



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ciencias Naturales

**COMPARACION ENTRE LOS NIVELES DE CAROTENOIDES EN PIEL Y
MARCADORES DE DAÑO HEPÁTICO EN PACIENTES ADULTOS CON
ESTEATOSIS HEPÁTICA Y ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHOLICA**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener

el grado de:

Maestra en Nutrición Clínica Integral

Presenta:

Rocio Portillo Minjares

Dirigido por:

Dra. Luvidina Robles Osorio

Querétaro, México; Noviembre del 2019



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Maestría en Nutrición Clínica Integral

Comparación entre los niveles de carotenoides en piel y marcadores de
daño hepático en pacientes adultos con esteatosis hepática
y esteatohepatitis no alcohólica

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestra en Nutrición Clínica Integral

Presenta:

Rocío Portillo Minjares

Dirigido por:

Dra. Ma. Ludivina Robles Osorio

SINODALES

Dra. Ma Ludivina Robles Osorio

Presidente

Dr. Pablo García Solís

Secretario

MNC Oscar Martínez González

Vocal

Dr. Ernesto Fco. Sabath Silva

Suplente

Dr. Héctor Navarro Solís

Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Noviembre del 2019
México

TÍTULO:

**COMPARACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE CAROTENOIDES EN PIEL Y
MARCADORES DE DAÑO HEPÁTICO EN PACIENTES ADULTOS CON
ESTEATOSIS HEPÁTICA Y ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHOLICA**

Dirección General de Bibliotecas UAQ

DEDICATORIAS

A mis padres y mi hermana, porque su educación y guía siempre ha sido con el objetivo de que encuentre la plenitud y la autorrealización.

A mi Lalo, porque me enseñó a perseguir y perseverar para alcanzar mis sueños, por su apoyo y amor incondicional.

Al universo, porque supo mostrarme el camino para que me encontrara a mí misma y encontrara mi pasión, por ayudarme a crecer y aprender.

Dirección General de Bibliotecas UJAQ

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Ludivina Robles por su guía durante este proceso, por todo lo aprendido en el camino y por inspirarme a siempre dar más.

A mis sinodales por su disposición y colaboración durante este proyecto, por guiar mi formación académica durante el posgrado y fungir como parte de mi comité evaluador.

Al Hospital General de Querétaro que abrió sus puertas para realizar este trabajo de investigación, en especial al departamento de Medicina Interna, Cirugía y Nutrición por su colaboración y apoyo.

Al Fondo para el Fortalecimiento de la Investigación (FOFI-UAQ) por creer en este proyecto y hacerlo una realidad mediante su financiamiento.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su apoyo con el financiamiento recibido para la realización de esta maestría.

A mis amigos, especialmente a quienes me acogieron en esta ciudad, por motivarme siempre a seguir adelante, por estudiar conmigo, por inspirarme y por ayudarme a creer en mi misma.

A cada uno de los pacientes que confió en quienes formamos parte de este proyecto y puso su salud en nuestras manos, por enseñarnos tanto.

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LA LITERATURA	
2.1. Carotenoides	
2.1.1. Generalidades y metabolismo.....	4
2.1.2. Potencial antiinflamatorio y antioxidante.....	6
2.1.3. Medición de carotenoides.....	8
2.2. Esteatosis hepática no alcohólica	
2.2.1. Definición.....	10
2.2.2. Epidemiología.....	10
2.2.3. Fisiopatología	12
2.2.4. Diagnóstico.....	14
2.3. Esteatohepatitis no alcohólica	
2.3.1. Definición.....	15
2.3.2. Epidemiología.....	15
2.3.3. Fisiopatología.....	15
2.3.4. Diagnóstico.....	18
2.4. Tratamiento de la esteatosis hepática no alcohólica	
2.4.1. Estilo de vida e intervención nutricional.....	19
2.4.2. Tratamiento farmacológico.....	21
3. JUSTIFICACIÓN	23
4. HIPÓTESIS	25
5. OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN	
5.1. General.....	26
5.2. Específicos.....	26
6. MATERIALES Y MÉTODOS	
6.1. Tipo y diseño de estudio.....	27
6.2. Universo y muestra.....	27
6.3. Criterios de selección.....	27

6.4. Metodología.....	28
6.5. Plan de análisis de los datos.....	29
6.6. Ética del estudio.....	30
7. RESULTADOS	
7.1. Características generales de la población.....	31
7.2. Antropometría y análisis de composición corporal.....	32
7.3. Prevalencia de comorbilidades	34
7.4. Análisis de la ingesta de carotenoides.....	36
7.5. Niveles de carotenoides en piel.....	36
7.6. Metabolismo de lípidos, glucosa y perfil hepático	37
7.7. Correlación entre carotenoides en piel, antropometría y composición corporal.....	39
7.8. Correlación entre carotenoides en piel e ingesta.....	39
7.9. Correlación entre carotenoides en piel y perfil bioquímico.....	40
8. CONCLUSIONES	47
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Metabolismo y absorción de los carotenoides.....	5
2	Vía de señalización durante la inflamación y el Papel de los carotenoides.....	7
3	Alteraciones en el tejido adiposo y desarrollo de	
4	la esteatosis hepática no alcohólica.....	13
5	Factores de progresión hacia la esteatohepatitis	17
6	Distribución de la muestra por grado de esteatosis.....	32
7	Distribución de la muestra por IMC.....	32

Dirección General de Bibliotecas UAQ

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
1	Distribución de sexo por grupos.....	31
2	Características antropométricas y de Composición corporal	33
3	Frecuencia de DM por grupos.....	34
4	Frecuencia de HAS por grupos.....	35
5	Criterios diagnóstico para síndrome metabólico IDF.....	35
6	Frecuencia de Sx Met por grupos.....	35
7	Ingesta de carotenoides por grupos.....	36
8	Puntos de corte para niveles de carotenoides en piel.....	36
9	Comparación de carotenoides en piel por grupos.....	37
10	Análisis bioquímicos por grupo y comparación.....	37
11	Correlación entre carotenoides, valores antropométricos y de composición corporal.....	38
12	Correlación entre carotenoides en piel e ingesta.....	39
13	Correlación entre carotenoides en piel y perfil bioquímico.....	39
14	Correlación entre carotenoides en piel y transaminasas hepáticas.....	40

RESUMEN

Introducción: La esteatosis hepática no alcohólica (EHNA) es la acumulación de grasa en el hígado en forma de triglicéridos. Clínicamente puede presentarse como esteatosis simple hasta la esteatohepatitis donde existe un componente inflamatorio agregado. La progresión de esta patología se propicia con el incremento en el estrés oxidativo y la depleción en los sistemas antioxidantes. Los carotenoides son antioxidantes que se han correlacionado como factor protector contra dislipidemias e insulinoresistencia, dos componentes fisiopatológicos claves en la EHNA. **Objetivos:** Comparar los niveles de carotenoides en piel en pacientes con esteatosis y esteatohepatitis y correlacionarlos con marcadores de daño hepático. **Material y Métodos:** Se realizó análisis de composición corporal, mediciones antropométricas y de glucosa, insulina, perfil de lípidos y transaminasas hepáticas. Finalmente se midieron niveles de carotenoides en piel por espectroscopia de Raman con el equipo Pharmanex BioPhotonic Scanner S3. **Resultados:** Se presentan resultados de 73 pacientes, 46 con esteatosis y 27 con esteatohepatitis. El análisis estadístico encontró diferencia significativa entre el grupo de esteatosis simple vs esteatohepatitis en los niveles de las transaminasas AST, ($p = <0.001$), ALT ($p = <0.001$), GGT ($p = 0.001$) e índice de HOMA ($p = 0.014$). No se encontró diferencia significativa en los niveles de carotenoides entre ambos grupos. Se encontró una correlación entre los niveles de carotenoides y triglicéridos ($p = 0.032$) así como con VLDL ($p = 0.032$). No se observó correlación entre los niveles de carotenoides en piel y transaminasas hepáticas en esta población. Hubo un mayor riesgo de tener esteatohepatitis en los pacientes con obesidad, diabetes o síndrome metabólico. **Conclusión:** Este estudio encontró mayor resistencia a la insulina en el grupo con esteatohepatitis, así como una correlación significativa entre los niveles de carotenoides, triglicéridos y VLDL en pacientes con EHNA y una mayor probabilidad de tener esteatohepatitis en quienes tenían obesidad, síndrome metabólico y diabetes. Esto fortalece la evidencia de que la resistencia a la insulina podría considerarse un elemento en la progresión de la enfermedad y de que mayores niveles de carotenoides están relacionados con un mejor metabolismo lipídico

Palabras clave: esteatosis hepática, esteatohepatitis, carotenoides, antioxidantes

SUMMARY

Introduction: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the accumulation of fat in the liver in the form of triglycerides. Clinically, it can be presented as a simple steatosis and become steatohepatitis where there is an added inflammatory component. The progression of this pathology is propitiated with the increase in oxidative stress and depletion in antioxidant systems. Carotenoids are antioxidants that have been correlated as a protective factor against dyslipidemias and insulin resistance, two key pathophysiological components in NAFLD

Objectives: To compare the levels of carotenoids in skin in patients with steatosis and steatohepatitis and correlate them with markers of liver damage.

Material and Methods: Anthropometric measurements and analysis of body composition were made. The biochemical variables were analyzed: glucose, insulin, lipid profile and liver transaminases. Finally, carotenoid levels in skin were measured by Raman spectroscopy with the Pharmanex BioPhotonic Scanner S3.

Results: Results of 73 patients are presented, 46 with steatosis and 27 with steatohepatitis. The statistical analysis found a significant difference between the group of simple steatosis and steatohepatitis in the levels of AST transaminases, ($p = <0.001$), ALT ($p = <0.001$), GGT ($p = 0.001$) and HOMA index ($p = 0.014$). No significant difference was found in carotenoid levels between both groups. A correlation was found between carotenoid and triglyceride levels ($p = 0.032$) as well as with VLDL ($p = 0.032$). No correlation was observed between carotenoid levels in skin and liver transaminases in this population. There was an increased risk of having steatohepatitis in patients with obesity, diabetes or metabolic syndrome

Conclusion: The research found greater insulin resistance in the group with steatohepatitis, as well as a significant correlation between the levels of carotenoids, triglycerides and VLDL in patients with NASH and a higher probability of having steatohepatitis in those who were obese, metabolic syndrome and diabetes This strengthens the evidence that insulin resistance could be considered an element in disease progression and that higher levels of carotenoids are related to better lipid metabolism.

Keywords: Non-alcoholic liver steatosis, steatohepatitis, carotenoids, antioxidants

1. INTRODUCCIÓN

La obesidad y el sobrepeso se han convertido en uno de los mayores problemas de salud en México y en el mundo. De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2016 (ENSANUT) la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en adultos mayores de 20 años es de 72.5% (ENSANUT, 2016). La obesidad está íntimamente relacionada al desarrollo concomitante de algunas enfermedades crónico-degenerativas lo que lleva a una disminución importante en la calidad de vida y además a impactar negativamente el sistema de salud debido al incremento en los costes de atención de manera importante. Dentro de las comorbilidades que acompañan al sobrepeso y la obesidad se encuentran patologías como la diabetes mellitus, hipertensión arterial, dislipidemias, por mencionar algunas, sin embargo, una de las comorbilidades más comunes y normalmente infradiagnosticada y pobremente atendida es la esteatosis hepática no alcohólica y su espectro de complicaciones como la esteatohepatitis (Secretaría de Salud, 2014).

La esteatosis hepática no alcohólica (EHNA) es una patología compleja y multifactorial caracterizada por la acumulación de grasa en el hígado en forma de triglicéridos denominada esteatosis (histológicamente existe infiltración >5% de los hepatocitos) después de haber excluido otras causas de enfermedad hepática como alcoholismo, enfermedades virales, uso a largo plazo de un medicamento esteatogénico, etc. El espectro clínico de esta enfermedad es muy amplio y va desde la acumulación de grasa sin inflamación, denominado esteatosis simple hasta la esteatohepatitis no-alcohólica, donde existe un componente inflamatorio agregado que ocasiona lesión parenquimatosa y que eventualmente progresa hacia la fibrosis, cirrosis y finalmente al desarrollo de carcinoma hepatocelular (Simões et al., 2018)

La EHNA es la causa más común de enfermedad hepática a nivel mundial, representando un problema serio y creciente principalmente en países occidentales donde es la indicación más frecuente de trasplante hepático (Younossi et al., 2016). En México existen pocos estudios epidemiológicos acerca de la EHNA, sin embargo, es válido inferir que la tendencia va en aumento debido al incremento a la par en las tasas

de prevalencia de sobrepeso y obesidad. Diversos autores han reportado prevalencias que van desde el 14.3% en población asintomática, hasta 82.9% cuando existe síndrome metabólico presente (Lizardi-Cervera et al., 2006; Castro-Martinez et al., 2012). Un estudio retrospectivo más reciente encontró una prevalencia de 49.19% en pacientes que acudieron a chequeo médico de rutina (Briseño-Bass, Chávez-Pérez y López-Zendejas, 2018). Esto resulta importante ya que es población que no presenta sintomatología y que por lo tanto no recibe diagnóstico oportuno ni tratamiento adecuado lo que propicia la progresión de la enfermedad, las complicaciones agregadas y el aumento en los costos sanitarios.

La EHNA es una enfermedad multifactorial resultado de la interacción de múltiples mecanismos metabólicos, genéticos y ambientales. La circulación excesiva de ácidos grasos, y su oxidación contribuyen a la acumulación de grasa a nivel hepático, todo esto favorecido por el estado de resistencia a la insulina que antecede a las alteraciones metabólicas propias de esta enfermedad. Otro factor importante que secunda la progresión de esta patología es el estrés oxidativo, esto debido a la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS) y a una depleción en los sistemas antioxidantes que actúan como mecanismos de defensa contra estos agentes (Yilmaz et al., 2015; Chen et al., 2016)

Dentro de los sistemas antioxidantes con mayor importancia biológica se encuentran los carotenoides. Estos compuestos juegan un papel importante en la fisiología humana debido a sus extraordinarias funciones, como sus efectos al disminuir el estrés oxidativo y la inflamación.

Los carotenoides son pigmentos liposolubles, usualmente rojos, naranjas y amarillos que se adquieren por medio de la dieta, principalmente en el consumo de frutas y verduras. (Bonet et al., 2016) Una dieta rica en carotenoides se ha asociado con buena salud ocular y dermatológica, así como prevención de cardiopatía, enfermedad cerebrovascular y varios tipos de cáncer. A su vez niveles elevados de carotenoides séricos se han vinculado con menor índice de masa corporal, así como

menor riesgo de desarrollar dislipidemia y síndrome metabólico, siendo estos componentes claves en la evolución fisiopatológica y el desarrollo de EHNA (Andersen et al., 2005; Sugiura et al., 2015; Van-Resenburg y Wendhold, 2016).

Relacionado a la salud hepática, algunos estudios han reportado una asociación inversa entre los niveles de carotenoides séricos y niveles de transaminasas en pacientes con hiperglucemia (Sugiura et al., 2006), mientras que en pacientes con esteatohepatitis corroborada por biopsia se han encontrado niveles bajos de carotenoides séricos comparados contra un grupo control (Edhardt et al., 2011)

Los carotenoides actúan, por medio de diversos mecanismos, como factores protectores contra la resistencia a la insulina, la inflamación sistémica y el estrés oxidativo, todos estos son elementos que se ven afectados con el desarrollo de EHNA. Por lo anterior resulta importante conocer los niveles de estos antioxidantes en este grupo de pacientes, especialmente dado el interés que existe en la investigación de compuestos dietéticos que pudieran tener potencial terapéutico en una de las patologías cada vez más frecuentes en el ámbito clínico.

2. ANTECEDENTES

2.1 Carotenoides

2.1.1 Generalidades y metabolismo

Los carotenoides son pigmentos liposolubles, usualmente rojos, naranjas y amarillos producidos por plantas y ciertos organismos fotosintéticos. Estos pigmentos se encuentran ampliamente extendidos en los vegetales, y se encuentran en altas concentraciones en microorganismos y algas. Los humanos y otros animales no pueden sintetizarlos, por lo que su aporte se obtiene exclusivamente a través de la dieta, principalmente por el consumo de frutas y verduras (Bonet et al., 2016).

Los carotenoides tienen diversas funciones en el cuerpo humano, una de las más conocidas y mejores estudiadas es que sirven como precursores de la vitamina A (retinol) y otros retinoides relacionados como el retinal o el ácido retinoico que juegan un papel importante en la visión y en la regulación génica de muchas funciones y procesos fisiológicos respectivamente (Bonet et al., 2016).

Además, estos compuestos juegan un papel importante en la fisiología humana debido a sus extraordinarias funciones biológicas, como sus efectos en el estrés oxidativo y la inflamación. Los carotenoides pueden actuar como potentes antioxidantes y proteger a las células contra el daño oxidativo inducido por las especies reactivas de oxígeno (Yilmaz et al, 2015)

Existen más de 650 tipos de carotenoides en la naturaleza, de estos, aproximadamente 100 están presentes en la dieta humana, sin embargo, solamente de 30 a 40 tipos distintos se han encontrado en muestras de sangre (Eggersdorfer y Wiss, 2018).

Los carotenoides se clasifican de acuerdo a su estructura química en dos grupos: carotenos y xantófilos. Los carotenos son aquellos que contienen hidrocarburos y a este grupo pertenecen el licopeno, el α y β caroteno, entre otros. Los carotenoides xantófilos se caracterizan por tener uno o más oxígenos en su estructura

molecular; ejemplos de ellos serían la criptoxantina y cantaxantina (Ordoñez y Rodríguez, 2013).

Al tratarse de compuestos liposolubles, los carotenoides se absorben y metabolizan en el organismo como los lípidos. Estos compuestos se mezclan con los ácidos biliares posterior a su ingesta para formar micelas en el intestino delgado. Las células intestinales los incorporan a los quilomicrones y posteriormente estos son metabolizados por acción de la lipoprotein-lipasa y libera los carotenoides hacia la linfa y el sistema circulatorio. Después de su incorporación al torrente sanguíneo estos se distribuyen hacia el hígado donde se da la producción y acumulación de vitamina A. La absorción y transformación de los carotenoides en el organismo es afectada por diversos factores incluidos su estructura molecular, propiedades físico-químicas, la matriz en la que se encuentren, así como su contenido lipídico. Por ejemplo, si estos compuestos se consumen con alimentos que contengan lípidos adicionales se aumenta su absorción, mientras que una dieta baja en grasas podría reducir su biodisponibilidad. La biodisponibilidad puede ser definida como la cantidad de carotenoides ingerida que es absorbida y que es convertida en vitamina A (Ambati, Phang, Ravi y Aswathanarayana, 2014; Ordoñez y Rodríguez, 2013) (Figura 1)

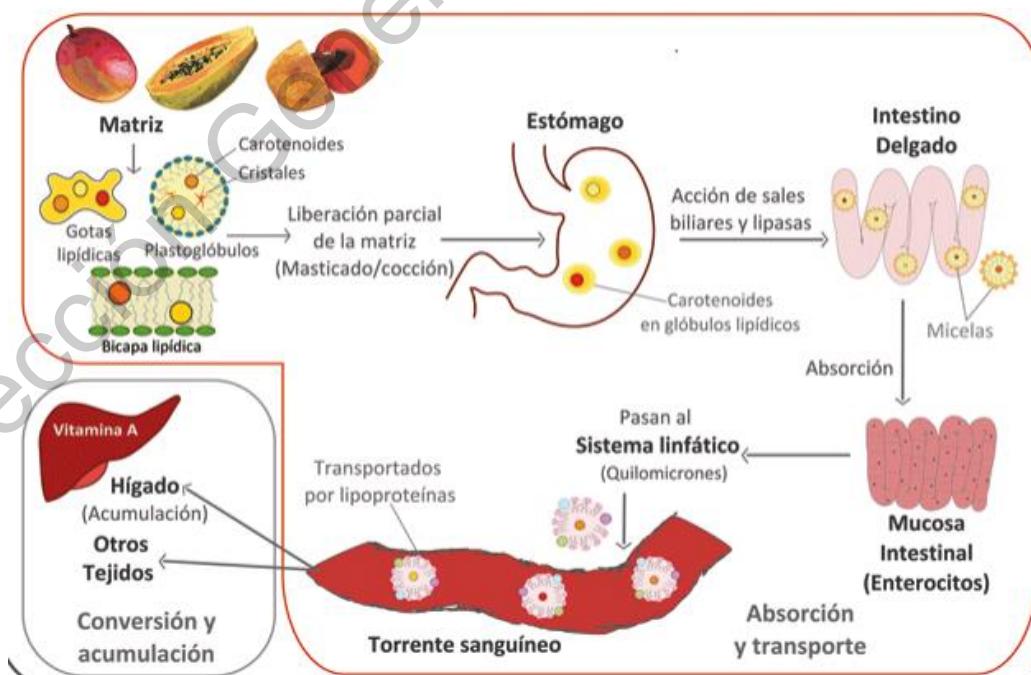


Figura 1.- Metabolismo y absorción de los carotenoides
(Tomada de Ordoñez y Rodríguez, 2013)

Los tejidos que contienen abundantes receptores de lipoproteínas de baja densidad (LDL), tienen la capacidad de acumular mayor cantidad de carotenoides. Los lugares con mayor reserva de estos pigmentos son el tejido adiposo y el hígado; sin embargo, los carotenoides se han encontrado en diversos órganos y tejidos como en pulmón, mamas, cérvix, piel y tejido ocular (Gammone, Riccioni y D'Orazio, 2015).

2.1.2 Potencial antioxidante y antiinflamatorio

Diversos estudios señalan que el consumo regular de frutas y verduras reduce la incidencia de enfermedades crónicas como diabetes tipo 2, enfermedad cardiovascular, aterosclerosis y diversos tipos de cáncer, esto podría deberse a distintos mecanismos, incluyendo la aportación de antioxidantes, fibra dietética y de micronutrientes como flavonoides, vitamina C y carotenoides que podrían reducir el daño por estrés oxidativo (Gammone, Riccioni y D'Orazio, 2015; Eggersdorfer y Wiss, 2018).

Los beneficios a la salud de los carotenoides se han atribuido principalmente a su potencial antioxidante, especialmente respecto a la salud cardiovascular ya que estos pigmentos previenen la formación y oxidación de LDL, sin embargo, existen otros mecanismos que podrían considerarse protectores. Por ejemplo, respecto a la protección contra ciertos tipos de cáncer los carotenoides actuarían limitando el crecimiento celular anormal mejorando la comunicación celular a través de uniones GAP (Eggersdorfer y Wiss, 2018).

Actualmente cada vez existe mayor evidencia mediante estudios in vitro e in vivo que los carotenoides actúan como reguladores de la transcripción proteica y que pueden modular cascadas de señalización celular como la vía del factor nuclear K-B (NF-kB) o Nrf2 (Eggersdorfer y Wiss, 2018).

Los factores de transcripción, especialmente NF-kB y Nrf2 han sido asociados a inflamación y respuesta al estrés oxidativo respectivamente. Estímulos inespecíficos, como pueden ser la radiación UV o el estrés oxidativo, así como específicos, incluyendo las citoquinas IL-1 y el TNF- α , hacen que el NF-kB pueda ingresar al núcleo y unirse al ADN e iniciar la transcripción de diversos genes que regulan la respuesta

inflamatoria. Cuando se bloquea la activación de NF- κ B, en cualquier punto de su cascada, se detiene la transcripción de los genes diana y por lo tanto ocurre una reducción de la respuesta inflamatoria; es precisamente a este nivel al que actúan los carotenoides como se ejemplifica en el esquema correspondiente (Kaulmann y Bohn, 2014) (Figura 2)

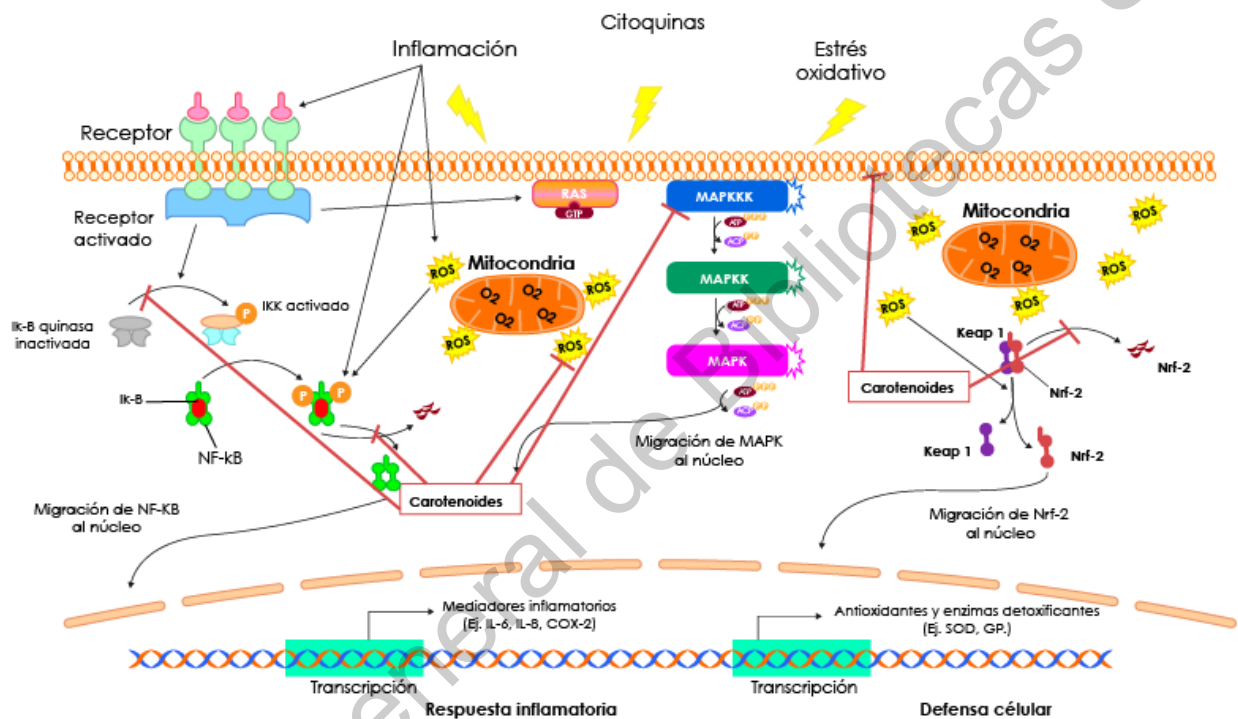


Figura 2.- Vía de señalización durante la inflamación y el papel de los carotenoides

Tomada y modificada de Kaulmann y Bohn, 2014. *Abreviaturas:* ROS: Especies reactivas de oxígeno. NF- κ B: vía del factor nuclear Kb. MAPK: MAP quinases. SOD: Superoxido

Los carotenoides también se han implicado en la vía de las MAP quinases (mitogen-activated protein kinases en inglés), que es una ruta de transducción de señales celulares que es activada por varios estímulos extracelulares incluyendo IL-1 β ,

TNF α , lipopolisacáridos y estrés oxidativo. La activación de estas cascadas y factores resulta en una secreción y producción de sustancias como ciclooxigenasa 2, sintasa de óxido nítrico, y citoquinas inflamatorias (Kaulmann y Bohn, 2014).

Existe cada vez mayor evidencia que diversas enfermedades crónico-degenerativas y metabólicas, tales como las dislipidemias, aterosclerosis, síndrome metabólico, diabetes mellitus e hipertensión arterial están vinculadas con un estado de inflamación sistémica de bajo grado, el cual está caracterizado por un aumento en los niveles de proteínas de fase aguda y citoquinas con actividad inflamatoria como la IL-6, IL-17, proteína C reactiva y el TNF α . Con lo anterior, y conociendo el mecanismo de acción antioxidante y antiinflamatorio de los carotenoides, estos podrían tener efectos benéficos a diversos niveles celulares que se ven involucrados dentro del desarrollo y evolución de estas patologías (León-Pedroza et al., 2015).

2.1.3 Medición de carotenoides

Los carotenoides se consideran sustancias asociadas a un buen estado de salud y juegan un papel preventivo importante, especialmente contra enfermedades cardiovasculares. Al obtenerse únicamente por medio de la dieta son un excelente indicador del consumo de frutas y verduras (Gammone, Riccioni y D'Orazio, 2015). Existen métodos para la evaluación de la dieta, tales como la frecuencia de consumo de alimentos o el recordatorio de 24 horas que se usan de manera común en la práctica clínica dada su fácil aplicación y bajo costo, sin embargo, estas técnicas se consideran subjetivas y con un amplio margen de error ya que puede haber errores de interpretación o de reporte por parte del aplicador o del paciente. Actualmente los niveles sanguíneos de carotenoides se consideran el estándar de oro para evaluar el consumo de frutas y verduras, no obstante, también tiene importantes limitaciones, ya que se trata de un método invasivo y costoso por lo que su aplicación es poco usual. Esto ha dado pie al estudio de nuevas técnicas para la evaluación de los niveles de carotenoides en el área clínica y epidemiológica, entre ellas la utilización de la espectroscopia de Raman en piel como un biomarcador útil para este propósito (Jahns et al., 2014).

La espectroscopia Raman es una técnica utilizada para medir los niveles de frecuencia de energía de una molécula, ya sea vibratoria o rotacional. Los carotenoides tienen la característica de absorber muy bien la longitud de onda de la luz azul, gracias a su estructura química conformada principalmente por carbono; de esta manera de proporciona una base adecuada para la excitación de la resonancia de la luz Raman sirviendo como una medida óptica para evaluar el contenido de carotenoides depositados, en este caso, en la piel (Mayne et al., 2013).

Los niveles de carotenoides en piel están íntima y significativamente correlacionados con sus niveles plasmáticos, esto debido a su propiedad lipofílica que hace que se depositen en la epidermis (Ermakov y Gellermann, 2010). La correlación entre los carotenoides séricos y carotenoides en piel ha comprobada por medio de biopsias de tejido y evaluada tanto por espectroscopia de Raman como por cromatografía líquida de alta resolución (Van Rensburg y Wenhold, 2016). Los 8 carotenoides más abundantes en la piel humana son el licopeno, α -caroteno, β -caroteno, luteína, zeaxantina, criptoxantina, fitoeno y fitoflueno, siendo los carotenos y el licopeno los que ocupan del 60-70% del total (Ermakov y Gellermann, 2010). En el cuerpo humano los sitios con mayor acumulación de carotenoides en piel son la planta del pie, la frente y la palma de la mano (Mayne et al., 2013).

2.2 Esteatosis hepática

2.2.1 Definición

Este término nació en 1980 con Ludwig y colaboradores para describir una serie de 20 pacientes evaluados en la clínica Mayo a lo largo de 10 años, quienes tenían evidencia histológica de hepatitis alcohólica sin historia de abuso de alcohol. Ludwig dividió la EHNA en dos grupos: la EHNA primaria asociada a obesidad y la EHNA secundaria la cual contempla complicaciones de cirugía bariátrica, fármacos o se asocia con otras condiciones como la enfermedad de Wilson o la abetalipoproteinemia (Méndez et al., 2010).

La esteatosis hepática no alcohólica (EHNA) es una patología compleja y multifactorial caracterizada por la acumulación de grasa en el hígado en forma de triglicéridos denominada esteatosis (histológicamente existe infiltración >5% de los hepatocitos) después de haber excluido otras causas de enfermedad hepática como alcoholismo, enfermedades virales, uso a largo plazo de un medicamento esteatogénico, etc. (Simões et al., 2018). La presentación clínica de esta patología puede variar, evolucionando desde la esteatosis simple donde existe únicamente infiltración grasa en el tejido, hasta la esteatohepatitis no-alcohólica, donde existe un componente inflamatorio agregado que ocasiona lesión parenquimatosa y que eventualmente progresa hacia la fibrosis, cirrosis y, en algunos casos, se puede llegar a desarrollar carcinoma hepatocelular (Yilmaz y Younossi, 2014).

2.2.2 Epidemiología

La prevalencia global de EHNA es de 25.24%, reportándose las tasas más altas en Sudamérica y el Medio Oriente. Acorde a un estudio de metaanálisis reciente, la prevalencia combinada de obesidad y EHNA a nivel mundial fue de 51.34% y se eleva hasta 81.83% cuando se evalúan pacientes con esteatohepatitis (Younossi et al., 2016), sin embargo, otros autores han reportado que hasta el 75% de los pacientes con EHNA presentan obesidad, al menos en Norteamérica (Yilmaz y Younossi, 2014). Cuando se analizan las tasas de incidencia y prevalencia referente a etnicidad, se

puede encontrar que las más bajas pertenecen a los afroamericanos mientras que las más altas se encuentran en pacientes asiáticos e hispanos (Yilmaz y Younossi, 2014).

En México existen pocos estudios epidemiológicos acerca de la prevalencia de EHNA, sin embargo, es válido inferir que la tendencia va en aumento debido al incremento en las tasas de sobrepeso y obesidad. Lizardi-Cervera y cols. realizaron un estudio en 2503 personas, reportando una prevalencia de 14.3%, de los cuales el 83.38% presentaba sobrepeso u obesidad, en este estudio un 34.2% de los participantes tuvieron elevación de AST y 37.6% de ALT, lo cual podría representar un subgrupo de pacientes con esteatohepatitis no alcohólica, Las tasas de prevalencia fueron mayores en hombres y la edad media de presentación fue de 35-45 años. Castro-Martínez y cols. evaluaron mediante ultrasonido a pacientes con síndrome metabólico y reportaron una prevalencia de hígado graso no alcohólico del 82.9%, siendo 63% leve, 27% moderada y 10% grave (Lizardi-Cervera et al., 2006; Castro-Martínez et al., 2012).

Un estudio retrospectivo recientemente publicado llevado a cabo en Guadalajara encontró una prevalencia de 49.19% al evaluar a 431 pacientes que acudieron a chequeo médico. La edad media de presentación de esteatosis fue de 47.7 años encontrando una prevalencia mayor en hombres que en mujeres (59.89% vs 23.61%). En su muestra el 65% de los pacientes presentaba sobrepeso u obesidad, reforzando con mayor evidencia la importante correlación que existe entre estas patologías (Briseño-Bass, Chávez-Pérez y López-Zendejas, 2018).

El incremento en las tasas de sobrepeso y obesidad proyectadas estarán asociadas indudablemente con mayor incidencia de EHNA aunada a sus complicaciones como insuficiencia hepática crónica y cirrosis. De no lograrse intervenciones efectivas tanto en el tratamiento como en el ámbito preventivo de esta enfermedad, se estima que la EHNA será la causa más común de indicación de trasplante hepático, ubicándose actualmente en el tercer lugar en Estados Unidos (Yilmaz y Younossi, 2014).

2.2.3 Fisiopatología

La fisiopatología de la EHNA no ha sido completamente entendida, pero sin duda el estado de resistencia a la insulina es uno de los factores clave para el desarrollo y progresión de esta enfermedad. Cuando existe obesidad, el exceso de ácidos grasos, inducidos por el aumento en la lipogénesis, circulan en el torrente sanguíneo donde su oxidación favorece que se acumulen en el tejido adiposo y hepático dando como resultado el desarrollo de resistencia a la insulina (Kitade, Chen, Ni y Ota, 2017).

El tejido adiposo, además de funcionar como tejido de almacenaje de lípidos, tiene funciones endócrinas importantes que regulan la oxidación de lípidos mediante la secreción de hormonas y citocinas, especialmente la adiponectina. La expansión del tejido adiposo, que ocurre en la obesidad, ocasiona hipertrofia en los adipocitos que conlleva a una secreción aumentada de citocinas proinflamatorias como el TNF- α , IL-1 e IL-6; estas moléculas inhiben vías de señalización del receptor de insulina por lo que favorece la resistencia a la misma, y favoreciendo con esto la oxidación y depósito de lípidos en tejidos como el hígado (Kitade, Chen, Ni y Ota, 2017). En pacientes con EHNA tanto el TNF- α como la IL-6 se encuentran aumentados y se han correlacionado directamente con la severidad y el grado de inflamación, fibrosis y los cambios histológicos producidos a nivel hepático en casos avanzados (Yilmaz et al., 2015).

A pesar de que la obesidad está fuertemente asociada con EHNA, no es una condición indispensable para el desarrollo de esta patología, ya que parece ser que el elemento clave para su presentación sigue siendo la resistencia a la insulina. Esto se corrobora en pacientes que tienen lipodistrofia o pacientes no obesos, pero con una importante resistencia a la insulina, quienes también desarrollan EHNA; esto sugiere que el problema principal no es el exceso de tejido adiposo, sino la disfunción del mismo, que cuando ocurre, se acompaña de hipersecreción de citoquinas proinflamatorias y oxidación de lipídica (Byrne y Targher, 2015).

En realidad, algunos autores mencionan que aún no está claro si es la resistencia a la insulina la que provoca el depósito de lípidos en el tejido hepático, o si

bien, por el contrario, el depósito de grasa ocurre primero y esto es lo que favorece el desarrollo eventual de la resistencia a la insulina ya que los ácidos grasos podrían derivarse tanto de la lipólisis periférica como de la síntesis de novo o bien de la dieta. De hecho, en pacientes con EHNA que no presentan obesidad, la dieta puede ser el factor detonante de la esteatosis, ya que la ingesta excesiva de colesterol y grasas y baja en ácidos grasos poliinsaturados podrían tener influencia en el desarrollo temprano de la resistencia a la insulina. Es importante considerar lo anterior ya que algunos estudios muestran que los pacientes con EHNA sin obesidad pueden presentar cuadros con inflamación más severa y mayores tasas de mortalidad que los pacientes con obesidad (Reccia et al, 2017)

A continuación, se presenta un diagrama en donde se representa gráficamente algunos de los procesos fisiopatológicos involucrados en el desarrollo del EHNA (Figura 3).

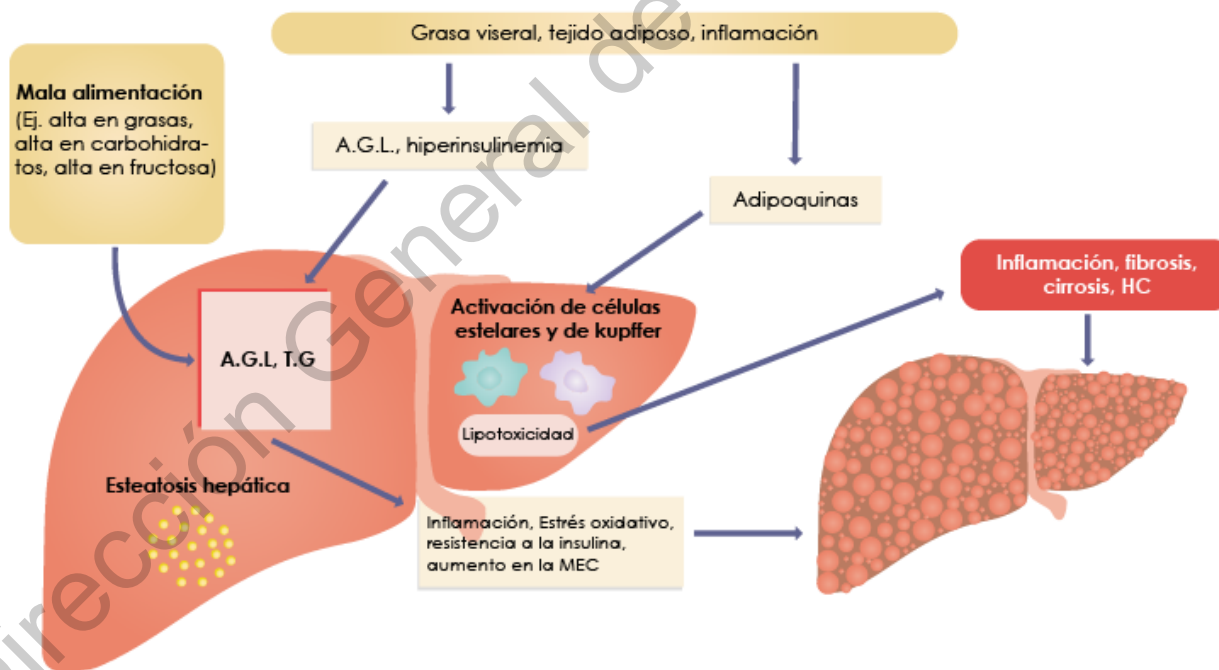


Figura 3.- Alteraciones en el tejido adiposo y desarrollo de la esteatosis hepática no alcohólica

Tomada y modificada de Byrne y Targher, 2015. *Abreviaturas:* AGL: Ácidos grasos libres. TG: Triglicéridos. MEC: Matriz extracelular. HC: Hepatocarcinoma

2.2.4 Diagnóstico

El diagnóstico de la esteatosis hepática no alcohólica requiere, por definición, la exclusión de causas secundarias a la acumulación de grasa en el hígado, como, por ejemplo, consumo de alcohol, fármacos, pérdida de peso de forma rápida y otras enfermedades hepáticas específicas (Chalasanani et al., 2018; Secretaria de Salud, 2014)

La evidencia de la acumulación de grasa a nivel hepático se corroborará por medios de imagen. Actualmente el ultrasonido es la primera línea diagnóstica sugerida para pacientes con sospecha de hígado graso, debido a su gran accesibilidad y bajo costo. Es importante mencionar que la sensibilidad de este método disminuye cuando la esteatosis se encuentra en menos del 20% del tejido o en pacientes con índice de masa corporal elevado ($>40 \text{ kg/m}^2$), en estos casos se recomienda la utilización de técnicas de imagen más precisas, tales como la tomografía axial computarizada o la resonancia magnética (EASL, EASD y EASO, 2015).

Los pacientes con EHNA pueden presentar alteraciones bioquímicas, tales como la elevación de transaminasas hepáticas AST, ALT, GGT y fosfatasa alcalina, así como de los niveles de ferritina en sangre, sin embargo, estas anomalías no se consideran por sí solas como criterios diagnósticos, pero es importante considerarlo en conjunto con la evaluación de las técnicas de imagen y la historia clínica (Secretaria de Salud, 2014).

Existen scores que han sido validados en población general y que utilizan diversos indicadores bioquímicos para evaluar la presencia de esteatosis, entre estos se encuentran el *SteatoTest*, el *FLI* (por sus siglas en inglés, *fatty liver index*) y el *NAFLD liver fat score* (por sus siglas *Non-Alcoholic Fatty Liver disease*); estos scores evalúan la presencia de la enfermedad no obstante, no se relacionan con la severidad de la esteatosis o su progresión (EASL, EASD y EASO, 2015).

2.3 Esteatohepatitis no alcohólica

2.3.1 Definición

La esteatohepatitis no alcohólica es una infiltración difusa de lípidos en el tejido que está caracterizada por acompañarse de lesión hepatocelular e inflamación con o sin fibrosis y que puede progresar hacia la cirrosis, insuficiencia hepática crónica y hepatocarcinoma (Yilmaz et al., 2015)

2.3.2 Epidemiología

Actualmente se estima que la progresión de esteatosis hepática simple a esteatohepatitis ocurre en el 30-40% de los pacientes, y de esta población se estima que del 40-50% presentarán fibrosis hepática y sus complicaciones (Byrne y Targher, 2015). La esteatohepatitis suele presentarse en el 3% de las personas no obesas, en el 19% cuando hay obesidad y hasta en el 50% de las personas con obesidad mórbida (Yilmaz y Younossi, 2014).

La esteatohepatitis aumenta el riesgo de mortalidad relacionado con enfermedad hepática de 5 a 10 veces, esto acorde al grado de fibrosis que se presente. El estadio de fibrosis es el factor de predictor para mortalidad más fuerte en pacientes con esteatosis y esteatohepatitis cuando está confirmada por biopsia. Asimismo, presentar esteatohepatitis representa un factor de riesgo importante para hepatocarcinoma, incluso en casos cuando no exista fibrosis previa (Byrne y Targher, 2015).

2.3.3 Fisiopatología

La esteatosis hepática es un ejemplo de acumulación de lípidos ectópica que usualmente está asociado con incremento en la secreción de citoquinas e inhibición en la señalización de la insulina. Cuando existe infiltración de lípidos en el tejido hepático esto favorece la resistencia a la insulina e inflamación crónica, situaciones que aumentan el riesgo de que la enfermedad y el daño hepático progresen a la fibrosis, cirrosis y hepatocarcinoma. La inflamación es crucial en la patogénesis de la EHNA y su progresión (Byrne y Targher, 2015).

El hígado tiene un papel central en la regulación de la lipogénesis, gluconeogénesis y el metabolismo del colesterol. El metabolismo de la glucosa y lípidos hepáticos están sumamente interrelacionados en la patogénesis de esta patología y juega un papel significativo en la inducción de inflamación, así como señalización de rutas proliferativas y apoptóticas en el hígado. (Reccia et al., 2017)

La hipótesis de “Los 2 Hits” es uno de los modelos que se ha propuesto explicar la patogénesis de la EHNA. En esta propuesta el primer “hit” estaría caracterizado por una dieta alta en grasas o bien un exceso en la circulación de ácidos grasos acompañado de un estado de resistencia a la insulina que promoviera el depósito de lípidos hepáticos y con ello la esteatosis simple. Posteriormente, si esta situación no es resuelta, el tejido hepático estaría más susceptible al daño ocasionado por estrés oxidativo y la peroxidación lipídica, representando esto el segundo “hit”, y favoreciendo con esto la progresión del cuadro y la aparición de complicaciones (Day y James, 1998; Chen, Ni, Nagata y Ota, 2016)

El estrés oxidativo se considera un factor crucial en el daño al tejido hepático y que propicia la progresión de la esteatosis simple hacia la esteatohepatitis. Un estado pro-oxidante surge del desequilibrio que existe entre la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y los mecanismos antioxidantes que protegen en condiciones normales contra este daño. Esto particularmente afecta a la mitocondria, donde la producción incrementada de ROS causa depleción del ADN mitocondrial, afecta a biomoléculas como proteínas, carbohidratos y lípidos y daña la membrana mitocondrial. La lesión mitocondrial, especialmente cuando ocurre oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de la membrana que la conforman, ocasiona alteraciones en la cadena respiratoria celular lo que resulta en una disminución en la síntesis de ATP y fomenta la producción excesiva de ROS. Todo esto favorece el aumento de citocinas inflamatorias y de TNF- α que conllevan a la lesión del hepatocito, inflamación, necrosis y fibrosis (Ferramosca, Di Giacomo y Zara, 2017)

Como consecuencia de este estado de inflamación crónica ocurre en respuesta la activación de células de Kupffer, así como de células estelares que continúan

secretando citoquinas, y con esto, aumentando la producción de ROS. Las células estelares secretan factores de crecimiento y colágeno, lo cual es necesario para favorecer la proliferación de la matriz extracelular e inducir, a largo plazo, el desarrollo de la fibrosis del tejido. Además de esto, el aumento en los niveles de TNF- α activa vías de señalización que participan en la activación de la apoptosis de los hepatocitos (Yilmaz et al., 2014).

Se ha descrito, acorde a diversos estudios in vitro e in vivo, que la patogénesis de la esteatohepatitis está caracterizada por una polarización hacia el predominio de macrófagos tipo 1 (M1) y una disminución en los macrófagos tipo 2 (M2) durante la respuesta inflamatoria. Típicamente se ha referido a los M1 como células con una acción principalmente pro inflamatoria ya que secretan citoquinas como el TNF- α , mientras que los M2 tienen acción antiinflamatoria al favorecer la producción de IL-10 y factor de crecimiento semejante a la insulina, entre otras. Con esto queda aún más claro porque el estado de inflamación crónica en estos pacientes es el predominante, y como, el exceso en la producción de estos factores, así como de ROS induce daño tisular que eventualmente conducirá a la fibrosis y necrosis de los hepatocitos (Chen, Ni, Nagata y Ota, 2016). En la figura 4 se ejemplifican y representan los diversos mecanismos involucrados que favorecen la progresión de la esteatosis simple hacia la esteatohepatitis.

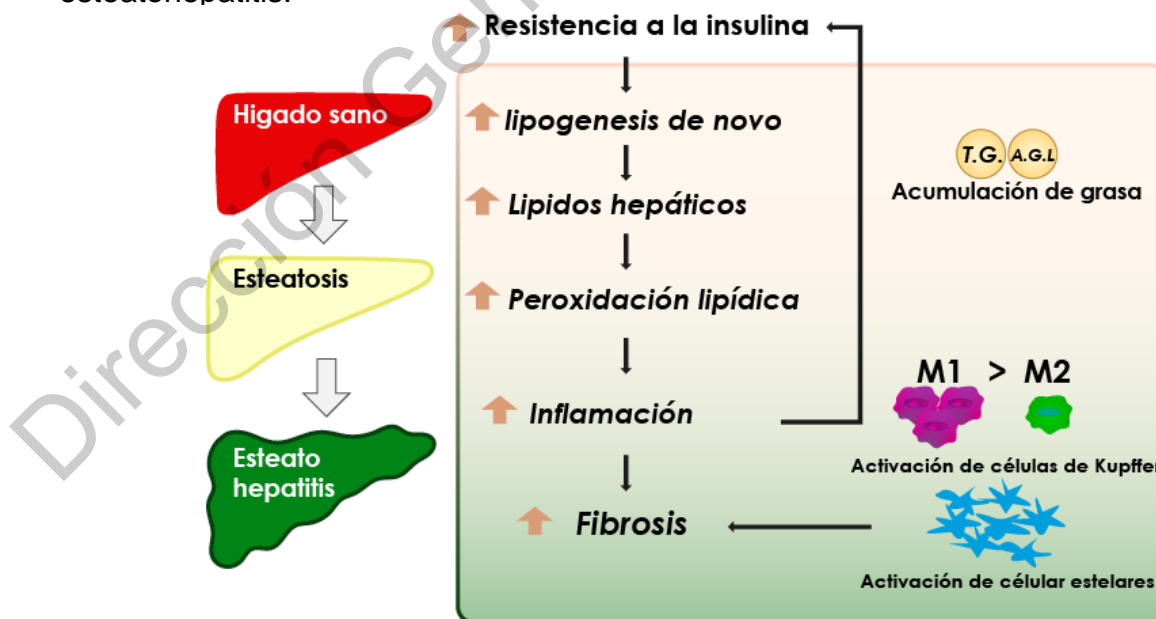


Figura 4.- Factores de progresión hacia la esteatohepatitis.

Tomada y modificada de Chen, Ni, Nagata y Ota, 2016. *Abreviaturas:* TG: Triglicéridos.

AGL: Ácidos grasos libres M1: Macrófagos tipo 1 M2: Macrófagos tipo 2

2.3.4 Diagnóstico

La biopsia hepática es el procedimiento esencial para el diagnóstico de esteatohepatitis. Se considera el estándar de oro y el único método 100% confiable para la diferenciación entre la esteatosis simple y la esteatohepatitis (EASL, EASD y EASO, 2015).

Histológicamente el diagnóstico de esteatohepatitis está caracterizado por la presencia de esteatosis, balonización hepática e inflamación lobular. Otros hallazgos que pueden encontrarse en estos casos son cuerpos apoptóticos, cuerpos de Mallory-Denk, infiltrado polimorfonuclear y megamitocondrias (EASL, EASD y EASO, 2015).

A pesar de lo anterior, en México, la mayoría de los pacientes con EHNA no son sometidos a biopsia. El mayor fundamento para esta situación es que, en general, la realización de la biopsia, los hallazgos histológicos, así como el grado de daño encontrado no afectan el manejo terapéutico debido a que las opciones de tratamiento en realidad son pocas y se basan principalmente en la reducción de peso y la realización de actividad física (Méndez et al., 2010).

Existen factores clínicos que deben de considerarse como fuertes predictores de que la EHNA pueda progresar. La presencia de comorbilidades como resistencia a la insulina, diabetes mellitus, dislipidemia, hipertensión y obesidad central se asocian con mayor riesgo de progresión hacia la esteatohepatitis y la enfermedad hepática crónica (Chalasani et al., 2018).

Actualmente se encuentran en estudio diversos biomarcadores que potencialmente pudieran utilizarse como indicadores séricos diagnósticos y de progresión para esteatohepatitis y con esto limitar la necesidad de biopsia. Entre estos marcadores se incluyen la citoqueratina-18 (CK-18) y el factor de crecimiento fibroblástico 21, sin embargo, aún no existe evidencia suficiente para su utilización en la práctica clínica habitual y se ha limitado su estudio al ámbito de la investigación (Chalasani et al., 2018; Wu et al., 2017).

2.4 Tratamiento de la esteatosis hepática no alcohólica

2.4.1 Estilo de vida e intervención nutricional

La falta de un tratamiento específico representa uno de los grandes desafíos en la atención de esta patología. La intervención terapéutica consiste en tratar tanto la enfermedad hepática como las posibles comorbilidades o alteraciones metabólicas encontradas, tales como diabetes mellitus, resistencia a la insulina, dislipidemia, hipertensión arterial y obesidad (Secretaría de Salud, 2014)

El manejo de la EHNA y sus complicaciones debe de llevarse a cabo de manera integral, esto debido a que las principales estrategias de tratamiento consisten en cambios de hábitos alimenticios, reducción ponderal y modificación en el estilo de vida, por lo cual la intervención terapéutica idealmente debe realizarse con un equipo multidisciplinario que involucre profesionales especializados en apoyo nutricional, activación física, médico familiar y un médico especialista (Secretaría de Salud, 2014).

Múltiples organizaciones internacionales concuerdan en sus guías de práctica clínica que lograr una modificación del estilo de vida y perder peso mediante una pauta dietética y de ejercicio físico son el punto inicial de toda terapia para los pacientes con EHNA. Uno de los principales objetivos en estos pacientes debe de ser la reducción ponderal y el inicio de actividad física, ya que se ha demostrado que mejora la esteatosis, fibrosis y existe reducción significativa de las transaminasas hepáticas con una pérdida de peso que puede ir desde el 5-7% (Chalasani et al., 2018; EASL-EASD-EASO, 2015; LaBrecque et al., 2014)

No existe un consenso claro sobre el tipo de intervención nutricional adecuada para favorecer la pérdida de peso. Es recomendable la instauración de una dieta hipocalórica con una reducción de hasta el 25% de las calorías diarias totales, lo cual varía entre 500-1000 kcal/día, sin embargo, dietas muy restrictivas podrían ser difíciles de seguir, especialmente a largo plazo, por lo que también es importante poner atención en la calidad de la dieta y la distribución de los macronutrientes. Se deben de evitar alimentos ultra procesados, comida rápida y bebidas azucaradas con alto

contenido en fructosa, así como grasas trans (EASL-EASD-EASO, 2015; LaBrecque et al., 2014: Secretaria de Salud, 2014).

Actualmente no existen estudios clínicos a largo plazo que evalúen y correlacionen con resultados histopatológicos la mejor intervención nutricional en relación con la modificación y distribución de macronutrientes o tipo de dieta. Una de las dietas que ha sido estudiada como parte de la intervención en esta patología es la mediterránea, comparada con otras como las altas en grasa o bajas en carbohidratos, este tipo de dieta ha mostrado mejorar significativamente la esteatosis (Chalasanani et al., 2018; EASL-EASD-EASO, 2016). Esto va acorde con las recomendaciones de otros organismos que sugieren mayor consumo de ácidos grasos Omega-3, la cual es una característica de la dieta mediterránea, además de ser rica en antioxidantes y polifenoles y baja en productos ultra procesados (LaBrecque et al., 2014).

El ejercicio es otro elemento clave en el manejo integral del paciente con EHNA. Se ha demostrado que tanto el ejercicio aeróbico como de resistencia mejoran la resistencia a la insulina, además de que favorecen la pérdida ponderal y con ello la reducción de grasa corporal, grasa hepática y grasa visceral (Secretaria de Salud, 2014). La evidencia indica que los pacientes que mantienen un programa de ejercicio llevando a cabo >150 minutos de actividad física a la semana presentan mejoría clínica y disminución en las aminotransferasas hepáticas, independientemente si se logra o no una reducción de peso significativa, por lo cual siempre es recomendable el ejercicio por sus múltiples beneficios a nivel metabólico (Chalasanani et al., 2018). El tipo de ejercicio y la duración del mismo deben de ser adaptados a las preferencias del paciente con el objetivo de lograr la meta terapéutica y de que lleve a cabo un cambio real en el estilo de vida, así como un mayor apego a largo plazo (EASL-EASD-EASO, 2016)

La eficacia de la intervención nutricional y de las medidas adoptadas para promover la actividad física deberán de ser evaluadas a los 6 meses de iniciado el manejo integral, en caso de que no existan resultados clínicos favorables deberá de considerarse el manejo farmacológico en conjunto con los cambios en el estilo de vida (LaBrecque et al., 2014).

2.4.2 Tratamiento farmacológico

El tratamiento farmacológico deberá de instaurarse en pacientes con esteatohepatitis o bien en pacientes con EHNA que tengan alto riesgo de progresión de la enfermedad, entrando en esta categoría aquellos pacientes con diabetes, síndrome metabólico o bien elevación persistente de transaminasas hepáticas (EASL-EASD-EASO, 2016)

Actualmente no existe un manejo farmacológico específico para el tratamiento de la EHNA por lo que la intervención deberá enfocarse en el control y manejo de las alteraciones metabólicas concomitantes. En este contexto la línea de tratamiento se basa en fármacos que mejoren la resistencia a la insulina y antioxidantes para disminuyan el daño por estrés oxidativo (Akhter, Pulla y Said, 2016).

La metformina es uno de los fármacos más utilizados en pacientes con obesidad o diabetes mellitus para mejorar la resistencia a la insulina, sin embargo, actualmente no está recomendada en pacientes con EHNA debido a que múltiples estudios han demostrado que no existe un efecto benéfico sobre la histología hepática con su administración (Chalasanani et al., 2018; EASL-EASD-EASO, 2016)

Por otro lado, la pioglitazona ha sido estudiada en múltiples ensayos clínicos y su administración se ha relacionado sistemáticamente con una mejoría en los puntajes necroinflamatorios comprobados por biopsia reduciendo la esteatosis y la inflamación lobulillar cuando se ha comparado contra placebo en pacientes con y sin diabetes (Chalasanani et al., 2018; Akhter, Pulla y Said, 2016). A pesar de lo anterior aún no existen datos confiables sobre su seguridad, especialmente a largo plazo, ya que su uso se ha asociado a algunas complicaciones cardiovasculares como insuficiencia cardíaca congestiva (Secretaría de Salud, 2014); por ello su prescripción debe de llevarse a cabo de manera individualizada y considerando el estadio de la enfermedad y factores de riesgo asociados.

Respecto al uso de antioxidantes, la vitamina E ha demostrado, por medio de múltiples estudios, disminuir las concentraciones de transaminasas hepáticas además de mejorar la histología hepática a dosis de 800 UI/día, por lo que actualmente

considera una de las primeras líneas de tratamiento (Akhter, Pulla y Said, 2016; EASL-EASD-EASO, 2016). A pesar de sus múltiples beneficios a nivel hepático, información más reciente basada en diversos metaanálisis ha asociado su administración a largo plazo con mayor riesgo de mortalidad, así como incremento en el riesgo de cáncer de próstata por lo que guías más actuales recomiendan la evaluación de riesgos y beneficios para cada paciente (Chalasani et al., 2018).

La duración óptima del tratamiento aún es incierta. Algunas guías recomiendan que en pacientes con elevación persistente de alanino aminotransferasa que no cede posterior a 6 meses de intervención, el tratamiento debe de suspenderse de forma temporal y evaluar una nueva línea durante el seguimiento. Como es común en la práctica clínica, cada caso deberá de ser valorado de manera individual y acorde a las manifestaciones clínicas y alteraciones metabólicas de cada paciente (EASL-EASD-EASO, 2016).

3. JUSTIFICACIÓN

Según la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OCDE), México es el país con el mayor nivel de obesidad en el mundo y tomando en cuenta que la obesidad es considerada uno de los principales factores de riesgo para la EHNA, nos enfrentamos ante una entidad clínica frecuente (Secretaría de Salud, 2014)

Las estimaciones indican que la obesidad representa del 1 al 3% del total de los gastos en atención médica de la mayoría de los países y las proyecciones indican que los costos aumentarán rápidamente en los próximos años debido a enfermedades relacionadas con la obesidad (Dávila-Torres, González-Izquierdo y Barrera-Cruz, 2015).

En 2014 el costo directo estimado por la atención médica fue de 151 894 millones de pesos (mdp), lo que equivale al 34% del gasto total de atención médica y al 0.9% del PIB de ese año; mientras que el costo indirecto fue estimado en 71 669 mdp. Si no se realizan intervenciones costo-efectivas, tanto en el ámbito de control como de prevención, se estiman que, para el 2023 en comparación con el 2014 habrá un incremento del 17% y 15% para los costos directos e indirectos respectivamente generados por el sobrepeso y la obesidad, así como sus complicaciones (Secretaría de Salud, 2015)

La EHNA conlleva graves problemas de salud cuando no se atiende de forma oportuna ya que se eleva el riesgo de presentar comorbilidades y complicaciones como enfermedad cardiovascular, diabetes mellitus y síndrome metabólico, además de su interrelación con patologías como la apnea del sueño, cáncer, enfermedad renal crónica y algunas endocrinopatías como el síndrome de ovarios poliquísticos (Byrne y Targher, 2015)

El desarrollo de esta patología es sumamente complejo y se han identificado distintos factores contribuyentes, como una dieta alta en grasas, aumento en la lipogénesis hepática y lipólisis en el tejido adiposo, así como mecanismos inflamatorios y estrés oxidativo (Yilmaz et al., 2015). Es por ello que la intervención nutricional, junto

con un tratamiento médico integral, forma parte de uno de los pilares en el manejo del EHNA, ya que la pérdida ponderal aunada con el tratamiento para mejorar la resistencia a la insulina conlleva a diversos efectos benéficos a nivel hepático (Yilmaz y Younossi, 2014). Al presente existen múltiples investigaciones que tienen como propósito estudiar los mecanismos moleculares involucrados en el desarrollo de la EHNA y su progresión para identificar potenciales terapéuticos que se puedan utilizarse como parte de un abordaje más integral a este tipo de pacientes.

Actualmente un área de gran innovación es la implementación de estrategias nutricionales orientadas hacia el consumo de alimentos con potencial terapéutico y el desarrollo de alimentos funcionales. La evidencia reciente indica que los carotenoides muestran un gran potencial en ser agentes dietéticos útiles tanto para el tratamiento como para la prevención y progresión del EHNA al disminuir de forma efectiva la acumulación de lípidos, la resistencia a la insulina, el estrés oxidativo y la inflamación en el tejido hepático (Murillo, DiMarco y Fernandez, 2016).

Esta investigación busca fundamentar que estos compuestos dietéticos podrían tener utilidad en la creación de futuros fármacos o suplementos que beneficien a los pacientes con EHNA al limitar la progresión de esta patología y tener un mejor control metabólico, además de generar información que respalde que una intervención nutricional orientada al consumo de estos pigmentos resulta útil como parte de una estrategia integral en el tratamiento de estos pacientes.

4. HIPÓTESIS

Existe una diferencia significativa entre los niveles de carotenoides medidos por espectroscopia en piel entre pacientes con esteatosis hepática y pacientes con esteatohepatitis no alcohólica, así como una correlación inversa con los marcadores de daño hepático.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

5. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

5.1. Objetivo general

Identificar la asociación que existe y la diferencia entre los niveles de carotenoides obtenidos por medio de espectroscopia en piel y marcadores de daño hepático en pacientes adultos con esteatosis hepática y esteatohepatitis no alcohólica

5.2. Objetivos específicos

1. Comparar los niveles de carotenoides en piel y marcadores séricos de daño hepático entre los pacientes con esteatosis hepática y esteatohepatitis no alcohólica.
2. Correlacionar los niveles de carotenoides en piel con los marcadores séricos de daño hepático, gamma-glutamyl transferasa, aspartato aminotransferasa y alanino aminotransferasa, en ambos grupos.
3. Establecer si existe asociación entre los niveles de carotenoides en piel y el índice de resistencia a la insulina, triglicéridos, colesterol total, LDL y HDL.
4. Analizar la asociación que existe entre los niveles de carotenoides en piel con indicadores antropométricos y de composición corporal.

6. METODOLOGÍA

6.1. Tipo y diseño de estudio

Estudio observacional y descriptivo de corte transversal.

6.2. Universo y muestra

Pacientes con diagnóstico de esteatosis hepática referidos al Hospital General ciudad de Querétaro, así como pacientes referidos por médicos del servicio particular.

Para el cálculo de la n se utilizó la fórmula para comparación de dos grupos con un error tipo 1 de 0.05 y el error tipo 2 de 0.2 con un coeficiente de correlación esperado de -0.3 obteniendo un total de 85. Para ello se utilizó la siguiente fórmula:

$$N = \{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})/C\}^2 + 3 = 85$$

En donde:

Z_{α} = desviación estándar normal 1.96

Z_{β} = Desviación estándar normal 0.842

$C = 0.05 * \ln \{(1+r)/(1-r)\} = 0.31$

6.3. Criterios de selección

Grupo 1. Esteatosis hepática simple

Criterios de inclusión:

- ✓ Hombres y mujeres de 18 a 70 años
- ✓ Esteatosis hepática confirmada por ultrasonido con o sin sobrepeso u obesidad y/o con síndrome metabólico.
- ✓ Sin intolerancia o alergia a carotenoides dietéticos

Grupo 2. Esteatohepatitis no alcohólica

Criterios de inclusión:

- ✓ Hombres y mujeres mayores de 18 a 70 años

- ✓ Esteatosis hepática confirmada por ultrasonido acompañada de elevación de alanino aminotransferasa (ALT) y/o gamma-glutamil transferasa (GGT) 1 vez por arriba del rango de referencia en pacientes con o sin sobrepeso u obesidad y/o con síndrome metabólico.
- ✓ Sin modificaciones de más del 5% del peso actual en los últimos 3 meses.
- ✓ Sin antecedentes de intolerancia y/o alergia a los carotenoides dietéticos.

Criterios de exclusión para ambos grupos:

- ✓ Pacientes con infección actual por virus de hepatitis B y C
- ✓ Consumo de alcohol mayor a 20 gr/día (2 bebidas/día) en mujeres y mayor de 30 gr/día (3 bebidas al día) hombres.
- ✓ Trastornos hepáticos diagnosticados de origen autoinmune o inducido por fármacos.
- ✓ Enfermedades complejas o graves concomitantes como insuficiencia cardiaca, falla hepática grave, enfermedad renal, etc.

Criterios de eliminación

- ✓ Se eliminaron aquellos pacientes de los que no se contó con datos completos

6.4. Metodología

Se realizó una revisión de estudios de ultrasonido que confirmaran el diagnóstico de esteatosis hepática, así como perfil hepático en pacientes del grupo de esteatohepatitis no alcohólica para garantizar que cubrieran criterios de inclusión.

Se procedió a la explicación detallada y firma del consentimiento informado que se anexó al expediente clínico, el cual contiene información médico-nutricional relevante para el estudio.

Se inició con el llenado de una historia clínica completa por medio de interrogatorio directo que incluyó: datos generales, antecedentes personales no patológicos y patológicos, descripción del padecimiento actual, consumo de medicamentos y otra información médica relevante.

Se procedió a la aplicación de un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos que incluía una lista de 63 ítems clasificados de acuerdo al nivel de carotenoides para posteriormente calcular el promedio de consumo diario de los mismos.

A continuación, se realizaron las siguientes mediciones antropométricas: talla, peso, circunferencia de cintura y circunferencia de cadera de acuerdo con el manual de procedimientos para proyectos de nutrición del Instituto Nacional de Salud Pública (Shamah-Levy, Villalpando-Hernández y Rivera-Dommarco) para calcular posteriormente el índice de masa corporal, así como el índice de cintura cadera. También se evaluó la composición corporal por medio de bioimpedancia utilizando una báscula Tanita BC-418.

Se obtuvo una muestra de sangre y para analizar las siguientes variables bioquímicas: glucosa, insulina, colesterol total, colesterol de baja densidad (LDL), colesterol de muy baja densidad (VLDL), colesterol de alta densidad (HDL) triglicéridos, aspartato aminotransferasa (AST), alanino aminotransferasa (ALT) y gamma-glutamil transferasa (GGT).

Finalmente se midieron los niveles de carotenoides por medio de la técnica no invasiva de espectroscopia de Raman en piel utilizando el equipo de Pharmanex BioPhotonic Scanner S3.

6.5. Plan de análisis de datos

Los datos se analizaron utilizando los programas estadísticos Excel y SPSS versión 23. Se aplicó estadística descriptiva para presentar las características de la población. Las variables continuas se reportan en promedios \pm DE. Las variables nominales se reportaron en porcentajes.

Se realizó la prueba de t de Student para comparar las variables continuas entre grupos. Se realizó correlación de Pearson para las variables continuas.

Se realizó prueba de Chi cuadrada para evaluar frecuencias y comparación de variables categóricas entre grupos.

Se consideró un valor de $p < 0.05$ como significativo y un intervalo de confianza de 95%.

6.6. Ética del estudio

Esta investigación se realizó en apego a los principios bioéticos que exige esta Universidad de acuerdo a la normativa para la investigación clínica y de acuerdo a la declaración de Helsinki en su versión más reciente, revisada por la Asamblea Médica Mundial en el 5 de Mayo del 2015.

Este protocolo fue evaluado y aprobado por el comité de bioética de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro con número de registro: 90FCN2017

A cada participante se le entregó el consentimiento informado, el cual leyó, a continuación, se le explicó el mismo y las dudas que surgieron y posteriormente todos los participantes lo firmaron de conformidad.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Características generales de la población

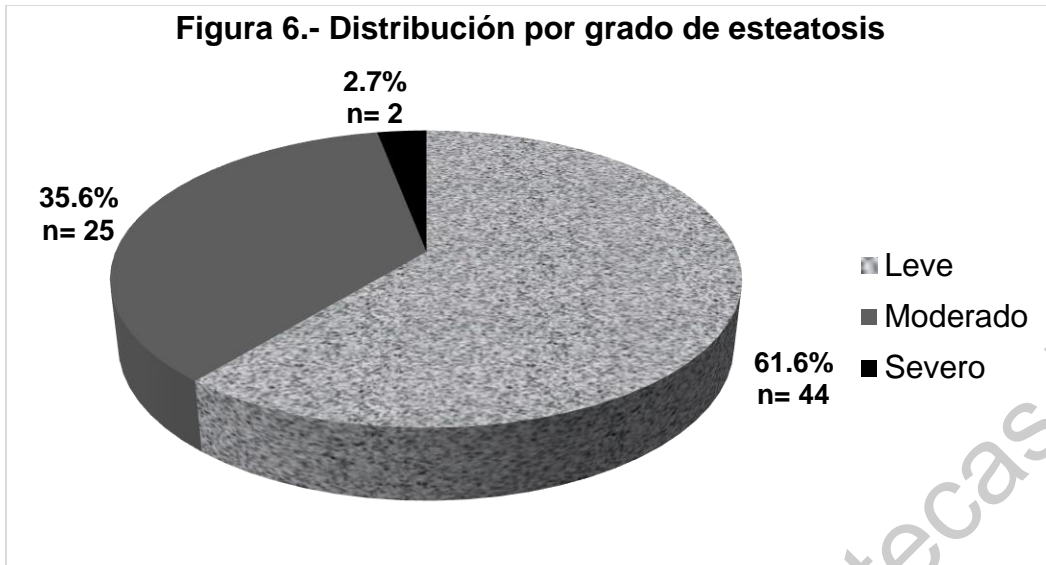
En total se captaron a 74 pacientes, de esta muestra, 73 cumplieron con los criterios de inclusión fueron 73 y se eliminó 1 paciente del análisis estadístico posterior a la evaluación ya que se encontraba tomando suplementos alimenticios auto prescritos que contenían carotenoides.

El 47.9% de la muestra fue captada del servicio de Salud Pública y el 52.1% del medio privado. Del total de la muestra el 72.6% fueron mujeres (n=53) y el 27.4% hombres (n=20), la edad promedio de la muestra fue de 46 años.

Cuarenta y seis pacientes fueron incluidos en el grupo de esteatosis simple (Grupo 1) y veintisiete en el grupo de esteatohepatitis (Grupo 2) acorde a los criterios de inclusión. La edad promedio del grupo 1 fue de 44 ± 13 años y del grupo 2 de 49 ± 12 años. La distribución por sexo se presenta en la tabla 1.

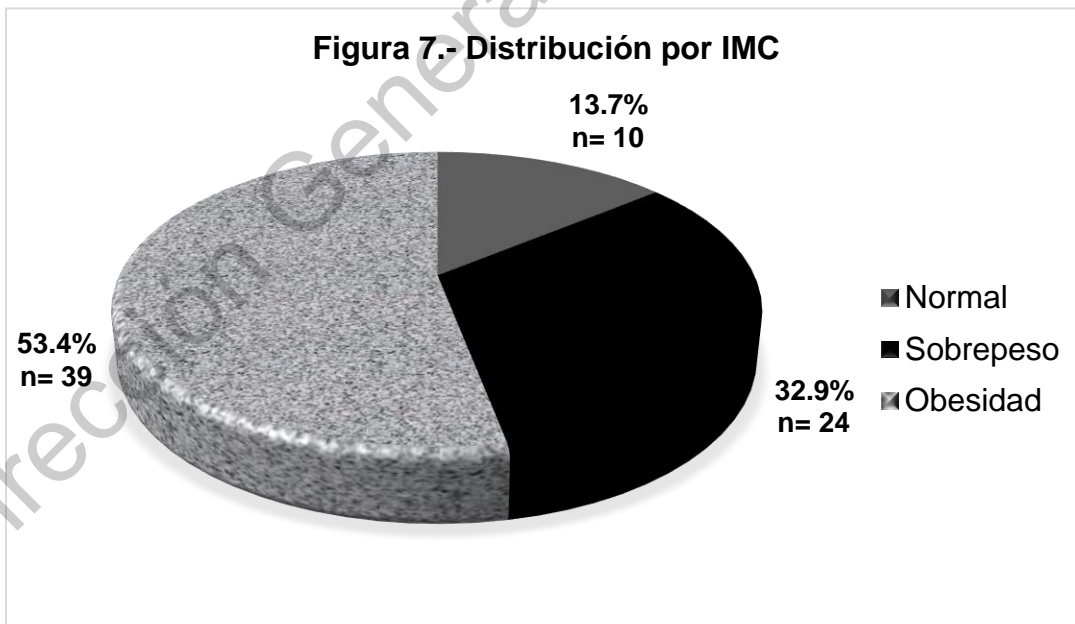
Tabla 1.-Distribución de sexo por grupos				
	Grupo 1 n (%)	Grupo 2 n (%)	Total n (%)	p
Sexo femenino	11 (23.9)	9 (33.3)	20 (27.4)	0.384
Sexo masculino	35 (76.1)	18 (66.7)	53 (72.6)	
Total	46 (100)	27 (100)	73 (100)	
Prueba chi cuadrada (X^2)				
*Significancia estadística $p < 0.05$				

La distribución de la muestra acorde al grado de esteatosis diagnosticado por ultrasonido se representa en la figura 6.



7.2. Antropometría y análisis de composición corporal

De los 73 pacientes el 53% (n= 39) de la muestra presentó obesidad acorde a los criterios diagnósticos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) considerando índice de masa corporal. La distribución por diagnóstico acorde IMC del total de la muestra se representa en la figura 7.



Referente a la comparación del promedio de IMC entre grupos no hubo diferencias importantes ya que para el grupo 1 fue de $30.5 \pm 5.3 \text{ kg/m}^2$ mientras que para el grupo

2 fue de $31.5 \pm 6.2 \text{ kg/m}^2$, ambos correspondiente al diagnóstico de obesidad, sin embargo, al comparar entre grupos acorde a diagnóstico por IMC como variable nominal, se encontró una diferencia estadísticamente significativa, $p=0.041$.

Respecto al análisis de composición corporal se encontró que el promedio de grasa corporal para el total de la muestra fue de $37.4 \pm 7.8 \%$ correspondiente también al diagnóstico de obesidad acorde a los puntos de corte por bioimpedancia.

En la tabla 2 se presentan las características antropométricas y de composición corporal por grupos y la comparación entre las variables.

Tabla 2.- Características antropométricas y de composición corporal				
	Total	Grupo 1 n= 46	Grupo 2 n= 27	p
IMC, kg/m^2	30.9 ± 5.6	30.5 ± 5.3	31.5 ± 6.2	0.452
Circunferencia de cintura, cm	103.1 ± 14.3	102.4 ± 13.3	104.3 ± 16.0	0.571
Grasa corporal, %	37.49 ± 7.8	37.39 ± 7.8	37.66 ± 8.1	0.891
Datos reportados en medias \pm DE Diferencia significativa de la prueba t $p < 0.05$ IMC, índice de masa corporal				

7.3. Prevalencia de comorbilidades

La prevalencia de resistencia a la insulina y diabetes mellitus como comorbilidad fue del 37%. Al realizar el análisis por grupo se encontró una prevalencia de 28.3% y de 51.9% en el grupo 1 y 2 respectivamente, con diferencia significativa como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3.- Frecuencia de DM por grupos				
	Grupo 1 n (%)	Grupo 2 n (%)	Total n (%)	p
Pacientes sin DM	33 (71.7)	13 (48.1)	46 (63)	0.044
Pacientes con DM	13 (28.3)	14 (51.9)	27 (37)	
Total	46 (100)	27 (100)	73 (100)	
DM, Diabetes mellitus Prueba chi cuadrada (χ^2) *Significancia estadística $p < 0.05$				

Comparando entre grupos acorde al diagnóstico de diabetes mellitus encontramos una diferencia significativa, así como en la evaluación del riesgo, encontrando que la presencia de diabetes mellitus se asocia con un riesgo incrementado RM:1.73 (IC 95% 1.0-7.3) de presentar esteatohepatitis en esta población

La tabla 4 muestra la frecuencia de hipertensión arterial por grupos. El 33% de la muestra tenía diagnóstico de hipertensión arterial previo al cuadro de EHNA. En el grupo 1 el 41.3% de los pacientes tenía esta comorbilidad comparado contra el 51.9% del grupo 2.

Tabla 4.- Frecuencia de HAS por grupos				
	Grupo 1 n (%)	Grupo 2 n (%)	Total n (%)	p
Pacientes sin HAS	27 (67.5)	13 (32.5)	40 (100)	0.382
Pacientes con HAS	19 (57.6)	14 (42.4)	33 (100)	
Total	46 (63)	27 (37)	73 (100)	
HAS, Hipertensión arterial sistémica Prueba chi cuadrada (X ²) *Significancia estadística p <0.05				

Respecto al diagnóstico de síndrome metabólico se hizo el diagnóstico a los criterios de la Federación Internacional de Diabetes (IDF) los cuales se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5.- Criterios diagnóstico para síndrome metabólico IDF	
Acorde a la nueva definición de la IDF, una persona tiene síndrome metabólico cuando presenta: *Obesidad central (definida por circunferencia de cintura >90 cm en hombres y >80 cm en mujeres) <u>mas</u> 2 de los siguientes 4 factores	
Elevación de triglicéridos	≥150 mg/dl o tratamiento para dislipidemia
Disminución de HDL	<40 mg/dl en hombres <50 m/dl en mujeres o tratamiento para dislipidemia
Elevación de presión arterial	Presión sistólica ≥ 130 o presión diastólica ≥85 mmHg o diagnóstico previo de hipertensión arterial

Elevación de glucosa en ayuno	≥ 100 mg/dl o diagnóstico previo de diabetes mellitus
HDL, high density lipoprotein *Si el índice de masa corporal es ≥30 kg/m ² se puede asumir la obesidad central y no hay necesidad de medir la circunferencia de cintura	

Acorde a estos criterios se encontró que el 71.2% (n= 52) del total de la muestra presenta síndrome metabólico, siendo la prevalencia de 60.9% (n= 28) y 88.9% (n=24) para el grupo 1 y 2 respectivamente. Al comparar la presencia o ausencia de síndrome metabólico entre grupos se encontró una diferencia significativa (p=0.011) con un riesgo incrementado RM: 5.14 (IC 95% 1.4-19.6) de tener esteatohepatitis en los pacientes que tuvieron este diagnóstico.

	Grupo 1 n (%)	Grupo 2 n (%)	Total n (%)	p
Pacientes sin Sx Met	18 (39.1)	3 (11.1)	21 (28.8)	0.011*
Pacientes con Sx Met	28 (60.9)	24 (88.9)	52 (71.2)	
Total	46 (100)	27 (100)	73 (100)	

Sx Met, síndrome metabólico
Prueba chi cuadrada (X²)
*Significancia estadística p <0.05

El criterio para diagnóstico de síndrome metabólico más frecuente fue el aumento en el perímetro de cintura, encontrándose por encima del punto de corte para población mexicana en el 95.8% de los pacientes.

7.4. Análisis de la ingesta de carotenoides

La ingesta promedio de carotenoides en la muestra fue de 1219 ± 858 equivalentes de retinol (ER). En la tabla 7 se presentan los resultados y la comparación por grupo y sexo, no se encontraron diferencias significativas.

Tabla 7.- Ingesta de carotenoides por grupos			
	Grupo 1 n= 46	Grupo 2 n= 27	p
Ingesta carotenoides, ER	1223 ± 932	1213 ± 731	0.960
Ingesta de carotenoides por sexo			
	Sexo femenino n= 53	Sexo masculino n= 20	p
Ingesta carotenoides, ER	1079 ± 604	1272 ± 936	0.395
ER, equivalentes de retinol Datos reportados en medias ± DE Diferencia significativa de la prueba de t de Student $p < 0.05$			

7.5. Niveles de carotenoides en piel

La técnica para la medición de carotenoides en piel fue mediante espectroscopia de Raman con el equipo BioPhotonic Scanner S3 de la marca Pharmanex cuyos puntos de corte se presentan en la tabla 8.

Tabla 8.- Puntos de corte para niveles de carotenoides en piel	
Bajo	10 000-19 000
Bajo-Moderado	20 000-29 000
Moderado	30 000-39 000
Moderado-Alto	40 000-49 000
Alto	50 000-59 000

Al realizar el análisis por sexo, encontramos que el promedio de carotenoides en piel en mujeres fue de 33924 ± 946 y de 29450 ± 10505 en hombres, sin embargo, no existe una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.085$), solamente se observa una tendencia a mayor consumo en las mujeres.

Los niveles promedio de carotenoides en piel para la totalidad de la muestra fue de 32698 ± 9890 , siendo 33152 ± 10208 y 31925 ± 946 promedio para el grupo 1 y 2 respectivamente, no se encontró diferencia significativa entre el grupo 1 y 2 como se observa en la tabla 9.

	Grupo 1 n= 46	Grupo 2 n= 27	p
Carotenoides en piel	33152 ± 10208	31925 ± 946	0.613

Datos reportados en medias ± DE
Diferencia significativa de la prueba de t de Student p <0.05

7.6. Metabolismo de lípidos, glucosa y perfil hepático

Los resultados de los estudios bioquímicos para el total de la muestra, así como el análisis descriptivo por grupo se presentan en la tabla 10.

	Total	Grupo 1 Esteatosis n=46	Grupo 2 Esteatohepatitis n=27	p
Glucosa, mg/dl	112.3 ± 40.2	106 ± 38.6	123 ± 41.4	0.082
Colesterol, mg/dl	171.1 ± 37.2	165.6 ± 34.5	180.4 ± 40.2	0.100
HDL, mg/dl	37.8 ± 9.1	37.4 ± 8.7	38.4 ± 9.8	0.646
LDL, mg/dl	104 ± 33.8	99.9 ± 34.1	110.9 ± 32.6	0.184
VLDL, mg/dl	29.8 ± 17.9	28.4 ± 13.9	32.18 ± 23.24	0.389
Triglicéridos, mg/dl	148.7 ± 90.1	141.6 ± 70.5	160.7 ± 116.7	0.386
HOMA-IR	6.7 ± 5.3	5.54 ± 4.8	8.6 ± 5.6	0.014*
AST, UI/l	37.7 ± 20.7	27.3 ± 7.5	55.4 ± 24	<0.001*
ALT, UI/l	52.3 ± 42.2	30.8 ± 11.6	89.1 ± 49.7	<0.001*
GGT, UI/l	69.3 ± 125.9	33 ± 16.9	131 ± 192	0.001*

Datos reportados en medias ± DE
Diferencia significativa de la prueba de t de Student p <0.05
HOMA-IR, índice de HOMA; HDL, high density lipoprotein; LDL, low density lipoprotein; VLDL, very low density lipoprotein, AST, aspartato aminotransferasa; ALT, alanino aminotrasferasa; GGT, gammaglutamil transferasa

Al comparar los promedios entre grupos mediante t de Student se encontró una diferencia significativa en los parámetros de índice de HOMA para resistencia a la insulina ($p= 0.014$), sin embargo, el promedio de ambos grupos indica una resistencia considerable a la insulina, existe además una tendencia estadística en los niveles de glucosa a ser más elevados en el grupo 2, aunque no alcanzan a ser significativos.

Las transaminasas hepáticas fueron significativamente mayores en el grupo de esteatohepatitis ($p= <0.001$), esto considerando que fue uno de los criterios de inclusión para el grupo 2.

7.7. Correlación entre carotenoides en piel, antropometría y composición corporal

Se evaluó mediante la prueba de Pearson la correlación entre los niveles de carotenoides en piel con el perímetro de cintura y el IMC y no se encontró correlación significativa entre los grupos.

A su vez se realizó una correlación entre los niveles de carotenoides y el porcentaje de grasa corporal sin encontrar un resultado significativo como se observa en la tabla 11.

Tabla 11.- Correlación entre carotenoides, valores antropométricos y de composición corporal		
	Niveles de carotenoides en piel n= 74	
	r	p
Circunferencia de cintura, cm	-0.37	0.755
IMC, kg/m²	0.030	0.798
Grasa corporal, %	0.017	0.888

r= valor de la correlación de Pearson.
 *p= significancia estadística <0.05
 IMC, índice de masa corporal

7.8. Correlación entre carotenoides en piel, antropometría y composición corporal

En la tabla 12 se representa la correlación entre los niveles de en piel y la ingesta de carotenoides mediante la prueba de Pearson e igualmente no se encontró una correlación significativa.

Tabla 12.- Correlación entre carotenoides en piel e ingesta		
	Niveles de carotenoides en piel n= 74	
	r	p
Ingesta de carotenoides, ER	0.151	0.203

r= valor de la correlación de Pearson.
*p= significancia estadística <0.05
ER, equivalentes de retinol

7.8. Correlación entre carotenoides en piel y perfil bioquímico

Tabla 13.- Correlación entre carotenoides en piel y perfil bioquímico		
	Niveles de carotenoides en piel n= 74	
	r	p
Glucosa, mg/dl	-0.180	0.128
HOMA-IR	-0.117	0.135
Colesterol, mg/dl	-0.012	0.922
Colesterol HDL, mg/dl	0.093	0.433
Colesterol LDL, mg/dl	0.116	0.330
Colesterol VLDL, mg/dl	-0.252	0.032*
Triglicéridos (mg/dl)	-0.251	0.032*

r= valor de la correlación de Pearson.
*p= significancia estadística <0.05
HOMA-IR, índice de HOMA; HDL, high density lipoprotein; LDL, low density lipoprotein; VLDL, very low density lipoprotein

Acorde al análisis de estadístico se encontró una correlación significativa entre los niveles de carotenoides en piel y niveles de triglicéridos y de VLDL del perfil bioquímico como se observa en la tabla 13.

La tabla 14 muestra la correlación entre los carotenoides en piel y los niveles de transaminasas hepáticas, sin ser estadísticamente significativos.

Tabla 14.- Correlación entre carotenoides en piel y transaminasas hepáticas		
	Niveles de carotenoides en piel n= 74	
	r	p
AST, U/l	-0.121	0.307
ALT. U/l	-0.143	0.228
GGT, U/l	-0.086	0.467
r= valor de la correlación de Pearson. *p= significancia estadística <0.05 AST, aspartato aminotransferasa; ALT, alanino aminotrasferasa; GGT, gamma-glutamyl transferasa		

Este estudio encontró una diferencia significativa entre los niveles de resistencia a la insulina en pacientes con esteatosis y esteatohepatitis no alcohólica además de una correlación significativa entre los niveles de carotenoides con triglicéridos, colesterol VLDL e índice de HOMA.

Estos resultados van acordes con los mecanismos fisiopatológicos implicados en el desarrollo y progresión de la EHNA. La resistencia a la insulina es una condición clínica que propicia alteraciones metabólicas que favorecen el depósito graso a nivel hepático y conlleva al desarrollo de hiperglucemia e hipertrigliceridemia, además de afectar de igual manera al metabolismo lipoproteico.

Cuando se presenta la resistencia a la insulina se favorece la producción hepática de glucosa ocasionando hiperglucemia crónica que eventualmente llevara al desarrollo de diabetes mellitus si esta condición no es revertida (Reccia et al, 2017). La diabetes por si misma eleva al doble el riesgo de esteatosis. Se ha reportado previamente que la prevalencia de esteatosis simple es del 23% en pacientes con diabetes, sin embargo, se observa un incremento importante cuando se trata de esteatohepatitis llegando hasta el 47% (Younossi et al., 2016).

Esto coincide con lo encontrado en la población de este estudio que presentó riesgo significativamente incrementado a desarrollar esteatohepatitis en pacientes con diabetes mellitus lo que respalda aún más el mecanismo fisiopatológico implicado en el desarrollo y progresión de esta enfermedad ocasionado por la resistencia a la insulina y la hiperglucemia crónica.

Esta descrito que la coexistencia de diabetes con EHNA se asocia a una mayor tasa de mortalidad llegando hasta el 33%, especialmente cuando existe un pobre control glucémico debido a que se favorece la progresión y desarrollo de fibrosis, ya que se estima que del 30-40% de los pacientes con hiperglicemia progresarán hacia la cirrosis hepática (Manrique, 2016; Benhaim et al., 2016)

La resistencia a la insulina favorece además la alteración en la lipogénesis, estando aumentada la síntesis de novo así como la absorción de ácidos grasos llevando a un incremento en los niveles de triglicéridos. El hígado, como mecanismo compensatorio, aumenta la exportación de triglicéridos en forma de VLDL a través de la lipasa hepática que convierten el VLDL en LDL en el suero, los cuales no pueden ser depurados debido a que hay una menor afinidad por el receptor de LDL hepático (Reccia et al., 2017). Clínicamente esto se traduce en hipertrigliceridemia, aumento de LDL y disminución de HDL, lo cual se ve reflejado en nuestra muestra ya que la dislipidemia más frecuente fue la disminución en los niveles de HDL encontrándose en el 82.1% de nuestra población.

Tomando en cuenta lo anterior queda más claro el potencial protector que desempeñan los carotenoides al actuar como agentes que disminuyen la oxidación lipídica, lo cual resulta en un menor depósito de los mismo a nivel hepático y menores niveles de triglicéridos, así como de resistencia a la insulina (Kitade, Chen, Ni y Ota, 2017).

Esta correlación positiva entre los niveles de carotenoides y el metabolismo lipídico también fue reportada previamente por Sugiura y colaboradores, quienes llevaron a cabo un estudio prospectivo para correlacionar los niveles de carotenoides séricos con el riesgo de desarrollar síndrome metabólico, encontrando que niveles más altos de estos antioxidantes, especialmente de α y β caroteno, actuaron como factor protector disminuyendo en un 34% y 46% respectivamente el riesgo de desarrollar dislipidemia y síndrome metabólico (Sugiura et al., 2015).

Los resultados de este estudio sugieren que los carotenoides podrían actuar como un factor protector para EHNA al estar asociados con un mejor metabolismo lipídico y menor resistencia a la insulina dos componentes cruciales en el desarrollo y progresión de esta patología sin embargo, esto no se puede aseverar debido a que se trata de un estudio transversal y sería necesario evaluar estos indicadores en un estudio de seguimiento para tener un concepto más claro del papel que pudieran desarrollar los carotenoides.

En población japonesa se realizó estudio prospectivo el cual dio seguimiento por 3 años a más de 2600 pacientes con diagnóstico de EHNA, los autores reportaron que quienes tuvieron mayores niveles de carotenoides séricos presentaron mejoría en el cuadro y gravedad de la esteatosis hepática, esto asociado también con menores niveles de triglicéridos, índice de HOMA e índice de masa corporal lo que señala el potencial terapéutico que podrían tener los carotenoides en este tipo de pacientes y los posibles mecanismos de acción (Xiao et al., 2018), lo cual parece coincidir con los hallazgos de este estudio respecto de la asociación encontrada de mayor resistencia a la insulina y dislipidemia con menores niveles de estos antioxidantes.

Contrario a lo que se esperaba, esta investigación no encontró diferencia significativa entre los niveles de carotenoides en piel en pacientes con esteatosis y esteatohepatitis no alcohólica.

Estos resultados pueden deberse a diversas variables, una de las más importantes a considerar es que el diagnóstico de esteatohepatitis para el grupo 2 se realizó por medio de evaluación clínica y bioquímica principalmente cuando esta descrito que el estándar de oro para el diagnóstico es la biopsia hepática (EASL, EASD y EASO, 2015). Es claro que, a pesar de ser el método diagnóstico de elección, en la práctica clínica esta técnica tiene múltiples limitaciones, incluyendo el elevado costo y los riesgos del procedimiento por tratarse de un método invasivo, por otro lado el resultado no modifica objetivamente el tratamiento o seguimiento y es clínicamente útil en un porcentaje muy bajo de pacientes. El diagnóstico clínico basado en la elevación de transaminasas puede ser menos objetivo y por lo tanto afectar los resultados de este estudio, especialmente en la comparación de ambos grupos.

Otro punto a considerar es el tamaño de la muestra y la distribución de ambos grupos. Hay que considerar que la prevalencia de esteatohepatitis vs. estosis simple es mucho menor por lo que la captación de pacientes con este diagnóstico también se vio afectada; idealmente sería necesario tener el mismo número de pacientes en ambos grupos para limitar el sesgo estadístico al realizar las pruebas de comparación, lo cual no fue posible en esta investigación.

En el análisis tampoco se encontró correlación entre los carotenoides en piel con los niveles de transaminasas hepáticas. Estos resultados son opuestos a lo esperado basándonos en el mecanismo de acción y en el desarrollo y evolución fisiopatológica del EHNA. Debido a su acción antioxidante, niveles bajos de carotenoides estarían relacionados con mayor daño tisular traducido en niveles más elevados de transaminasas hepáticas, a pesar de esto las pruebas estadísticas no mostraron correlación significativa.

Resultaría interesante comparar los valores de carotenoides en piel y los marcadores de daño hepático obtenidos en estos pacientes contra un grupo control sin patología, en un estudio realizado en población alemana, donde Erhardt y colaboradores, encontraron una diferencia significativa entre los niveles de carotenoides y vitamina E (Erhardt et al., 2011). Cabe mencionar que, al igual que en este estudio, ellos tampoco encontraron correlación entre los niveles de carotenoides séricos con los niveles de transaminasas hepáticas e indicadores antropométricos como el IMC, a pesar de que en su estudio los pacientes con esteatohepatitis fueron diagnosticados por medio de biopsia.

Respecto a la evaluación antropométrica, en este estudio no se encontró correlación entre los niveles de carotenoides con parámetros como la circunferencia de cintura, el índice de masa corporal ni con elementos de composición corporal como el porcentaje de grasa. Sin embargo, se trata en ambos grupos de pacientes que tienen una alta prevalencia de obesidad, aumento en la grasa corporal y de los parámetros antropométricos asociados a alteraciones de tipo de síndrome metabólico.

Estos resultados resultan difíciles de contrastar dado que las investigaciones que han encontrado correlación entre estos parámetros se han hecho principalmente en población sana, como fue el caso de Andersen y colaboradores quienes encontraron, en un seguimiento a 7 años, una correlación inversa entre los niveles de carotenoides séricos y el IMC (Andersen et al., 2006), así como Hirose y colaboradores que reportaron un IMC más bajo y menor porcentaje de grasa corporal en mujeres japonesas que presentaban mayor consumo de carotenoides (Hirose et al., 2016).

Cabe mencionar que en este último estudio la correlación fue encontrada específicamente para la criptoxantina y no con los niveles de carotenoides totales.

En México no existen estudios que analicen los niveles de carotenoides en población sana o con alguna otra patología específica. Dados los múltiples beneficios que se asocian a niveles adecuados de estos antioxidantes resulta importante explorar este campo con la finalidad de identificar áreas de oportunidad para la prevención y tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas como la EHNA.

En población china se estudió la relación que tienen los carotenoides con la presencia de EHNA. Un estudio en 2935 pacientes donde se realizó medición de carotenoides séricos y diagnóstico de EHNA por medio de ultrasonido encontró que mayores niveles de carotenoides, especialmente de α -caroteno, β -caroteno, criptoxantina y licopeno, se asociaron con menor prevalencia de EHNA (Cao et al., 2015).

Resultaría interesante llevar a cabo nuevas investigaciones en población latina que comparen los niveles de carotenoides en pacientes con EHNA en distintos estadios de la enfermedad, así como conocer el estatus antioxidante en población sana.

También resultaría relevante, además de conocer los niveles de carotenoides totales, la medición de estos compuestos de manera individual, esto debido a que los estudios mencionados previamente han hecho medición de carotenoides séricos lo cual presenta la ventaja de poder identificar específicamente los subtipos de carotenoides de interés. A pesar de que el método de espectroscopia de Raman en piel ya se encuentra validado y se correlaciona positivamente con los niveles séricos de estos antioxidantes, el equipo utilizado en este estudio no permite la distinción de que compuestos se encuentran en mayor o menor proporción una vez que se hace la medición.

El equipo de espectroscopia identifica 4 de los carotenoides más abundantes en el organismo (β -caroteno, luteína, licopeno y zeaxantina) mide su depósito en la piel, sin embargo, el resultado se presenta como carotenoides totales. Esto es importante a

considerar cuando se comparan los resultados de este estudio con otros puesto que algunas correlaciones se han hecho con compuestos de manera individual y no con los niveles de carotenoides totales como es el caso de esta investigación.

Los carotenoides son compuestos que han demostrado tener múltiples beneficios en la salud debido a sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, dos características que potencialmente podrían actuar como factores protectores en el desarrollo y la progresión del EHNA. Sin duda es necesario llevar a cabo nuevas investigaciones que permitan aclarar el mecanismo de acción involucrado de estos pigmentos, así como reforzar la evidencia que podría llevar en un futuro a utilizarlos como agentes terapéuticos. Dadas las limitaciones ya comentadas en este estudio resultaría útil e interesante nuevas investigaciones prospectivas, idealmente, con un mayor número de pacientes, para poder conocer con mayor certeza el impacto que tienen estos pigmentos dietéticos en la salud hepática.

8. CONCLUSIONES

Este estudio no encontró diferencia significativa entre los niveles de carotenoides en pacientes con esteatosis hepática y esteatohepatitis no alcohólica ni una correlación significativa entre los niveles de estos antioxidantes con marcadores de daño hepático en esta población.

Por otro lado, hubo una diferencia estadística en la resistencia a la insulina entre grupos, siendo mayor en pacientes con esteatohepatitis, este factor podría considerarse un elemento clave en la progresión y gravedad de la enfermedad.

Además, se encontró una correlación inversa entre los niveles de carotenoides en piel y triglicéridos, así como con el colesterol VLDL reforzando la evidencia de que mayores niveles de estos antioxidantes se asocian con un mejor metabolismo lipídico.

A pesar de que algunos de los hallazgos de este estudio resultan contradictorios, constituyen un precedente importante para que se continúe la investigación de estos compuestos dietéticos y su posible rol en la prevención y tratamiento de pacientes con EHNA.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Akhter A., Pulla A. y Said A. (2016) Revisión de los tratamientos farmacológicos actuales y futuros de la esteatohepatitis no alcohólica. *Clinical Liver Disease* (1):34-38.
2. Ambati R., Phang S., Ravi S. y Aswathanarayana R. (2014) Astaxanthin: sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications- A review. *Mar. Drugs*. (12):125-152.
3. Andersen L., Jacobs D., Gross M., Schreiner P., Dale O. y Lee D. (2006) Longitudinal associations between body mass index and serum carotenoids: the CARDIA study. *British Journal of Nutrition* (95): 358-365.
4. Benhaim M., Guma C., Doglia L., Canella V., López S. y Pengue C. (2016) Estudio metabólico en pacientes con esteatosis hepática no alcohólica. *Acta Bioquim Clin Latinoam* (1):11-16.
5. Bonet, L., Canas, J., Ribot, J. and Palou, A. (2016). Carotenoids in adipose tissue biology and obesity. In: C. Stange, ed., *Carotenoids in nature*, 1st ed. Switzerland: Springer International Publishing, 377-401.
6. Briseño-Bass P., Chávez-Pérez R. y López-Zendejas M. (2018) Prevalencia y relación de esteatosis hepática con perfil lipídico y hepático en pacientes de chequeo médico. *Revista de Gastroenterología de México* (3):290-295
7. Byrne C. y Targher G. (2015) NAFLD: A multisystem disease. *Journal of Hepatology* (62):47-64.
8. Castro-Martínez M., Banderas-Lares D., Ramírez-Martínez J. y Escobedo-de la Peña J. (2012) Prevalencia de hígado graso no alcohólico en individuos con síndrome metabólico. *Cir cir* (80):128-133.
9. Chalassani N., Younossi Z., Lavine J., Charlton M., Cusi K., Rinella M., Harrison S., Brunt E. y Sanyal A. (2018) The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* (67):328-357.

10. Chen G., Ni Y., Nagata N., Xu L. y Ota T. (2016) Micronutrient antioxidants and non-fatty liver disease. *Int. J. Mol. Sci.* (17):1379.
11. Dávila-Torres J., González-Izquierdo J., y Barrera-Cruz A. (2015) Panorama de la obesidad en México. *Rev Med Inst Mex Seguro Sec* (2):240-249.
12. Day J. y James O. (1998) Steatohepatitis: A tale of two hits? *Gastroenterology* (4):842-845.
13. Edhardt A., Stahl W., Sies H., Lirussi F., Donner A. y Häussinger D. (2011) Plasma levels of vitamin E and carotenoids are decreased in patients with nonalcoholic steatohepatitis (NASH) *Eur J Med Res* (16):76-78.
14. Eggersdorfer M. y Wiss A. (2018) Carotenoids in human health. *Archives of biochemistry and biophysics* (652):18-26.
15. Ermakov I. y Gellermann W. (2010) Validation model for Raman based skin carotenoid detection. *Arch. Biochem. Biophys.* (1):40-49.
16. European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD) y European Association for the study of Obesity (EASO) (2016) Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology* (64): 1388-1402.
17. Ferramosca A., Di Giacomo M. y Zara V. (2017) Antioxidant dietary approach in treatment of fatty liver: New insights and updates. *World J Gastroenterol* (23):4146-4157
18. Gammone A., Graziano R. y D'Orazio N. (2015) Carotenoids: potential allies of cardiovascular health? *Food & Nutrition Research* (59):26762.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5506050/>
19. Jahns L., Johnson L., Mayne S., Cartmel B., Picklo M., Ermakov I., Gellerman W. y Whigham L. (2014) Skin and plasma carotenoid response to a provided intervention diet high in vegetables and fruit: uptake and depletion kinetics. *Am. J. Clin. Nutr.* (100):930-937.
20. Kaulmann A. y Bohn T. (2014) Carotenoids, inflammation, and oxidative stress-implications of cellular signaling pathways and relation to chronic disease prevention. *Nutrition Research* (11):907-929.

21. Kitade H., Chen G., Ni Y. y Ota T. (2017) Nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance: New insights and potential new treatments. *Nutrients* (9):387.
22. LaBrecque D., Abbas Z., Anania F., Khan A., Goh K., Hamid S., Lizarzabal M., Peñaranda M., Ramos J., Sarin S., Stimac D., Krabshuis J. y LeMair A. (2014) World Gastroenterology Organisation Global Guidelines. Non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* (6):467-473.
23. León-Pedroza J., González-Tapia L., Olmo-Gil E., Castellanos-Rodríguez D., Escobedo G. y González-Chavez A. (2015) Inflamación sistémica de bajo grado y su reacción con el desarrollo de enfermedades metabólicas: de la evidencia molecular a la aplicación clínica. *Cirugía y cirujanos* (6):543-551.
24. Lizardi-Cervera J., Becerra I., Chávez-Tapia N., Ramos M., y Uribe M. (2006) Prevalencia de hígado graso no alcohólico y síndrome metabólico en población asintomática. *Rev. Gastroenterol Mex* (4):453-459.
25. Manrique G. (2016) Parámetros metabólicos en pacientes con esteatosis hepática no alcohólica y diabetes tipo 2 controlados versus no controlados. *Rev Gastroenterol Peru* (4):336-339.
26. Mayne S., Cartmel B., Scarmo S., Jahns L., Ermakov I. y Gellerman W. (2013) Resonance Raman spectroscopic evaluation of skin carotenoids as a biomarker of carotenoids status for human studies. *Arch. Biochem. Biophys.*(2): 539.
27. Méndez N., Gutiérrez Y., Chávez N., Kobashi M. y Uribe M. (2010) Hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica: conceptos actuales. *Revista de Gastroenterología de México* (75):143-148.
28. Murillo A., DiMarco D. y Fernández M., (2016) The potential of non-provitamin A carotenoids for the prevention and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Biology* (4):42.
29. Ordoñez C. y Rodríguez E. (2013) Frutos tropicales como fuente de carotenoides: biosíntesis, composición, biodisponibilidad, y efecto del procesamiento. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos* (1):1-23.

30. Reccia I., Akladios C., Viridis F., Pai M., Habib N. y Spalding D. (2017) Non-alcoholic fatty liver disease: A sign of systemic disease. *Metabolism and clinical experimental* (72): 94-108.
31. Secretaria de Salud (2014) Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad hepática grasa no alcohólica del adulto
32. Secretaria de Salud (2016) Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
33. Shamah-Levy T., Villalpando-Hernández S. y Rivera-Dommarco J. (2006) Manual de procedimiento para proyectos de Nutrición. Instituto Nacional de Salud Pública.
34. Simões I., Fontes A., Pinton P., Zischka H. y Wieckowski M. (2018) Mitochondria in non-alcoholic fatty liver disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* (95):93-99.
35. Sugiura M., Nakamura M., Ikoma Y., Yano M., Ogawa K., Matsumoto H., Kato M., Ohshima M. y Nagao A. (2006) Serum carotenoid concentrations are inversely associated with serum aminotransferases in hyperglycemic subjects. *Diabetes Research and Clinical Practice* (71):82-91.
36. Sugiura M., Nakamura M., Ogawa K., Ikoma Y. y Yano M. (2015) High serum carotenoids associated with lower risk for the metabolic syndrome and its components among Japanese subjects: Mikkaby cohort study. *British Journal of Nutrition* (114):1674-1682.
37. Van Rensburg A. y Wenhold F. (2016) Validity and reliability of field resonance raman spectroscopy for assessing carotenoid status. *J. Nutr. Sci. Vitaminol* (62):317-321.
38. Van-Rensburg A. y Wendhold F. (2016) Validity and reliability of field resonance raman spectroscopy for assessing carotenoid status. *J. Nutr. Sci. Vitaminol* (62):317-321.
39. Wu G., Li H., Fang Q., Zhang J., Zhang M., Zhang L., Wu L., Hou W., Lu J., Bao Y., y Jia W. (2017) Complementary role of fibroblast growth factor 21 and cytokeratin18 in monitoring the different stages of nonalcoholic fatty liver disease. *Scientific Reports*.

40. Xiao M., Chen G., Zeng F., Qiu R., Shi W., Lin J., Cao Y., Li H., Ling W. y Chen Y. (2018) Higher serum carotenoids associated with improvement of non-alcoholic fatty liver disease in adults: a prospective study. *Eur J Nutr* (2):721-730.
41. Yilmaz B., Sahin K., Bilen H., Bahcecioglu I., Bilir B., Ashraf S., Halazum K. y Kucuk O. (2015) Carotenoids and non-fatty liver disease. *HepatoBiliary Surg Nutr* (3):161-171.
42. Yilmaz Y., y Younossi Z. (2014) Obesity-associated non-alcoholic fatty liver disease. *Clin. Liver Dis* (18):19-31.
43. Younossi Z., Koenig A., Abdelatif D., Fazel Y., Henry L. y Wimer M. (2016) Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Metaanalytic assessment of prevalence, incidence and outcomes. *Hepatology* (1):73-84.

Dirección General de Bibliotecas UAO