraste de medias, se presentarán media aritmética e IC95% y la mediana y sus respectivos gráficos de cajas y bigotes (boxplot); a su vez, se presentarán las respectivas diferencias de las medias y sus respectivos IC95%.

Para estimar la significancia estadística de las diferencias de las medias, se procederá a utilizar la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, reportándose el estimador y su respectivo nivel de significancia (valor p).

Para la valoración de los supuestos de simetría y homogeneidad de varianzas, se utilizarán las pruebas de bondad de ajuste de Shapiro-Wilks ($N < 30$) o Kolmogorov-Smirnov ($N > 30$) sujetos; y en forma exploratoria, la F de Snedecor, dada por el análisis de la varianza.

Todas las variables, que en ambos escenarios, tengan relevancia estadística ($p < 0.05$) serán las variables candidatas para incluirse al modelo multivariado.

ANALISIS MULTIVARIADO.

Para el modelo multivariado, se realizará un modelo logístico multinomial, el cual es acorde al uso de variables dependientes politómicas o más de dos categorías, como lo es la variable dependiente Esteatosis Hepática No Alcohólica (Grado I, II, III), y que representa una generalización del modelo de regresión logística (Hosmer and Lemeshow, 2013) [99]. A su vez, es adecuado que las variables en estudio (independientes) sean cuantitativas y/o cualitativas. Se reportarán los coeficientes, la OR (odds ratio) e IC95%, y el estadístico de Wald y su nivel de significancia.

Para la verificación del ajuste de los modelos, se reportarán: la Prueba de Razón Verosimilitud (con su respectivo estadístico X^2 y su nivel de significancia); la Deviance o Devianza (con su respectivo estadístico X^2 y su nivel de significancia), y el porcentaje de clasificación global y para cada una de las categorías de la Esteatosis Hepática No Alcohólica (Grado I, II, III).

Para constatar que cada una de las variables candidatas (IMC, CAP, Triglicéridos, Colesterol, cLDL, ALT, AST, GGT, FA, Ácido úrico, Actividad física, Sedentarismo, APRI, FAST) es adecuada para ingresar al modelo multivariado final, se realizarán los siguientes pasos de ejecución.

Posterior al análisis bivariado, se realizarán catorce (14) modelos de regresión logística multinomial simple, lo cual significa que una a una de las catorce variables candidatas (IMC, CAP, Triglicéridos, Colesterol, cLDL, ALT, AST, GGT, FA, Ácido úrico, Actividad física, Sedentarismo, APRI, FAST) a ingresar al modelo de regresión logística multinomial final, se ingresarán una a una a un modelo multivariado, razón por lo cual lo denominamos modelo multivariado de regresión logística multinomial. Ello permitirá verificar el comportamiento observado durante el análisis bivariado y que se conserva en el multivariado.

En todos los modelos de regresión logística multinomial la variable dependiente es Esteatosis Hepática No Alcohólica (Grado I, II, III) y la categoría de referencia es el grado I; por lo que se observarán y reportarán los coeficientes, la OR (odds ratio) e IC95%, y el estadístico de Wald y su nivel de significancia de la categoría II y III.

En el caso de la variable sexo, ésta será manejada como variable dummy o fantasma, siendo el sexo masculino la categoría de interés de riesgo (1), en comparación con el femenino (0).

10. ASPECTOS ÉTICOS.

Con base al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección II, este estudio tiene una clasificación de riesgo mínimo.

11. RESULTADOS

Agradecemos al H. Comité de Sinodales, hagan hincapié en la NOTA ACLARATORIA, en página inicial de este documento, en que los resultados que se presentan son los resultados transversales, correspondientes a la visita 1 o basal, y por lo tanto, son resultados preliminares del objetivo general.

Se presentan resultados transversales, de la visita basal, de una cohorte de niños que fueron atendidos del 01 de marzo al 18 de marzo de 2020. Es importante mencionar, que debido a la pandemia por SARS-CoV-2 y dado que oficialmente las autoridades de la Secretaría de Salud indicaron que el Hospital General “Dr. Manuel Gea González” sea hospital de atención a la COVID-19, todas las actividades clínicas fueron suspendidas desde el 23 marzo del 2020 y continúan a mínima apertura hasta el momento de reporte de los siguientes resultados.

Para la presentación de los resultados preliminares, se tienen datos completos de todas las variables sociodemográficas y clínicas de 93 sujetos; sin embargo, en

las variables clínicas % firmicutes, % bacteroidetes y % proteobacterias, solo 65 sujetos tienen dicha información. Se presentan resultados de estas tres variables, univariados y bivariados, pero no se consideran para el modelo de regresión logística multinomial o politómica; ello con oportunidad de que no se reduzca el número de sujetos en estudio, según estratos de la esteatosis hepática no alcohólica (grados I, II, III).

También debemos comunicar, que por la relevancia clínica que tienen nuestros datos clínicos, acordes a la evidencia disponible analizada, asumimos dos escenarios de trabajo: uno, para destacar la relevancia clínica se procedió a realizar análisis estadístico paramétrico; y, el dos, para ser consecuentes con la falta de cumplimiento de los supuestos de simetría y homogeneidad de varianzas por el efecto aleatorio del estudio (tamaño de la muestra pequeña), se realizó análisis no paramétrico.

Por supuesto, que también con la intención de aprender sobre ambos escenarios de análisis, entendiendo claramente las divergencias entre ellos, de acuerdo a los supuestos vulnerados.

El análisis para toda la población comprendió, la distribución percentilar. Los supuestos de normalidad o simetría se analizaron mediante los estadísticos de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro Wilks. Para la muestra de estudio, acorde al estadístico de Kolmogorov-Smirnov no se observa simetría; al realizar análisis por sexo, acorde al estadístico de Shapiro-Wilks no se observa simetría.

Se reportan la media aritmética e IC95% y la mediana. Se asume vulneración del supuesto de simetría y la ausencia de varianzas.

El análisis bivariado, considerando a la esteatosis hepática como variable dependiente en relación a todas las variables sociodemográficas y clínicas de estudio, y para el análisis estratificado por sexo, los supuestos de normalidad o

simetría se analizaron mediante el estadístico de Shapiro Wilks y la distribución mediante el gráfico de cajas y bigotes.

Se reportan la media aritmética e IC95% y la mediana; la comparación de medias se realiza a través del análisis de la varianza; el análisis se enfoca al análisis de tendencia, según gradiente mostrado por la esteatosis hepática no alcohólica (Grado I, Grado II, Grado III); y en el caso que no se observe tendencia, se utiliza en el contraste entre medias, mediante el estadístico de la F de Snedecor y la prueba de tendencia lineal. Se pone énfasis en la diferencia e IC95%, con oportunidad de observar la magnitud de la diferencia. Todos los gráficos de cajas y bigotes se presentan en los Anexos.

A continuación, se reportan los resultados observados en el siguiente orden:

I. para toda la población, II. estratificando según los grados de la variable dependiente esteatosis hepática no alcohólica, y por último, III. un análisis por subgrupos, conservando la estratificación de la variable dependiente.

I.TODA LA POBLACIÓN

Con oportunidad de realizar un análisis que nos permita abordar detalles en la distribución de las variables clínicas y de laboratorio, se obtuvo la distribución de percentiles (Ver Anexos, Cuadro I).

En correspondencia, por debajo y por arriba de la mediana (percentil 50) se observó una distribución de la edad entre 8 a 10.5 años, y entre 14 a 16 años; el Índice de Masa Corporal (IMC) entre 21.10 a 24.55 Kg/m², y entre 31.70 a 39.58 Kg/m²; el Parámetro de Atenuación Continuada (CAP) entre 239.40 a 256 dB/m, y entre 327.5 a 377.30 dB/m; la rigidez (E) sugestiva de fibrosis hepática determinada por elastografía transitoria entre 3 y 4 kPa, y entre 5.80 y 9.65 kPa; la glucosa entre 72.40 y 79.50 mg/dL, y entre 92 y 102 mg/dL; la insulina entre 4.25 y 11.60 uUI/mL, y entre 22.93 y 41.21 uUI/mL; la resistencia a la insulina (HOMA-IR) entre 0.87 y 2.29, y entre 4.91 y 9.04; los triglicéridos entre 69.90 y

105 mg/dL, y entre 177 y 227.30 mg/dL; el colesterol entre 126 y 142 mg/dL, y entre 188 y 214.40 mg/dL; el c-HDL entre 27 y 35 mg/dL, y entre 48 y 62.20 mg/dL; la ALT entre 12.70 y 17 UI/L, y entre 41 y 102 UI/L; la AST entre 16 y 20 UI/L, y entre 32 y 60.90 UI/L; la GGT entre 12 y 18 UI/L, y entre 27 y 57.70 UI/L; la FA entre 120.80 y 217.50 UI/L, y entre 346.50 y 484.50 UI/L; el ácido úrico entre 3.40 y 4.25 mg/dL, y entre 6.05 y 8.83 mg/dL, la ferritina entre 19.52 y 33.85 ng/mL, y entre 66.45 y 100.63 ng/mL; las plaquetas entre 195.80 y 242.50 $10^3/uL$ y entre 342 y 437.40 $10^3/uL$; el APRI entre 0.11 y 0.15, y entre 0.31 y 0.57; el FAST entre 0.02 y 0.06, y entre 0.25 y 0.61; las kilocalorías entre 994 y 1285 kcal, y entre 1942.50 y 2446 kcal; los hidratos de carbono entre 128.30 y 171.50 g, y entre 287 y 387 g; la fructosa entre 3.70 y 6.00 g, y entre 19 y 33.23 g; la fibra entre 0 y 2.50 g, y entre 11.25 y 22.73 g; las proteínas entre 39.45 y 56.75 g, y entre 89.5 y 108 g; los lípidos entre 20.75 y 35 g, y entre 61 y 73 g; el porcentaje de hidratos de carbono entre 42.70 y 50 %, y entre 59.5 y 76.5 %; el porcentaje de fructosa entre 0.87 y 1.78 %, y entre 4.41 y 9.90 %; el porcentaje de proteínas entre 13 y 15.87 %, y entre 19 y 24 %; el porcentaje de lípidos entre 14.50 y 23 %, y entre 31 y 37 %; el porcentaje de hidratos de carbono simples entre 0 y 3.10 %, y entre 13 y 24.7 %; la actividad física entre 0 y 27.5 minutos/día, y entre 42.5 y 60 minutos/día; el sedentarismo entre 60 y 90 minutos/día, y entre 180 y 240 minutos/día. La microbiota intestinal se evaluó en relación al porcentaje de Firmicutes, Bacteroidetes y de Proteobacterias en 65 sujetos: el porcentaje de Firmicutes entre 34 y 43 %, y entre 50.5 y 54 %; el porcentaje de Bacteroidetes entre 34 y 38.5 %, y entre 47.5 y 59 %; el porcentaje de Proteobacterias entre 3 y 5 %, y entre 8 y 9 %.

II.SEGÚN ESTEATOSIS HEPÁTICA NO ALCOHÓLICA

Se presentan resultados de 93 sujetos, la edad promedio fue de 12.12 años, IC95%: 11.63 a 12.60; el 61.3% (n=57) fueron hombres, y el 38.7% (n=36) mujeres. El 88.2% en conjunto presentaron sobrepeso y obesidad, siendo el 68.8% (n=64) los que tenían obesidad y el resto sobrepeso; mientras que el 11.8% (n=11) estaban en categoría de normopeso.

Para la esteatosis hepática no alcohólica (db/m) según grados, el 36.6% (n = 34) fueron clasificados como esteatosis grado 1, el 24.7% (n =23) como grado 2 y el 38.7% (n = 36) como grado 3.

Al realizar contrastes entre los grados de esteatosis hepática en relación a las variables sociodemográficas, antropométricas y bioquímicas, se observaron los siguientes resultados.

Al contrastar las variables de estudio en función de los grados de la esteatosis hepática, se observaron diferencias importantes entre las medias aritméticas; acorde a las prueba paramétrica de F de Snedecor, fueron altamente significativas ($p = 0.000$) para IMC, CAP, Triglicéridos, FA, FAST, Actividad física, Sedentarismo, % Firmicutes, % Bacteroidetes, % Proteobacterias; significativas ($p < 0.05$) para cHDL, ALT, AST, GGT, Ácido úrico, APRI; y marginal ($p = 0.05$) para Colesterol (Ver Anexos, Cuadro II).

En forma complementaria, considerando que no se cumple el supuesto de normalidad y homogeneidad de varianzas, también se obtuvo el estadístico no paramétrico de Kruskal – Wallis, con los mismos resultados e incluso, siendo casi todas las variables altamente significativas ($p = 0.000$) (Ver Anexos, Cuadro III).

Por relevancia clínica, interesa reportar las diferencias de las medias más importantes (estadísticamente significativas) entre los grados de esteatosis hepática y las siguientes variables: IMC, CAP, triglicéridos, c-HDL, ALT, AST, GGT, FA, Acido úrico, APRI, FAST, actividad física, sedentarismo, % Firmicutes, % Bacteroidetes y % Proteobacterias. Dichas diferencias e IC95%, se reportan a continuación teniendo como referencia el grado III respecto al grado I y II, para los 93 sujetos del estudio.

Para el IMC de 3.72 e IC95% = 0.17 a 7.27 y 4.53 e IC95% = 1.36 a 7.71; CAP de 50.94, IC95% = 39.50 a 62.39; y de 86.43, IC95% = 76.18 a 96.68; Triglicéridos

de 37.43, IC95% = -2 a 76.87 ; y de 57.87, IC95% = 22.54 a 93.20; Colesterol 6.05 e IC95% = -11.93 a 24.03; y 16.62 e IC95% = 0.51 a 32.73; cHDL 6.80 e IC95% = -13.13 a -4.69 ; -3.39 e IC95% = -9.07 a 2.27; ALT 6.85 e IC95% = -14.31 a 28.02 ; 25.85 e IC95% = 6.88 a 44.81; AST 1.99 e IC95% = -9.50 a 13.49 ; 11.41 e IC95% = 1.12 a 21.71; GGT 8.24 e IC95% = -3.99 a 20.48 ; 13.43 e IC95% = 2.46 a 24.39; FA 40.43 e IC95% = -42.48 a 123.46; 100.07 e IC95% = 25.69 a 174.45; Ácido úrico -.06 e IC95% = -.96 a .82; .74 e IC95% = -.058 a 1.54; Actividad física 13.35 e IC95% = -22.82 a -3.90 ; 20.32 e IC95% = -28.80 a -11.85; Sedentarismo 53.58 e IC95% = 24.59 a 82.58 ; 74.26 e IC95% = 48.29 a 100.24; APRI .04 e IC95% = -.07 a .17 ; .12 e IC95% = .01 a .23; FAST .11 e IC95% = .02 a .21 ; .21 e IC95% = .12 a .29.

Para los 65 sujetos, las diferencias observadas en las variables % Firmicutes 2.26 e IC95% = -1.63 a 6.15; 5.36 e IC 95% = 1.47 a 9.25; % Bacteroidetes -3.54 e IC 95% = -8.34 a 1.26; -7.29 e IC 95% = -12.09 a -2.49; % Proteobacterias 1.36 e IC 95% = .23 a 2.49; 1.86 e IC95% = .73 a 2.99.

Es importante subrayar, que las diferencias puntuales, deben ser clínicamente relacionadas con el valor superior de su respectivo intervalo de confianza, ya que indica que tan grande puede llegar a ser dicha diferencia. Por supuesto, que también debe considerarse el efecto aleatorio, debido al tamaño de la muestra y que influye en la amplitud (precisión) del IC95%.

La distribución de las variables de estudio más relevantes, así como la distribución de las variables diferencia e IC95, se presentan en los respectivos gráficos de tallo y hoja (Ver anexos, Cuadros IV-VIII).

III. MODELO MULTIVARIADO

Es importante reiterar que se tiene un número de sujetos total de 93, y que al estratificar según sexo (masculino = 57, femenino = 36) y por esteatosis hepática no alcohólica (Grado I: 34, Grado II: 23, Grado III: 36), se tiene un escenario

basal, que aún cuando puede considerarse tamaño de muestra grande ($n > 30$ sujetos) consideramos que sí hay un efecto aleatorio, lo que nos conduce a una subestimación de nuestros estimadores (verbigracia: tienden al no efecto o pequeñas diferencias entre las medias, con IC95 potencialmente amplios), tanto en el análisis bivariado como en el multivariado.

Pese a ello, se asume el sesgo y se realizó un modelo multivariado de regresión logística multinomial o politómica, en el que se ejecutaron los siguientes procedimientos.

PRIMERO

Para el modelo multivariado global o general, teniendo como variable dependiente la esteatosis hepática no alcohólica, se estableció como categoría de referencia el Grado I.

Como parte de la exploración del comportamiento del mismo modelo, se ingresaron las catorce variables identificadas en el análisis bivariado, como estadísticamente significativas: IMC, CAP, Triglicéridos, Colesterol, cLDL, ALT, AST, GGT, FA, Ácido úrico, Actividad física, Sedentarismo, APRI, FAST. No se muestran los resultados para no hacer innecesariamente extensos los anexos de resultados.

Como se enunció en párrafos anteriores, el modelo global o general o saturado, mostró inestabilidad en los coeficientes, OR e IC95%.

SEGUNDO

Para continuar con la exploración del comportamiento de las catorce variables de interés: IMC, CAP, Triglicéridos, Colesterol, cLDL, ALT, AST, GGT, FA, Ácido Úrico, Actividad física, Sedentarismo, APRI, FAST, una a una se fueron incluyendo en un modelo multivariado de regresión logística multinomial simple. Ello significa, que en relación a la variable dependiente (esteatosis hepática no alcohólica), se fue elaborando uno a uno de los modelos, es decir catorce. El

proposito central, era observar el rendimiento del modelo a través de la Prueba de Verosimilitud ($P < 0.05$), la Devianza ($P > 0.05$), así como el estadístico de Wald ($P < 0.05$).

En este sentido, es de esperarse que un buen modelo multivariado de regresión logística multinomial o politómico tenga una prueba de verosimilitud con mayor aporte si el estadístico de X^2 tiene un nivel de significancia es menos a 0.05 ($p < 0.05$) y la devianza indique un buen ajuste si el estadístico de X^2 tiene un nivel de significancia mayor a 0.05 ($p > 0.05$) (Hosmer and Lemeshow, 2013).

De los catorce modelos de regresión logística multinomial simple, se identificaron como variables con mejor comportamiento, a las variables sexo, actividad física y sedentarismo. No se muestran los resultados para no hacer innecesariamente extensos los anexos de resultados.

TERCERO

El modelo final, solo incluyó las variables sexo, actividad física y sedentarismo (Cuadro IX).

Tanto la Prueba de Verosimilitud ($X^2 = 67.742$, $P = 0.000$) como la Devianza ($X^2 = 55.101$, $P = 0.994$) indican un adecuado ajuste del modelo. Pese a ello, el porcentaje global de clasificación, en los tres grupos de la esteatosis hepática no alcohólica fue relativamente baja (69%).

Al observar el grado 2 y 3 de la esteatosis hepática no alcohólica, se puede observar que en relación al sexo, los niños en comparación de las niñas, tienen 4.4 veces mayor riesgo de presentar esteatosis hepática no alcohólica, y el riesgo puede llegar a ser tan grande como 15 veces. Sin embargo, hay que tener cuidado en la interpretación de los resultados, ya que como se ha comentado, se tiene un IC95% poco preciso (amplio) como resultado del impacto del pequeño número de sujetos. En el grado 3, el riesgo es de 12.5 veces en los niños en comparación de las niñas, y se observa el aumento desmedido del riesgo, dado

por el valor superior del IC95% de 64 veces. Por último, se observa un aumento del riesgo entre el grado 2 a 3, de 8 veces el riesgo para los niños (OR = 4 a OR = 12), aunque como hemos reiterado hay empalme entre los IC95%, reiterando el sesgo aleatorio.

En relación a la actividad física, en el análisis bivariado los datos sugieren una tendencia lineal negativa, cuyo comportamiento se mantiene, ya que se observa que ésta es protectora. En general, no se observa un cambio sustancial, más que de decimas entre el grado 2 a 3, pero el efecto protector se sigue observando (OR = 0.95 a OR = 0.90); y hay empalme entre los IC95%, reiterando el sesgo aleatorio.

Por último, respecto al sedentarismo, aún cuando en el análisis bivariado se observa una tendencia (conforme aumenta el grado de la esteatosis hepática no alcohólica el tiempo promedio de no actividad aumenta), en el multivariado no se observa un efecto de éste, ya que en ambos grados (2 a 3) el riesgo está sobre la línea de no efecto (Ver Anexos).

12. DISCUSION

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD, por sus siglas en inglés) afecta a casi una cuarta parte de la población mundial [100]. En 2020, surge la propuesta de reemplazar el término NAFLD por Hígado Graso asociado a disfunción metabólica (Metabolic-associated fatty liver disease: MAFLD, por sus siglas en inglés), la cual tiene como objetivo reflejar la fisiopatología y los factores de riesgo de esta enfermedad [101,102]. Describir una enfermedad que puede presentarse desde etapas tempranas de la vida, como “no alcohólica”, tiene poco sentido e incluso genera estigma [102].

MAFLD se ha convertido en la causa más común de enfermedad hepática crónica en niños y adolescentes, y pacientes con inicio de MAFLD en la infancia tienen un mayor riesgo de progresión de la enfermedad [103-105]. A nivel mundial, la

prevalencia de MAFLD en niños y adolescentes aumentó de 19,34 millones en 1990 a 29,49 millones en 2017. De 1990 a 2019, la prevalencia de MAFLD entre niños y adolescentes obesos o con sobrepeso fue del 31,6% [105], mientras que en E.U.A., el 24,2% de los adolescentes tenía algún grado de esteatosis hepática y el 4,4% presentaba fibrosis significativa. En México, la prevalencia de MAFLD fue del 12,6% en niños obesos o con sobrepeso de 5,5 a 12 años en 2004 [7].

La patogénesis de MAFLD aún no se comprende por completo, pero la lipotoxicidad (una consecuencia de la ingesta dietética excesiva de carbohidratos y ácidos grasos) se proyecta como uno de los principales desencadenantes del daño hepático en los diferentes etapas del espectro de enfermedad de MAFLD. El consumo excesivo de estos nutrientes provoca un aumento del tejido adiposo visceral y en la tasa de movilización de ácidos grasos hacia el hígado, en conjunto con aumento de la liberación de citocinas proinflamatorias (IL-6, TNF- α , CPR) y disminución de la liberación de adiponectina. Por lo tanto, la resistencia a la insulina está presente tanto a nivel hepático como sistémico [106]. Particularmente en el hígado, el metabolismo lipídico alterado lleva a un aumento de la lipogénesis de novo y transformación de ácidos grasos en ácidos grasos libres; estos luego se condensan en forma de gotitas de triglicéridos y se almacenan en el hígado. Los altos niveles de ácidos grasos conducen a una sobreestimulación de la oxidación de ácidos grasos y vías de generación de oxidación, y en consecuencia, aumento de los efectos del estrés oxidativo en las mitocondrias y en el retículo endoplásmico. Así, la lipotoxicidad desencadena la activación de vías proinflamatorias, causando esteatohepatitis. En respuesta a todos estos estímulos, los hepatocitos comienzan a activar los mecanismos de reparación, lo que resulta en fibrosis hepática [107].

Recientemente, un panel internacional de expertos propuso los criterios diagnósticos para MAFLD para pacientes pediátricos [108], los cuales se basan en la histología hepática, imagen o biomarcadores (o puntaje no invasivo, si está bien validado), evidencia de acumulación de grasa intrahepática (esteatosis)

acompañada de exceso de adiposidad, presencia de prediabetes o diabetes tipo 2 o evidencia de disregulación metabólica. Esta última es definida por 2 o más resultados alterados en parámetros biométricos estandarizados para edad y sexo (incluyendo circunferencia de cintura, presión arterial, triglicéridos, colesterol de lipoproteínas de alta densidad, glucosa en ayuno y proporción de triglicéridos a colesterol HDL).

Tras lo anterior, Méndez et al, tras la aplicación de una encuesta durante un curso de postgrado de gastroenterología, reportaron que el 96% de los encuestados indicaron que apoyaban los criterios de diagnóstico propuestos para MAFLD y el 74% creía esto tendría un efecto positivo de concientización [109]. Los criterios de diagnóstico de MAFLD serán muy útiles para que los pediatras conozcan la enfermedad, su diagnóstico, la estratificación de riesgo y el tratamiento, por lo que la Asociación Latinoamericana de Pediatría (ALAPE) ha decidido avalarlo [110].

Dentro del abordaje y tratamiento del hígado graso asociado a disfunción metabólica en niños y adolescentes, se sugiere protocolizar a los individuos según un modelo de atención por etapas [111], que permita establecer riesgo, diagnóstico y tratamiento conforme a fenotipos de MAFLD.

Fase I: es muy recomendable que los médicos de primer contacto o los pediatras que atienden a niños y los adolescentes de la comunidad evalúen el riesgo individual de MAFLD, y promuevan actividades que ayuden a prevenirla.

Fase II: si el riesgo individual de cada paciente niño/adolescente es alto (múltiples factores de riesgo), la remisión a un especialista en hepatología, gastroenterología o endocrinología pediátrica, así como la detección temprana de MAFLD, no debe retrasarse. Además, si se realiza un diagnóstico de MAFLD, el fenotipo y las comorbilidades de MAFLD deben ser evaluadas.

Fase III: en esta etapa, luego de la evaluación inicial de MAFLD, las terapias no farmacológicas (enfoque nutricional, físico, psicológico) deben introducirse en función de los objetivos individuales de pérdida de peso y actividad física. Si los medicamentos están indicados por la gravedad de la enfermedad hepática

(MAFLD) o comorbilidad (p. ej., obesidad, diabetes mellitus tipo II, hipertensión y enfermedad renal crónica), se fomentarán los programas especializados con grupos de evaluación multidisciplinarios.

Además, las implicaciones clínicas y el grado de impacto en todos los fenotipos de MAFLD, incluso en niños y adolescentes, puede ayudar a prevenir y tratar la progresión de la enfermedad [112]. Finalmente, es importante descubrir las vías que subyacen a la conocida diferencia histológica entre niños, adolescentes y adultos con MAFLD.

El presente estudio permitió evaluar 142 sujetos de los cuales 93 reunieron criterios de esteatosis hepática diagnosticada por elastografía transitoria y fueron incluidos en el estudio, lo cual permitió obtener una prevalencia estimada de 65%, se destaca que esta prevalencia puede ser mayor a la referida en estudios previos en los que se utilizaron bioquímicos o US como método diagnóstico de esteatosis hepática [2], pero muy similar a lo reportado por Nobili et al en el cual el diagnóstico de NAFLD también fue establecido por elastografía [52], sin embargo, debe tomarse en cuenta que el tiempo destinado a la inclusión de pacientes en el presente estudio fue interrumpido debido a la contingencia epidemiológica por COVID 19.

En relación a la distribución de esteatosis hepática por sexo, el 61.3% (n=57) fueron hombres, y el 38.7% (n=36) mujeres, lo cual concuerda con lo reportado en la mayoría de las series de casos publicadas de NAFLD en niños y adolescentes, con mayor frecuencia en niños respecto a las niñas [3, 113-124], incluso en estudios donde se utilizó a la ALT como marcador diagnóstico de NAFLD [125] y en autopsias [126], lo cual ha sugerido que las hormonas sexuales pueden jugar un papel significativo en la predisposición y/o expresión de la esteatosis hepática [127].

La evidencia tanto en animales como en humanos respalda la idea de que el sexo femenino está protegido de rasgos dismetabólicos gracias a la capacidad de los individuos jóvenes para dividir los ácidos grasos hacia producción de cuerpos cetónicos en lugar de triacilglicerol-lipoproteína de muy baja densidad (VLDL)- [128], y al oscurecimiento específico del sexo del tejido adiposo blanco que contribuye en la protección a ratones hembra de NAFLD experimental asociados con dieta deficiente en metionina colina [129].

También se ha observado una mayor prevalencia de hígado graso en niños Y adolescentes varones con obesidad que en las mujeres [130]. Los hombres comúnmente muestran un aumento en la prevalencia de hígado graso durante la edad adulta que comienza a declinar después de la edad de 50-60 años [131, 132]. En mujeres en edad fértil, la prevalencia de hígado graso es menor que en hombres debido al supuesto efecto protector de estrógenos que, sin embargo, disminuye después de la menopausia. Consistentemente, la deficiencia de estrógenos, al potenciar cambios inflamatorios hepáticos, acelera la progresión de la enfermedad en un modelo dietético de esteatohepatitis no alcohólica en ratones ovariectomizados alimentados con dieta hiperlipídica rica en colesterol [133]. Estos hallazgos sugieren que los cambios hormonales, son un determinante importante de la progresión de NAFLD en la menopausia humana.

En tanto a la distribución por estado nutricional, el 11.8% (n=11) se encontraban en normopeso al momento de la evaluación, 19.4% (n=18) en sobrepeso y el 68.8% (n=64) tenían obesidad. Sharma et al (2019), en un meta análisis reportaron estimaciones de prevalencia de NAFLD en niños y adolescentes con normopeso (0-6.8%), en comparación con sobrepeso (4.3-21.3%) y obesidad (17.9-62%) [134]. Si bien el presente estudio demuestra una prevalencia similar de NAFLD en niños y adolescentes con sobrepeso según lo reportado por Sharma et al [134], la evidente mayor prevalencia para aquellos sujetos con normopeso y obesidad, deberá tomar en cuenta que los resultados son preliminares, y que la detección de hígado graso por medio de elastografía

transitoria permite diagnosticar estadios leves de esteatosis lo cual es una ventaja sobre otras herramientas diagnósticas y no invasivas como el ultrasonido de hígado que sólo permite detectar esteatosis cuando esta afecta casi la tercera parte de la glándula hepática, lo cual podría sustentar los hallazgos de este estudio en relación a una mayor frecuencia reportada de esteatosis hepática.

Varios estudios han informado de una edad media de presentación de la esteatosis hepática que oscila entre los 11.6 y los 13.5 años de edad [115, 117, 121, 122] la edad promedio de diagnóstico en este estudio fue de 12.1 años (IC95% 11.63-12.60). Aunque los datos disponibles indican que la mayoría de los niños con hígado graso se diagnostican durante la adolescencia, también hay un subgrupo de niños que presentan hígado graso a una edad más temprana. Se ha identificado en niños de hasta 2 años [121, 135] e incluso en lactantes japoneses no obesos [136]

Es importante destacar que el aumento de peso entre los 7 y 13 años de vida se relacionó con la gravedad de las características histológicas de MAFLD en adultos, mientras que el riesgo de cirrosis en la edad adulta se incrementó en un 16% por cada unidad de aumento en la puntuación z del IMC en el mismo período. De manera similar, el aumento de peso durante la adolescencia tardía puede aumentar el riesgo de desarrollar MAFLD en la etapa adulta [137].

Hasta el 70% de los pacientes pediátricos con enfermedad del hígado graso que han tenido una biopsia pueden tener algún grado de fibrosis en el momento del diagnóstico, 20 con 16-31% con fibrosis avanzada (estadios 2-4) [138, 139]. Hay informes de casos de hígado graso que conduce a insuficiencia hepática, que requiere trasplante hepático y casos de carcinoma hepatocelular que han sido reportados en niños y adolescentes. [113, 140].

El parámetro de atenuación controlada (CAP) es un método no invasivo para la evaluación de la esteatosis hepática. Mide la atenuación del haz de ultrasonido que atraviesa el tejido hepático, el cual aumenta en hígado graso, y se obtiene analizando la señal de ultrasonido adquirida por el dispositivo de elastografía transitoria (Fibroscan 502 Touch, Echosens, París, Francia) [50]. Se ha demostrado que el CAP tiene una buena precisión para cuantificar la esteatosis hepática también en pacientes pediátricos [52, 54].

El presente estudio permitió evaluar la esteatosis hepática por medio de CAP (expresado en db/m) y al clasificarlo según grados, el 36.6% de los sujetos (n = 34) fueron clasificados como esteatosis grado 1, el 24.7% (n =23) como grado 2 y el 38.7% (n = 36) como grado 3. Para la fibrosis (expresada en kPa) según grados, el 94.6% (n=88) estuvieron en el grado 0 a 1, el 1.1% (n = 1) en grado 3, y el 4.3% (n = 4) en grado 4. Lo anterior indica que la elastografía transitoria es una herramienta útil y no invasiva que puede detectar oportunamente a aquellos sujetos con riesgo de progresión de NAFLD, lo cual corresponde con lo reportado por Desai et al [54], en el que se refieren diferencias estadísticamente significativas entre los valores de CAP en individuos sin esteatosis frente a esteatosis leve / moderada ($p < 0,0001$), sin esteatosis frente a esteatosis marcada ($p < 0,0001$) y esteatosis leve / moderada frente a marcada ($p = 0,004$) en tanto aquellos pacientes con valores superiores a 9 kPa tendrán mayor riesgo de presentar estadios avanzados de fibrosis ($p < 0,000001$), según los hallazgos de Nobili et al [52], en una cohorte de pacientes pediátricos con diagnóstico de esteatohepatitis no alcohólica.

Se destaca además que al contrastar las variables de estudio en función de los grados de la esteatosis hepática, se observaron diferencias altamente significativas ($p = 0.000$) para IMC (kg/m^2), CAP (db/m), Triglicéridos (mg/dL), FA (UI/L), FAST, Actividad física (minutos/día), Sedentarismo (minutos/día), % Firmicutes, % Bacteroidetes, % Proteobacterias; significativas ($p < 0.05$) para

cHDL (mg/dL), ALT (UI/L), AST (UI/L), GGT (UI/L), Ácido úrico (mg/dL), APRI; y marginal ($p = 0.05$) para Colesterol (mg/dL).

En relación al contraste de variables de estudio en función de sexo, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ambos sexos para IMC (kg/m^2), CAP (db/m), ALT (UI/L), GGT (UI/L), FAST, Actividad física (minutos/día), Sedentarismo (minutos/día), % Firmicutes, % Bacteroidetes; en tanto que sólo hubo diferencias estadísticamente significativas para insulina (uUI/mL), HOMA-IR, triglicéridos (mg/dL), ácido úrico (mg/dL), fructosa (g) y fibra (g) en el sexo masculino y diferencias estadísticamente significativas para el consumo de kilocalorías (kcal), proteínas (g), lípidos (g) y % proteobacterias en el sexo masculino. [Se puede sustentar lo anterior en la distribución del tejido adiposo en los hombres la cual es principalmente visceral, una condición que se asocia con resistencia a la insulina y una mayor afluencia de ácidos grasos libres en el sistema venoso portal, lo que promueve hígado graso \[140-143\],](#) aunado a lo reportado por Mosca et al [68], donde las concentraciones de ácido úrico ($p = 0.004$) y un mayor consumo de fructosa en la dieta ($p = 0.001$) se asociaron a esteatosis hepática en niños y por Nier et al [69], sugiriendo que una alimentación con alto contenido en azúcar podría contribuir al desarrollo de las primeras etapas de NAFLD en niños con sobrepeso.

En tanto, el sedentarismo es uno de los factores descritos en niños y adolescentes con esteatosis hepática que se asocia a mayor riesgo de fibrosis hepática ($p < 0.05$), según lo reportado por Hattar et al [74], y como la actividad física puede ser un factor potencialmente reversible de esteatosis hepática según Gronbaek et al [75], favoreciendo pérdida ponderal, cambios ultrasonográficos y mejoría en niveles de transaminasas y sensibilidad a la insulina ($p < 0.05$).

En relación a la conformación de la microbiota intestinal, los hallazgos del presente estudio corresponde a lo descrito por Zhu et al [76], en tanto el vínculo entre la disbiosis intestinal y la obesidad-NAFLD se caracteriza por una mayor prevalencia de Firmicutes y una menor prevalencia de Bacteroidetes en individuos

obesos versus delgados, y por una menor prevalencia de Bacteroidetes en pacientes con NASH versus obesos sin NASH [38].

13. CONCLUSIONES

IMPLICACIONES PARA LA PRACTICA

Los resultados preliminares del presente estudio son clínicamente relevantes ya que sugieren el comportamiento de esteatosis hepática en niños y adolescentes que acuden a un hospital de segundo nivel y que fueron diagnosticados por medio de una herramienta no invasiva favoreciendo la detección temprana de esta patología y por ende, pretender mejorar la calidad de vida de dichos sujetos y disminuir los costos al sistema de salud secundarios a complicaciones agregadas.

IMPLICACIONES PARA LAS DIRECCIONES FUTURAS DE LA INVESTIGACIÓN

La continuación de esta línea de estudio permitirá vislumbrar los factores que inciden en la progresión de esta hepatopatía crónica, por lo que al tratarse de una patología metabólica con consecuencias devastadoras, se podrá llegar a un diagnóstico oportuno y permitirá modificar el estilo de vida de la población mexicana.

14. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Vos MB, Abrams SH, Barlow SE, et al. NASPGHAN Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: Recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN). *JPGN* 2017; 64: 319-334.
2. Anderson EL, Howe LD, Jones HE, et al. The prevalence of Non Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta Analysis. *PloS One* 2015; 10(10): e0140908.
3. Schwimmer JB, Deutsch R, Kahen T, et al. Prevalence of fatty liver in children and adolescents. *Pediatrics* 2006; 118: 1388–1393.
4. Xanthakos S, Miles L, Bucuvalas J, et al. Histologic spectrum of non alcoholic fatty liver disease in morbidly obese adolescents. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4(2): 226-232.
5. Pacheco L, Piñeiro LR, Fragoso AT, et al. Hígado graso no alcohólico en niños obesos. *Rev Cubana Pediatr* 2006; 60: 70-76.
6. Pontiles M, Morón A, Rodríguez H, et al. Prevalencia de la enfermedad de hígado graso no alcohólico en una población de niños obesos en Valencia, Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 2014; 64: 73-82.
7. Flores Calderón J, Gómez Díaz RA, Rodríguez Gómez G, et al. Frequency of increased aminotransferases levels and associated metabolic abnormalities in obese and overweight children of an elementary school in Mexico City. *Ann Hepatol* 2005; 4(4): 279-283.
8. Flores A, Torres G, Valdéz M, et al. Enfermedad hepática grasosa no alcohólica en niños sin síndrome metabólico. *Rev Mex Pediatr* 2008; 75 (6): 261-264.
9. Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol* 2015; 62: S47-S64.

10. Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, et al. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* 2005; 115: 1343-1351.
11. Fang YL, Chen H, Wang CL, et al. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescence: From “two hit theory” to “multiple hit model”. *World J Gastroenterol* 2018; 24(27): 2974-2983.
12. Anstee QM, Day CP. The genetics of NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 645–655.
13. Mann JP, Anstee QM. PNPLA3 and obesity: A synergistic relationship in NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 14: 506–507.
14. Valenti L, Al-Serri A, Daly AK, et al. Homozygosity for the patatin-like phospholipase-3/adiponutrin I148M polymorphism influences liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 51: 1209–1217.
15. Santoro N, Kursawe R, D’Adamo E, et al. A common variant in the patatin-like phospholipase 3 gene (PNPLA3) is associated with fatty liver disease in obese children and adolescents. *Hepatology* 2010; 52: 1281–1290.
16. Kotronen A, Johansson LE, Johansson LM, et al. A common variant in PNPLA3, which encodes adiponutrin, is associated with liver fat content in humans. *Diabetologia* 2009; 52: 1056–1060.
17. Santoro N, Zhang CK, Zhao H, et al. Variant in the glucokinase regulatory protein (GCKR) gene is associated with fatty liver in obese children and adolescents. *Hepatology*. 2012;55(3):781-89
18. Tang S, Zhang J, Mei TT, et al. Association of PNPLA3 rs738409 G/C gene polymorphism with nonalcoholic fatty liver disease in children: A meta-analysis. *BMC Med Genet*. 2020;21(1):163
19. Hudert CA, Selinski S, Rudolph B, et al. Genetic determinants of steatosis and fibrosis progression in pediatric non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*. 2019;39(3):540-56
20. Jain V, Kumar A, Ahmad N, et al. Genetic polymorphisms associated with obesity and non-alcoholic fatty liver disease in Asian Indian adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2019;32(7):749-58

21. Nobili V, Alisi A, Valenti L. NAFLD in children: New genes, new diagnostic modalities and new drugs. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;16(9):517-30
22. Li J, Hua W, Ji C, et al. Effect of the patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) I148M polymorphism on the risk and severity of nonalcoholic fatty liver disease and metabolic syndromes: A meta-analysis of pediatric and adolescent individuals. *Pediatr Obes*. 2020;15(6):e12615
23. Larrieta-Carrasco E, León-Mimila P, Villarreal-Molina T, et al. Association of the I148M/PNPLA3 variant with elevated alanine transaminase levels in normal-weight and overweight/obese Mexican children. *Gene*. 2013;520(2):185-88
24. Marzuillo P, Di Sessa A, Guarino S, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and eGFR levels could be linked by the PNPLA3 I148M polymorphism in children with obesity. *Pediatr Obes*. 2019;14(10):e12539
25. Boutens L, Stienstra R. Adipose tissue macrophages: going off track during obesity. *Diabetologia* 2016; 59: 879–894.
26. Zelber-Sagi S, Nitzan-Kaluski D, Goldsmith R, et al. Long term nutritional intake and the risk for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): A population based study. *J Hepatol* 2007; 47:711–717.
27. Postic C, Girard J. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest* 2008; 118: 829-838.
28. Lanaspa MA, Sanchez-Lozada LG, Choi YJ, et al. Uric acid induces hepatic steatosis by generation of mitochondrial oxidative stress: potential role in fructose dependent and -independent fatty liver. *J Biol Chem* 2012; 287:40732-40744.
29. Lanaspa MA, Cicerchi C, Garcia G, et al. Counteracting roles of AMP deaminase and AMP kinase in the development of fatty liver. *PLoS One* 2012; 7: e48801.
30. Shapiro A, Mu W, Roncal C, et al. Fructose- induced leptin resistance exacerbates weight gain in response to subsequent high-fat feeding. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; 295: R1370- R1375.

31. Carvalhana S, Machado MV, Cortez-Pinto H. Improving dietary patterns in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2012; **15**: 468–473.
32. Papandreou D, Rousso I, Malindretos P et al. Are saturated fatty acids and insulin resistance associated with fatty liver in obese children? *Clin Nutr* 2008; **27**: 233–240.
33. Lim JS, Mietus-Snyder M, Valente A, et al. The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; **7**: 251–264.
34. Vos MB, Kimmons JE, Gillespie C. Dietary fructose consumption among US children and adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Medscape J Med* 2008; **10**, 160.
35. Sluik D, Engelen AI, Feskens EJ. Fructose consumption in the Netherlands: the Dutch National Food Consumption Survey 2007–2010. *Eur J Clin Nutr* 2015; **69**, 475–481.
36. Vos MB, Lavine JE. Dietary fructose in non alcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2013; **57**, 2525–2531.
37. Jin R, Willment A, Patel SS. Fructose induced endotoxemia in pediatric nonalcoholic Fatty liver disease. *Int J Hepatol* 2014, **56**, 06-20.
38. Doulberis M., Kotronis G., Gialamprinou D, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: An update with special focus on the role of gut microbiota. *Metabolism*. 2017; **71**:182–197.
39. Hallsworth K, Fattakhova G, Hollingsworth KG, et al. Resistance exercise reduces liver fat and its mediators in non-alcoholic fatty liver disease independent of weight loss. *Gut* 2011; **60**: 1278–1283.
40. Promrat K, Kleiner DE, Niemeier H, et al. Randomized controlled trial testing the effects of weight loss on nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2010; **51**: 121–129.
41. Wieckowska A, McCullough AJ, Feldstein AE. Noninvasive diagnosis and monitoring of nonalcoholic steatohepatitis: present and future. *Hepatology* 2007; **46**: 582-589

42. Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, et al. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2005; 128: 1898-1906).
43. Vajro P, Lenta S, Socha P, et al. Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: position paper of the ESPGHAN Hepatology Committee. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54: 700-713.
44. Mathews JD, Forsythe AV, Brady Z, et al. Cancer risk in 680,000 people exposed to computed tomography scans in childhood or adolescence: data linkage study of 11 million Australians. *BMJ* 2013; 346: f2360.
45. Pacifico L, Celestre M, Anania C, et al. MRI and ultrasound for hepatic fat quantification: relationships to clinical and metabolic characteristics of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Acta Paediatr* 2007; 96: 542-547.
46. Mishra P, Younossi ZM. Abdominal ultrasound for diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2716-2717.
47. Roldan-Valadez E, Favila R, Martínez-López M, et al. Imaging techniques for assessing hepatic fat content in nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol* 2008; 7: 212-220.
48. Shannon A, Alkhoury N, Carter-Kent C, et al. Ultrasonographic quantitative estimation of hepatic steatosis in children With NAFLD. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011; 53: 190-195.
49. Dasarathy S, Dasarathy J, Khiyami A, et al. Validity of real time ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis: a prospective study. *J Hepatol* 2009; 51: 1061-1067.
50. de Lédinghen V, Le Bail Brigitte, Rebouissoux L, et al. Liver Stiffness Measurement in children using FibroScan: Feasibility Study and Comparison with Fibrotest, Aspartate Transaminase to Platelets Ratio Index, and Liver Biopsy. *JGPN* 2007; 45:443-450.
51. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003; (37): 1202-1219.
52. Nobili V, Vizzutti F, Arena U, et al. Accuracy and reproducibility of transient elastography for the diagnosis of fibrosis in pediatric nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2008; 48: 442-448.

53. Alkhoury N, Sedki E, Alisi A, et al. Combined paediatric NAFLD fibrosis index and transient elastography to predict clinically significant fibrosis in children with fatty liver disease. *Liver Int* 2013; 33(1): 79-85.
54. Desai NK, Harney S, Raza R, et al. Comparison of controlled attenuation parameter and liver biopsy to assess hepatic steatosis in pediatric patients. *J Pediatr* 2016; 173: 160-164.
55. Newsome P. Echosens FAST Score Revolutionizes the Assessment of NASH: Cost-Effective, Efficient Identification of Individuals at Risk for Active Fibrotic NASH. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology* 2019.
56. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet* 2008; 40: 1461-1465.
57. Giudice EM, Grandone A, Cirillo G, et al. The association of PNPLA3 variants with liver enzymes in childhood obesity is driven by the interaction with abdominal fat. *PLoS One* 2011; 6: e27933.
58. Speliotes EK, Butler JL, Palmer CD, et al. PNPLA3 variants specifically confer increased risk for histologic nonalcoholic fatty liver disease but not metabolic disease. *Hepatology* 2010; 52: 904-912.
59. Marzuillo P, Grandone A, Perrone L, et al. Weight loss allows the dissection of the interaction between abdominal fat and PNPLA3 (adiponutrin) in the liver damage of obese children. *J Hepatol* 2013; 59: 1143-1144.
60. McGeoch LJ, Patel PR, Mann JP. PNPLA3: A Determinant of Response to Low-Fructose Diet in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 2018; 154: 1207-1208.
61. Wang S, Song J, Shang X, et al. Physical activity and sedentary behavior can modulate the effect of the PNPLA3 variant on childhood NAFLD: a case-control study in a Chinese population. *BMC Med Genet* 2016; 17: 90.
62. Speliotes, E. K., L. M. Yerges-Armstrong, J. Wu, et al. Genome-wide association analysis identifies variants associated with nonalcoholic fatty liver disease that have distinct effects on metabolic traits. *PLoS* 2011; *Genet* 7(3): e1001324.

63. Tian, C., R. P. Stokowski, D. Kershenovich, et al. Variant in PNPLA3 is associated with alcoholic liver disease. *Nat Genet* 2010; 42(1): 21-23.
64. Trepo, E., T. Gustot, D. Degre, et al. Common polymorphism in the PNPLA3/adiponutrin gene confers higher risk of cirrhosis and liver damage in alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2011; 55(4): 906-912.
65. Santoro, N., S. Caprio, B. Pierpont, et al. Hepatic De Novo Lipogenesis in Obese Youth Is Modulated by a Common Variant in the GCKR Gene. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100(8): E1125-1132.
66. Vaxillaire, M., C. Cavalcanti-Proenca, A. Dechaume, et al. The common P446L polymorphism in GCKR inversely modulates fasting glucose and triglyceride levels and reduces type 2 diabetes risk in the DESIR prospective general French population. *Diabetes* 2008; 57(8): 2253-2257.
67. Hernandez, R. Genetic factors associated with the presence and progression of nonalcoholic fatty liver disease: a narrative review. *Gastroenterol Hepatol* 2012 35(1): 32-41.
68. Mosca A, Nobili V, De Vito R, et al. Serum uric acid concentrations and fructose consumption are independently associated with NASH in children and adolescents. *J Hepatol* 2017; 66(5): 1031-1036.
69. Nier a, Brandt A, Conzelmann IB, et al. Non Alcoholic Fatty Liver Disease in Overweight Children: Role of Fructose Intake and Dietary Pattern. *Nutrients* 2018; 10: 1329.
70. Ramon-Krauel M, Salsberg SL, Ebbeling CB, et al. A Low-Glycemic-Load versus Low-Fat Diet in the Treatment of Fatty Liver in Obese Children. *Child Obes* 2013; 9: 252–260.
71. Della Corte C, Mosca A, Vania A, et al. Good adherence to the Mediterranean diet reduces the risk for NASH and diabetes in pediatric patients with obesity: The results of an Italian Study. *Nutrition* 2017; 39–40:8–14.
72. Poeta M, Vajro P. Mediterranean diet to prevent/treat nonalcoholic fatty liver disease in children: A promising approach. *Nutrition* 2017; 43–44: 98–99.

73. Dowla S, Pendergrass M, Bolding M, et al. Effectiveness of a carbohydrate restricted diet to treat non-alcoholic fatty liver disease in adolescents with obesity: Trial design and methodology. *Contemp Clin Trials* 2018; 68: 95–101.
74. Hattar L, Wilson T, Tabotabo L, et al. Physical activity and nutrition attitudes in obese hispanic children with non alcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2011; 17 (39): 4396-4403.
75. Gronbaek H, Lange A, Birkekaek N, et al. Effect of a 10-week weight loss camp on Fatty Liver Disease and insulin sensitivity in obese danish children. *JPGN* 2012; 54: 223-228.
76. Zhu L, Baker SS, Gill C, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology* 2013; 57(2): 601–609.
77. Liu, Z.; Que, S.; Zhou, L.; et al. Dose-response relationship of serum uric acid with metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease incidence: A meta-analysis of prospective studies. *Sci. Rep.* 2015, 5, 14325.
78. Yuan, H.; Yu, C.; Li, X.; et al. Serum uric acid levels and risk of metabolic syndrome: A dose-response meta-analysis of prospective studies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2015, 100, 4198–4207.
79. Fernandez-Real, J.M.; Ricart-Engel, W.; Arroyo, E.; et al. Serum ferritin as a component of the insulin resistance syndrome. *Diabetes Care* 1998, 21, 62–68.
80. Fernandez-Real, J.M.; Lopez-Bermejo, A.; Ricart, W. Cross-talk between iron metabolism and diabetes. *Diabetes* 2002, 51, 2348–2354.
81. McClain, D.A.; Abraham, D.; Rogers, J.; et al. High prevalence of abnormal glucose homeostasis secondary to decreased insulin secretion in individuals with hereditary haemochromatosis. *Diabetologia* 2006, 49, 1661–1669.
82. Bugianesi, E.; Manzini, P.; D'Antico, S.; et al. Relative contribution of iron burden, HFE mutations, and insulin resistance to fibrosis in nonalcoholic fatty liver. *Hepatology* 2004, 39, 179–187
83. Manousou, P.; Kalambokis, G.; Grillo, F; et al. Serum ferritin is a discriminant marker for both fibrosis and inflammation in histologically proven non-alcoholic fatty liver disease patients. *Liver Int.* 2011, 31, 730–739.

84. Kowdley, K.V.; Belt, P.; Wilson, et al. Serum ferritin is an independent predictor of histologic severity and advanced fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2012, 55, 77–85.
85. <https://www.decs.bvs.br>
86. Shamah Levy T, Villalpando Hernández S, Rivera Dommarco J. Manual de procedimientos para proyectos de nutrición. Instituto Nacional de Salud Pública, 2006; 10-18.
87. <https://www.who.int/topics/obesity/es/>
88. Martínez Costa C, Pedrón Giner C. Valoración del estado nutricional. Protocolos diagnósticos-terapéuticos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica SEGHP-AEP. 2005; 5: 313-318.
89. García Martín M, Zurita Molina A. Transaminasas: Valoración y significación clínica. Protocolos diagnósticos-terapéuticos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica SEGHP-AEP. 2005; 12: 267-275.
90. Hughes H, Kahl L. The Harriet Lane Handbook. Blood chemistries and body fluids. 2018; 27:708-720.
91. Busto Bea V. Pruebas de función hepática: ALT, AST, FA, GGT. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. 2015; 1: 1.
92. Bermejo E. Plaquetas. *Hematología*. 2017; 21:10-18.
93. Maldonado Saavedra O, Ramírez Sánchez I, García Sánchez J, et al. Colesterol: Función biológica e implicaciones médicas. *Rev. Mex. Cienc. Farm* 2012; 43(2): 7-22.
94. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición a Medio Camino, ENSANUT 2016. Resultados finales, Instituto Nacional de Salud Pública, México.
95. Thomas V, Clark J, Doré J. Fecal microbiota analysis: an overview of simple collection methods and sequencing strategies. *Future microbiol* 2015; 10(9): 1-20.
96. M.A. Mahowald, F.E. Rey, H. Seedorf, *et al.* Characterizing a model human gut microbiota composed of members of its two dominant bacterial phyla. *Proc Natl Acad Sci*, 2009; 106: 5859-64

97. R.E. Ley. Obesity and the human microbiome. *Current Opinion Gastroenterol*, 2010; 26: 5-11
98. M. Bajzer, R.J. Seeley. Physiology: obesity and gut flora. *Nature* 2006; 444: 1009-10.
99. Logistic regression models for multinomial and ordinal outcomes. In: David W Hosmer, Stanley Lemeshow, Rodney X Sturdivant. *Applied Logistic Regression*. Wiley & Sons Inc. Third Edition. 2013.
100. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: Trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;15(1):11-20.
101. Eslam M, Newsome PN, Sarin SK, et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *J Hepatol*. 2020;73(1):202-9
102. Méndez-Sánchez N, Díaz-Orozco LE. Editorial: International consensus recommendations to replace the terminology of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) with metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD). *Med Sci Monit*. 2021;27:e933860
103. Castillo-Leon E, Cioffi CE, Vos MB. Perspectives on youth-onset nonalcoholic fatty liver disease. *Endocrinol Diabetes Metab*. 2020;3(4):e00184
104. Querter I, Pauwels NS, De Bruyne R, et al. Maternal and perinatal risk factors for pediatric non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2021 [Online ahead of print]
105. Cholongitas E, Pavlopoulou I, Papatheodoridi M, et al. Epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease in Europe: A systematic review and meta-analysis. *Ann Gastroenterol*. 2021;34(3):404-14.
106. Smith SK, Perito ER. Nonalcoholic liver disease in children and adolescents. *Clin Liver Dis*. 2018;22(4):723-33.
107. Tiniakos DG, Vos MB, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: Pathology and pathogenesis. *Annu Rev Pathol*. 2010;5:145-71.

108. Eslam M, Alkhoury N, Vajro P, et al. Defining pediatric metabolic (dysfunction)-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2021 [Online ahead of print].
109. Méndez-Sánchez N, Díaz-Orozco L, Córdova-Gallardo J. Redefinition of fatty liver disease from NAFLD to MAFLD raised disease awareness: Mexican experience. *J Hepatol* 2021; 75: 221–22.
110. Méndez-Sánchez N, Maris-Gil S, Alonso-Rivera CG, Latin American Association of Pediatrics (ALAPE) endorsing the MAFLD definition of fatty liver disease, *Journal of Hepatology* (2022), doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.12.020>.
111. Ramírez-Mejía MM, Díaz-Orozco LE, Barranco-Fragoso B, Méndez-Sánchez N. A review of the increasing prevalence of metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD) in children and adolescents worldwide and in Mexico and the implications for public health. *Med Sci Monit* 2021; 27: e934134
112. Mendez-Sanchez N, Cruz-Ramon VC, Ramirez-Perez OL, et al. New aspects of lipotoxicity in nonalcoholic steatohepatitis. *Int J Mol Sci*. 2018;19(7):2034.
113. Feldstein A, Charatchoenwitthaya P, Treeprasertsuk S, et al. The natural history of Non Alcoholic Fatty Liver Disease in Children: A follow-up study for up to 20 years. *Gut*. 2009 November; 58(11): 1538–1544
114. Kim JW, Lee KJ, Yang HR, et al. Prevalence and risk factors of elevated alanine aminotransferase among Korean adolescents: 2001-2014. *BMC Public Health* 2018;18:617.
115. Rashid M, Roberts EA. Nonalcoholic steatohepatitis in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30:48–53.
116. Kinugasa A, Tsunamoto K, Furukawa N, et al. Fatty liver and its fibrous changes found in simple obesity of children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1984;3:408-14.
117. Baldrige AD, Perez-Atayde AR, Graeme-Cook F, et al. Idiopathic steatohepatitis in childhood: a multicenter retrospective study. *J Pediatr* 1995;127:700-4.

118. Tominaga K, Kurata JH, Chen YK, et al. Prevalence of fatty liver in Japanese children and relationship to obesity. An epidemiological ultrasonographic survey. *Dig Dis Sci* 1995;40:2002Y9.
119. Guzzaloni G, Grugni G, Minocci A, et al. Liver steatosis in juvenile obesity: correlations with lipid profile, hepatic biochemical parameters and glycemic and insulinemic responses to an oral glucose tolerance test. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24:772-6.
120. Manton ND, Lipsett J, Moore DJ, et al. Non-alcoholic steatohepatitis in children and adolescents. *Med J Aust* 2000;173:476-9.
121. Schwimmer JB, Deutsch R, Rauch JB, et al. Obesity, insulin resistance, and other clinicopathological correlates of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatr* 2003;143:500-5
122. Chan DF, Li AM, Chu WC, et al. Hepatic steatosis in obese Chinese children. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004;28:1257-63.
123. Vajro P, Fontanella A, Perna C, et al. Persistent hyperaminotransferasemia resolving after weight reduction in obese children. *J Pediatr* 1994;125:239-41.
124. Noguchi H, Tazawa Y, Nishinomiya F, et al. The relationship between serum transaminase activities and fatty liver in children with simple obesity. *Acta Paediatr Jpn* 1995;37:621-5
125. Schwimmer JB, McGreal N, Deutsch R, et al. Influence of gender, race, and ethnicity on suspected fatty liver in obese adolescents. *Pediatrics* 2005;115:e561-5.
126. Kahen T, Schwimmer J, Lavine J, et al. Population prevalence of pediatric fatty liver disease. *Gastroenterology* 2004;126:A753-4.
127. Schwimmer JB, Behling C, Newbury R, et al. Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;42: 641-9.
128. Marinou K, Adiels M, Hodson L, et al. Young women partition fatty acids towards ketone body production rather than VLDL-TAG synthesis, compared with young men. *Br J Nutr.* 2011;105:857–65.

129. Lee YH, Kim SH, Kim SN, et al. Sex-specific metabolic interactions between liver and adipose tissue in MCD diet-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Oncotarget*. 2016;7:46959–46971.
130. Denzer C, Thiere D, Muche R, et al. Gender-specific prevalences of fatty liver in obese children and adolescents: roles of body fat distribution, sex steroids, and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:3872–81.
131. Fan JG, Zhu J, Li XJ, et al. Prevalence of and risk factors for fatty liver in a general population of Shanghai, China. *J Hepatol*. 2005;43:508–14.
132. Eguchi Y, Hyogo H, Ono M, et al. Prevalence and associated metabolic factors of nonalcoholic fatty liver disease in the general population from 2009 to 2010 in Japan: a multicenter large retrospective study. *J Gastroenterol*. 2012;47:586–95.
133. Kamada Y, Kiso S, Yoshida Y, et al. Estrogen deficiency worsens steatohepatitis in mice fed high-fat and high-cholesterol diet. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2011;301:G1031–43.
134. Sharma V, Coleman S, Nixon J, et al. A systematic review and meta-analysis estimating the population prevalence of comorbidities in children and adolescents aged 5 to 18 years. *Obesity Reviews*. 2019;20:1341–1349.
135. Fishbein M, Cox S. Non-alcoholic fatty liver disease in a toddler. *Clin Pediatr (Phila)* 2004;43:483-5.
136. Kimata H. Increased incidence of fatty liver in non-obese Japanese children under 1 year of age with or without atopic dermatitis. *Public Health* 2006;120:176-8.
137. Zimmermann E, Gamborg M, Holst C, et al. Body mass index in school-aged children and the risk of routinely diagnosed non-alcoholic fatty liver disease in adulthood: A prospective study based on the Copenhagen School Health Records Register. *BMJ Open*. 2015;5(4):e006998
138. Mann JP, De Vito R, Mosca A, et al. Portal inflammation is independently associated with fibrosis and metabolic syndrome in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2016; 63:745-53.

139. Patton HM, Lavine JE, Van Natta ML, et al. Clinical correlates of histopathology in pediatric nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2008; 135: 1961–71.
140. Nobili V, Alisi A, Grimaldi C, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma in a 7-year-old obese boy: coincidence or comorbidity? *Pediatr Obes* 2014; 9: e99–102.
141. Sasso M, Beaugrand M, de Ledinghen V, et al. Controlled attenuation parameter (CAP): a novel VCTE guided ultrasonic attenuation measurement for the evaluation of hepatic steatosis: preliminary study and validation in a cohort of patients with chronic liver disease from various causes. *Ultrasound Med Biol.* 2010;36(11):1825–35. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2010.07.005.
142. Ballestri S, Nascimbeni F, Baldelli E, et al. NAFLD as a sexual dimorphic disease: role of gender and reproductive status in the development and progression of nonalcoholic fatty liver disease and inherent cardiovascular risk. *Adv Ther* 2017;34:1291–326.
143. Ayonrinde OT, Olynyk JK, Beilin LJ, et al. Gender-specific differences in adipose distribution and adipocytokines influence adolescent nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2011;53:800–9.

15.ANEXOS

Cuadro I. Distribución percentilar de las variables sociodemográficas y clínicas en 93 sujetos.

Variables de Estudio	Percentiles						
	5	10	25	50	75	90	95
Edad (Años)	8.00	9.00	10.50	12.00	14.00	16.00	16.00
IMC (Kg/m2)	21.10	22.44	24.55	26.90	31.70	34.48	39.58
CAP (dB/m)	239.40	244.00	256.00	289.00	327.50	355.80	377.30
E (kPa)	3.00	3.34	4.00	4.70	5.80	6.30	9.65
Glucosa (mg/dL)	72.40	74.40	79.50	86.00	92.00	97.60	102.00
Insulina (uUI/mL)	4.25	6.45	11.60	15.88	22.93	31.18	41.21
HOMA-IR	0.87	1.25	2.29	3.42	4.91	6.87	9.04
Triglicéridos (mg/dL)	69.90	74.00	105.00	145.00	177.00	254.20	277.30
Colesterol (mg/dL)	126.00	132.76	142.00	168.00	188.00	206.60	214.40
c-HDL (mg/dL)	27.00	28.80	35.00	40.00	48.00	58.00	62.20
c-LDL (mg/dL)	60.70	66.40	76.50	92.00	113.00	128.00	135.00
ALT (UI/L)	12.70	14.00	17.00	24.00	41.00	75.80	102.00
AST (UI/L)	16.00	18.00	20.00	25.00	32.00	49.00	60.90
GGT (UI/L)	12.00	14.00	18.00	21.00	27.00	41.40	57.70
FA (UI/L)	120.80	160.60	217.50	289.00	346.50	420.80	484.50
Ácido Úrico (mg/dL)	3.40	3.90	4.25	5.10	6.05	7.30	8.83
Ferritina (ng/mL)	19.52	25.12	33.85	45.00	66.45	89.12	100.63
Plaquetas (10 ³ /uL)	195.80	215.40	242.50	290.00	342.00	396.40	437.40
APRI	0.11	0.12	0.15	0.21	0.31	0.42	0.57
FAST	0.02	0.04	0.06	0.13	0.25	0.50	0.61
Kilocalorías (Kcal)	994.00	1149.00	1285.00	1580.00	1942.50	2265.50	2446.00
Hidratos de Carbono (g)	128.30	136.80	171.50	214.00	287.00	348.00	387.00
Fructosa (g)	3.70	5.00	6.00	12.50	19.00	28.75	33.23
Fibra (g)	0.00	0.00	2.50	7.50	11.25	19.50	22.73
Proteínas (g)	39.45	46.40	56.75	71.00	89.50	101.70	108.00
Lípidos (g)	20.75	25.90	35.00	47.50	61.00	69.60	73.00
% Hidratos de Carbono	42.70	45.00	50.00	55.00	59.50	68.00	76.50
% Fructosa	0.87	1.23	1.78	2.70	4.41	7.60	9.90
% Proteínas	13.00	13.00	15.87	18.00	19.00	22.00	24.00
% Lípidos	14.50	18.00	23.00	26.00	31.00	36.00	37.00
% Hidratos de carbono simples	0.00	0.00	03.10	8.80	13.00	17.94	24.70
Actividad Física (minutos/día)	0.00	0.00	27.50	30.00	42.50	56.00	60.00
Sedentarismo (minutos/día)	60.00	60.00	90.00	120.00	180.00	228.00	240.00
% Firmicutes ^{a, b}	34.00	37.20	43.00	48.00	50.50	53.00	54.00
% Bacteroidetes ^{a, b}	34.00	35.60	38.50	42.00	47.50	55.40	59.00
% Proteobacterias ^{a, b}	3.00	4.00	5.00	6.00	8.00	8.40	9.00

^aNumero de sujetos sin información: 28 ^b Total de sujetos: 65

CUADRO II. COMPARACIÓN DE MEDIAS Y DIFERENCIAS DE MEDIAS ENTRE EL GRADO DE ESTEATOSIS HEPÁTICA EN RELACIÓN A DIFERENTES VARIABLES SOCIODEMOGRAFICAS Y CLINICAS EN 93 SUJETOS. PRUEBA PARAMÉTRICA						
Variables de Estudio	MUESTRA DE ESTUDIO N = 93 Media Aritmética IC95% Mediana	ESTEATOSIS HEPÁTICA			PRUEBA PARAMETRICA Prueba Estadística Nivel de Significancia	Diferencia de Medias IC95%
		Grado I N = 34 Media Aritmética IC95% Mediana	Grado II N = 23 Media Aritmética IC95% Mediana	Grado III N = 36 Media Aritmética IC95% Mediana		
Edad (Años)	12.12 11.63 a 12.60 12.00	11.94 11.00 a 12.89 12	12.09 11.23 a 12.94 12.00	12.31 11.54 a 13.07 12.00	ANOVA = 0.209 P = 0.812	0.364 -0.99 a 1.72
IMC (Kg/m ²)	28.36 27.15 a 29.58 26.90	26.40 24.86 a 27.95 25.55	27.22 25.11 a 29.32 26.90	30.94 28.63 a 33.25 29.40	ANOVA = 6.435 P = 0.002	3.72 0.17 a 7.27
CAP (dB/m)	292.97 284.35 a 301.59 289.00	250.74 247.32 a 254.15 248.50	286.22 282.80 a 289.64 289.00	337.17 328.20 a 346.13 335.00	ANOVA = 203.916 P = 0.000	50.94 39.50 a 62.39
Triglicéridos (mg/dL)	151.28 137.60 a 164.96 145.00	123.82 108.79 a 138.85 111.50	144.26 117.07 a 171.45 143.00	181.69 156.27 a 207.12 158.00	ANOVA = 7.815 P = 0.001	57.87 22.54 a 93.20
Colesterol (mg/dL)	167.30 161.35 a 173.25 168.00	158.25 149.05 a 167.45 162.50	168.82 155.74 a 181.90 168.00	174.87 165.16 a 184.59 172.50	ANOVA = 3.068 P = 0.051	16.62 .513 a 32.73
cHDL (mg/dL)	41.96 39.86 a 44.07 40.00	42.44 38.61 a 46.26 41.00	45.84 41.36 a 50.33 44.00	39.04 36.12 q 41.96 38.50	ANOVA = 3.335 P = 0.040	6.80 .46 a 13.13
ALT (UI/L)	35.92 28.74 a 43.10 24.00	21.21 17.51 a 24.91 18.00	40.21 20.37 a 60.05 26.00	47.06 34.32 a 59.81 40.00	ANOVA = 5.530 P = 0.005	25.85 6.88 a 44.81
AST (UI/L)	29.76 25.92 a 33.59 25.00	23.01 20.87 a 25.15 22.00	32.43 20.99 a 43.87 25.00	34.43 27.97 a 40.89 28.00	ANOVA = 3.825 P = 0.025	11.41 1.12 a 21.71

GGT (UI/L)	25.77 21.67 a 29.87 21.00	19.29 16.27 a 22.31 17.00	24.47 19.50 a 29.45 20.00	32.72 23.16 a 42.28 25.50	ANOVA = 4.331 P = 0.016	13.43 2.46 a 24.39
FA (UI/L)	294.45 266.38 a 322.53 289.00	240.97 214.73 a 267.20 236.50	300.60 255.23 q 345.97 291.00	341.04 280.94 a 401.15 305.00	ANOVA = 5.174 P = 0.007	100.07 25.69 a 174.45
Ácido Úrico (mg/dL)	5.34 5.05 a 5.64 5.10	4.85 4.37 a 5.34 4.30	5.67 4.98 a 6.35 5.70	5.60 5.16 a 6.03 5.35	ANOVA = 3.257 P = 0.043	0.74 -.05 a 1.54
APRI	.2676 .2262 a .3090 0.21	.2015 .1727 a .2302 .1700	.2761 .1742 a .3780 .2000	.3247 .2437 a .4057 .2550	ANOVA = 3.492 P = 0.035	.12 .01 a .23
FAST	.1946 .1581 a .2312 0.13	.0900 .0689 a .1111 .0700	.1830 .1142 a .2519 .1300	.3008 .2323 a .3694 .2550	ANOVA = 16.626 P = 0.000	0.21 .12 a .29
Actividad Física (minutos/día)	31.29 27.74 a 34.84 30.00	40.88 35.51 a 46.25 40.00	33.91 27.98 a 39.85 30.00	20.56 15.46 a 25.65 30.00	ANOVA = 16.804 P = 0.000	-13.35 -22.82 a -3.90
Sedentarismo (minutos/día)	137.10 125.56 a 148.63 120.00	103.24 88.61 a 117.86 90.00	123.91 104.63 a 143.20 120.00	177.50 160.80 a 194.20 180.00	ANOVA = 24.489 P = 0.000	53.58 24.59 a 82.58
% Firmicutes ^{a, b}	46.42 44.99 a 47.84 48.00	43.40 41.61 a 45.19 44	46.50 43.96 a 49.04 49	48.76 46.14 a 51.38 50	ANOVA = 5.482 P = 0.006	5.36 1.47 a 9.25
% Bacteroidetes ^{a, b}	43.89 42.10 a 45.68 42.00	47.85 45.60 a 50.10 46	44.10 41.11 a 47.09 41	40.56 37.26 a 43.86 37	ANOVA = 6.664 P = 0.002	7.29 2.49 a 12.09
% Proteobacterias ^{a, b}	6.17 5.74 a 6.60 6.00	5.30 4.62 a 5.98 5.00	5.80 5.18 a 6.42 6.00	7.16 6.41 a 7.91 8	ANOVA = 8.600 P = 0.001	1.86 .73 a 2.99

^aNumero de sujetos sin información: 28

^b Total de sujetos: 65

CUADRO III. COMPARACIÓN DE MEDIAS Y DIFERENCIAS DE MEDIAS ENTRE EL GRADO DE ESTEATOSIS HEPÁTICA EN RELACIÓN A DIFERENTES VARIABLES SOCIODEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS EN 93 SUJETOS. PRUEBA NO PARAMÉTRICA						
Variables de Estudio	MUESTRA DE ESTUDIO N = 93 Media Aritmética IC95% Mediana	ESTEATOSIS HEPÁTICA			PRUEBA NO PARAMÉTRICA Kruskal – Wallis Nivel de Significancia	Diferencia de Medias IC95%
		Grado I N = 34 Media Aritmética IC95% Mediana	Grado II N = 23 Media Aritmética IC95% Mediana	Grado III N = 36 Media Aritmética IC95% Mediana		
Edad (Años)	12.12 11.63 a 12.60 12.00	11.94 11.00 a 12.89 12	12.09 11.23 a 12.94 12.00	12.31 11.54 a 13.07 12.00	P = 0.910	0.364 -0.99 a 1.72
IMC (Kg/m ²)	28.36 27.15 a 29.58 26.90	26.40 24.86 a 27.95 25.55	27.22 25.11 a 29.32 26.90	30.94 28.63 a 33.25 29.40	P = 0.003	3.72 0.17 a 7.27
CAP (dB/m)	292.97 284.35 a 301.59 289.00	250.74 247.32 a 254.15 248.50	286.22 282.80 a 289.64 289.00	337.17 328.20 a 346.13 335.00	P = 0.000	50.94 39.50 a 62.39
Triglicéridos (mg/dL)	151.28 137.60 a 164.96 145.00	123.82 108.79 a 138.85 111.50	144.26 117.07 a 171.45 143.00	181.69 156.27 a 207.12 158.00	P = 0.002	57.87 22.54 a 93.20
Colesterol (mg/dL)	167.30 161.35 a 173.25 168.00	158.25 149.05 a 167.45 162.50	168.82 155.74 a 181.90 168.00	174.87 165.16 a 184.59 172.50	P = 0.077	16.62 .513 a 32.73
cHDL (mg/dL)	41.96 39.86 a 44.07 40.00	42.44 38.61 a 46.26 41.00	45.84 41.36 a 50.33 44.00	39.04 36.12 a 41.96 38.50	P = 0.063	6.80 0.46 a 13.13
ALT (UI/L)	35.92 28.74 a 43.10 24.00	21.21 17.51 a 24.91 18.00	40.21 20.37 a 60.05 26.00	47.06 34.32 a 59.81 40.00	P = 0.000	25.85 6.88 a 44.81
AST (UI/L)	29.76 25.92 a 33.59 25.00	23.01 20.87 a 25.15 22.00	32.43 20.99 a 43.87 25.00	34.43 27.97 a 40.89 28.00	P = 0.006	11.41 1.12 a 21.71

GGT (UI/L)	25.77 21.67 a 29.87 21.00	19.29 16.27 a 22.31 17.00	24.47 19.50 a 29.45 20.00	32.72 23.16 a 42.28 25.50	P = 0.000	13.43 2.46 a 24.39
FA (UI/L)	294.45 266.38 a 322.53 289.00	240.97 214.73 a 267.20 236.50	300.60 255.23 q 345.97 291.00	341.04 280.94 a 401.15 305.00	P = 0.002	100.07 25.69 a 174.45
Ácido Úrico (mg/dL)	5.34 5.05 a 5.64 5.10	4.85 4.37 a 5.34 4.30	5.67 4.98 a 6.35 5.70	5.60 5.16 a 6.03 5.35	P = 0.009	0.74 -0.05 a 1.54
APRI	.2676 .2262 a .3090 0.21	.2015 .1727 a .2302 .1700	.2761 .1742 a .3780 .2000	.3247 .2437 a .4057 .2550	P = 0.010	0.12 0.01 a .23
FAST	.1946 .1581 a .2312 0.13	.0900 .0689 a .1111 .0700	.1830 .1142 a .2519 .1300	.3008 .2323 a .3694 .2550	P = 0.000	0.21 0.12 a .29
Actividad Física (minutos/día)	31.29 27.74 a 34.84 30.00	40.88 35.51 a 46.25 40.00	33.91 27.98 a 39.85 30.00	20.56 15.46 a 25.65 30.00	P = 0.000	-13.35 -22.82 a -3.90
Sedentarismo (minutos/día)	137.10 125.56 a 148.63 120.00	103.24 88.61 a 117.86 90.00	123.91 104.63 a 143.20 120.00	177.50 160.80 a 194.20 180.00	P = 0.000	53.58 24.59 a 82.58
% Firmicutes ^{a, b}	46.42 44.99 a 47.84 48.00	43.40 41.61 a 45.19 44	46.50 43.96 a 49.04 49	48.76 46.14 a 51.38 50	P = 0.000	5.36 1.47 a 9.25
% Bacteroidetes ^{a, b}	43.89 42.10 a 45.68 42.00	47.85 45.60 a 50.10 46	44.10 41.11 a 47.09 41	40.56 37.26 a 43.86 37	P = 0.000	7.29 2.49 a 12.09
% Proteobacterias ^{a, b}	6.17 5.74 a 6.60 6.00	5.30 4.62 a 5.98 5.00	5.80 5.18 a 6.42 6.00	7.16 6.41 a 7.91 8	P = 0.001	1.86 .73 a 2.99

CUADRO IV. TENDENCIA LINEAL DE LOS GRADOS DE ESTEATOSIS HEPÁTICA EN RELACIÓN A DIFERENTES VARIABLES SOCIODEMOGRAFICAS Y CLINICAS EN 93 SUJETOS. PRUEBA PARAMÉTRICA

Variables de Estudio	MUESTRA DE ESTUDIO N = 93 Media Aritmética IC95% Mediana	ESTEATOSIS HEPÁTICA			PRUEBA PARAMETRICA DE TENDENCIA LINEAL Nivel de Significancia
		Grado I N = 34 Media Aritmética IC95% Mediana	Grado II N = 23 Media Aritmética IC95% Mediana	Grado III N = 36 Media Aritmética IC95% Mediana	
Edad (Años)	12.12 11.63 a 12.60 12.00	11.94 11.00 a 12.89 12	12.09 11.23 a 12.94 12.00	12.31 11.54 a 13.07 12.00	ANOVA _{TL} = 0.413 P = 0.522
IMC (Kg/m ²)	28.36 27.15 a 29.58 26.90	26.40 24.86 a 27.95 25.55	27.22 25.11 a 29.32 26.90	30.94 28.63 a 33.25 29.40	ANOVA _{TL} = 11.690 P = 0.001
CAP (dB/m)	292.97 284.35 a 301.59 289.00	250.74 247.32 a 254.15 248.50	286.22 282.80 a 289.64 289.00	337.17 328.20 a 346.13 335.00	ANOVA _{TL} = 404.63 P = 0.000
Triglicéridos (mg/dL)	151.28 137.60 a 164.96 145.00	123.82 108.79 a 138.85 111.50	144.26 117.07 a 171.45 143.00	181.69 156.27 a 207.12 158.00	ANOVA _{TL} = 15.305 P = 0.000
Colesterol (mg/dL)	167.30 161.35 a 173.25 168.00	158.25 149.05 a 167.45 162.50	168.82 155.74 a 181.90 168.00	174.87 165.16 a 184.59 172.50	ANOVA _{TL} = 6.024 P = 0.016
cHDL (mg/dL)	41.96 39.86 a 44.07 40.00	42.44 38.61 a 46.26 41.00	45.84 41.36 a 50.33 44.00	39.04 36.12 a 41.96 38.50	ANOVA _{TL} = 2.122 P = 0.149
ALT (UI/L)	35.92 28.74 a 43.10 24.00	21.21 17.51 a 24.91 18.00	40.21 20.37 a 60.05 26.00	47.06 34.32 a 59.81 40.00	ANOVA _{TL} = 10.483 P = 0.002
AST (UI/L)	29.76 25.92 a 33.59 25.00	23.01 20.87 a 25.15 22.00	32.43 20.99 a 43.87 25.00	34.43 27.97 a 40.89 28.00	ANOVA _{TL} = 6.918 P = 0.010

GGT (UI/L)	25.77 21.67 a 29.87 21.00	19.29 16.27 a 22.31 17.00	24.47 19.50 a 29.45 20.00	32.72 23.16 a 42.28 25.50	ANOVA _{TL} = 8.552 P = 0.004
FA (UI/L)	294.45 266.38 a 322.53 289.00	240.97 214.73 a 267.20 236.50	300.60 255.23 a 345.97 291.00	341.04 280.94 a 401.15 305.00	ANOVA _{TL} = 10.255 P = 0.002
Ácido Úrico (mg/dL)	5.34 5.05 a 5.64 5.10	4.85 4.37 a 5.34 4.30	5.67 4.98 a 6.35 5.70	5.60 5.16 a 6.03 5.35	ANOVA _{TL} = 4.807 P = 0.031
APRI	.2676 .2262 a .3090 0.21	.2015 .1727 a .2302 .1700	.2761 .1742 a .3780 .2000	.3247 .2437 a .4057 .2550	ANOVA _{TL} = 6.908 P = 0.010
FAST	.1946 .1581 a .2312 0.13	.0900 .0689 a .1111 .0700	.1830 .1142 a .2519 .1300	.3008 .2323 a .3694 .2550	ANOVA _{TL} = 33.140 P = 0.000
Actividad Física (minutos/día)	31.29 27.74 a 34.84 30.00	40.88 35.51 a 46.25 40.00	33.91 27.98 a 39.85 30.00	20.56 15.46 a 25.65 30.00	ANOVA _{TL} = 32.810 P = 0.000
Sedentarismo (minutos/día)	137.10 125.56 a 148.63 120.00	103.24 88.61 a 117.86 90.00	123.91 104.63 a 143.20 120.00	177.50 160.80 a 194.20 180.00	ANOVA _{TL} = 46.723 P = 0.000
% Firmicutes ^{a, b}	46.42 44.99 a 47.84 48.00	43.40 41.61 a 45.19 44	46.50 43.96 a 49.04 49	48.76 46.14 a 51.38 50	ANOVA _{TL} = 10.880 P = 0.002
% Bacteroidetes ^{a, b}	43.89 42.10 a 45.68 42.00	47.85 45.60 a 50.10 46	44.10 41.11 a 47.09 41	40.56 37.26 a 43.86 37	ANOVA _{TL} = 13.325 P = 0.001
% Proteobacterias ^{a, b}	6.17 5.74 a 6.60 6.00	5.30 4.62 a 5.98 5.00	5.80 5.18 a 6.42 6.00	7.16 6.41 a 7.91 8	ANOVA _{TL} = 16.165 P = 0.000

CUADRO V. TENDENCIA LINEAL DE LOS GRADOS DE ESTEATOSIS HEPÁTICA EN RELACIÓN A DIFERENTES VARIABLES SOCIODEMOGRAFICAS Y CLINICAS SEGÚN SEXO EN 93 SUJETOS. PRUEBA PARAMÉTRICA

Variables de Estudio	Niños (N=57)				Niñas (N=36)			
	Grado I Media Aritmética IC95% Mediana IC95%	Grado II Media Aritmética IC95% Mediana IC95%	Grado III Media Aritmética IC95% Mediana IC95%	PRUEBA PARAMETRICA DE TENDENCIA LINEAL Nivel de Significancia	Grado I Media Aritmética IC95% Mediana IC95%	Grado II Media Aritmética IC95% Mediana IC95%	Grado III Media Aritmética IC95% Mediana IC95%	PRUEBA PARAMETRICA DE TENDENCIA LINEAL Nivel de Significancia
Edad (Años)	11.43 10.08 a 12.78 11	11.56 10.76 a 12.36 11.50	11.96 11.18 a 12.75 12	ANOVA _{TL} = 0.773 P = 0.383	12.30 10.92 a 13.68 13	13.29 10.98 a 15.60 14	13.33 11.16 a 15.51 15	ANOVA _{TL} = 0.984 P = 0.328
IMC (Kg/m ²)	25.75 23.94 a 27.57 25.55	26.16 23.48 a 28.85 25.60	29.70 27.44 a 31.96 28.80	ANOVA _{TL} = 6.824 P = 0.012	26.86 24.44 a 29.28 25.70	29.62 26.25 a 33.00 30.60	34.66 27.91 a 41.41 31.80	ANOVA _{TL} = 10.171 P = 0.003
CAP (dB/m)	248.71 243.16 a 254.27 246.50	283.94 279.52 a 288.36 286.50	335.93 325.86 a 345.99 339.00	ANOVA _{TL} = 212.533 P = 0.000	252.15 247.51 a 256.79 251.00	291.43 288.19 a 294.67 291.00	340.89 317.20 a 364.58 334.00	ANOVA _{TL} = 171.320 P = 0.000
Insulina (uUI/mL)	19.99 4.33 a 35.65 12.75	18.36 12.65 a 24.07 16.57	18.56 15.72 a 21.39 16.23	ANOVA _{TL} = 0.064 P = 0.801	12.73 9.80 a 15.66 12.16	22.24 10.92 a 33.55 22.28	26.12 17.86 a 34.39 23.03	ANOVA _{TL} = 15.825 P = 0.000
HOMA	4.18 1.04 a 7.33 2.90	3.86 2.56 a 5.16 3.47	4.03 3.33 a 4.73 3.35	ANOVA _{TL} = 0.010 P = 0.919	2.63 2.01 a 3.26 2.53	4.57 2.14 a 7.00 4.62	5.63 3.74 a 7.52 5.00	ANOVA _{TL} = 16.089 P = 0.000
Triglicéridos (mg/dL)	132.43 100.89 a 163.97 130.00	140.69 104.05 a 177.33 132.50	152.70 132.71 a 172.70 149.00	ANOVA _{TL} = 1.241 P = 0.270	117.80 102.36 a 133.24 111.50	152.43 105.58 a 199.27 144.00	268.67 214.01 a 323.32 274.00	ANOVA _{TL} = 57.370 P = 0.000
Colesterol (mg/dL)	154.14 136.91 a 171.37	166.56 150.91 a 182.21	173.62 161.63 a 185.59	ANOVA _{TL} = 3.817 P = 0.056	161.13 149.88 a 172.37	174.00 142.58 a 205.41	178.66 159.72 a 197.60	ANOVA _{TL} = 3.087 P = 0.088

	160.00	166.50	178.00		166.80	183.00	171.00	
ALT (UI/L)	24.28 16.84 a 31.72 20.00	42.31 13.89 a 70.72 27.00	46.68 35.34 a 58.03 41.00	ANOVA _{TL} = 3.450 P = 0.069	19.07 15.15 a 22.98 16.50	35.42 13.31 a 57.54 19.00	48.22 2.53 a 93.91 21.00	ANOVA _{TL} = 5.555 P = 0.025
AST (UI/L)	24.78 20.38 a 29.19 22.50	34.62 17.98 a 51.26 25.50	33.27 27.94 a 38.61 29.00	ANOVA _{TL} = 1.405 P =0.241	21.77 19.59 a 23.94 20.50	27.42 18.85 a 36.00 22.00	37.88 13.75 a 62.02 22.00	ANOVA _{TL} = 5.931 P = 0.020
GGT (UI/L)	21.35 14.16 a 28.55 17.50	26.56 19.48 a 33.64 22.00	29.67 23.94 a 35.40 25.00	ANOVA _{TL} = 3.338 P = 0.073	17.85 15.82 a 19.87 17.00	19.71 17.40 a 22.02 19.00	41.88 2.08 a 81.69 27.00	ANOVA _{TL} = 4.834 P = 0.035
Ácido Úrico (mg/dL)	5.22 4.17 a 6.28 4.80	5.98 5.11 a 6.85 5.75	5.55 5.01 a 6.10 5.10	ANOVA _{TL} = 0.182 P =0.672	4.60 4.15 a 5.04 4.25	4.94 3.78 a 6.10 4.40	5.72 4.92 a 6.51 5.60	ANOVA _{TL} = 7.054 P = 0.012
APRI	.2264 .1664 a .2865 .1950	.2994 .1547 a .4441 .2150	.2941 .2429 a .3452 .2600	ANOVA _{TL} = 1.104 P =0.298	.1840 .1559 a .2121 .1650	.2229 .1117 a .3341 .1900	.4167 .0872 a .7461 .2100	ANOVA _{TL} = 6.287 P = 0.017
FAST	.0986 .0619 a .1353 .0750	.1875 .0916 a .2834 .1350	.2944 .2188 a .3701 .2700	ANOVA _{TL} = 13.458 P = 0.001	.0840 .0564 a .1116 .0650	.1729 .0719 a .2738 .1300	.3200 .1316 a .5084 .2300	ANOVA _{TL} = 18.291 P = 0.000
Kcal	1459.92 1223.65 a 1696.19 1491.00	1597.34 1324.74 a 1869.93 1605.00	1835.57 1675.48 a 1995.66 1825.00	ANOVA _{TL} = 6.781 P = 0.012	1643.75 1475.05 a 1812.44 1657.50	1560.78 1129.81 a 1991.76 1445.00	1480.33 1159.98 a 1800.68 1307.50	ANOVA _{TL} = 1.097 P = 0.302
Fructosa (g)	16.32 9.31 a 23.34 13.85	13.18 8.47 a 17.89 8.50	13.53 10.71 a 16.34 14.00	ANOVA _{TL} = 0.706 P = 0.405	10.26 7.35 a 13.16 8.00	14.14 1.83 a 26.44 12.50	21.41 13.00 a 29.82 22.25	ANOVA _{TL} = 9.090 P = 0.005
% Fructosa	4.58 2.66 a 6.51 3.04	3.49 2.02 a 4.96 2.56	3.00 2.35 a 3.65 2.69	ANOVA _{TL} = 3.634 P = 0.062	2.58 1.82 a 3.34 1.96	3.29 1.12 a 5.46 3.19	5.93 3.69 a 8.17 6.80	ANOVA _{TL} = 14.220 P = 0.001
Fibra (g)	9.45 4.36 a	6.79 3.06 a	7.40 5.00 a 9.79	ANOVA _{TL} = 0.576 P = 0.451	5.03 2.83 a 7.23	9.45 -.0874 a	14.16 6.74 a	ANOVA _{TL} = 9.722 P = 0.004

	14.54 7.50	10.52 3.10	7.50		2.50	18.98 7.50	21.57 17.50	
Proteínas (g)	65.25 53.97 a 76.52 60.00	67.68 57.78 a 77.58 68.00	81.25 73.46 a 89.04 83.00	ANOVA _{TL} = 7.397 P = 0.009	73.95 64.04 a 83.85 72.50	69.07 45.73 a 92.41 63.00	68.27 49.19 a 87.35 63.00	ANOVA _{TL} = 0.443 P = 0.510
Lípidos (g)	38.46 28.61 a 48.31 34.50	46.87 37.38 a 56.39 46.50	52.14 46.92 a 57.37 52.00	ANOVA _{TL} = 7.031 P = 0.010	50.82 43.08 a 58.56 43.75	49.35 35.97 a 62.74 54.00	41.27 27.18 a 55.36 37.50	ANOVA _{TL} = 1.871 P = 0.181
Actividad Física (minutos/día)	48.57 39.07 a 58.07 45.00	32.81 24.97 a 40.65 30.00	23.33 17.66 a 29.01 30.00	ANOVA _{TL} = 25.713 P = 0.000	35.50 29.72 a 41.28 37.50	36.43 25.51 a 47.34 30.00	12.22 .84 a 23.61 .00	ANOVA _{TL} = 17.297 P = 0.000
Sedentarismo (minutos/día)	94.43 78.23 a 114.63 90.00	125.63 100.04 a 151.21 120.00	166.67 149.78 a 183.56 180.00	ANOVA _{TL} = 27.559 P = 0.000	108.00 85.50 a 130.50 105.00	120.00 84.18 a 155.82 120.00	210.00 166.86 a 253.14 240.00	ANOVA _{TL} = 24.691 P = 0.000
% Firmicutes ^{a, b}	43.25 39.85 a 46.65 44.00	46.36 42.82 a 49.90 49.50	49.15 46.32 a 51.98 51	ANOVA _{TL} = 6.318 P = 0.016	43.50 41.07 a 45.93 44	46.83 42.88 a 50.78 48.50	47.20 37.17 a 57.23 50	ANOVA _{TL} = 2.493 P = 0.130
% Bacteroidetes ^{a, b}	48.00 44.00 a 52.00 46.50	44.43 40.34 a 48.52 41.00	40.15 36.55 a 43.75 37.00	ANOVA _{TL} = 7.851 P = 0.008	47.75 44.54 a 50.96 46.00	43.33 38.21 a 48.46 41.50	42.20 29.86 a 54.54 38.00	ANOVA _{TL} = 3.317 P = 0.084
% Proteobacterias ^{a, b}	5.25 4.38 a 6.12 5.00	5.50 4.72 a 6.28 6.00	7.10 6.23 a 7.97 8.00	ANOVA _{TL} = 10.602 P = 0.002	5.33 4.24 a 6.43 5.00	6.50 5.40 a 7.60 6.50	7.40 5.14 a 9.66 8.00	ANOVA _{TL} = 6.379 P = 0.020

^aNumero de sujetos sin información: 28 ^b Total de sujetos: 65

CUADRO VI. COMPARACIÓN DE MEDIAS Y DIFERENCIAS DE MEDIAS ENTRE EL GRADO DE ESTEATOSIS HEPÁTICA EN RELACIÓN A DIFERENTES VARIABLES SOCIODEMOGRAFICAS Y CLINICAS SEGÚN SEXO EN 93 SUJETOS. PRUEBA PARAMÉTRICA

Variables de Estudio	Niños (N=57)					Niñas (N=36)				
	Grado I Media Aritmética IC95% Mediana IC95%	Grado II Media Aritmética IC95% Mediana IC95%	Grado III Media Aritmética IC95% Mediana IC95%	PRUEBA PARAMETRICA Prueba Estadística Nivel de Significancia	Diferencia de Medias IC95%	Grado I Media Aritmética IC95% Mediana IC95%	Grado II Media Aritmética IC95% Mediana IC95%	Grado III Media Aritmética IC95% Mediana IC95%	PRUEBA PARAMETRICA Prueba Estadística Nivel de Significancia	Diferencia de Medias IC95%
Edad (Años)	11.43 10.08 a 12.78 11	11.56 10.76 a 12.36 11.50	11.96 11.18 a 12.75 12	ANOVA = 0.412 P = 0.664	.400 .620 a 795	12.30 10.92 a 13.68 13	13.29 10.98 a 15.60 14	13.33 11.16 a 15.51 15	ANOVA = 0.567 P = 0.573	.048 -3.46 a 3.56
IMC (Kg/m ²)	25.75 23.94 a 27.57 25.55	26.16 23.48 a 28.85 25.60	29.70 27.44 a 31.96 28.80	ANOVA = 3.954 P = 0.025	3.53 .074 a -.27	26.86 24.44 a 29.28 25.70	29.62 26.25 a 33.00 30.60	34.66 27.91 a 41.41 31.80	ANOVA = 5.182 P = 0.011	-7.79 1.84 a 13.74
CAP (dB/m)	248.71 243.16 a 254.27 246.50	283.94 279.52 a 288.36 286.50	335.93 325.86 a 345.99 339.00	ANOVA = 107.377 P = 0.000	51.98 37.70 a 66.27	252.15 247.51 a 256.79 251.00	291.43 288.19 a 294.67 291.00	340.89 317.20 a 364.58 334.00	ANOVA = 85.905 P = 0.000	49.46 28.44 a 70.48
Insulina (uUI/mL)	19.99 4.33 a 35.65 12.75	18.36 12.65 a 24.07 16.57	18.56 15.72 a 21.39 16.23	ANOVA = 0.052 P = 0.949	.19 -11.42 a 11.82	12.73 9.80 a 15.66 12.16	22.24 10.92 a 33.55 22.28	26.12 17.86 a 34.39 23.03	ANOVA = 8.190 P = 0.001	13.39 4.70 a 22.07
HOMA	4.18 1.04 a 7.33 2.90	3.86 2.56 a 5.16 3.47	4.03 3.33 a 4.73 3.35	ANOVA = 0.039 P = 0.962	.17 -2.26 a 2.61	2.63 2.01 a 3.26 2.53	4.57 2.14 a 7.00 4.62	5.63 3.74 a 7.52 5.00	ANOVA = 8.183 P = 0.001	2.99 1.08 a 4.90
Triglicéridos (mg/dL)	132.43 100.89 a 163.97 130.00	140.69 104.05 a 177.33 132.50	152.70 132.71 a 172.70 149.00	ANOVA = 0.627 P = 0.538	12.01 -31.41 a 55.44	117.80 102.36 a 133.24 111.50	152.43 105.58 a 199.27 144.00	268.67 214.01 a 323.32 274.00	ANOVA = 30.646 P = 0.000	116.23 56.69 a 175.78
Colesterol (mg/dL)	154.14 136.91 a	166.56 150.91 a	173.62 161.63 a	ANOVA = 1.953 P = 0.152	7.05 -15.69 a	161.13 149.88 a	174.00 142.58 a	178.66 159.72 a	ANOVA = 1.610 P = 0.215	4.66 -27.80 a

	171.37 160.00	182.21 166.50	185.59 178.00		29.80	172.37 166.80	205.41 183.00	197.60 171.00		37.13
ALT (UI/L)	24.28 16.84 a 31.72 20.00	42.31 13.89 a 70.72 27.00	46.68 35.34 a 58.03 41.00	ANOVA = 1.937 P = 0.154	4.37 -22.24 a 30.99	19.07 15.15 a 22.98 16.50	35.42 13.31 a 57.54 19.00	48.22 2.53 a 93.91 21.00	ANOVA = 2.786 P = 0.076	12.79 -26.32 a 51.91
AST (UI/L)	24.78 20.38 a 29.19 22.50	34.62 17.98 a 51.26 25.50	33.27 27.94 a 38.61 29.00	ANOVA = 1.171 P = 0.318	-1.34 -16.02 a 13.32	21.77 19.59 a 23.94 20.50	27.42 18.85 a 36.00 22.00	37.88 13.75 a 62.02 22.00	ANOVA = 3.025 P = 0.062	10.46 -9.74 a 30.66
GGT (UI/L)	21.35 14.16 a 28.55 17.50	26.56 19.48 a 33.64 22.00	29.67 23.94 a 35.40 25.00	ANOVA = 1.702 P = 0.192	3.10 -7.30 a 13.51	17.85 15.82 a 19.87 17.00	19.71 17.40 a 22.02 19.00	41.88 2.08 a 81.69 27.00	ANOVA = 2.842 P = 0.073	22.17 -9.64 a 53.99
Ácido Úrico (mg/dL)	5.22 4.17 a 6.28 4.80	5.98 5.11 a 6.85 5.75	5.55 5.01 a 6.10 5.10	ANOVA = 0.890 P = 0.416	-.42 -1.62 a .764	4.60 4.15 a 5.04 4.25	4.94 3.78 a 6.10 4.40	5.72 4.92 a 6.51 5.60	ANOVA = 3.648 P = 0.037	1.12 .103 a 2.14
APRI	.2264 .1664 a .2865 .1950	.2994 .1547 a .4441 .2150	.2941 .2429 a .3452 .2600	ANOVA = 0.826 P = 0.443	-.005 -.13 a .12	.1840 .1559 a .2121 .1650	.2229 .1117 a .3341 .1900	.4167 .0872 a .7461 .2100	ANOVA = 3.476 P = 0.043	.23 .01 a .45
FAST	.0986 .0619 a .1353 .0750	.1875 .0916 a .2834 .1350	.2944 .2188 a .3701 .2700	ANOVA = 6.746 P = 0.002	.19 .064 a .32	.0840 .0564 a .1116 .0650	.1729 .0719 a .2738 .1300	.3200 .1316 a .5084 .2300	ANOVA = 9.269 P = 0.001	.23 -.02 a .31
Kcal	1459.92 1223.65 a 1696.19 1491.00	1597.34 1324.74 a 1869.93 1605.00	1835.57 1675.48 a 1995.66 1825.00	ANOVA = 3.753 P = 0.030	375.64 27.98 a 723.30	1643.75 1475.05 a 1812.44 1657.50	1560.78 1129.81 a 1991.76 1445.00	1480.33 1159.98 a 1800.68 1307.50	ANOVA = 0.549 P = 0.583	-80.45 -569.48 a 408.58
Fructosa (g)	16.32 9.31 a 23.34 13.85	13.18 8.47 a 17.89 8.50	13.53 10.71 a 16.34 14.00	ANOVA = 0.561 P = 0.574	.34 -6.52 a 7.21	10.26 7.35 a 13.16 8.00	14.14 1.83 a 26.44 12.50	21.41 13.00 a 29.82 22.25	ANOVA = 4.639 P = 0.017	11.15 2.16 a 20.14
% Fructosa	4.58 2.66 a 6.51	3.49 2.02 a 4.96	3.00 2.35 a 3.65	ANOVA = 1.900 P = 0.159	-.49 -2.36 a 1.38	2.58 1.82 a 3.34	3.29 1.12 a 5.46	5.93 3.69 a 8.17	ANOVA = 7.663 P = 0.002	3.34 1.24 a 5.45

	3.04	2.56	2.69			1.96	3.19	6.80		
Fibra (g)	9.45 4.36 a 14.54 7.50	6.79 3.06 a 10.52 3.10	7.40 5.00 a 9.79 7.50	ANOVA = 0.587 P = 0.559	.60 -4.76 a 5.98	5.03 2.83 a 7.23 2.50	9.45 -.0874 a 18.98 7.50	14.16 6.74 a 21.57 17.50	ANOVA = 4.862 P = 0.014	9.12 1.84 a 16.40
Proteínas (g)	65.25 53.97 a 76.52 60.00	67.68 57.78 a 77.58 68.00	81.25 73.46 a 89.04 83.00	ANOVA = 4.159 P = 0.021	13.56 -1.15 a 28.28	73.95 64.04 a 83.85 72.50	69.07 45.73 a 92.41 63.00	68.27 49.19 a 87.35 63.00	ANOVA = 0.243 P = 0.785	-.79 -29.07 a 27.48
Lípidos (g)	38.46 28.61 a 48.31 34.50	46.87 37.38 a 56.39 46.50	52.14 46.92 a 57.37 52.00	ANOVA = 3.572 P = 0.035	13.68 1.33 a 26.03	50.82 43.08 a 58.56 43.75	49.35 35.97 a 62.74 54.00	41.27 27.18 a 55.36 37.50	ANOVA = 1.043 P = 0.364	-8.07 -28.66 a 12.50
Actividad Física (minutos/día)	48.57 39.07 a 58.07 45.00	32.81 24.97 a 40.65 30.00	23.33 17.66 a 29.01 30.00	ANOVA = 13.101 P = 0.000	-25.23 -37.13 a - 13.35	35.50 29.72 a 41.28 37.50	36.43 25.51 a 47.34 30.00	12.22 .84 a 23.61 .00	ANOVA = 11.242 P = 0.000	-24.20 -40.15 a - 8.26
Sedentarismo (minutos/día)	94.43 78.23 a 114.63 90.00	125.63 100.04 a 151.21 120.00	166.67 149.78 a 183.56 180.00	ANOVA = 13.891 P = 0.000	41.04 9.16 a 72.92	108.00 85.50 a 130.50 105.00	120.00 84.18 a 155.82 120.00	210.00 166.86 a 253.14 240.00	ANOVA = 14.100 P = 0.000	90.00 29.83 a 150.17
% Firmicutes ^{a, b}	43.25 39.85 a 46.65 44.00	46.36 42.82 a 49.90 49.50	49.15 46.32 a 51.98 51	ANOVA = 3.162 P = 0.053	5.90 .02 a 11.78	43.50 41.07 a 45.93 44	46.83 42.88 a 50.78 48.50	47.20 37.17 a 57.23 50	ANOVA = 1.435 P = 0.262	.367 -7.24 a 7.97
% Bacteroidetes ^{a, b}	48.00 44.00 a 52.00 46.50	44.43 40.34 a 48.52 41.00	40.15 36.55 a 43.75 37.00	ANOVA = 3.936 P = 0.028	-7.85 -15.03 a - .67	47.75 44.54 a 50.96 46.00	43.33 38.21 a 48.46 41.50	42.20 29.86 a 54.54 38.00	ANOVA = 1.801 P = 0.191	-1.13 -10.79 a 8.52
% Proteobacterias ^{a, b}	5.25 4.38 a 6.12 5.00	5.50 4.72 a 6.28 6.00	7.10 6.23 a 7.97 8.00	ANOVA = 6.098 P = 0.005	1.60 .26 a 2.94	5.33 4.24 a 6.43 5.00	6.50 5.40 a 7.60 6.50	7.40 5.14 a 9.66 8.00	ANOVA = 3.204 P = 0.062	.90 -1.56 a 3.36

GRAFICOS DE CAJAS Y BIGOTES

Cuadro VIII.

DISTRIBUCIÓN DE LAS VARIABLES SOCIODEMOGRAFICAS, ANTROPOMÉTRICAS Y DE LABORATORIO PARA TODA LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

FIGURA 8a. Edad (Años)

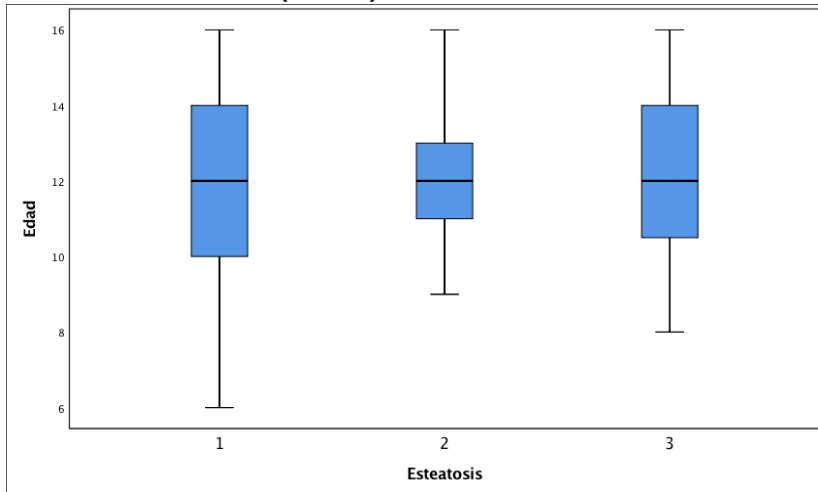


FIGURA 8b. IMC (Kg/m²)

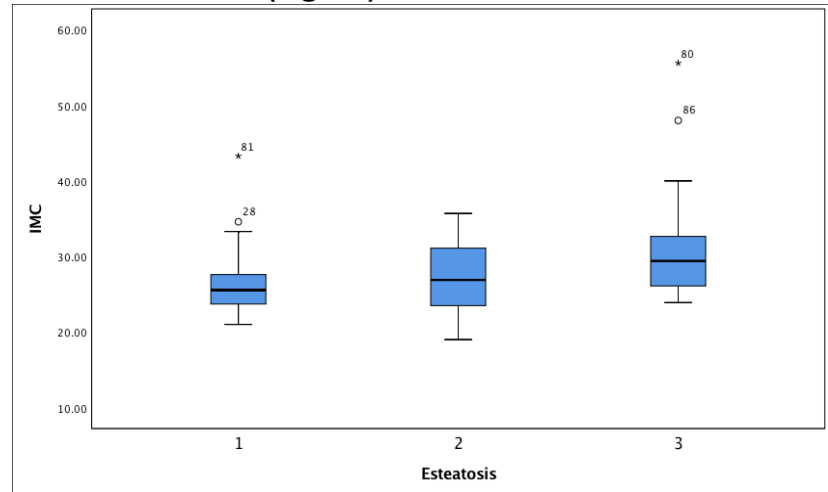


FIGURA 8c. CAP (dB/m)

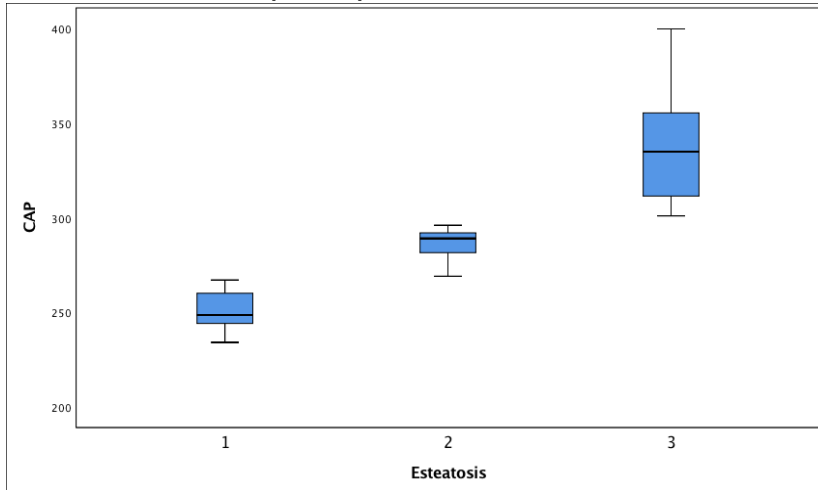


FIGURA 8d. Triglicéridos (mg/dL)

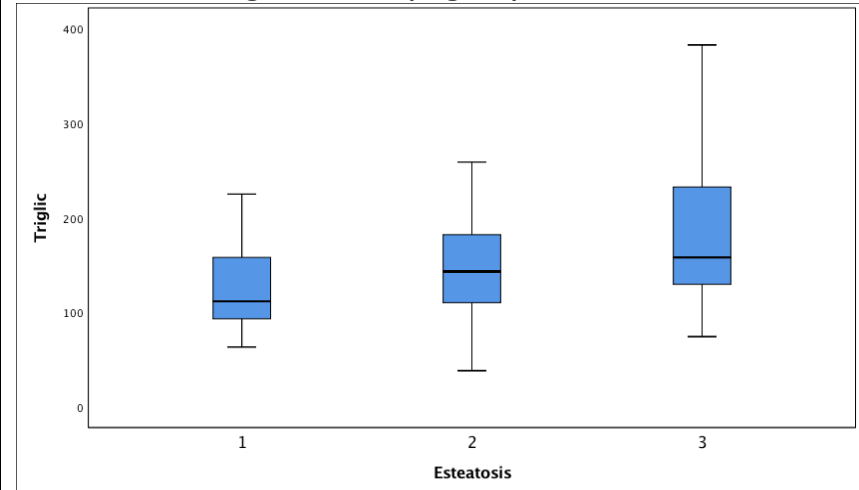


FIGURA 8e. Colesterol (mg/dL)

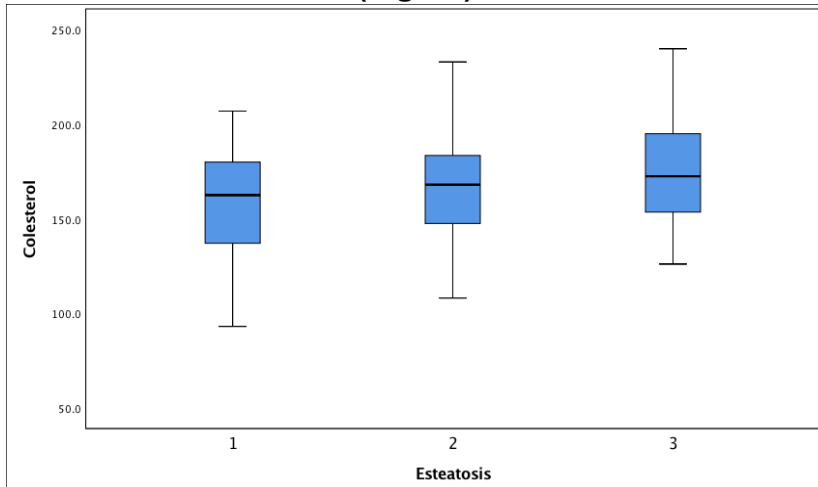


FIGURA 8f. cHDL (mg/dL)

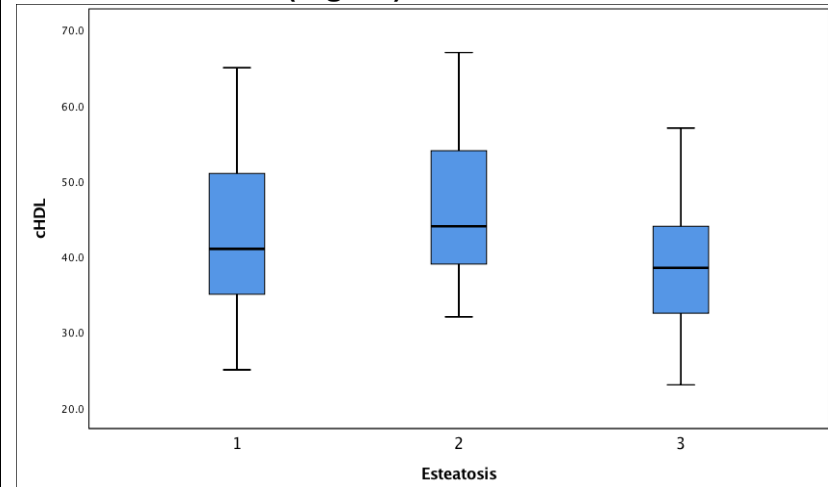


FIGURA 8g. ALT (UI/L)

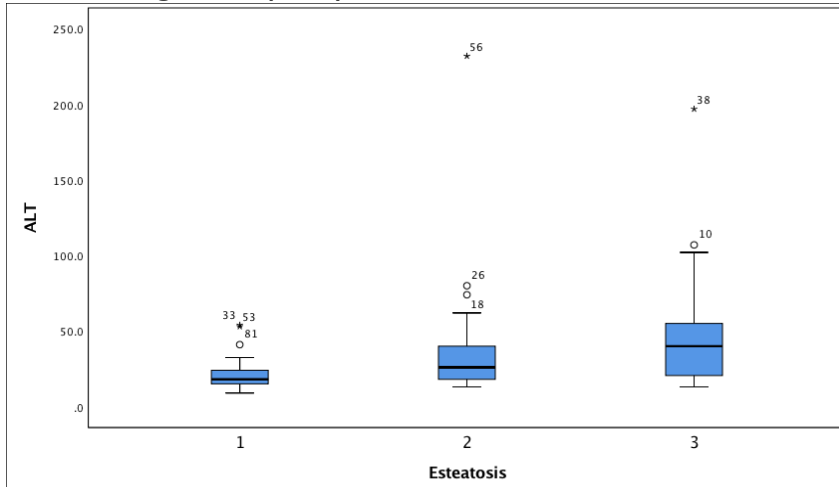


FIGURA 8h. AST (UI/L)

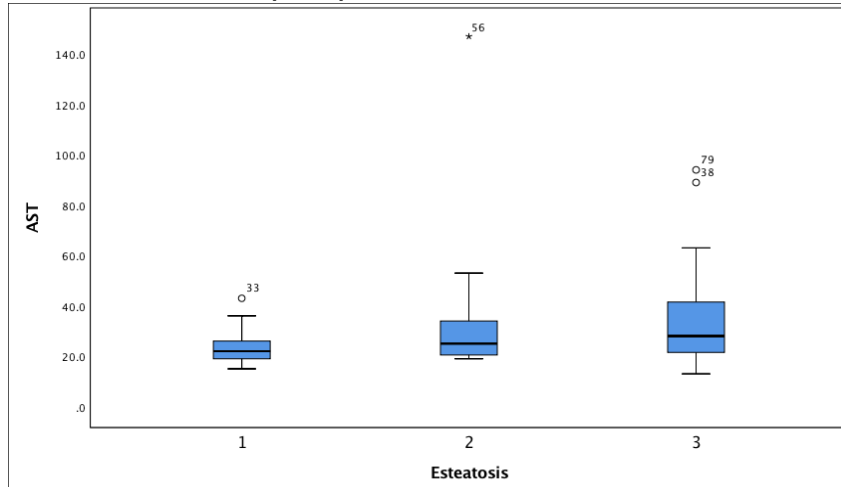


FIGURA 8i. GGT (UI/L)

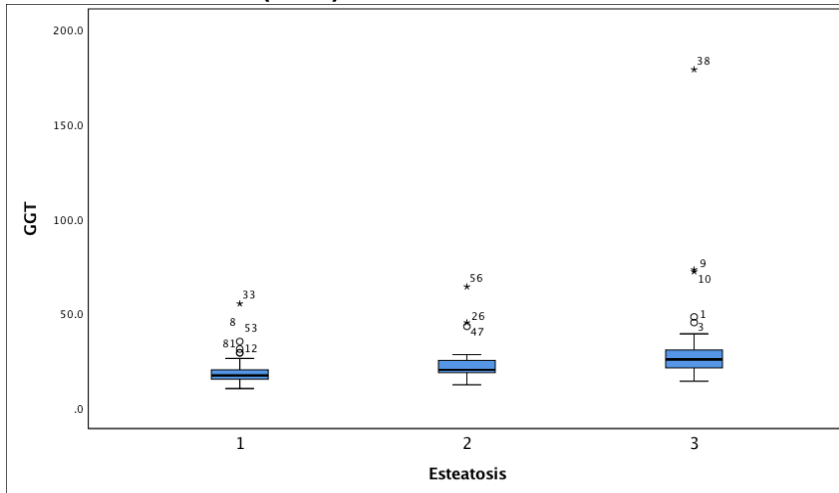


FIGURA 8j. FA (UI/L)

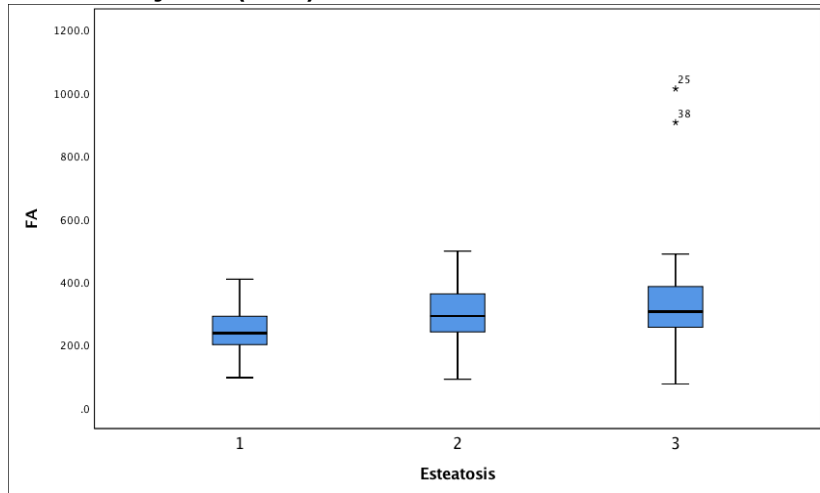


FIGURA 8k.ACIDO URICO (mg/dL)

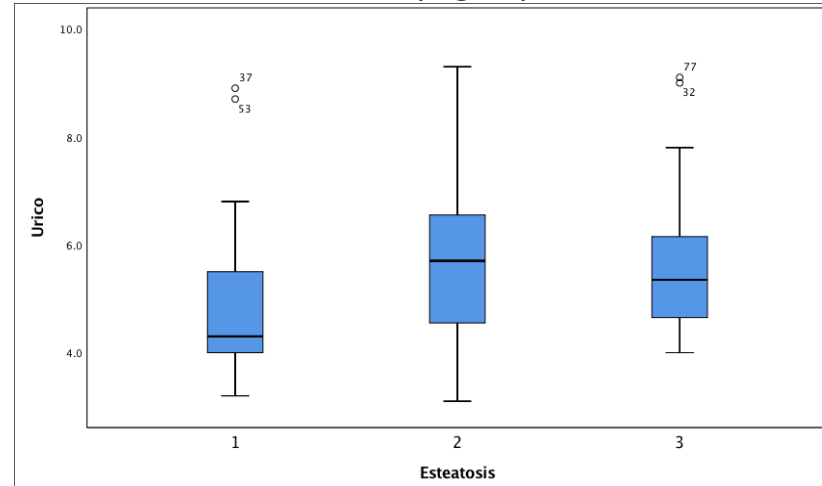


FIGURA 8l.APRI

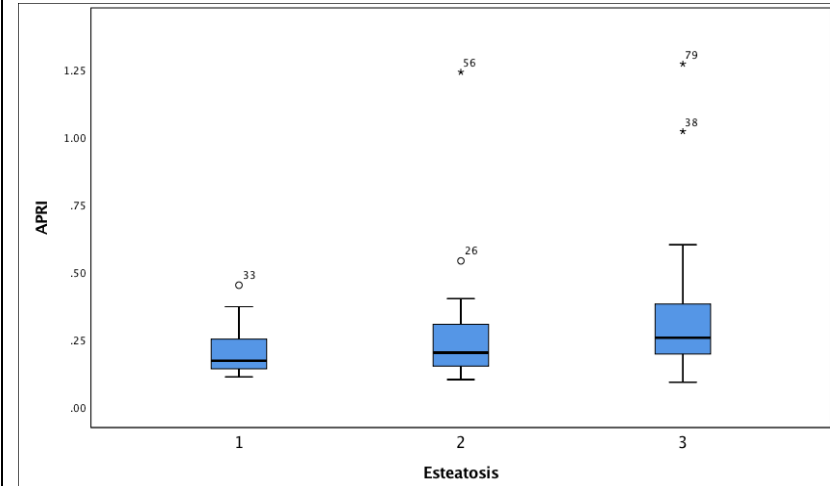


FIGURA 8m. FAST

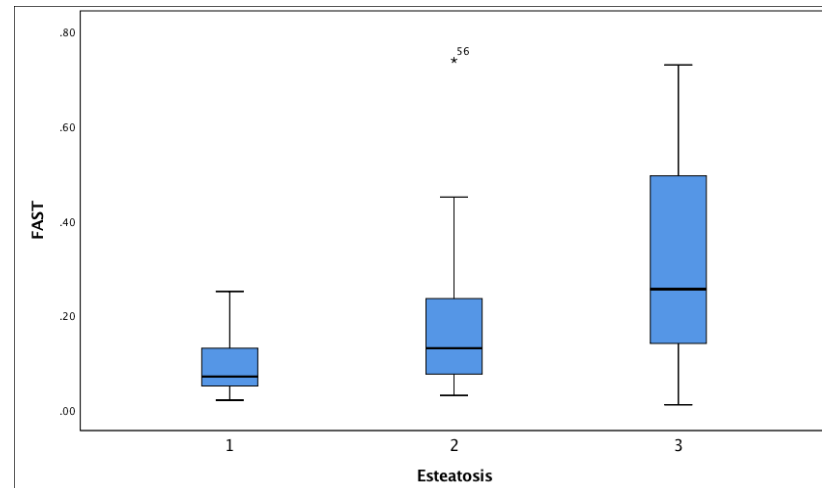


FIGURA 8n. ACTIVIDAD FÍSICA (minutos/día)

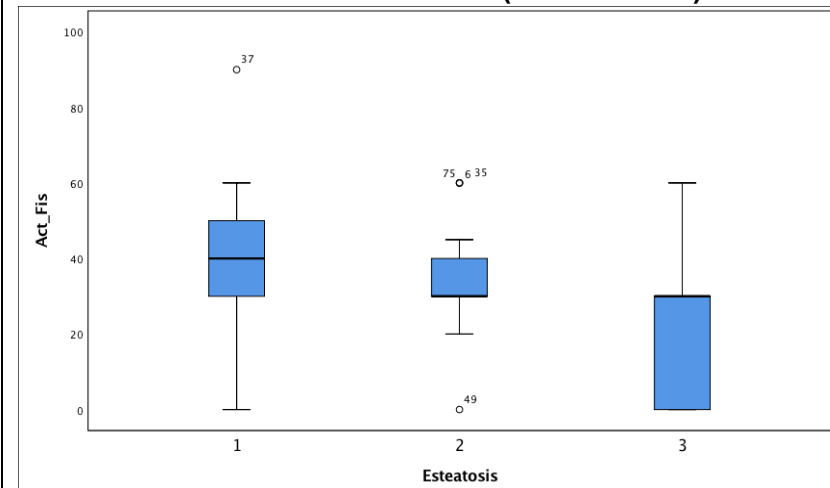


FIGURA 8o. SEDENTARISMO (minutos/día)

FIGURA 8p. %FIRMICUTES

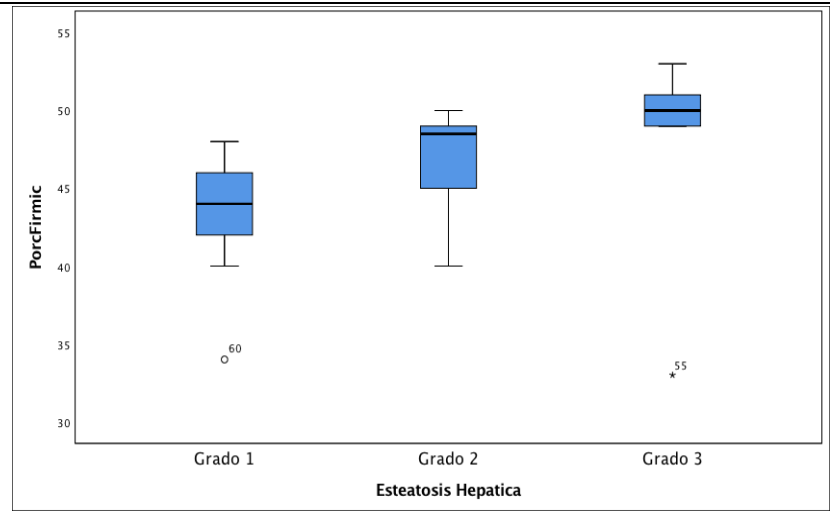
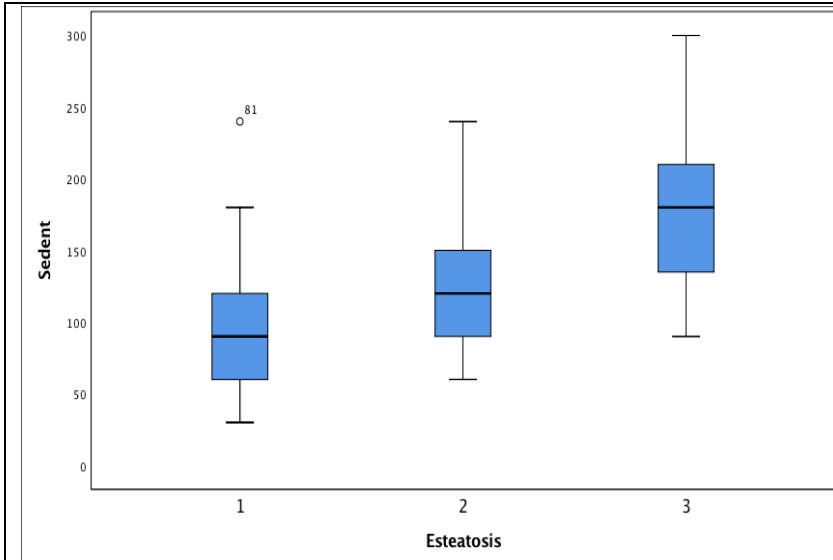


FIGURA 8q. BACTEROIDES

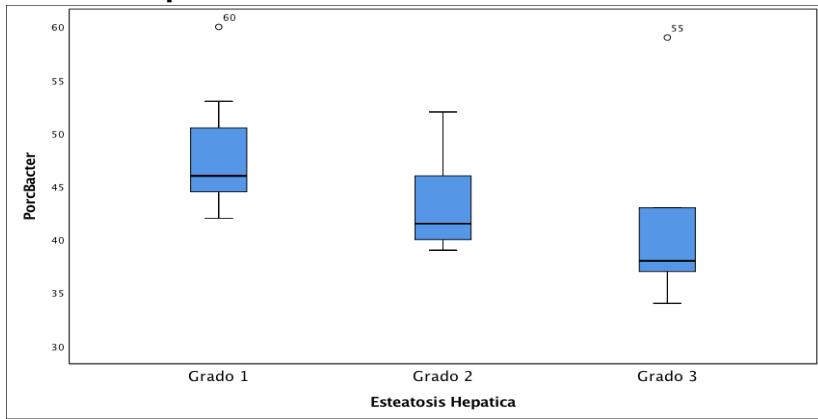
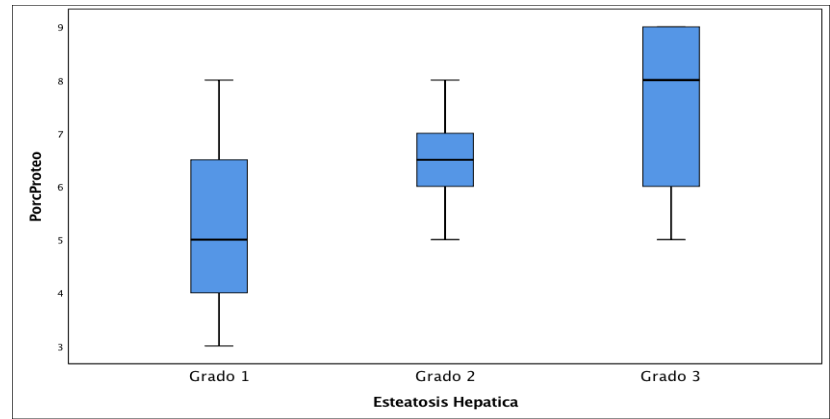


FIGURA 8r. PROTEOBACTERIAS

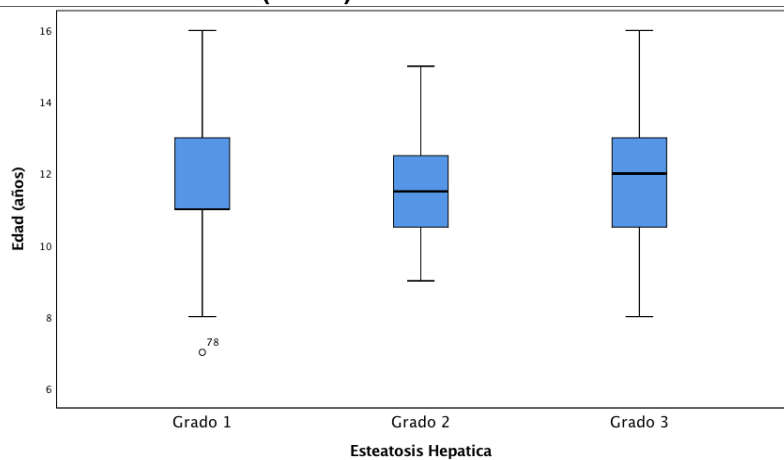


GRAFICOS DE CAJAS Y BIGOTES

CUADRO VIII. DISTRIBUCIÓN DE LAS VARIABLES SOCIODEMOGRAFICAS, ANTROPOMÉTRICAS Y DE LABORATORIO EN RELACIÓN AL SEXO

NIÑOS

FIGURA 1A. EDAD (Años)



NIÑAS

FIGURA 1B. EDAD (Años)

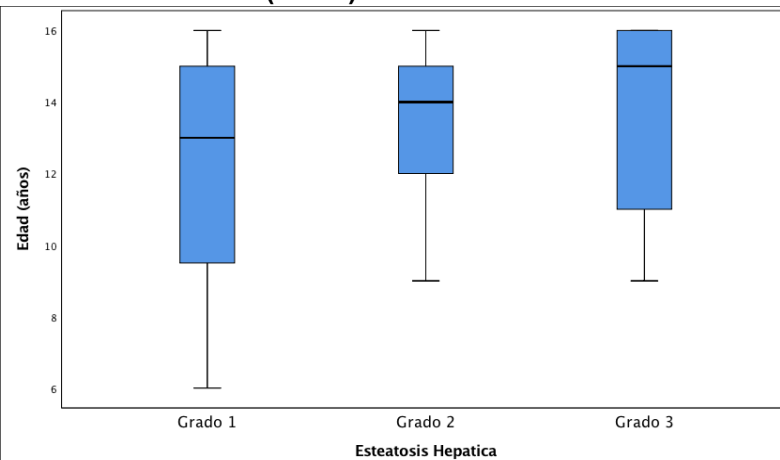


FIGURA 2A. IMC (Kg/m²)

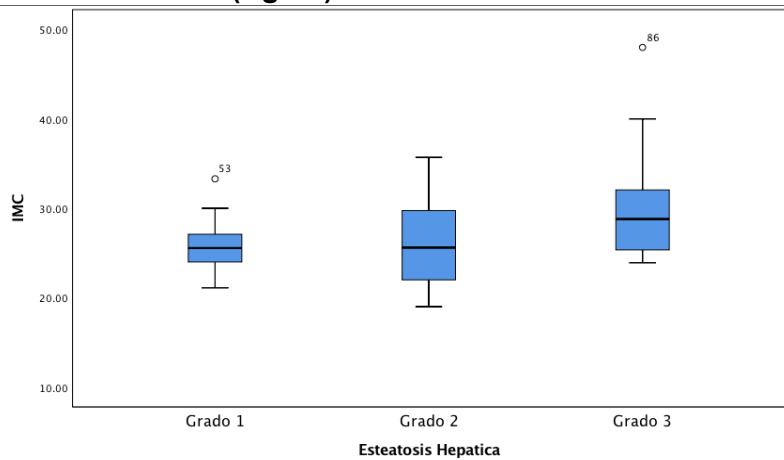


FIGURA 2B. IMC (Kg/m²)

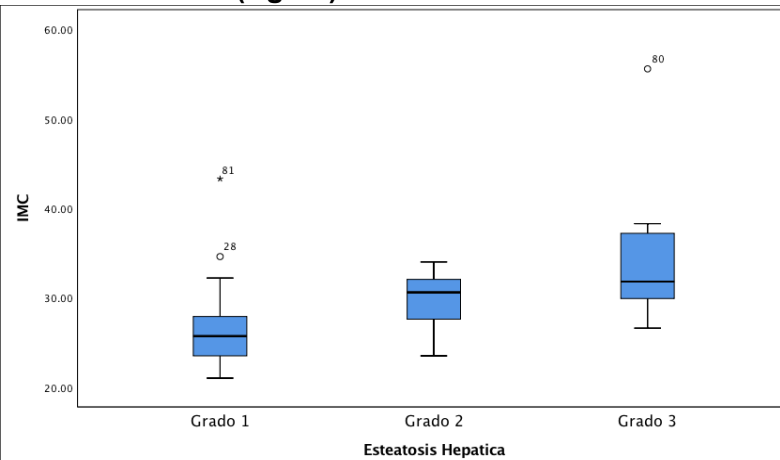


FIGURA 3A. CAP (dB/m)

FIGURA 3B. CAP (dB/m)

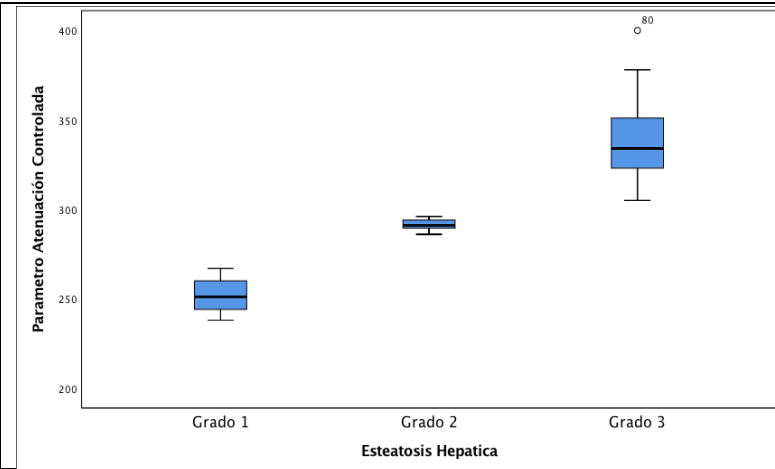
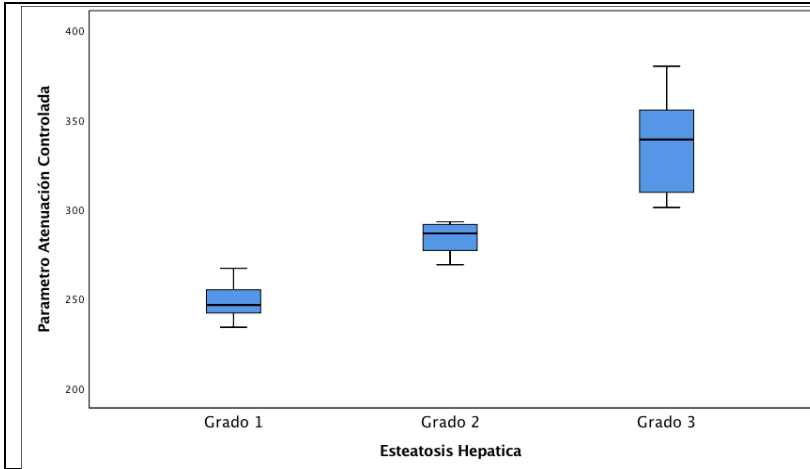


FIGURA 4A. TRIGLICERIDOS (mg/dL)

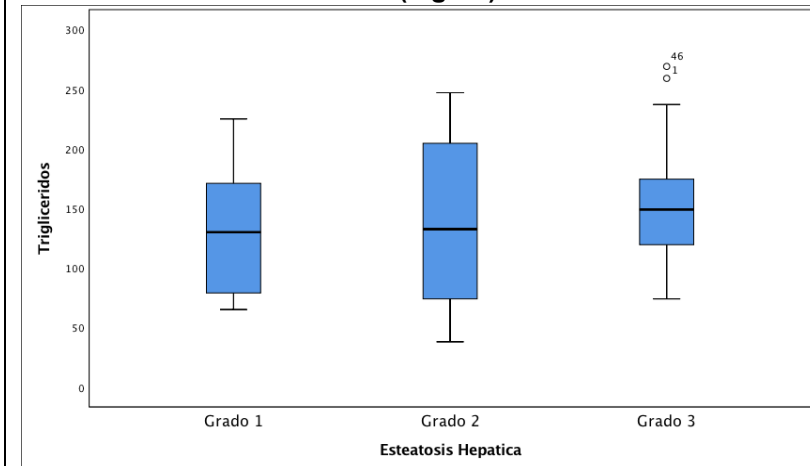


FIGURA 4B. TRIGLICERIDOS (mg/dL)

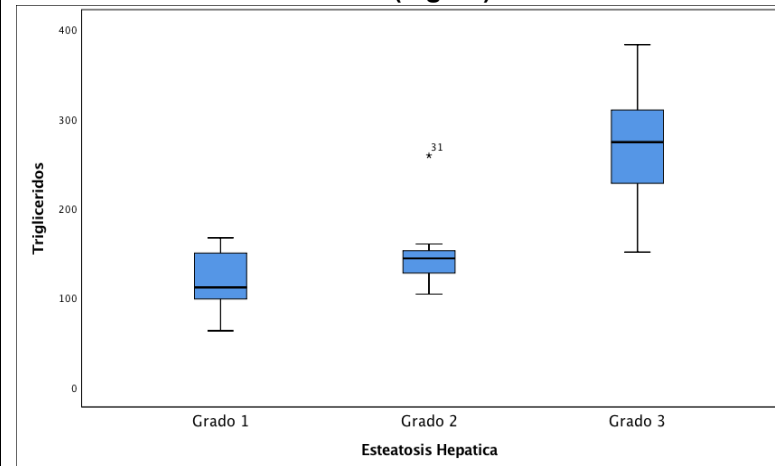


FIGURA 5A. COLESTEROL (mg/dL)

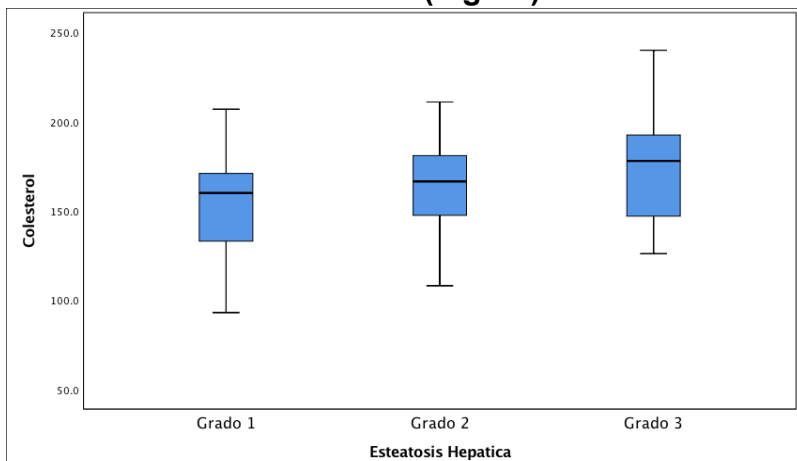


FIGURA 5B. COLESTEROL (mg/dL)

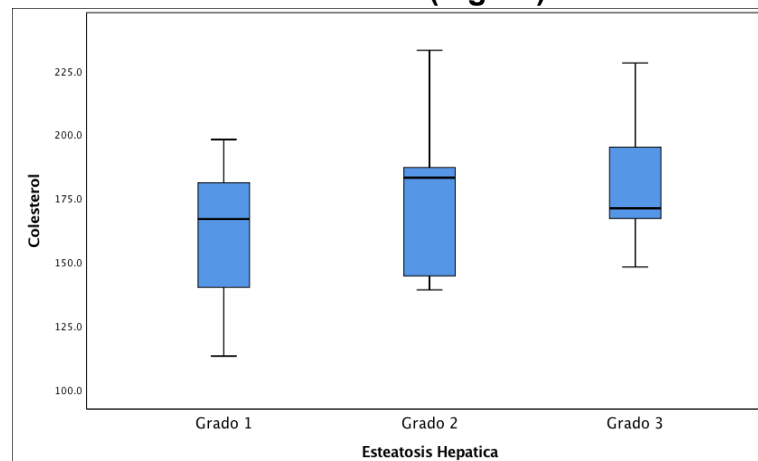


FIGURA 6A. CHDL (mg/dL)

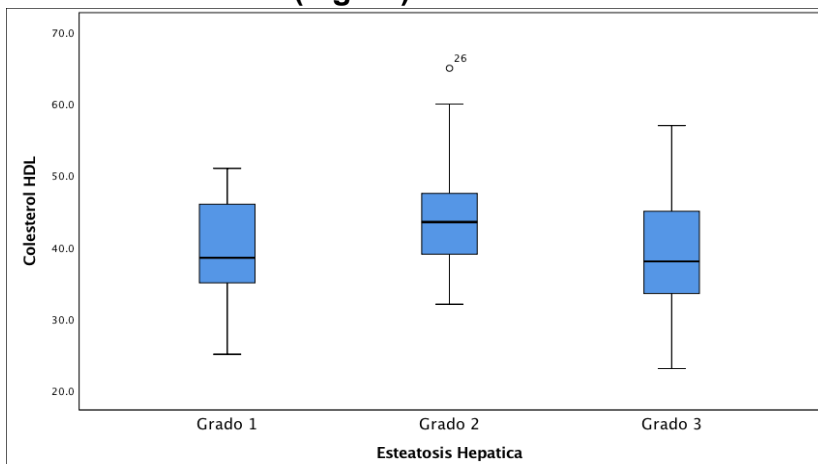


FIGURA 6B. CHDL (mg/dL)

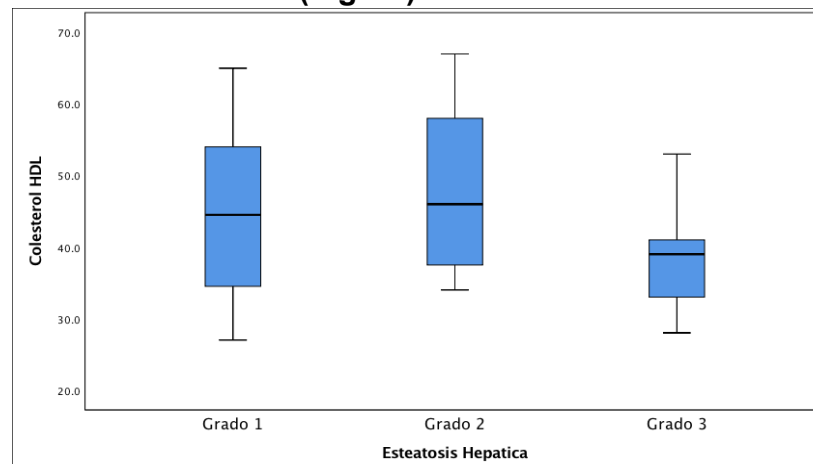


FIGURA 7A. ALT (UI/L)

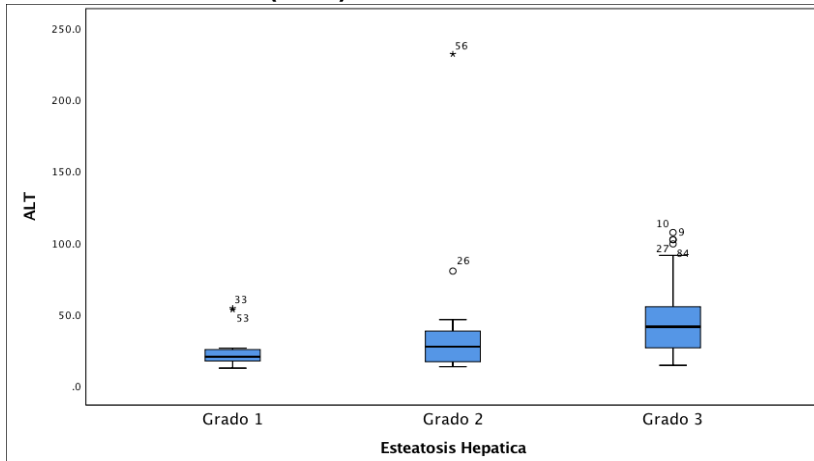


FIGURA 7B. ALT (UI/L)

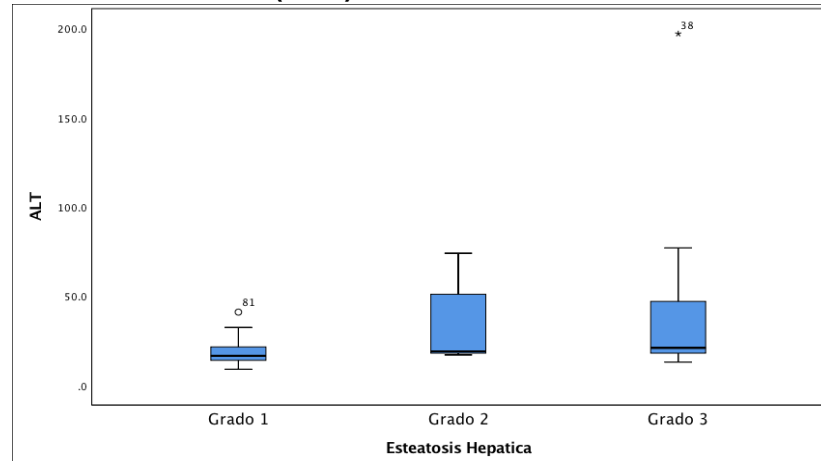


FIGURA 8A. AST (UI/L)

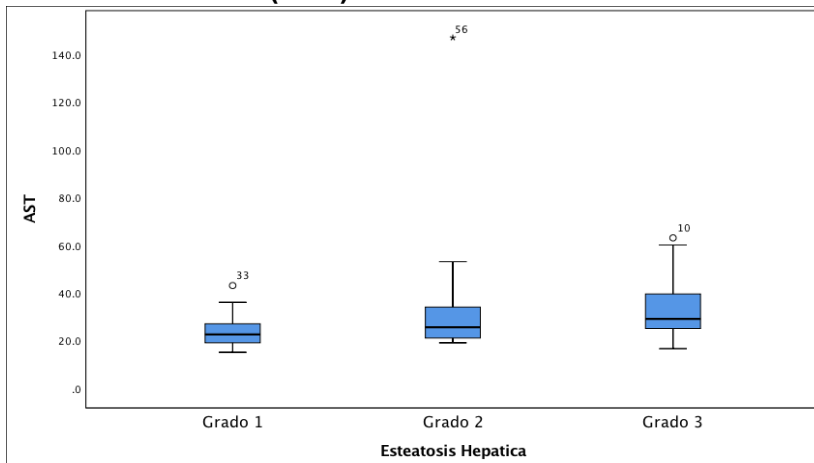


FIGURA 8B. AST (UI/L)

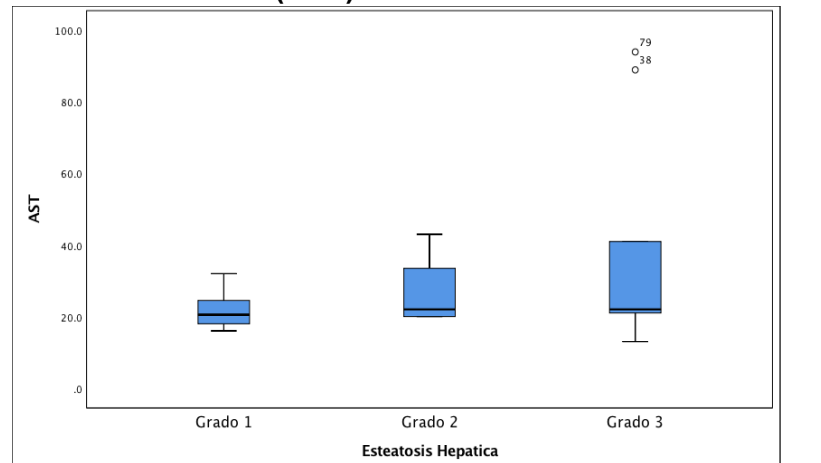


FIGURA 9A. GGT (UI/L)

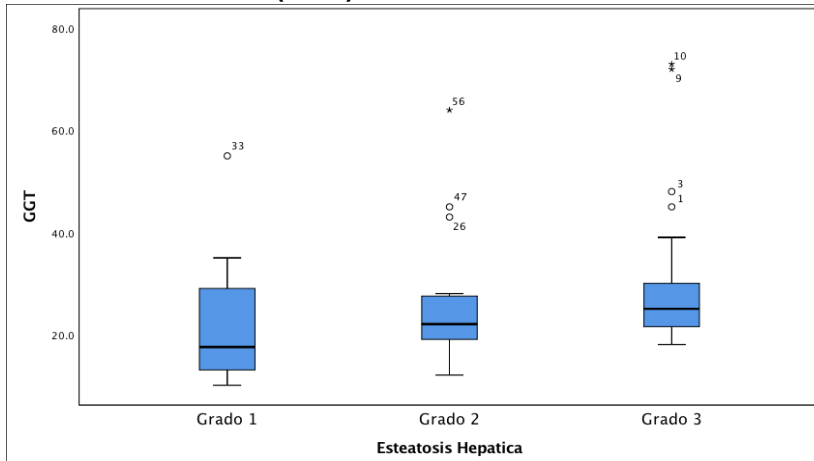


FIGURA 9B. GGT (UI/L)

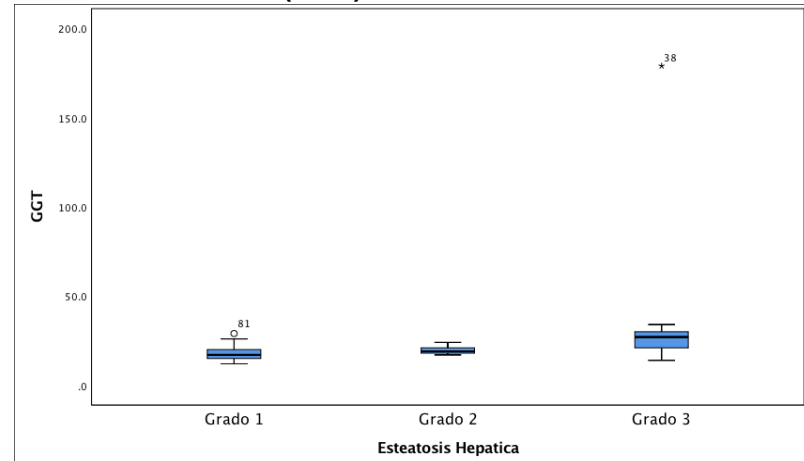


FIGURA 10A. FA (UI/L)

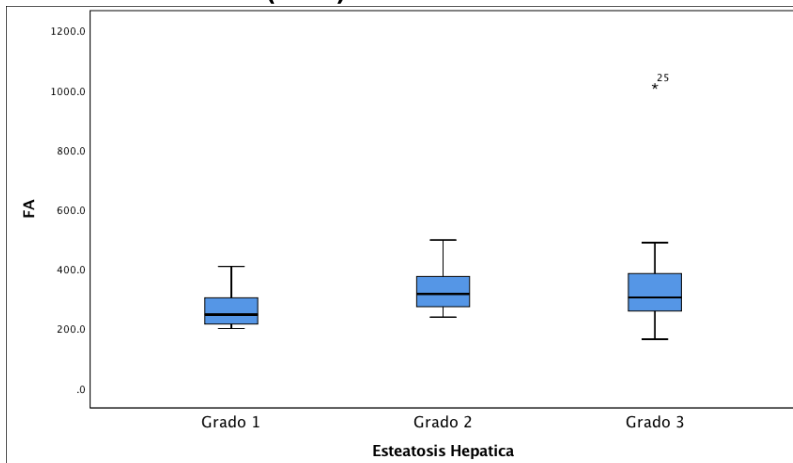


FIGURA 10B. FA (UI/L)

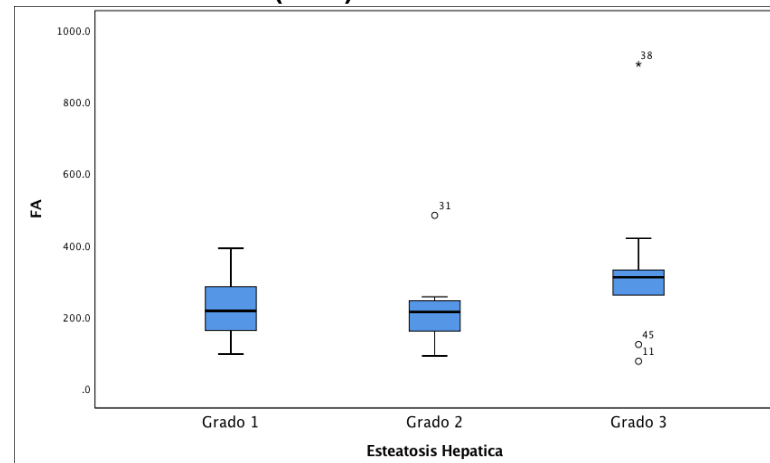


FIGURA 11A. ACIDO URICO (mg/dL)

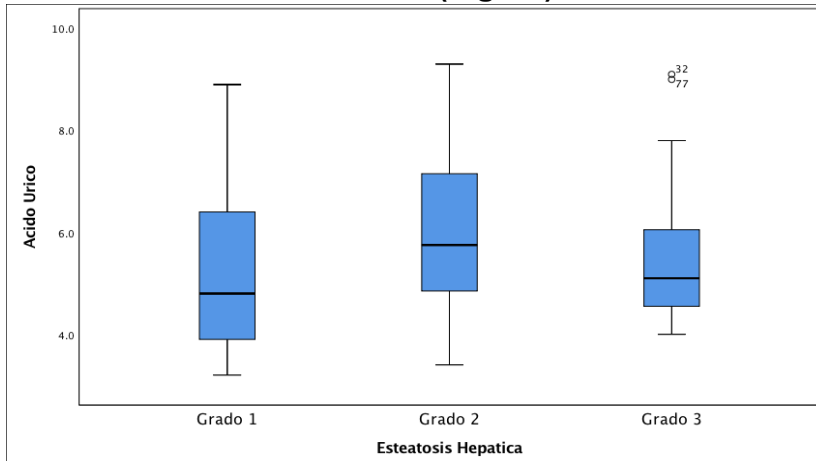


FIGURA 11B. ACIDO URICO (mg/dL)

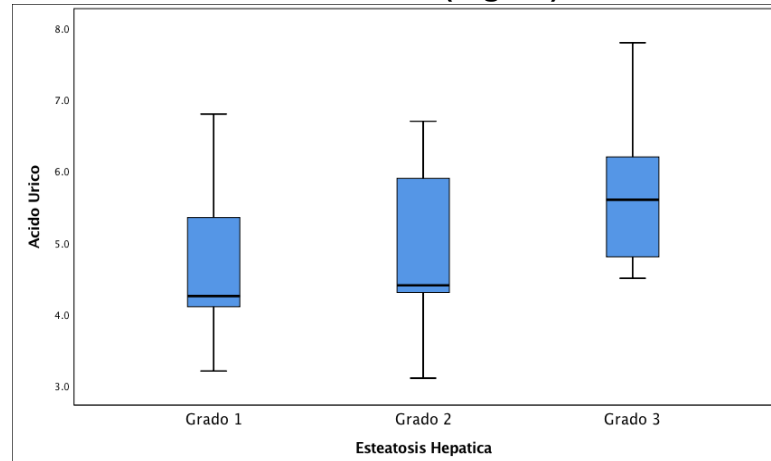


FIGURA 12A. APRI

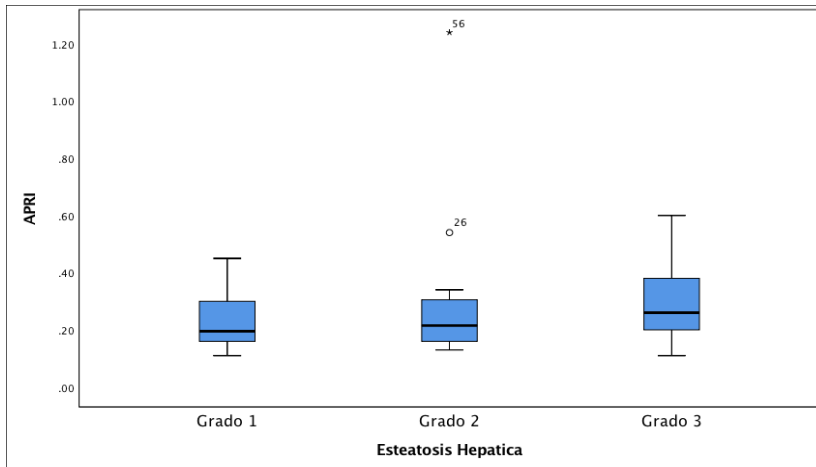


FIGURA 12B. APRI

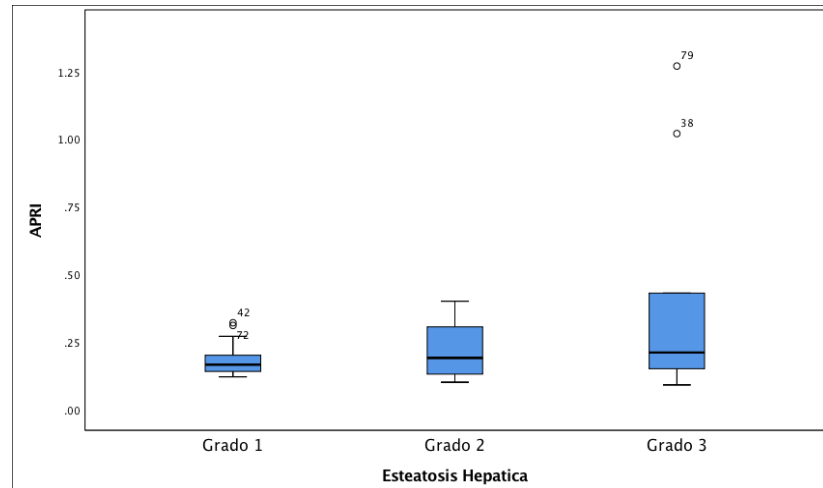


FIGURA 13A. FAST

FIGURA 13B. FAST

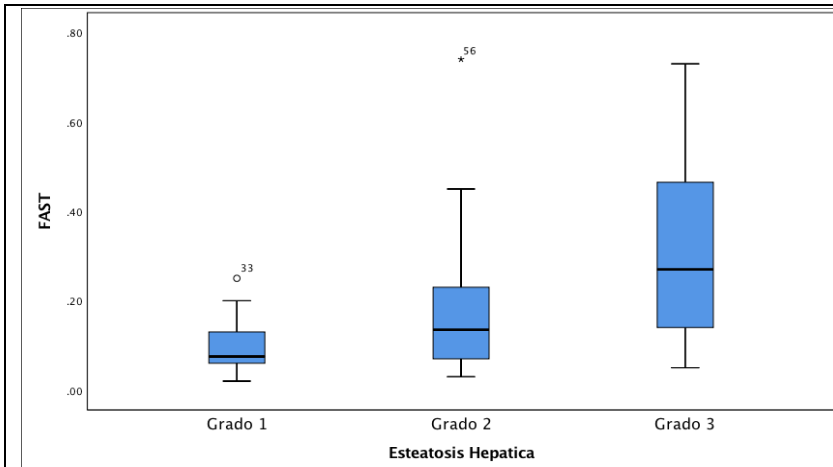


FIGURA 14A. ACTIVIDAD FISICA (minutos/día)

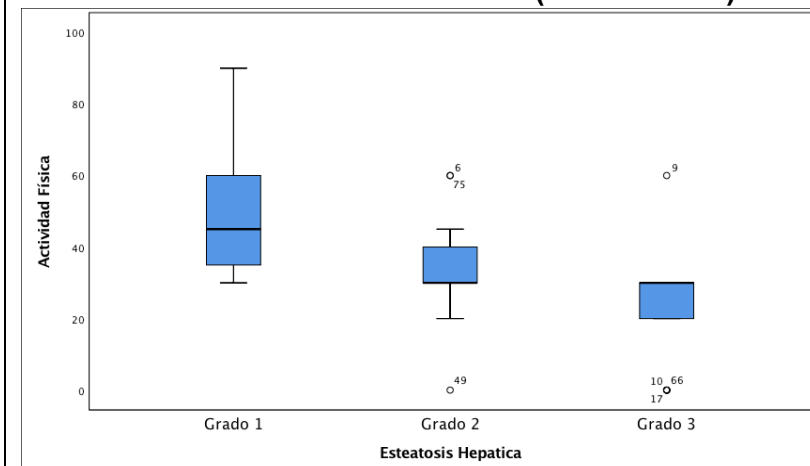


FIGURA 15A. SEDENTARISMO (minutos/día)

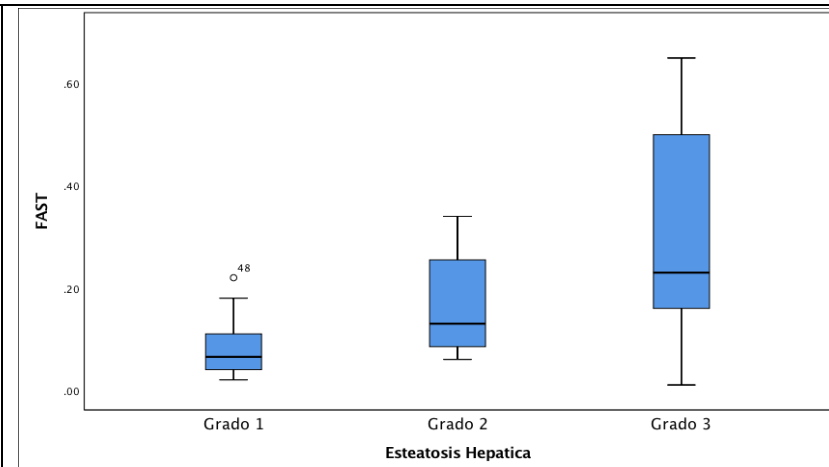


FIGURA 14B. ACTIVIDAD FISICA (minutos/día)

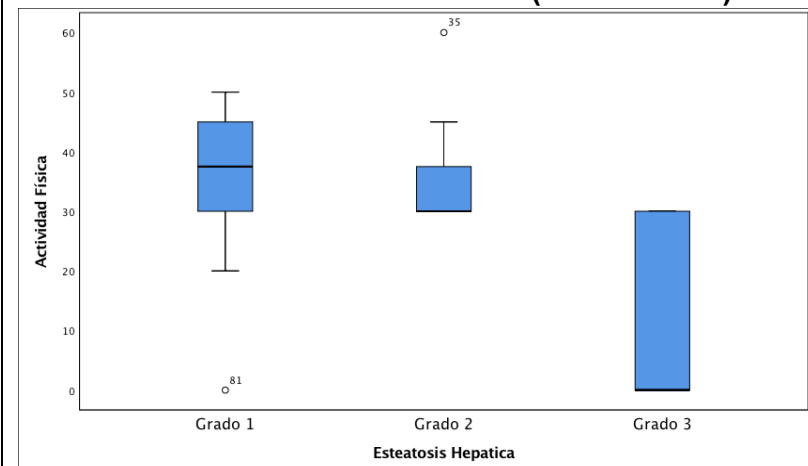


FIGURA 15B. SEDENTARISMO (minutos/día)

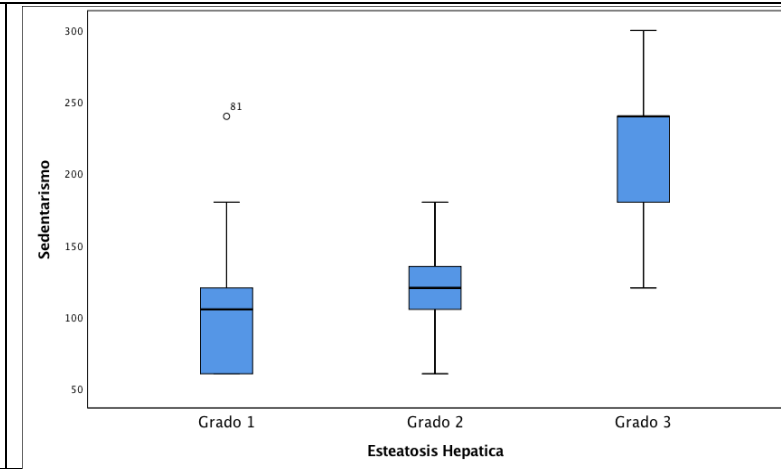
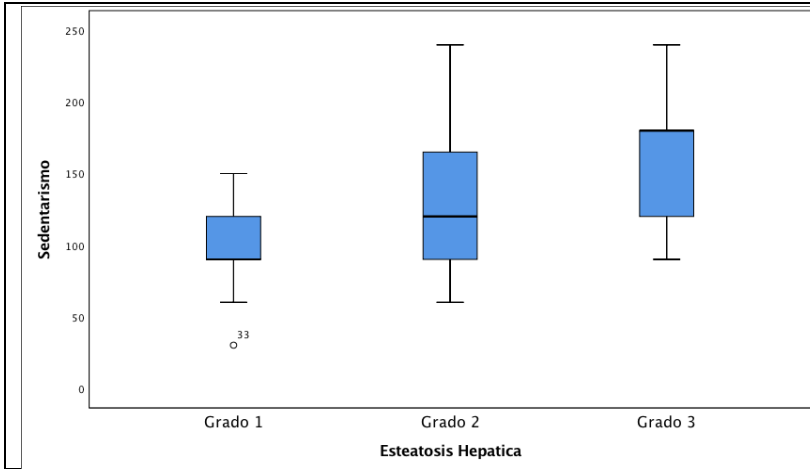


FIGURA 16A. % FRIMICUTES

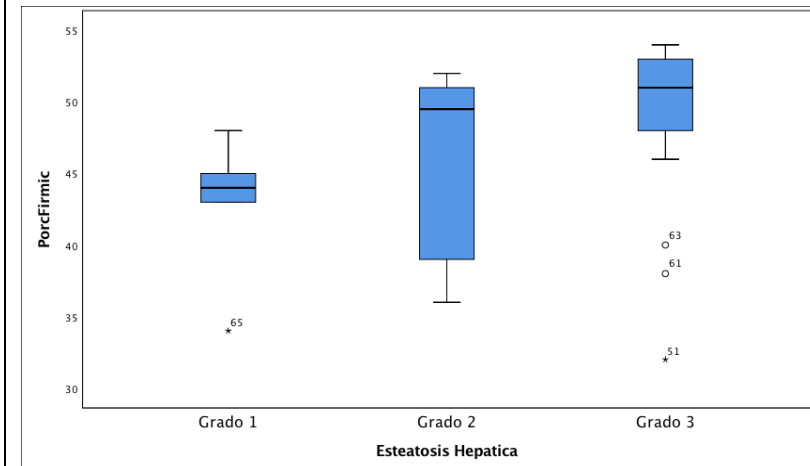


FIGURA 16B. % FRIMICUTES

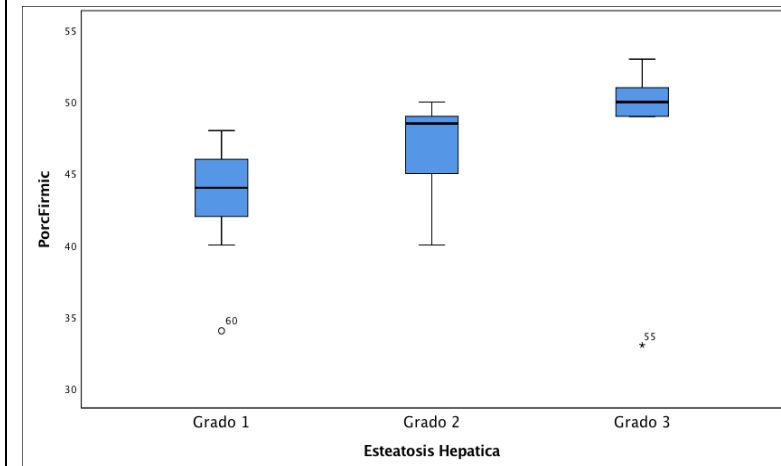


FIGURA 17A. % BACTEROIDES

FIGURA 17B. % BACTEROIDES

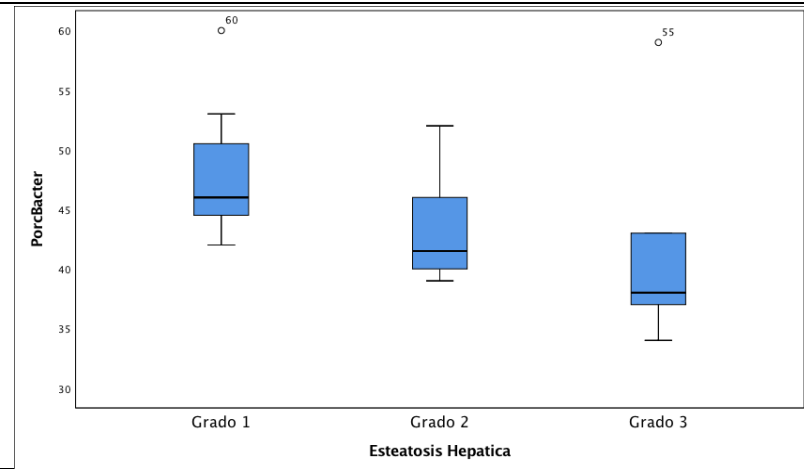
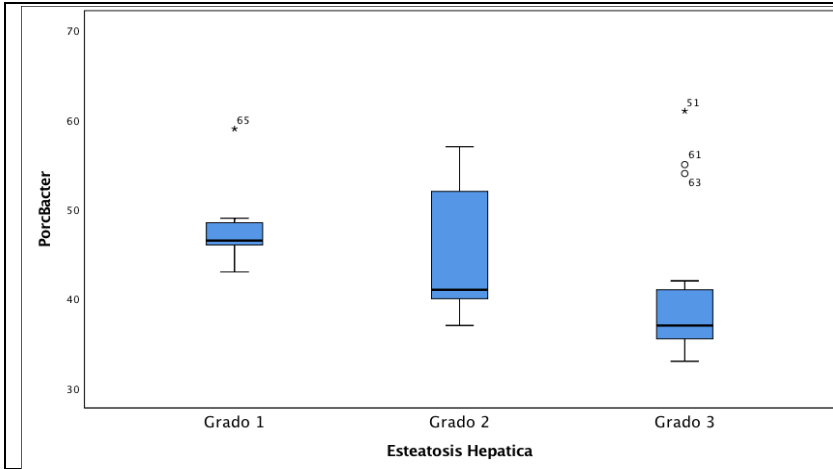
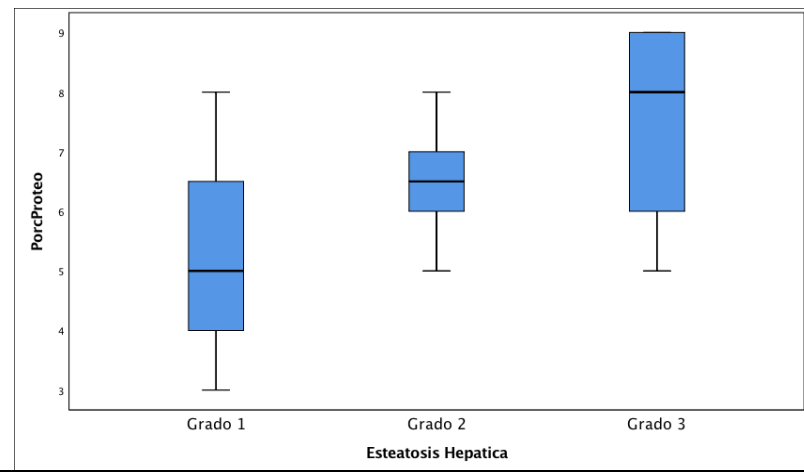
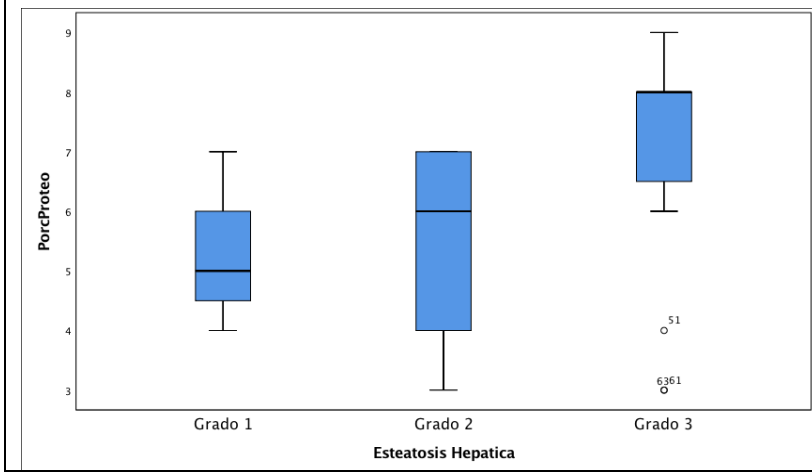


FIGURA 18A. % PROTEOBACTERIAS

FIGURA 18B. % PROTEOBACTERIAS



Cuadro IX. Modelo Multivariado de Regresión Logística Multinomial (Politómico)				
Categoría de Referencia: Grado 1				
Nivel de Esteatosis Hepática	VARIABLES INDEPENDIENTES	COEFICIENTE	WALD Nivel de Significancia	OR IC95%
Grado 2	Intersección	-1.078	0.784 P = 0.376	
	Sexo ^A	1.487	5.564 P = 0.018	4.422 1.28 a 15.21
	Actividad Física	-0.046	4.243 P = 0.039	0.955 0.91 a 0.99
	Sedentarismo	0.014	3.421 P = 0.064	1.014 0.99 a 1.03
Grado 3	Intersección	-2.940	3.228 P = 0.072	
	Sexo ^A	2.530	9.220 P = 0.002	12.55 2.45 a 64.24
	Actividad Física	-0.100	11.703 P = 0.001	0.904 0.85 a 0.95
	Sedentarismo	0.035	14.737 P = 0.000	1.035 1.01 a 1.05

^A Categoría de referencia: Femenino

Ajuste del Modelo:

Prueba de la Razón de Verosimilitud: $X^2 = 67.742$, $P = 0.000$

Desviación (Deviance): $X^2 = 55.101$, $P = 0.994$

Porcentaje de Clasificación: Grado 1 = 85.3%; Grado 2 = 30.4%; Grado 3 = 77.8%. Porcentaje Global: 68.8%