



INSTITUTO DE SERVICIOS DE SALUD PÚBLICA DEL ESTADO DE BAJA CALIFORNIA
HOSPITAL GENERAL DE MEXICALI

TÍTULO DE TESIS:

**Utilidad de los fragmentos de citoqueratina-18 y adiponectina como biomarcadores no
invasivos de esteatohepatitis y fibrosis hepática en el obeso mórbido**

TRABAJO TERMINAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN
MEDICINA INTERNA

PRESENTA:

DR. JORGE GONZALEZ ALTAMIRANO

Mexicali Baja California. Mayo del 2015





INSTITUTO DE SERVICIOS DE SALUD PÚBLICA DEL ESTADO DE BAJA CALIFORNIA
HOSPITAL GENERAL DE MEXICALI

TITULO DE TESIS:

**Utilidad de los fragmentos de citoqueratina-18 y adiponectina como biomarcadores
no invasivos de esteatohepatitis y fibrosis hepática en el obeso mórbido**

TRABAJO TERMINAL PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN
MEDICINA INTERNA

PRESENTA:

DR. JORGE GONZALEZ ALTAMIRANO

ASESORES:

**DR. JOSÉ MANUEL AVENDAÑO REYES, DRA MARÍA ELENA MARÍN FRAGOSO, DR
ALBERTO ACEVES DIAZ, DR. MOISÉS RODRÍGUEZ LOMELÍ, DR RICARDO FLORES
RENDÓN**

Mexicali Baja California. Mayo del 2015



DR. CALEB CIENFUEGOS RASCÓN
DIRECTOR DEL HOSPITAL GENERAL DE MEXICALI

M.D.U. MARIA LUISA GONZÁLEZ GARCÍA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

DR. JOSÉ ALBERTO GONZÁLEZ SARMIENTO
JEFE DEL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA

DR. JOSÉ MANUEL AVENDAÑO REYES
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE MEDICINA INTERNA Y ASESOR DE TESIS

DR. JORGE GONZÁLEZ ALTAMIRANO
SUSTENTANTE

RESUMEN

La enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA) es la enfermedad hepática crónica más frecuente; comprende la esteatosis hepática simple relacionada con un curso benigno y la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) la cual puede progresar a cirrosis, falla hepática y carcinoma hepatocelular. Los pacientes obesos mórbidos tienen mayor riesgo para desarrollar EHGNA, en especial sus formas graves. La biopsia hepática es considerada el estándar dorado para diagnosticar y diferenciar la esteatosis simple de la esteatohepatitis además que puede determinar la presencia y grado de fibrosis hepática; sin embargo, es un procedimiento invasivo con complicaciones potenciales como dolor, sangrado y muerte.

Por tal motivo nuestro objetivo es el de investigar la relación que tienen los niveles séricos de citoqueratina 18 (fragmento M30 y M65) y adiponectina con la presencia de esteatosis y esteatohepatitis en las biopsias de pacientes con obesidad mórbida sometidos a cirugía bariátrica así como la relación de los mismos marcadores con el grado de fibrosis, valorando así su potencial como una herramienta diagnóstica en la EHGNA.

Incluimos un total de 50 pacientes obesos mórbidos, a todos se les realizó biopsia hepática, 38% tuvieron esteatosis simple y 62% esteatohepatitis. Los niveles séricos de ambos fragmentos de citoqueratina fueron superiores de forma estadísticamente significativa en los pacientes con esteatohepatitis; no existe una diferencia en los niveles de citoqueratina y el grado de fibrosis. No existió diferencia en los niveles séricos de adiponectina en los grupos de esteatosis y esteatohepatitis tampoco según el grado de fibrosis. Utilizando curvas ROC para definir la exactitud de la prueba concluimos que un nivel del fragmento M30 de 148 tiene una sensibilidad del 50% y especificidad del 82% para el diagnóstico de EHNA y con niveles de 124 tiene una sensibilidad del 71% y especificidad del 56%.

Con lo anterior concluimos que los obesos con EHNA tienen concentraciones significativamente más altas de los fragmentos de citoqueratina, sin embargo tienen un pobre rendimiento como prueba diagnóstica ya que en el análisis del área bajo la curva ROC mostró una pobre capacidad de discriminación de las pruebas (menor a 0.70).

INDICE

INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
JUSTIFICACION	9
HIPOTESIS	10
OBJETIVOS.....	11
Objetivo General:.....	11
Objetivos específicos:.....	12
MATERIAL Y METODOS	12
Diseño del estudio	12
Población y muestra	13
Criterios de inclusión	14
Criterios de exclusión	14
Criterios de eliminación	15
Variables de desenlace	15
Análisis estadístico	15
Aspectos éticos.....	16
RESULTADOS	16
DISCUSION	23
CONCLUSIONES.....	25
REFERENCIAS.....	26
ANEXOS	28

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA) es conocida en la actualidad como la enfermedad hepática crónica más común en los Estados Unidos y en muchas regiones del mundo y comprende un espectro de entidades clínico patológicas que tienen en común la presencia de esteatosis en ausencia de consumo de alcohol de una manera significativa. A la esteatosis hepática simple y la esteatosis hepática con inflamación no específica se les relaciona a un curso generalmente benigno mientras que la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) puede progresar en una cuarta parte de los pacientes a cirrosis hepática, falla hepatocelular y carcinoma (1). Aquellos pacientes con obesidad mórbida representan un grupo particular de riesgo para la EHGNA y el desarrollo de formas más severas de esta enfermedad (2,3). Actualmente la biopsia hepática es el estándar dorado para diagnosticar y diferenciar la esteatosis de la EHNA así como determinar el estadio y grado de la enfermedad (1,4). Sin embargo, además de la naturaleza invasiva y de la falta de un tratamiento efectivo no se han definido con precisión cuales son las indicaciones para practicar la biopsia hepática en estos enfermos. Por lo general existe un temor razonable a la realización de este procedimiento y la mayoría de los pacientes permanecen con el diagnóstico de EHGNA probable en base a los estudios clínicos, laboratoriales y de imagen (4,5).

Existe evidencia científica que demuestra el papel central que tiene la apoptosis hepatocelular en la enfermedad hepática crónica. La citoqueratina 18 es el filamento proteico intermediario principal en el hígado y uno de los principales sustratos de caspasas durante la apoptosis del hepatocito (6). En un estudio reciente se midieron los valores de fragmentos de citoqueratina 18 en hígado y plasma de pacientes sometidos a biopsia hepática por sospecha de EHGNA así como en controles de la misma edad. Los fragmentos de citoqueratina 18 se encontraron en niveles superiores en los pacientes con EHGNA comparados con el grupo control y se observó una correlación entre los niveles plasmáticos con los expresados en el hígado (7). La adiponectina ha emergido como una adipocina protectora en la resistencia a la insulina y en las enfermedades del hígado relacionadas con la obesidad; se encuentra en altas concentraciones en el suero y es secretada por el tejido adiposo en proporción inversa al índice de masa corporal. Sus niveles circulantes están disminuidos en presencia de obesidad y estudios epidemiológicos han revelado que existen niveles bajos de adiponectina asociados con EHNA independientemente de la resistencia a la insulina y el índice de masa corporal (8).

En este estudio, nosotros hemos medido las concentraciones de diferentes formas de citoqueratina 18 (antígeno M30 y antígeno M65) y adiponectina en el suero de pacientes con EHGNA y obesidad mórbida para valorar su utilidad como biomarcadores no invasivos para esteatohepatitis y fibrosis hepática

ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

La EHGNA se encuentra dentro de las causas más comunes de enfermedad hepática crónica en occidente (9). Una variedad de términos han sido utilizados para describir esta entidad, incluyendo hepatitis hepática grasa, enfermedad no alcohólica de Laennec, hepatitis diabética, enfermedad hepática similar a la alcohólica y esteatohepatitis no alcohólica (10). Comprende un espectro de enfermedades que van de simple esteatosis a esteatohepatitis inflamatoria con un aumento en los niveles de fibrosis y finalmente cirrosis. La EHGNA está fuertemente asociada con obesidad y resistencia a la insulina, y ahora se reconoce como la manifestación hepática más importante del síndrome metabólico. Existe una asociación del síndrome metabólico con esteatohepatitis y con una actividad necroinflamatoria más severa y fibrosis particularmente importante en términos epidemiológicos (11)

La obesidad, hipertensión arterial sistémica, Diabetes Mellitus tipo 2 y la dislipidemia son condiciones coexistentes frecuentemente asociadas con la enfermedad del hígado graso no alcohólico. En nuestro país más del 50% de la población de adultos y casi un tercio de los niños y niñas tienen sobrepeso y obesidad. La prevalencia reportada de obesidad en personas con hígado graso no alcohólico varía de 30 a 100%, la prevalencia de diabetes tipo 2 varía entre 10 y 75% y la de dislipidemia entre un 20 y 92%. Se considera obesidad cuando el índice de masa corporal es igual o mayor a 30 (10,12).

A pesar de los recientes avances en donde se describen las complejas vías metabólicas e inflamatorias involucradas en la EHGNA, la patogénesis de la esteatosis y su progresión a esteatohepatitis y fibrosis/cirrosis no es del todo comprendida. Mientras que la esteatosis SIMPLE parece estar asociada a un buen pronóstico, existen factores conocidos involucrados en la progresión a una enfermedad más avanzada y clínicamente relevante. La EHGNA puede asociarse con fibrosis avanzada o cirrosis, lo cual es preocupante ya que la mayoría de las complicaciones relacionadas con un hígado enfermo y las muertes suceden en estos pacientes. Dentro de los factores de progresión se incluyen las citocinas inflamatorias/adipocinas, disfunción mitocondrial y el estrés oxidativo. La resistencia a la insulina produce una supresión significativa de la lipólisis, condicionando un aumento de ácidos grasos libres desde el tejido adiposo al hígado. La hiperinsulinemia también promueve la lipogénesis hepática de novo, que está marcadamente incrementada en los pacientes con EHGNA comparada con individuos normales. Ahora se conoce que los ácidos grasos libres promueven la resistencia a la insulina, inflamación y estrés oxidativo y en lugar de ser perjudicial, la acumulación de triglicéridos hepáticos puede ser protectora al prevenir los efectos dañinos de los ácidos grasos libres. Sin embargo, la evidencia de que solo una minoría de pacientes con EHGNA progresa a estadios más

avanzados sugiere que la progresión de la enfermedad depende de la relación entre estos factores y una predisposición genética de base (13, 14).

La prevalencia de la EHGA aumenta con el incremento en el índice de masa corporal (IMC). El análisis de biopsias hepáticas obtenidas de donadores hepáticos, autopsias y clínicas de biopsias hepáticas sugieren que la prevalencia de esteatosis y esteatohepatitis es aproximadamente del 15% y 3% respectivamente en personas no obesas, del 65% y 20%, respectivamente, en personas con obesidad clase I y II (IMC 30.0-39.9kg/m²) y del 40 y 85 % en pacientes con obesidad mórbida (IMC $\geq$ 40 kg/m²) (15).

El diagnóstico de EHGA debe ser fuertemente sospechado en la presencia de hallazgos como obesidad, diabetes y apnea obstructiva del sueño. La mayoría de los pacientes son asintomáticos y el diagnóstico se sospecha después de detectar cifras elevadas de transaminasas en exámenes de rutina. La esteatosis hepática es también un hallazgo incidental frecuente en el ultrasonido realizado por otros motivos como la sospecha de litiasis vesicular. El ultrasonido convencional es la técnica más común utilizada para valorar la presencia de hígado graso en el escenario clínico o en estudios poblacionales y permite una detección confiable de hígado graso moderado a severo. Sin embargo, tiene múltiples limitantes incluyendo la dependencia del operador, una evaluación subjetiva y la limitada habilidad de cuantificar la cantidad de infiltración grasa.

Aunque el diagnóstico de EHGA se sospecha después de encontrar niveles discretamente elevados en las pruebas de funcionamiento hepático, más de dos tercios de los pacientes tienen niveles de aminotransferasas normales en cualquier tiempo y el espectro histológico completo de la EHGA puede ser observado en pacientes con valores de alanino aminotransferasa (ALT) normales. La ALT es usualmente mayor que la aspartato aminotransferasa (AST) y rara vez se encuentra a niveles tres veces del límite normal alto. La fosfatasa alcalina puede elevarse un poco. La gamaglutamiltransferasa frecuentemente se encuentra elevada y puede ser un marcador de mortalidad (13, 16).

La biopsia hepática continúa siendo la mejor herramienta diagnóstica para confirmar la EHGA, así como el método más sensible y específico que brinda importante información pronóstica. La valoración histológica del hígado es una piedra angular en la evaluación y manejo de pacientes con enfermedad hepática y ha sido considerada como un componente integral del armamentario diagnóstico clínico. Aunque las pruebas sanguíneas utilizadas tienen una buena sensibilidad y precisión para detectar y diagnosticar enfermedades hepáticas; parece que la biopsia hepática seguirá siendo una herramienta diagnóstica imprescindible.

Técnicamente la biopsia hepática requiere un entrenamiento específico para asegurar un tamaño de biopsia adecuado y el nivel más bajo de complicaciones. El dolor es la complicación más común de la biopsia hepática percutánea, se presenta en un 84% de los pacientes y la complicación más importante es el sangrado que puede tener repercusiones clínicas importantes y requerir

hospitalización. Cuando el sangrado ocurre de forma intraperitoneal se considera como severo. La mortalidad después de la biopsia hepática percutánea es usualmente relacionada a hemorragia. La muerte debido al sangrado puede ser mayor después de realizar una biopsia a lesiones malignas que en aquellas realizadas a enfermedades parenquimatosas difusas. La tasa de mortalidad más comúnmente citada es menor o igual a una en 10,000 biopsias hepáticas. En un reporte reciente de 7649 biopsias transvenosas la mortalidad fue de 0.09% (9 en 10,000) pero esta cifra puede reflejar una selección de pacientes de alto riesgo para este procedimiento (17).

A través del tiempo, distintos marcadores biológicos han sido estudiados con la finalidad de evaluar la magnitud de la esteatosis, la presencia de necroinflamación y el desarrollo de fibrosis para evitar la realización de la biopsia hepática. La evidencia científica ha mostrado que la apoptosis hepatocelular juega un papel central en la enfermedad hepática crónica. La citoqueratina 18 es el filamento proteico intermediario principal en el hígado y uno de los principales sustratos de las caspasas durante la apoptosis del hepatocito. La muerte del hepatocito por apoptosis se asocia con la liberación de fragmentos al torrente sanguíneo de fragmentos de citoqueratina 18 y diversos estudios en suero o plasma de humanos sugieren el uso potencial de los fragmentos de citoqueratina 18 como un biomarcador no invasivo para el diagnóstico o estadificación de las enfermedades hepáticas crónicas **(6, 3)**.

La apoptosis es un proceso bien definido de delección celular y tiene un papel fundamental en el mantenimiento de la homeostasis de los tejidos. Comprende una secuencia de eventos altamente regulados que conducen a cambios bioquímicos y estructurales y eventualmente a fagocitosis. En el hígado sano, el número de células eliminadas por apoptosis es igual al número de células generadas por mitosis, asegurando la homeostasis correcta del órgano. Sin embargo, en condiciones patofisiológicas diferentes se pierde este balance entre proliferación y muerte celular. Existe amplia evidencia que muestra la activación de las vías apoptóticas en diversas formas de daño hepático crónico incluyendo el carcinoma hepatocelular, la hepatitis viral, hepatitis alcohólica, esteatohepatitis, enfermedad colestásica, fibrosis hepática y cirrosis (18, 19).

La apoptosis de las células hepáticas pueden ser iniciada por diferentes vías, la mayoría involucra la activación de caspasas (proteasas de cisteína específicas para aspartato). Se han descrito once miembros de caspasas en el ser humano. Las caspasas 2, 8, 9 y 10 son inicialmente activadas y éstas a su vez activan una cascada de caspasas efectoras como la 3, 6 y 7. Se ha sugerido que la unión de las caspasas con la citoqueratinas facilita la formación de cuerpos apoptoicos y amplifica la señal para la apoptosis.

La citoqueratina 18 es un filamento intermediario que representa cerca del 5% del total de proteínas en el hígado, el páncreas exocrino, intestino y otros tejidos epiteliales. Experimentos in vitro han mostrado que la liberación de citoqueratina 18 hacia el espacio extracelular ocurre como una consecuencia de la digestión de

las caspasas y puede servir como un marcador de apoptosis (19, 20). Un neoepitope en la citoqueratina 18, denominado antígeno M30, se puede detectar en una fase temprana de la unión con la caspasa por medio de un anticuerpo monoclonal. Por otra parte, la citoqueratina 18 no separada por las caspasas que se encuentra en el citosol es liberada de las células durante la necrosis; a esta queratina no escindida se le conoce como antígeno M65 (6,20). Estudios recientes afirman que estos biomarcadores de apoptosis y necrosis (antígeno M30 y M65) pueden ser de utilidad clínica para identificar pacientes con esteatohepatitis además de la fibrosis asociada; cumpliendo adecuadamente con los requisitos para un biomarcador ideal para EHGNA ya que es catalogado como un examen sencillo, reproducible, fácil de medir y confiable (3, 21).

Por otra parte, existen biomarcadores del síndrome metabólico que se han propuesto como herramientas no invasivas para la EHGNA. Es conocido que la base del hígado graso es multifactorial y se considera como la manifestación hepática del síndrome metabólico. Estos biomarcadores son: leptina, resistina y adiponectina.

Las citocinas juegan un papel esencial en la patogénesis de la EHGNA. En la década pasada, el tejido adiposo ha emergido como un órgano endócrino con un papel clave en la homeostasis de la energía, donde sus productos metabólicos, adipocinas, ejercen efectos centrales, locales y periféricos. La obesidad es actualmente considerada como una inflamación de bajo grado en donde el tejido adiposo y sus hormonas tienen un papel central. Los adipocitos hipertrofiados liberan citocinas que reclutan macrófagos e inician varios ciclos, como la liberación de citocinas inflamatorias por los macrófagos que estimulan a su vez la inflamación y suprimen adipocinas anti inflamatorias (22).

La adiponectina es una proteína específica del tejido celular adiposo cuyos receptores se expresan en distintos tipos de células incluyendo los hepatocitos. Se le considera como una adipocitocina antiinflamatoria que disminuye la grasa corporal y mejora la sensibilidad periférica y hepática a la insulina. Es conocido por tener efectos antifibróticos y antiestrogénicos en el hígado. La hipoadiponectinemia se ha sugerido como un factor que contribuye al desarrollo de la resistencia a la insulina y al síndrome metabólico y múltiples estudios han reportado niveles bajos de adiponectina en pacientes con esteatosis hepática comparados con controles. Algunos otros autores han demostrado que niveles bajos de adiponectina se asocian con una necroinflamación más extensa en la EHGNA y que pueden contribuir al desarrollo de esteatohepatitis. Sin embargo, surge la controversia alrededor del papel de los niveles bajos de adiponectina como un marcador de laboratorio confiable para esteatohepatitis (23, 24).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la utilidad de los biomarcadores como pruebas no invasivas para el diagnóstico de las distintas etapas de la enfermedad de hígado graso no alcohólico?, ¿Se requiere seguir utilizando la biopsia hepática en los enfermos con EHGNA para diagnosticar aquellos pacientes con mayor riesgo de complicaciones?

El hígado graso no alcohólico es una condición que cada vez se diagnostica con mayor frecuencia y que puede progresar a formas graves de la enfermedad condicionando esteatohepatitis no alcohólica, cirrosis hepática, falla hepática y hepatocarcinoma. La biopsia hepática es el estándar dorado para el diagnóstico, sin embargo, es un procedimiento invasivo que le confiere complicaciones y riesgos inevitables. La finalidad de nuestro estudio es evaluar la utilidad diagnóstica de los niveles de citoqueratina 18 (fragmentos M30 y M65) y adiponectina como marcadores serológicos para el diagnóstico de la enfermedad de hígado graso no alcohólico y sus diferentes etapas evolutivas (EHNA y fibrosis). Los niveles de citoqueratina serán medidos en obesos mórbidos a quienes se les realizará una biopsia hepática durante la intervención quirúrgica de cirugía bariátrica. Se hará una correlación entre los niveles de citoqueratina 18 y adiponectina con los hallazgos histopatológicos.

JUSTIFICACION

Con la detección no invasiva de pacientes en riesgo, nuestro trabajo podría aportar información importante sobre los pacientes con esteatosis simple, esteatohepatitis no alcohólica o cirrosis con solo una toma de muestra sanguínea. Si es comprobada la utilidad de estos biomarcadores se podrá definir de una manera efectiva y no invasiva qué pacientes tienen una forma más avanzada de la enfermedad evitando el riesgo de la biopsia hepática. Además, estos marcadores no invasivos podrían ser utilizados para el seguimiento y el control de la enfermedad.

HIPOTESIS

Los niveles séricos de los fragmentos de citoqueratina 18 (M30 y M65) en obesos mórbidos son mayores en los portadores de esteatohepatitis, fibrosis avanzada y cirrosis que en aquellos pacientes con hígado graso exclusivamente y los niveles de adiponectina serán menores en este mismo grupo de pacientes.

OBJETIVOS

Objetivo General:

Investigar la capacidad que tienen los fragmentos de citoqueratina-18 (M30 y M65) y adiponectina séricas para identificar la EHNA y fibrosis hepática significativa en el paciente con obesidad mórbida

Objetivos específicos:

1. Determinar los niveles séricos de fragmentos de citoqueratina 18 M30 en los pacientes con esteatosis simple, EHNA, fibrosis no significativa y fibrosis significativa.
2. Determinar los niveles séricos de fragmentos de citoqueratina 18 M65 en los pacientes con esteatosis simple, EHNA, fibrosis no significativa y fibrosis significativa.
3. Determinar los niveles séricos de fragmentos de adiponectina en los pacientes con esteatosis simple, EHNA, fibrosis no significativa y fibrosis significativa .(no se calcularon fragmentos de adiponectina)
4. Conocer la relación que existe entre los niveles séricos de fragmentos de citoqueratina 18 M30 con la presencia de EHNA y fibrosis hepática significativa en el paciente con obesidad mórbida.
5. Conocer la relación que existe entre los niveles séricos de fragmentos de citoqueratina 18 M65 con la presencia de EHNA y fibrosis hepática significativa en el paciente con obesidad mórbida.
6. Conocer la relación que existe entre los niveles séricos de adiponectina con la presencia de EHNA y fibrosis hepática significativa en el paciente con obesidad mórbida.

MATERIAL Y METODOS

Diseño del estudio

Se hizo un estudio transversal, observacional, no aleatorizado diseñado para encontrar la relación existente entre los niveles de fragmentos de citoqueratina 18 (M30 y M65) y adiponectina con las alteraciones histopatológicas hepáticas en el paciente obeso mórbido sometido a cirugía bariátrica.

Población y muestra

Se estudiaron a 50 obesos mórbidos provenientes de la Clínica de Obesidad del Hospital Almater, Instituto Mexicano del Seguro Social y Hospital General de Mexicali que fueron sometidos a tratamiento quirúrgico de obesidad en el periodo comprendido entre junio 2009 y noviembre del 2010. Se realizó una biopsia hepática por medio de aguja Tru-Cut 14 GA del lóbulo izquierdo del hígado en el transoperatorio de la cirugía que pudo ser By-Pass Gástrico en Y de Roux (BGYR) O Manga Gástrica .

El tamaño de la población en el periodo de tiempo comprendido entre el primer día de junio del 2009 y el 30 de noviembre del 2010 se estimó en 150 pacientes. La frecuencia esperada de la alteración hepática se estima en 77 % y la frecuencia esperada más baja en 60 %. El número de pacientes necesario para un nivel de confianza del 95 % (alfa 0.05) es de 20 y para un nivel de confianza del 99 % (alfa de 0.01) resultó de 32.

A todos los pacientes con obesidad mórbida que fueron sometidos a cirugía bariátrica se les realizó una historia clínica completa y exámenes de laboratorio completos que incluirán el perfil SMA 24, Biometría Hemática Completa, Tiempo de Protrombina, Tiempo de Tromboplastina Parcial, Antígeno de Superficie del Virus de Hepatitis B, Anticuerpo contra el Virus de Hepatitis C y prueba para la detección del Virus de Inmunodeficiencia Humana.

La información relevante se recopiló en una hoja de recolección de datos especialmente diseñada para este fin (anexo 1) y la información obtenida por este método fué recopilada en una hoja de Excel junto con los resultados de laboratorio.

Se realizó una biopsia hepática a cielo abierto por medio de aguja Tru-Cut 14 GA del lóbulo izquierdo del hígado en el transoperatorio de la cirugía bariátrica que podrá ser By-Pass Gástrico en Y de Roux (BGYR) o Manga Gástrica. La biopsia hepática fué analizada por una patóloga general con amplia experiencia en patología hepática. La patóloga no conocía las características de los pacientes ni los niveles de citoqueratina obtenidos. El cilindro hepático midió un mínimo de 15 mm. Para ser considerado como útil la biopsia o material para biopsia hepática, debió tener > 10 espacios porta. El material fue teñido con hematoxilina y eosina (HE), tricrómico de Masson, Perls y PAS para la evaluación de las alteraciones histopatológicas y fibrosis.

El análisis del patólogo experimentado se basó en las escalas de actividad de la EHGA (escala NAS) (25) (anexo 2) propuesto y validado en el 2011 por el Comité de Patología del Instituto Nacional de Diabetes y Enfermedades Digestivas y del Riñón patrocinado por la Red de Investigación Clínica de la Esteatohepatitis No Alcohólica (NASH CRN) que mantiene características del sistema de Brunt y Kleiner del 2005 (26) para la evaluación de la actividad de la enfermedad

potencialmente reversible (grado) y modifica el sistema de estadificación de estos mismos autores en el que el proceso de fibrosis potencialmente irreversible es evaluado separadamente como “estadio”. Para valorar el grado de actividad de la EHGNA se toman en cuenta 3 datos morfológicos que se puntualizan por separado y que son esteatosis, inflamación lobular y degeneración balonoide de los hepatocitos. A la esteatosis muy leve (menos del 5% de los hepatocitos) se le da la puntuación de 0 y en el otro extremo a la muy acentuada (más del 66% de los hepatocitos) se le da la puntuación de 3. La inflamación lobular se gradúa del 1-3 según el número de focos de infiltrado inflamatorio lobulillar en 20 campos y para la degeneración balonoide se utiliza puntuación de 1 cuando existen pocos hepatocitos con ésta alteración y 2 cuando existen muchos. Al final se hace la suma de la puntuación para cada uno de éstos 3 parámetros y se establece el grado de actividad de la EHGNA (NAS). A diferencia de lo previamente establecido por Brunt, no depende de la puntuación NAS el establecer el diagnóstico de esteatohepatitis, sino de la presencia en la biopsia de esteatosis, inflamación lobular y degeneración balonoide, aunque estas alteraciones sean muy leves. En relación con la fibrosis, el estadio 0 corresponde a fibrosis ausente, 1 a fibrosis perisinusoidal leve que requiere para ser visible la tinción de tricrómico de Massón, 1 b fibrosis perisinusoidal moderada en la zona 3 que se visualiza con la tinción de H.E. sin necesidad del tricrómico de Massón, 1 c presencia de fibrosis portal solamente, lo que se presenta más frecuentemente en niños, estadio 2 requiere de la presencia de fibrosis perisinusoidal en la zona 3 y de fibrosis periportal, en el estadio 3 debe de existir fibrosis en puente y el 4 corresponde a diagnóstico de probable cirrosis o cirrosis definitiva.

A cada paciente se tomó una muestra de 10 cc para ser centrifugada y obtener suero el cual se mantendrá congelado a menos 40 grados centígrados. Los niveles séricos del antígeno M30 y M65 fueron determinados por inmunoensayos comerciales disponibles; la prueba de ELISA para M65 cuantifica la citoqueratina 18 soluble nativa (antígeno M65), mientras que el equipo de ELISA para el fragmento M30 mide el epítopo Asp396 de la citoqueratina 18 (antígeno M30).

Criterios de inclusión

- Pacientes mayores de 18 años de edad
- Cualquier género
- Índice de masa corporal $>40 \text{ kg/m}^2$
- Contar con carta de consentimiento informado firmada

Criterios de exclusión

- No desear ingresar al protocolo
- Falta de firma de consentimiento informado
- Historia de alcoholismo crónico significativo: Ingesta diaria >30 g en hombres y >20 g en mujeres
- Historia de hepatopatía por alcohol
- Historia de hepatopatía metabólica
- Historia de hepatopatía autoinmune
- Consumo de fármacos hepatotóxicos relacionados con EHNA (amiodarona, maleato de perhexiline, nifedipino, diltiazem, stilboestrol, y tamoxifen)
- Haber ingerido aspirina 5 días previos al evento quirúrgico.
- Tiempos de coagulación anormales
- Trombocitopenia
- Portadores del virus de Hepatitis B.
- Portadores del virus de Hepatitis C
- Portador del Virus de Inmunodeficiencia Humana

Criterios de eliminación

1. Material de biopsia considerado como inadecuado.
2. Suero insuficiente para la medición de los fragmentos de citoqueratina 18 y adiponectina

Variables de desenlace

a) Variables dependientes

- Niveles de fragmentos de citoqueratina 18 sérica (M30 y M65)
- Niveles de adiponectina sérica

b) Variables independientes

- Esteatohepatitis no alcohólica
- Fibrosis hepática significativa (f 2 o >)

Análisis estadístico

Los resultados de las variables se mostraron en medias, medianas, desviación estándar y porcentajes. Las diferencias intergrupales se obtuvieron con la prueba T de Student o Chi cuadrada con prueba de Fisher cuando aplique. Se analizaron curvas ROC para definir la exactitud de la prueba. El análisis estadístico se realizó con el paquete SPSS V18 para Windows.

Aspectos éticos

El estudio se realizó con apego a la declaración de Helsinki, última modificación en Sudáfrica en 1996, así como en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud, Artículo No. 17.

El investigador y los colaboradores fueron responsables de obtener la carta de Consentimiento informado (anexo 3) con el nombre y la firma de las personas encuestadas, así como de brindar la información sobre el problema a estudiar y del estudio.

RESULTADOS

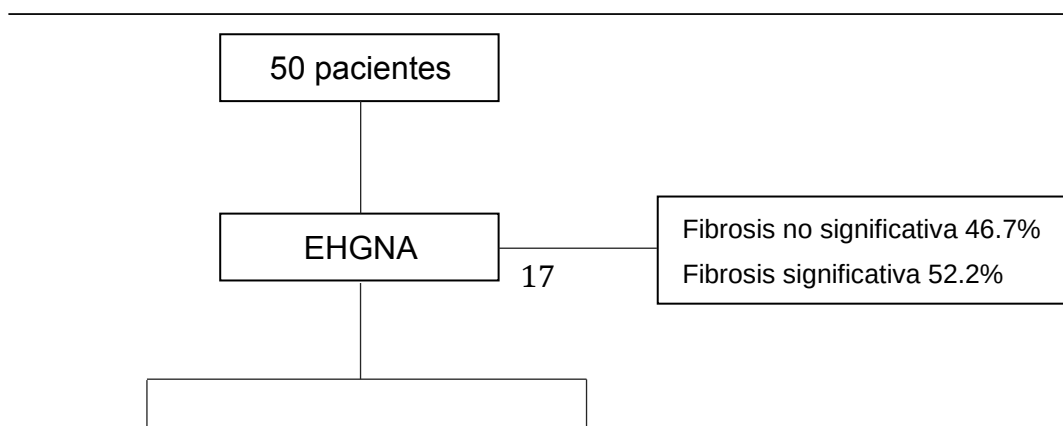
Fueron estudiados 50 pacientes con obesidad mórbida sometidos a cirugía bariátrica. Las características demográficas y clínicas relevantes se muestran en la tabla 1. La media para la edad fue de 38.1 años y para el IMC resultó de 45.9. La mayoría de los pacientes estudiados son del género femenino (88%). Del total de pacientes el 20% son mestizos y el resto caucásicos. El 30.4% tenía diagnosticado Diabetes Mellitus, un 47.8% Hipertensión arterial y el 23.8% dislipidemia.

Tabla 1. Características clínicas y demográficas

Factor		Total de pacientes con EHGNA (n 50)
Edad (años)		38.1 (DE 12.19)
IMC (Kg/m2)		45.9 (40-79)
Sexo (%)		
Femenino		44 (88)
Masculino		6(12)
Raza (%)		
Mestizos		20 (n10)
Norteamericanos		80 (n 40)
Pruebas de funcionamiento hepático		
TGO (U/L)		22 (9 – 113)
TGP (U/L)		29 (13 – 107)
GGT (U/L)		19 (9 – 97)
Comorbilidades		
DM		30.4%
HTA		47.8%
Dislipidemia		23.8%

Todos los pacientes que entraron al protocolo tuvieron en la biopsia hepática EHGNA. 46.7% presentó fibrosis no significativa y 52.2% fibrosis significativa (f 2 o >). El 62% tenía esteatohepatitis y un 38% solo esteatosis (cuadro 1).

Cuadro 1. Hallazgos histopatológicos



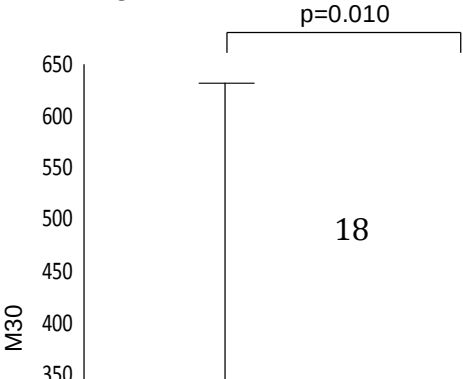
No encontramos diferencias estadísticamente significativas al comparar la edad, el IMC y las comorbilidades entre los grupos con esteatosis simple y esteatohepatitis. De todas las pruebas de funcionamiento hepático, solo detectamos un discreto incremento en los niveles séricos de AST en el grupo de esteatohepatitis (24 U/L vs 19.5 U/L p=0.048). Ver Tabla 2.

Tabla 2. Características clínicas y demográficas

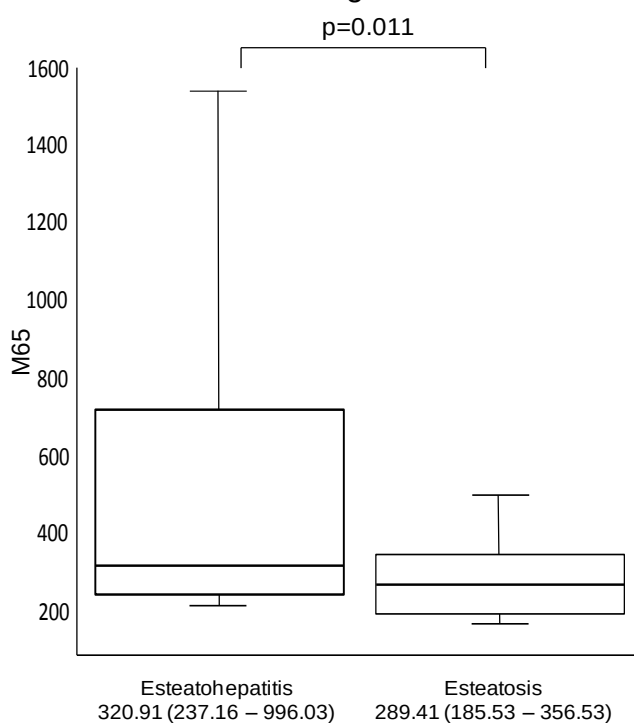
Factor	Esteatosis (n19)	Esteatohepatitis (n31)	Valor de p
Edad (años)	38.8 (11.3)	37.7 (12.8)	0.734
Sexo (%)			
Femenino	89.5 (17)	87 (27)	
Masculino	10.5 (2)	13 (4)	
IMC (Kg/m2)	46.7 (1.4)	49.48 (2.3)	0.101
Pruebas de funcionamiento hepático			
TGO (U/L)	19.5 (10 – 36)	24 (9 – 113)	0.048
TGP (U/L)	23 (13 – 56)	36 (15 – 107)	0.063
GGT (U/L)	17.5 (9 – 59)	21 (12 – 97)	0.744
Comorbilidades			
DM (%)	23.5	34.5	0.520
HTA (%)	47.1	48.3	1.0

Al comparar las medianas de concentración de los fragmentos de citoqueratina 18 entre los pacientes con y sin esteatohepatitis observamos que los pacientes con EHNA tienen mayores concentraciones de los fragmentos M30 y M65 siendo la diferencia estadísticamente significativa (gráficas 1 y 2).

Gráfica 1. Niveles del fragmento M30 en EHGNA

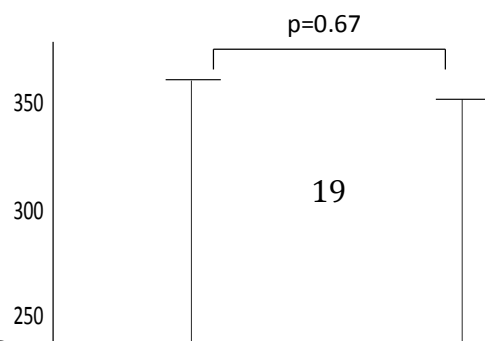


Gráfica 2. Niveles del fragmento M65 en EHGNA



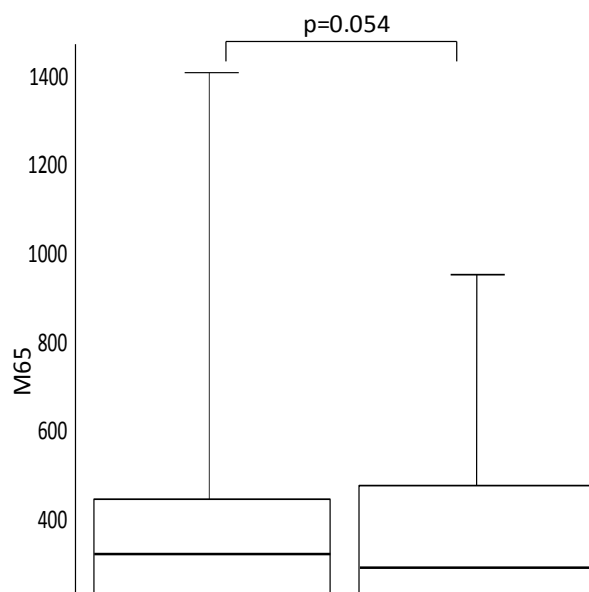
Sin embargo, al comparar la concentración de ambos fragmentos de citoqueratina con el grado de fibrosis hepática no encontramos diferencia significativa alguna (gráficas 3 y 4).

Gráfica 3. Relación entre el grado de fibrosis hepática y los niveles del fragmento M30*



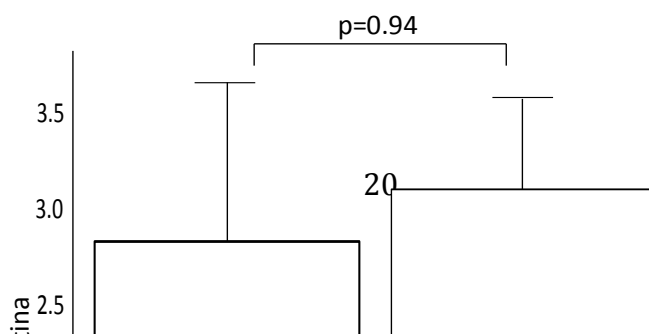
*Los estadios 2-3 corresponden a fibrosis significativa y los 0-1 corresponden a pacientes sin fibrosis significativa

Gráfica 4. Relación entre el grado de fibrosis hepática y los niveles del fragmento M65*

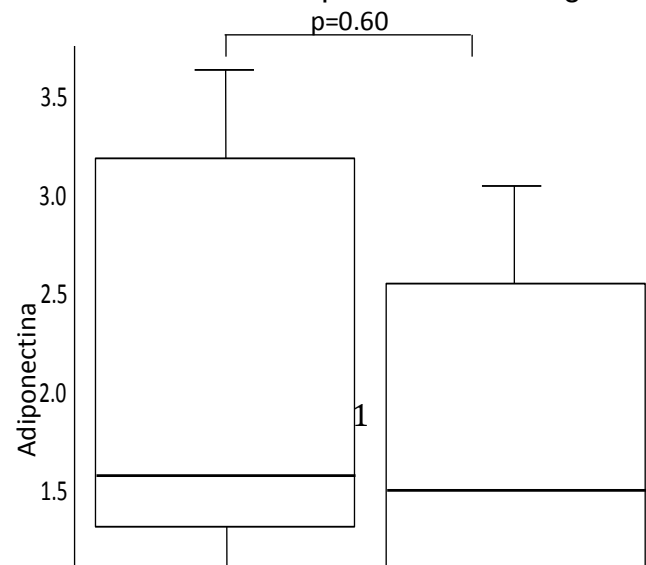


De igual forma, aunque los niveles de adiponectina fueron más bajos en aquellos pacientes con EHNA, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Por el contrario, el grupo de fibrosis significativa resultó con niveles mayores aunque sin diferencias estadísticamente significativas (grafica 5 y 6).

Gráfica 5. Relación entre niveles de adiponectina con EHNA y esteatosis



Gráfica 6. Relación entre niveles de adiponectina con el grado de fibrosis*

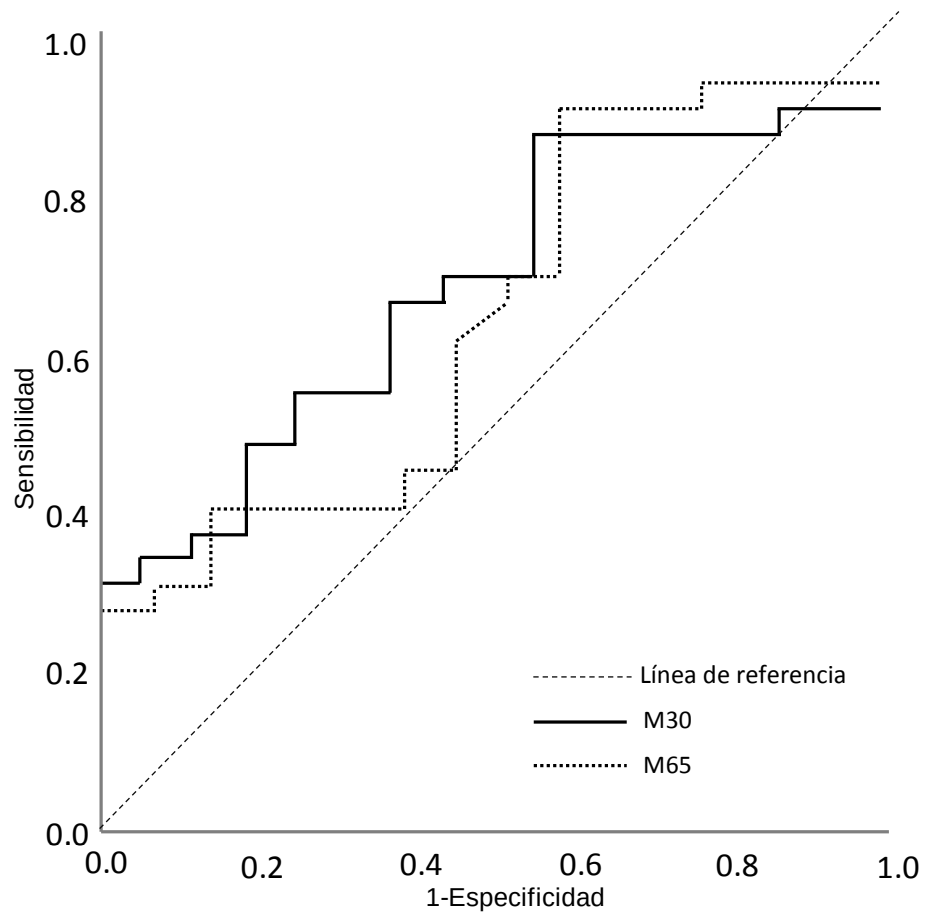


*Los estadios 2-3 corresponden a fibrosis significativa y los 0-1 corresponden a pacientes sin fibrosis significativa

Analizando esta información con curvas ROC para definir la exactitud de la prueba observamos que el área debajo de la curva ROC para el fragmento M30 es de 0.69 y para el fragmento M65 de 0.67 existiendo diferencia estadísticamente significativa para M30 y solo una tendencia para el M65 (M30 IC95% 0.54-0.85 $p=0.032$ y M65 IC 95% 0.51-0.84 $p=0.052$) (gráfica 7).

Los valores del fragmento M30 con la mejor combinación de sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de EHNA fueron 148 (sensibilidad del 50% y especificidad del 82%) y 124 (sensibilidad de 71% y especificidad del 56%).

Gráfica 7. Curvas ROC para esteatohepatitis.



DISCUSION

Como ha ocurrido con otros trabajos semejantes informados en la literatura, nuestro estudio logró comprobar la existencia de niveles significativamente más

altos de los fragmentos de citoqueratina 18 sérica en pacientes con esteatohepatitis en comparación con pacientes portadores de esteatosis simple. Esta diferencia estadísticamente significativa se observó tanto en los niveles de antígeno M30 como M65 ($p= 0.010$ y 0.0110).

A diferencia de otros trabajos, el análisis de nuestros pacientes no logró demostrar diferencias significativas en los valores de los fragmentos de citoqueratina de los pacientes con fibrosis avanzada en comparación con los enfermos con fibrosis mínima.

En nuestro estudio observamos niveles más bajos de adiponectina en aquellos pacientes con esteatohepatitis sin embargo no hubo diferencia estadísticamente significativa. Contra lo esperado, los niveles de adiponectina sérica resultaron más altos en los pacientes con fibrosis significativa en comparación con los de fibrosis mínima, de nuevo, sin significancia estadística.

Una limitante en este estudio es que no se obtuvieron mediciones de los fragmentos de citoqueratina posterior a la reducción de peso de los pacientes sometidos a cirugía bariátrica. El demostrar cambios posterior a la disminución de peso puede apoyar la teoría del uso de biomarcadores para el seguimiento y control de los pacientes con hígado graso, tal y como lo sugiere el trabajo de Diab y Colaboradores (3). Claramente se ha demostrado un efecto dramático de la cirugía bariátrica para lograr disminuir de peso, normalizar los niveles de lípidos séricos, resolver hiperglicemia y mejorar la enfermedad de hígado graso no alcohólico. En el mejor de los escenarios se deberá correlacionar el descenso de los niveles de biomarcadores posterior a la disminución de peso con los cambios histopatológicos asociados.

Sin lugar a dudas, el tema de biomarcadores es fascinante. Teóricamente un biomarcador tendrá utilidad clínica si es fácil de obtener e interpretar, es certero, reproducible, normalizado internacionalmente y tiene una relación costo beneficio favorable. Aún quedan muchas preguntas por resolver: ¿Puede ser la sensibilidad y especificidad similares a los de la biopsia?, ¿Qué límites de discriminación son los mejores? ¿Tendrá utilidad, diagnóstica de pronóstico o para seguimiento? Para darles respuesta a todas estas preguntas se requiere continuar elaborando estudios sobre este tema. Especialmente los biomarcadores de apoptosis y necrosis han tenido resultados positivos en el desarrollo de pruebas no invasivas para esteatohepatitis y fibrosis avanzada.

Nuestros resultados apoyan la utilidad de los fragmentos de citoqueratina como biomarcadores para la identificación de EHNA. Las medianas obtenidas son similares a las reportadas en la literatura mundial especialmente con los resultados mostrados en el trabajo de Yusuf y colaboradores (6). Nuestro trabajo muestra una pobre utilidad como prueba diagnóstica con un área debajo de la curva de 0.69 para M30 y 0.67 para M65 con una sensibilidad y especificidad para M30 del 50% y 82% respectivamente tomando un punto de corte de 148 y del 71% y 56% con un punto de corte de 124. Se han obtenido áreas debajo de la curva

superiores a 0.80 en otros trabajos de investigación; específicamente en el trabajo multicéntrico para la validación de citoqueratina 18 de Ariel E. Feldstein y colaboradores se obtuvo un área debajo de la curva de 0.83 en un estudio con 139 pacientes (7). Probablemente el bajo número de pacientes de nuestro estudio puede justificar el no tener áreas debajo de la curva mayores.

¿Qué es lo que sigue? Existe un gran número de estudios que apoyan el uso de biomarcadores de apoptosis y necrosis para la identificación de pacientes con EHNA y fibrosis avanzada. Sin embargo continua siendo tema de estudio y solo centros especializados realizan las mediciones de estos biomarcadores. En febrero del presente año la revista Journal of Hepatology publicó: “La citoqueratina 18 es el biomarcador mas confiable para EHGNA y EHNA”, esto en un trabajo en donde utiliza esta citoqueratina combinada con el factor 21 de crecimiento de fibroblasto (FGF21) lo cual aumenta más la confiabilidad como prueba discriminatoria entre las diferentes etapas de la EHGNA. Probablemente la combinación de biomarcadores será en un futuro la opción que tengamos de forma accesible para el diagnóstico, seguimiento y control de aquellos pacientes con hígado graso (27, 28)

CONCLUSIONES

Los obesos con EHNA tienen concentraciones significativamente más altas de los fragmentos de citoqueratina 18.

No hubo diferencias significativas en las concentraciones de citoqueratina 18 entre obesos con y sin fibrosis avanzada.

No se observó correlación inversa significativa en los niveles de adiponectina en pacientes con EHNA y fibrosis significativa

El análisis del área bajo la curva ROC mostró una pobre capacidad de discriminación de las pruebas (menor a 0.70).

Posiblemente los resultados son explicados por un tamaño reducido de la muestra por lo que se requiere continuar estudiando y buscando marcadores no invasivos para EH y fibrosis

REFERENCIAS

1. Janus P. Ong, MD, MPH, Zobair M. Epidemiology and Natural History of NAFLD and NASH. Clin Liver Dis 11 (2007) 1–16

2. Eduardo Fassio, Estela &vareq2 Nora Dominguez. Natural History A longitudinal of Nonalcoholic Steatohepatitis: Study of Repeat liver Biopsies *Hepatology*, Vol. 40, No. 4, 2004
3. Dima L. Diab. Cytokeratin 18 fragment levels as a noninvasive biomarker for nonalcoholic steatohepatitis in bariatric surgery patients. *Clin Gastroenterology and hepatology*. 2008;61249-1254.
4. Farrell and Claire Z. Larter. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: From Steatosis to Cirrhosis Geoffrey C. *HEPATOLOGY*, February 2006. Vol. 43, No. 2, Suppl. 1, 2006
5. Leon A. Adams, MBBS, [fracpa](#), Paul Angulo, MD. Role of Liver Biopsy and Serum Markers of Liver Fibrosis in Non-alcoholic Fatty Liver Disease *Clin Liver Dis* 11 (2007) 25–35
6. Yusuf Yilmaz, Enver Dolar, Engin Ulukaya. Soluble forms of extracellular cytokeratin 18 may differentiate simple steatosis from nonalcoholic steatohepatitis *J Gastroenterol* 2007 February 14; 13(6): 837-844
7. Ariel E. Feldstein, Anna Wieckowska, A. Rocio Lopez. Cytokeratin-18 Fragment Levels as Noninvasive Biomarkers for Nonalcoholic Steatohepatitis: A Multicenter Validation Study. *HEPATOLOGY*, Vol. 50, No. 4, 2009
8. Emmanuel A. Tsochatzis, George V. Papatheodoridis, and Athanasios J. Archimandritis *Adipokines in Nonalcoholic Steatohepatitis: From Pathogenesis to Implications in Diagnosis and Therapy*. Hindawi Publishing Corporation *Mediators of Inflammation* Volume 2009. Pag 1-8
9. Raj Vuppalanchi and Naga Chalasani. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis: Selected Practical Issues in Their Evaluation and Management. *Hepatology* 2009;49:306-317.
10. Paul Angulo. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. Vol 346, No 16, April 18, 2002.
11. Giulio Marchesini, Elisabetta Bugianesi, Gabriele Forlani. Nonalcoholic Fatty Liver, Steatohepatitis, and the Metabolic Syndrome. *Hepatology*, April 2003. Vol. 37, No. 4, 2003
12. Claudia P. Sánchez-Castillo,* Edgar Pichardo-Ontiveros. Epidemiología de la obesidad. *Gac Méd Méx* Vol.140, Suplemento No. 2, 2004
13. J. K. Dorman, J. W. Tomlinson & P. N. Newsome. Systematic review: the diagnosis and staging of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 525–540
14. Neeraj Bhala,1,2,3 Paul Angulo,4,5 David van der Poorten. The Natural History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease With Advanced Fibrosis or Cirrhosis: An International Collaborative Study. *Hepatology*, Vol. 54, No. 4, 2011
15. Elisa Fabbrini, Shelby Sullivan, and Samuel Klein. Obesity and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Biochemical, Metabolic, and Clinical Implications. *Hepatology*, February 2010. Vol. 51, No. 2, 2010
16. Ruben Hernadez. Mariana Lazo. Susanne Bonekamp. Diagnostic Accuracy and Reliability of Ultrasonography for the Detection of Fatty Liver: A Meta-Analysis. *Hepatology* 2011;54:1082-1090

17. Don C. Rockey, Stephen H. Caldwell, Zachary D. Liver Biopsy. *Hepatology*, March 2009. Vol. 49, No. 3, 2009
18. Carmen Fierbinteanu-Braticevici, Ion Dina, Ana Petrisor, Laura Tribus. Noninvasive investigations for non alcoholic fatty liver disease and liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2010 October 14; 16(38): 4784-4791
19. Y. Yilmaz Systematic review: caspase-cleaved fragments of cytokeratin 18 – the promises and challenges of a biomarker for chronic liver disease *Aliment Pharmacol Ther* 2009 30, 1103–1109
20. Diana Joka,¹ Kristin Wahl,¹ Sarah Moeller. Prospective Biopsy-Controlled Evaluation of Cell Death Biomarkers for Prediction of Liver Fibrosis and Nonalcoholic Steatohepatitis. *Hepatology*, February 2012. Vol. 55, No. 2, 2012
21. Yusuf Yilmaz, Enver Dolar, Engin Ulukaya. Soluble forms of extracellular cytokeratin 18 may differentiate simple steatosis from nonalcoholic steatohepatitis *World J Gastroenterol* 2007 February 14; 13(6): 837-844
22. Christa Buechler, Josef Wanninger, Markus Neumeier. Adiponectin, a key adipokine in obesity related liver diseases. *World J Gastroenterol* 2011 June 21; 17(23): 2801-2811
23. Yusuf Yilmaz, Alla Eldeen Kedrah, Osman Ozdogan. Cytokeratin-18 fragments and biomarkers of the metabolic syndrome in nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2009 September 21; 15(35): 4387-4391
24. Emmanuel A. Tsochatzis, George V. Papatheodoridis *Review Article* Adipokines in Nonalcoholic Steatohepatitis: From Pathogenesis to Implications in Diagnosis and Therapy. Hindawi Publishing Corporation Mediators of inflammation volume 2009
25. Elizabeth M. Brunt, David E. Kleiner, Laura A. Wilson. The NAS and The Histopathologic Diagnosis in NAFLD: Distinct Clinicopathologic Meanings. *Hepatology*. 2011 Mar; 53(3): 810–820.
26. David E. Kleiner,¹ Elizabeth M. Brunt,² Mark Van Natta. Design and Validation of a Histological Scoring System for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology* 2005; 41:1313-1321.
27. 26Jiayun Shen—Henry Lik-Yuen Chan—Grace Lai-Hung Non-invasive diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis by combined serum biomarkers. *World Journal of Hepatology*. Febrero 2012. En línea.
28. 27Kareem Hassan, Varun Bhalla, Mohammed Ezz El Regal. Nonalcoholic fatty liver disease: A comprehensive review of a growing epidemic. *World J Gastroenterol* 2014 September 14; 20(34)

ANEXOS

ANEXO 1. - Hoja de recolección de datos

Nombre: _____

Lugar de nacimiento _____

Domicilio: _____

Edad: _____ Sexo: _____

Peso: _____ Talla: _____ IMC: _____

Padece alguna de las siguientes enfermedades?:

Diabetes mellitus: _____ Hipertensión arterial: _____

Hipercolesterolemia: _____

Hipertrigliceridemia: _____

Consumo de alcohol: Si: _____ No: _____ Cantidad por semana: _____

Tipo de alcohol: Cerveza: _____ Brandy: _____ Whisky: _____ Vodka: _____

Tequila: _____ Aguardiente: _____

Consumo de drogas: Si: _____ No: _____ Cantidad por semana: _____

Marihuana: _____ Cocaína: _____ Ice: _____ Heroína: _____

Consumo de tabaco: Si: _____ No: _____ Cuanto diario: _____

Transfusiones: Si: _____ No: _____

Medicamentos que

consume: _____

Padece alguna enfermedad del

hígado?: _____

Ha utilizado aspirina en los últimos 5 días?: Si: _____ NO: _____

Cuanto: _____

Padece alguna otra enfermedad conocida?: Si: _____ No: _____

Cual: _____

Sintomas investigados: Melena: Si: _____ No: _____ Hematoquezia: Si: _____

No: _____ Prurito: Si: _____ No: _____ Artritis: Si: _____

No: _____, Ictericia: Si: _____ No: _____, Fiebre: Si: _____

No: _____, Coluria: Si: _____ No: _____

ANEXO 2. - Escalas utilizadas para el análisis de las biopsias hepáticas *

Estadios de fibrosis en esteatohepatitis no alcohólica	
Estadio	Descripción
0	Sin fibrosis
1a	Fibrosis leve perisinusoidal en zona 3
1b	Fibrosis modera perisinusoidal en zona 3
1c	Solo fibrosis portal
2	Fibrosis en zona 3 perisinusoidal y periportal
3	Fibrosis en puente
4	Cirrosis

*Modificado por el grupo de la NASH CRN del Sistema de Kleiner y Brunt. Elizabeth M. Brunt, David E. Kleiner, Laura A. Wilson. The NAS and The Histopathologic Diagnosis in NAFLD: Distinct Clinicopathologic Meanings. Hepatology. 2011 Mar; 53(3): 810–820.

Escala de actividad de fibrosis	
Esteatosis	
<5%	0
5% - 33%	1
>33% - 66%	2
>66%	3
Inflamación lobular (contados en 20 campos)	
<2 focos	1
2 – 4 focos	2
>4 focos	3
Balonoide	
Poco	1
Mucho	2

*Modificado por el grupo de la NASH CRN del Sistema de Kleiner y Brunt. Elizabeth M. Brunt, David E. Kleiner, Laura A. Wilson. The NAS and The Histopathologic Diagnosis in NAFLD: Distinct Clinicopathologic Meanings. Hepatology. 2011 Mar; 53(3): 810–820.

ANEXO 3. Carta de Consentimiento Informado e Información al Participante

Por el presente, yo

_____, he sido
informado(a) de los objetivos y procedimientos del estudio:

**“ALTERACIONES HEPATICAS EN EL PACIENTE CON OBESIDAD MORBIDA
SOMETIDO A CIRUGIA BARIATRICA”**

Se me ha comunicado que el personal que participa en la recolección de la información y conducción del estudio está adecuadamente entrenado con los conocimientos necesarios sobre el tema de salud en cuestión, por lo que estoy de acuerdo en responder lo más apegado a la realidad cada una de las preguntas que se hacen en un cuestionario que se me aplica en la investigación.

Estoy enterado(a) que mi participación consistirá en contestar unas preguntas acerca de las características de mis estados de comorbilidad asociada, fármacos que consumo, así como sustancias como el alcohol, tabaco o drogas ilícitas. Así mismo estoy enterado que durante el procedimiento quirúrgico que he accedido a realizar independientemente de este estudio, se tomara una pequeña porción de mi hígado (biopsia por tru cut) explicándome ampliamente de las complicaciones asociadas, como lo puede ser sangrado, perforación de órganos, infección, inclusive la muerte.

Me instruyó a fin de que cualquier duda sobre el presente estudio, sobre la presencia de alteraciones hepáticas en los pacientes obesos sometidos a cirugía bariátrica, la significancia de los cambios, la probable relación entre la obesidad y los cambios encontrados, entre otros serán comentado al médico encargado de mi estudio, así como cualquier pregunta que tenga sobre el presente y de mi participación y mis derechos en él.

Todos los datos de mi participación en el estudio se documentarán y serán confidenciales. Como mi participación es voluntaria, en el momento que yo lo desee podré suspender mi participación, sin que pierda los beneficios a los que tengo derecho, por lo que he decidido participar en él:

Nombre: _____

Firma: _____

Testigo #1: _____

Firma: _____

Testigo #2: _____

Firma: _____