

## Alteraciones de la tolerancia a la glucosa y frecuencia de síndrome metabólico en pacientes con enfermedad por hígado graso no alcohólico

A. Verónica Araya Q<sup>1</sup>, José M Valera M<sup>2</sup>, Jorge Contreras B<sup>2</sup>, Attila Csendes J<sup>3</sup>, Juan C Díaz J<sup>3</sup>, Patricio Burdiles P<sup>3</sup>, Jorge Rojas C<sup>3</sup>, Fernando Maluenda G<sup>3</sup>, Gladys Smok S<sup>4</sup>, Jaime Poniachik T<sup>2</sup>.

### *Glucose tolerance alterations and frequency of metabolic syndrome among patients with non alcoholic fatty liver disease*

**Background:** Non alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is associated to diabetes mellitus, obesity, disturbances in serum lipid levels, insulin resistance and metabolic syndrome. **Aim:** To assess glucose tolerance and the presence of metabolic syndrome among patients with biopsy proven NAFLD. **Patients and methods:** Serum lipid levels, hepatic function tests were measured and an oral glucose tolerance test was performed in 46 patients (mean age 45±12 years, 36 females) without history of diabetes mellitus and with steatosis in a liver biopsy. **Results:** Mean body mass index of the sample was 37±12 kg/m<sup>2</sup>. Seventeen percent had pure steatosis, 78% had steatohepatitis with or without fibrosis and 50% had fibrosis in the liver biopsy. Glucose intolerance and diabetes was found in 57% and 15% of cases, respectively. The presence of steatohepatitis was higher in diabetics, compared with subjects with glucose intolerance or a normal glucose response (43, 38 and 8%, respectively,  $p < 0.0001$ ). Ninety three percent had a metabolic syndrome and the proportion of biopsies with fibrosis was higher among subjects with more than three diagnostic criteria for metabolic syndrome compared with those with three or less criteria (59 and 46%, respectively,  $p < 0.05$ ). **Conclusions:** Glucose intolerance, diabetes and metabolic syndrome are common among patients with NAFLD, even when they are not obese (Rev Méd Chile 2006; 134: 1092-8).

**(Key words:** Fatty liver, non-alcoholic; Glucose tolerance test; Insulin resistance; Metabolic syndrome)

Recibido el 6 de enero, 2006. Aceptado el 30 de marzo, 2006.

<sup>1</sup>Sección de Endocrinología, <sup>2</sup>Centro de Gastroenterología, Departamento de Medicina, <sup>3</sup>Departamento de Cirugía, <sup>4</sup>Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

*Correspondencia a:* Dr. Jaime Poniachik. Centro de Gastroenterología, Hospital Clínico Universidad de Chile. Santos Dumont 999, Santiago-Chile. Fax: (56-2) 978 8353.

E-mail: jponiach@redclinicauchile.cl

Dra. Verónica Araya. Sección Endocrinología. Hospital Clínico U. de Chile. Santos Dumont 999. Santiago de Chile. Fax: (56-2) 777 6891. E-mail: varaya@redclinicauchile.cl

La enfermedad por hígado graso no alcohólico (EHGNA) es una entidad clínico-patológica reconocida en las últimas décadas. Se define como la presencia de esteatosis hepática en más de 5% de los hepatocitos, con o sin la presencia de inflamación y fibrosis, en un paciente con una ingesta alcohólica menor de 40 g a la semana e idealmente, sin otras causas de daño hepático crónico. La prevalencia, según algunas series extranjeras, es de alrededor de 20% en la población general<sup>1-3</sup>. La histología puede progresar desde esteatosis pura a esteatohepatitis, fibrosis e incluso cirrosis, al igual que en la enfermedad hepática alcohólica. Se ha descrito que 20 a 30% puede llegar a cirrosis después de 20 años y potencialmente llevar a falla hepática y hepatocarcinoma. La presentación clínica y de laboratorio también es similar a la enfermedad hepática por alcohol, salvo en algunas ocasiones, en que la alanina aminotransferasa (GPT) es mayor que la aspartato aminotransferasa (GOT). Excepcionalmente puede producirse un cuadro similar a la hepatitis alcohólica.

La EHGNA se asocia a obesidad, diabetes mellitus y dislipidemia<sup>3-6</sup>. En un estudio publicado por nuestro grupo, el análisis de la biopsia hepática de obesos mórbidos demostró 91% de esteatosis, 47% de fibrosis, 45% de esteatohepatitis y 1,4% de cirrosis<sup>7</sup>.

En el último tiempo, se ha reconocido la asociación de insulino resistencia (IR) e hígado graso. Diversos estudios han demostrado que los pacientes con EHGNA presentan hiperinsulinemia, disminución del índice de sensibilidad insulínica y presencia de elementos del síndrome metabólico como obesidad abdominal, alteraciones de la tolerancia a la glucosa, hipertrigliceridemia e hipertensión arterial<sup>6,8,9</sup>. La IR se encontraría presente aun en los pacientes no obesos y el riesgo de esteatosis aumenta cuando se asocia a un mayor número de componentes del síndrome metabólico<sup>9-12</sup>. Algunos estudios han demostrado una alta prevalencia de intolerancia a glucosa y diabetes en pacientes con EHGNA<sup>6,11</sup> y su presencia aumentaría el riesgo de progresión a fibrosis<sup>9</sup>.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar en pacientes con alteraciones histológicas compatibles con EHGNA, demostrada en biopsia hepática, la presencia de alteraciones de la tolerancia a la glucosa y de elementos del síndrome metabólico.

## PACIENTES Y MÉTODO

Se seleccionaron las biopsias hepáticas realizadas en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile, entre los años 1999 y 2003, en las cuales se encontró algún grado de esteatosis. Se contactó a los pacientes que no tenían el diagnóstico conocido de intolerancia a glucosa o diabetes o ingesta alcohólica superior a 40 g a la semana y que tuvieran antígeno de superficie para hepatitis B y anticuerpo antiviral C negativos. Se excluyó a los pacientes que se encontraran recibiendo fármacos reconocidos como potencialmente hepatotóxicos o corticoides. Todos los pacientes tenían anticuerpos antinucleares, antimitocondriales y anti-músculo liso negativos, estudio de cinética de hierro, ferritina y ceruloplasmina normales. También se confirmó que los niveles de tiroxina libre y TSH se encontraran dentro del rango normal.

A todos ellos se les realizó anamnesis y examen físico, consignando presión arterial, peso y talla para cálculo del índice de masa corporal (IMC) y perímetro de cintura.

Después de un ayuno de 10 h, se les realizó una prueba de tolerancia oral con 75 g de glucosa, tomando muestras cada 30 min durante 2 h, para la medición de glicemia. Esta determinación se realizó por el método de glucosa oxidasa. Además, se contó con la determinación de perfil lipídico y hepático.

Las alteraciones de tolerancia a la glucosa se clasificaron de acuerdo a los criterios actuales definidos por la Asociación Americana de Diabetes (ADA). Según glicemia de ayunas: intolerancia a la glucosa de ayuno con glicemia entre 100 y 125 mg/dl y diabetes con glicemia  $\geq 126$  mg/dl; según la glicemia a las dos horas de la sobrecarga de glucosa: intolerancia a glucosa con glicemia entre 141 y 199 mg/dl y diabetes con glicemia  $\geq 200$  mg/dl<sup>13</sup>.

Para definir la presencia de síndrome metabólico se utilizaron los criterios clínicos recientemente propuestos por la *International Diabetes Federation* (IDF): obesidad central definida por un perímetro de cintura  $\geq 90$  cm en el hombre y  $\geq 80$  cm en la mujer y al menos dos de los siguientes criterios: colesterol HDL  $< 40$  mg/dl en el hombre y  $< 50$  mg/dl en la mujer; triglicéridos  $\geq 150$  mg/dl; glicemia de ayuno  $\geq 100$  mg/dl y presión arterial  $\geq 130/\geq 85$  mmHg. La presencia de 3 o más criterios definen la presencia de síndrome metabólico<sup>14</sup>.

*Estadística.* Para la comparación entre grupos se aplicaron los tests de  $\chi^2$  y Kruskal-Wallis y para

evaluar la relación entre variables se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman-rho. Para el cálculo del área bajo la curva de glicemia ( $ABC_{GLICEMIA}$ ), se utilizó el cálculo de la integral bajo el área de la curva concentración-tiempo. Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  DS.

Este protocolo fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Clínico de la Universidad de Chile y todos los pacientes firmaron un consentimiento informado antes de ser sometidos al estudio.

RESULTADOS

El grupo estudiado incluyó 46 pacientes, 36 mujeres y 10 hombres, con un rango de edad entre 19 y 62 años. Las características de los pacientes se presentan en la Tabla 1.

En la biopsia hepática se observó esteatosis pura en 17,4%, esteatohepatitis con o sin fibrosis en 78,3% y 50% del grupo total presentaba fibrosis. De acuerdo a la definición usada previamente por nuestro grupo<sup>7</sup>, la esteatosis fue leve (presente en menos de 25% de los hepatocitos) en 39,2% (18/46), moderada (25 a 50% de los hepatocitos) en 30,4% (14/46) y severa (>50% de los hepatocitos) en 30,4% (14/46).

La GOT estuvo elevada en 48,9% de los casos (63,7 $\pm$ 110 UI/l), la GPT en 69,8% (73,5 $\pm$ 50,6 UI/l) y la gamma glutamil transpeptidasa (GGT) en 37,8% (100 $\pm$ 161,9 UI/l).

Del total de pacientes, 44 tuvo el IMC mayor a 26 kg/m<sup>2</sup>, 63% tenía IMC entre 26 y 39 y 32,6% IMC >40 kg/m<sup>2</sup>. De acuerdo al perímetro de cintura 44 tenían obesidad central ya que sólo dos mujeres tuvieron un perímetro de cintura menor a 80 cm. Nueve pacientes tenían hipertensión arterial diagnosticada previamente y uno de ellos se encontraba sin tratamiento.

El 66,7% de los casos tuvo colesterol LDL mayor de 100 mg/dl y 57% tenía triglicéridos sobre 150 mg/dl. El colesterol HDL estaba bajo 50 mg/dl en 21 mujeres y bajo 40 mg/dl en 4 hombres.

De los 46 pacientes, 47,8% tenía glicemia de ayuno entre 100 y 125 mg/dl y 4,3% una glicemia  $\geq$ 126 mg/dl. Analizando el valor de la glicemia a las dos horas de la sobrecarga de glucosa, 56,5% fue intolerante a la glucosa y 15,2% cumplió el criterio de diabetes (Figura 1).

La proporción de casos con esteatohepatitis fue significativamente mayor en el grupo con diabetes e intolerancia a la glucosa, comparado con los normoglicémicos, según el valor de glicemia a las 2 h post sobrecarga (43% vs 38% vs 8%, respectivamente,  $p < 0,0001$ ), pero no hubo diferencia significativa entre

**Tabla 1. Características clínicas y de laboratorio de 46 pacientes con el diagnóstico histológico de EHGNA**

	Promedio $\pm$ DE	Rango normal
Edad (años)	44,9 $\pm$ 12,1 (19-62)	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	37 $\pm$ 11,9 (25,2-72,4)	
Perímetro de cintura (cm)	106,3 $\pm$ 22,5 (78-176)	
GOT (UI/l)	63,7 $\pm$ 110 (13-760)	14-36
GPT (UI/l)	73,5 $\pm$ 50,6 (17-253)	9-52
GGT (UI/l)	100 $\pm$ 161,9 (17-989)	8-78
Fosfatasas alcalinas (UI/l)	111,9 $\pm$ 81,6 (45-572)	38-126
Protrombina (%)	95,4 $\pm$ 8,6 (67-100)	70-100
Albumina (g/dl)	4 $\pm$ 0,4 (2,9-4,8)	3,5-5
Colesterol total (mg/dl)	210 $\pm$ 44 (154-307)	130-200
Colesterol HDL (mg/dl)	44,1 $\pm$ 9,3 (23-66)	35-55
Colesterol LDL (mg/dl)	129,6 $\pm$ 36,8 (64-209)	0-140
Triglicéridos (mg/dl)	169 $\pm$ 88,3 (82-541)	35-150
Glicemia basal (mg/dl)	102,2 $\pm$ 14,2 (83-152)	60-99
Glicemia 120 min (mg/dl)	160,4 $\pm$ 43,6 (107-284)	<140
$ABC_{GLUCOSA}$ (mg/ml/min)	19320,1 $\pm$ 3814,5 (13.410-28.410)	

GOT: aminotransferasa glutámico oxalo-acética; GPT: alanina aminotransferasa pirúvica; GGT: gamma glutamil transpeptidasa.

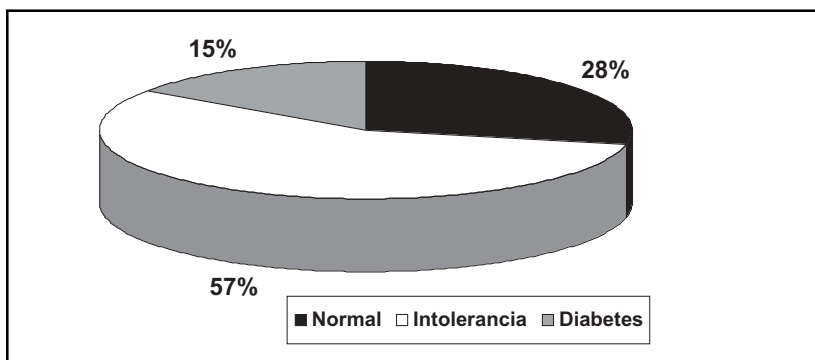


Figura 1. Frecuencia de alteraciones de la glicemia a las 2 h poscarga con 75 g de glucosa en 46 pacientes con diagnóstico histológico de EHGNA.

diabéticos e intolerantes a la glucosa (Figura 2). La proporción de casos con fibrosis fue significativamente mayor en el grupo con diabetes comparado con los intolerantes (57% vs 42%,  $p < 0,05$ ). Al evaluar según la severidad de cada tipo de lesión histológica, no hubo diferencias significativas entre pacientes con normoglicemia, intolerancia a la glucosa o diabetes.

Al separar a los pacientes de acuerdo al tipo histológico, esteatosis pura, esteatohepatitis sin fibrosis y fibrosis, el IMC fue significativamente mayor en el grupo con esteatosis pura comparado con el grupo con fibrosis y esteatohepatitis ( $p < 0,005$ ). No hubo diferencia significativa para el perímetro de cintura. Tampoco para el valor de glicemia basal y a los 120 min post sobrecarga, el  $ABC_{GLICEMIA}$ , colesterol total, LDL, HDL y triglicéridos.

La GPT estuvo elevada en una mayor proporción de casos con esteatohepatitis (con o sin fibrosis) comparado con el grupo con esteatosis pura, pero esta diferencia no fue significativa ( $p = 0,07$ ). La GOT y la GPT se correlacionaron positivamente con el grado de inflamación lobulillar ( $r = 0,51$ ,  $p < 0,0005$  y  $r = 0,38$ ,  $p < 0,005$ ). La GOT además se correlacionó con el grado de fibrosis ( $r = 0,39$ ,  $p < 0,05$ ).

Al agrupar a los pacientes de acuerdo al IMC, la proporción de casos con esteatohepatitis y fibrosis fue significativamente mayor en los con IMC entre 26 y 40  $kg/m^2$ , comparados con los con  $IMC > 40$  (35% vs 20%  $p = 0,01$  y 58,6% vs 40%  $p = 0,005$  respectivamente). La severidad de la inflamación lobulillar fue significativamente mayor en el grupo con  $IMC < 30$  ( $p < 0,005$ ).

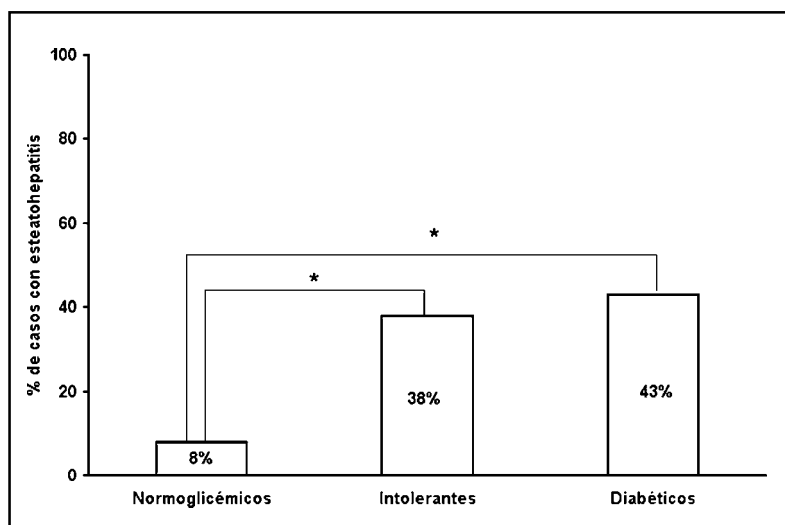


Figura 2. Proporción de casos con esteatohepatitis según alteración de la tolerancia a la glucosa a las 2 h poscarga. \* $p = 0,0001$ .

De acuerdo a parámetros del perfil lipídico, sólo encontramos una proporción significativamente mayor de casos con esteatohepatitis en el grupo con triglicéridos >150 mg/dl ( $p=0,0001$ ) y de fibrosis en el grupo con HDL <40 mg/dl ( $p<0,005$ ). El nivel de colesterol HDL se correlacionó inversamente con el grado de esteatosis ( $r=-0,37$   $p=0,02$ ).

De acuerdo a los criterios clínicos actuales, propuestos por la IDF, 43 pacientes (93,5%) presentaron un síndrome metabólico. Diecisiete de ellos tenían más de 3 criterios y la proporción de biopsias con fibrosis fue significativamente mayor en este grupo, comparados con los que tenían sólo 3 criterios (59% vs 46%,  $p<0,05$ ).

#### DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran que más de 70% de los pacientes con EHGNA presenta alteraciones de la tolerancia a la glucosa, incluso en sujetos con glicemia de ayuno normal y sin obesidad. La frecuencia de diabetes tipo 2 alcanza hasta 50% en estos casos<sup>10,15</sup>. En nuestro grupo encontramos 15% de diabetes, siendo más frecuente la intolerancia a la glucosa, lo que concuerda con lo publicado por otros autores<sup>6,16</sup>. Encontramos una proporción significativamente mayor de casos con esteatohepatitis en los intolerantes a la glucosa y diabéticos con respecto a los normales y la proporción de biopsias con fibrosis fue mayor en el grupo con diabetes. Esto concuerda con lo descrito, en que la intolerancia a la glucosa y la diabetes serían factores de progresión hacia fibrosis<sup>17</sup>.

Al igual que otros autores, observamos que los pacientes con triglicéridos sobre 150 mg/dl y con HDL bajo 40 mg/dl presentaron significativamente más esteatohepatitis y fibrosis, respectivamente<sup>15,18</sup>.

Casi todos nuestros casos tenían IMC mayor a 26 y 33% tenía obesidad mórbida. Se ha descrito que la obesidad severa se asocia a mayor grado de esteatosis y es un factor de riesgo para la progresión a esteatohepatitis y fibrosis<sup>7,16</sup>. Sin embargo, en este estudio observamos que, si bien los pacientes con esteatosis pura son los que presentan un IMC mayor, encontramos una proporción de esteatohepatitis y fibrosis significativamente mayor en el grupo con IMC <40 y la inflamación es más severa en los pacientes con IMC menor a 30. Esto, probablemente, se debe a que en algunos casos el compromiso hepático puede ser independiente del grado de obesidad y serían

otros factores relacionados con la IR, los que favorecerían la progresión del daño. Otra observación fue que las alteraciones de la tolerancia a la glucosa fueron más frecuentes en los pacientes con IMC menores, incluso estaban presentes en los dos casos con IMC normal. Estos hallazgos resaltan la importancia de evaluar la tolerancia a la glucosa en todo paciente con EHGNA, aunque tenga peso normal.

Hace más de una década se describió la asociación de cirrosis hepática con hiperinsulinemia e IR<sup>19</sup>. Posteriormente se observó que este fenómeno se presenta hasta en 85% de los casos con EHGNA sin cirrosis<sup>6</sup>. Marchesini encontró, en pacientes con EHGNA y sin diabetes, un síndrome de IR en una proporción significativamente mayor de sujetos con esteatohepatitis, comparados con los con esteatosis pura<sup>17</sup>.

Recientemente, Ryan encontró síndrome metabólico en 65% de pacientes con EHGNA y observó que estos pacientes presentaron un porcentaje mayor de fibrosis que los sin síndrome metabólico<sup>11</sup>. En nuestro estudio, más de 90% de los pacientes con EHGNA presentaron criterios diagnósticos de síndrome metabólico, de acuerdo a la definición actual de la IDF y los casos que tenían más de tres criterios, presentaron fibrosis con mayor frecuencia, lo que concuerda con lo descrito por Ryan. Es por esto que algunos autores han planteado que la EHGNA sería la manifestación hepática del síndrome metabólico y que podría preceder en años a la aparición de la diabetes<sup>6,20</sup>.

Se ha postulado que la acción de la insulina sobre la expresión de factores de crecimiento, promovería la formación de matriz extracelular y determinaría la progresión hacia fibrosis hepática<sup>21</sup>. Sin embargo, otros factores relacionados con IR pueden estar involucrados. El aumento del flujo de ácidos grasos desde el tejido adiposo intraabdominal hacia el hígado y el aumento de la peroxidación mitocondrial, estarían relacionados con el aumento de la resistencia a la acción de insulina y con la esteatosis y progresión a cirrosis<sup>22-24</sup>. La liberación de citoquinas y el estrés oxidativo (EO) también participarían en la naturaleza multifactorial de esta enfermedad<sup>25</sup>.

Nuestros estudios han mostrado un aumento del EO en el hígado de pacientes con EHGNA con esteatosis y que esta condición está exacerbada en la esteatohepatitis. Esto llevaría a modular la función de la célula de Kuppfer a través de la activación de factores de transcripción que aumentan la expresión

de genes relacionados con mediadores proinflamatorios como el TNF- $\alpha$  o fibrogénicos, como el factor de crecimiento transformante- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1)<sup>26</sup>.

El EO puede determinar depleción de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, determinando un aumento de la peroxidación lo que, asociado a una menor ingesta de sus precursores en la dieta, sería uno de los factores involucrados en la génesis de la esteatosis observada en pacientes obesos<sup>27,28</sup>. También hemos observado un aumento en el contenido y la actividad del citocromo p450 2E1 (CYP2E1) en el hígado de estos pacientes. Esta enzima es un marcador de EO y su aumento se correlaciona positivamente con la severidad del daño hepático<sup>29</sup>. La expresión hepática de la CYPE1 se encuentra aumentada en diabetes tipo 2, IR, obesidad central y ayuno<sup>30</sup>. La insulina ejerce una acción supresora de la regulación de la CYPE1 por lo tanto, la IR podría estar ligada a la activación de este sistema enzimático y de esta forma, al daño de la EHGNA<sup>9</sup>.

Finalmente, probablemente existe un factor genético asociado lo que explicaría la tendencia familiar de presentar EHGNA<sup>6,31</sup>.

Otro hallazgo importante fue la correlación del aumento de las aminotransferasas con la inflamación lobulillar y fibrosis, lo que concuerda con lo observado por otros autores<sup>21</sup>. Es importante considerar que

la causa más frecuente de elevación persistente de aminotransferasas y estudio etiológico negativo es la EHGNA<sup>32,33</sup>.

Aún no existe una terapia específica para la EHGNA, aunque algunos estudios han demostrado mejoría con dieta y reducción de peso, logrando la normalización de las aminotransferasas en más de 50% de los casos<sup>34</sup>. En este aspecto, es interesante mencionar que en un grupo de pacientes obesos con EHGNA sometidos a cirugía bariátrica, observamos una mejoría histológica significativa<sup>35</sup>. Desde el punto de vista farmacológico, se ha descrito que la metformina podría revertir las alteraciones histológicas de la EHGNA<sup>36,37</sup>. Están en desarrollo estudios clínicos que intentan precisar el efecto que pueda tener ésta u otros sensibilizadores a la acción de la insulina<sup>38</sup>.

Concluimos que los pacientes con EHGNA presentan alteraciones de la tolerancia a la glucosa y síndrome metabólico con elevada frecuencia, aun en ausencia de obesidad; por lo tanto en estos casos se debería buscar dirigidamente elementos de síndrome metabólico y realizar una prueba de tolerancia a la glucosa oral dentro de su estudio. Esto permitirá implementar, en forma precoz, las medidas terapéuticas que permitan prevenir las complicaciones metabólicas y evitar la progresión del daño hepático.

#### REFERENCIAS

1. BELLENTANI S, SACCOCCIO G, MASUTTI F, CROCE LS, BRANDI G, SASSO F ET AL. Prevalence of chronic liver disease in the general population of Northern Italy: the Dionysis study. *Hepatology* 1994; 20: 1442-9.
2. RUHL CE, EVERHART JE. Determinants of the association of overweight with elevated serum alanine aminotransferase activity in the United State. *Gastroenterology* 2003; 124: 71-9.
3. WANLESS IR, LENTZ JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: Autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology* 1990; 12: 1106-10.
4. ANDERSEN T, GLUUD C. Liver morphology in morbid obesity: a literature study. *Int J Obes* 1984; 8: 97-106.
5. FOSTER KJ, GRIFFITH AH, DEWBURY K, PRICE CP, WRIGHT R. Liver disease in patients with diabetes mellitus. *Postgrad Med J* 1980; 56: 767-72.
6. WILLNER IR, WATERS B, PATIL SR, REUBEN A, MORELLI J, RIELY CA. Ninety patients with nonalcoholic steatohepatitis: insulin resistance, familial tendency, and severity of disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2957-61.
7. PONIACHIK J, MANCILLA C, CONTRERAS J, CSENDES A, SMOK G, CAVADA G ET AL. Obesity: risk factor for steatohepatitis and hepatic fibrosis. *Rev Méd Chile* 2002; 130: 731-6.
8. MARCHESINI G, BRIZI M, MORSELLI-LABATE AM, BIANCHI G, BUGIANESI E, McCULLOUGH AJ ET AL. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med* 1999; 107: 450-5.
9. MARCEAU P, BIRON S, HOULD FS, MARCEAU S, SIMARD S, THUNG SN. Liver pathology and the metabolic syndrome X in severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 1513-7.
10. DIXON JB, BHATHAL PS, O'BRIEN PE. Nonalcoholic fatty liver disease: Predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology* 2001; 121: 91-100.
11. RYAN MC, WILSON AM, SLAVIN J, BEST JD, JENKINS AJ, DESMOND PV. Associations between liver histology and severity of the metabolic syndrome in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Care* 2005; 28: 1222-4.
12. MARCHESINI G, BRIZI M, BIANCHI G, TOMASSETTI S, BUGIANESI E, LENZI M ET AL. Nonalcoholic fatty liver disease. A feature of the metabolic syndrome. *Diabetes* 2001; 50: 1844-50.

13. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2004; 27: S5-S10.
14. International Diabetes Federation: The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. Available from [http://www.idf.org/webdata/docs/Metabolic\\_syndrome\\_definition.pdf](http://www.idf.org/webdata/docs/Metabolic_syndrome_definition.pdf). Accessed 2 September 2005.
15. KNOBLER H, SCHATTNER A, ZHORNICKI T, MALNICK SDH, KETER D, SOKOLOVSKAYA N ET AL. Fatty liver-an additional and treatable feature of the insulin resistance syndrome. *QJM* 1999; 92: 73-9.
16. GARCÍA-MONZÓN C, MARTÍN-PÉREZ E, IACONO OL, FERNÁNDEZ-BERMEJO M, MAJANO PL, APOLINARIO A ET AL. Characterization of pathogenic and prognostic factors of nonalcoholic steatohepatitis associated with obesity. *J Hepatol* 2000; 33: 716-24.
17. MARCHESINI G, BUGIANESI E, FORLANI G, CERRELLI F, LENZI M, MANINI R ET AL. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003; 37: 917-23.
18. GUZZALONI G, GRUGNI G, MINOCCI A, MORO D, MORABITO F. 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 Obesity* 2000; 24: 772-6.
19. VANNINI P, FORLANI G, MARCHESINI G, CIAVARELLA A, ZOLI M, PISI E. The euglycemic clamp technique in patients with liver cirrhosis. *Horm Metabol Res* 1984; 16: 341-3.
20. CORTEZ-PINTO H, CAMILO ME, BAPTISTA A, DE OLIVEIRA AG, DE MOURA MC. Non-alcoholic fatty liver: another feature of the metabolic syndrome? *Clin Nutr* 1999; 18: 353-8.
21. PARADIS V, PERLEMUTER G, BONVOUST F, DARGERÉ D, PARFAIT B, VIDAUD M ET AL. High glucose and hyperinsulinemia stimulate a potential mechanism involved in progression to fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2001; 34: 738-44.
22. COMPORTI M. Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Lab Invest* 1985; 53: 599-623.
23. FONG DG, NEHRA V, LINDOR KD, BUCHMAN AL. Metabolic and nutritional considerations in nonalcoholic fatty liver. *Hepatology* 2000; 32: 3-10.
24. SANYAL AJ, CAMPBELL-SARGENT C, MIRSHAHI F, RIZZO WB, CONTOS MJ ET AL. Nonalcoholic steatohepatitis: Association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001; 120: 1183-92.
25. DAY CA, JAMES O. Steatohepatitis: a tale of two hits? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-5.
26. VIDELA LA, RODRIGO R, ORELLANA M, FERNÁNDEZ V, TAPIA G, CONTRERAS J ET AL. Oxidative stress-related parameters in the liver nonalcoholic fatty liver disease patients. *Clin Sci* 2004; 106: 261-8.
27. VIDELA LA, RODRIGO R, ARAYA J, PONIACHIK J. Oxidative stress and depletion of hepatic long-chain polyunsaturated fatty acids may contribute to nonalcoholic fatty liver disease. *Free Radic Biol Med* 2004; 37: 1499-507.
28. ARAYA J, RODRIGO R, VIDELA LA, THIELEMANN L, ORELLANA M, PETTINELLI P ET AL. Increase in long-chain polyunsaturated fatty acid n-6/n-3 ratio in relation to hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Sci* 2004; 106: 635-43.
29. ORELLANA M, RODRIGO R, VARELA N, ARAYA J, PONIACHIK J, CSENDES A ET AL. Relationship between *in vivo* chlorzoxazone hydroxylation, hepatic cytochrome P450 2E1 content and liver injury in obese non-alcoholic fatty liver disease patients. *Hepatol Res* 2005; 28: (en prensa).
30. ORELLANA M, GUAJARDO V. Cytochrome P450 activity and its alteration in different diseases. *Rev Méd Chile* 2004; 132: 85-94.
31. STRUBEN VMD, HESPENHEIDE EE, CALDWELL S. Nonalcoholic steatohepatitis and cryptogenic cirrhosis within kindreds. *Am J Med* 2000; 108: 9-13.
32. SORBI D, MCGILL DB, THISTLE JL, THERNEAU TM, HENRY J, LINDOR KD. An assessment of the role of liver biopsies in asymptomatic patients with chronic liver test abnormalities. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3206-10.
33. CALDWELL SH, OELSNER DH, IEZZONI JC, HESPENHEIDE EE, BATTLE EH, DRISCOLL CJ. Cryptogenic cirrhosis: clinical characterization and risk factors for underlying disease. *Hepatology* 1999; 29: 664-9.
34. ERIKSSON S, ERIKSSON KF, BONDESSON L. Nonalcoholic steatohepatitis in obesity: a reversible condition. *Acta Med Scand* 1986; 220: 83-8.
35. PONIACHIK J, MELYS A, CONTRERAS J, VALERA JM, BURGOS A, PAPAPRIETO K ET AL. Mejoría histológica del hígado graso no alcohólico (HGNA) con la reducción de peso en pacientes obesos sometidos a cirugía bariátrica. *Gastr Latinoam* 2004; 15: 288 (A).
36. LIN HZ, YANG SQ, CHUCKAREE C, KUHAJDA F, RONNET G, DIEHL AM. Metformin reverses fatty liver disease in obese, leptin-deficient mice. *Nat Med* 2000; 6: 998-1003.
37. NAIR S, DIEHL AM, WISEMAN M, FARR GH JR, PERRILLO RP. Metformin in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a pilot open label trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 23-8.
38. VALERA JM, PONIACHIK J, ARAYA V, CONTRERAS J, CAAMAÑO E. Protocolo doble ciego randomizado de metformina en la terapia del hígado graso no alcohólico (HGNA): informe preliminar. *Gastr Latinoam* 2004; 15: 281 (A).