



Universitat
de les Illes Balears

TESIS DOCTORAL

2022

**ACTIVIDAD FÍSICA Y ESTILO DE VIDA EN
PACIENTES CON HÍGADO GRASO NO
ALCOHÓLICO Y SÍNDROME METABÓLICO**

CATALINA MARIA MASCARÓ BESTARD



Universitat
de les Illes Balears

TESIS DOCTORAL
2022

**Programa de Doctorado en Nutrición y Ciencias
de los Alimentos**

**ACTIVIDAD FÍSICA Y ESTILO DE VIDA EN
PACIENTES CON HÍGADO GRASO NO
ALCOHÓLICO Y SÍNDROME METABÓLICO**

CATALINA MARIA MASCARÓ BESTARD

Director/a: Dr. Josep Antoni Tur Marí

Director/a: Dra. Cristina Bouzas Velasco

Tutor/a: Dr. Josep Antoni Tur Marí

Doctora por la Universitat de les Illes Balears

La candidata a Doctora

Catalina Maria Mascaró Bestard

Con el beneplácito de los directores

Dr. Josep Antoni Tur Marí
Catedrático de Universidad
Área de Fisiología

Dra. Cristina Bouzas Velasco
Investigadora post-doctoral
Área de Fisiología



Universitat
de les Illes Balears

Dr. Josep Antoni Tur Marí, de Universitat de les Illes Balears

DECLARO:

Que la tesis doctoral que lleva por título *Actividad física y estilo de vida en pacientes con hígado graso no alcohólico y síndrome metabólico*, presentada por Catalina Maria Mascaró Bestard para la obtención del título de doctor, ha sido dirigida bajo mi supervisión.

Y para que quede constancia de ello firmo este documento.

Firma

Palma de Mallorca, 20 de julio del 2022



Universitat
de les Illes Balears

Dr. Cristina Bouzas Velasco, de Universitat de les Illes Balears

DECLARO:

Que la tesis doctoral que lleva por título *Actividad física y estilo de vida en pacientes con hígado graso no alcohólico y síndrome metabólico*, presentada por Catalina Maria Mascaró Bestard para la obtención del título de doctor, ha sido dirigida bajo mi supervisión.

Y para que quede constancia de ello firmo este documento.

Firma

Palma de Mallorca, 20 de julio del 2022

A mis padres, mi hermana y Ona, sois mi gran apoyo.

“No hay hermosas superficies sin terribles profundidades.”

Friedrich Nietzsche

La presente Tesis doctoral se ha llevado a cabo en el Grupo de investigación de Nutrición Comunitaria y Estrés Oxidativo (NUCOX), integrado en el Departamento de Biología Fundamental y Ciencias de la Salud de la Universitat de les Illes Balears (UIB), en CIBEROBN y en el Instituto de Investigación Sanitaria de las Illes Balears (IdISBa).

Está enmarcada en el Programa de Doctorado en Nutrición y Ciencias de los Alimentos (RD99/2011) de la UIB, y forma parte del proyecto de investigación FLIPAN (Prevención y Reversión de la Enfermedad del Hígado Graso No-Alcohólico en Pacientes con Obesidad y Síndrome Metabólico a través de Dieta Mediterránea y Actividad Física); el cual ha sido llevado a cabo por el grupo NUCOX y por el Departamento de Ciencias de la Alimentación y Fisiología de la Facultad de Farmacia y Nutrición de la Universidad de Navarra, Pamplona.

Esta Tesis doctoral ha sido posible gracias a la financiación de la Fundació La Marató TV3 (proyecto ref. 201630.10), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) a través del Fondo de Investigación para la salud (FIS) (Proyectos PI14/00636, PI17/01827, PI20/00456, y CIBEROBN CB12/03/30038, y Proyecto Intramural CIBER OBN18PI03), Departamento de Salud del Gobierno de Navarra (61/2015), y el Gobierno de las Islas Baleares (Concesión de ayudas a grupos de investigación no. 35/2011 y 23/2012), los cuales están cofinanciados por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional; EU-COST Action CA16112, y subvenciones IdISBa (FOLIUM, PRIMUS, SYNERGIA, y LIBERI).

La investigación que ha dado lugar a estos resultados ha sido posible gracias a una beca predoctoral para la Formación del Profesorado Universitario (FPU17/02113) del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.



Universitat
de les Illes Balears

Research Group on
Community Nutrition &
Oxidative Stress (NUCOX)



Fundació
La Marató de TV3



Institut
d'Investigació Sanitària
Illes Balears



ISCIII
Instituto de Salud Carlos III



Unión Europea

Fondo Europeo
de Desarrollo Regional
"Una manera de hacer Europa"



Universidad
de Navarra

Agradecimientos.

Al llegar a este punto son muchas las emociones y sentimientos que tengo, pero uno que sin duda destacar es el profundo sentimiento de agradecimiento.

Sin duda, uno de los agradecimientos más importantes es a mi familia, los que siempre han estado en primera línea de batalla. Ellos que me han sostenido día tras día, aguantando mis momentos de mal humor, de frustración, de indignación y desesperación, mis lágrimas y mis nervios. Ellos son los que han estado en los buenos momentos, pero, por encima de todo, en los malos, protegiéndome y tirando de mí. Nunca me dejaron caer y en el momento decisivo de terminar o no la tesis me dieron el empujón que necesitaba para salir adelante hasta conseguirlo. A ellos les debo gran parte de mi tesis. Y como no, no puedo dejar de mencionar a Ona, por las largas mañanas de escritura tumbada a mi lado haciéndome compañía y aguantando mis monólogos. Papá, mamá y Maria Esperança (mi voz de la consciencia), soy consciente de lo mucho que habéis hecho y seguís haciendo por mí, sois mi mayor apoyo. ¡Gracias!

También quiero agradecer a mi abuelo y a mi madrina todo el apoyo que me han dado durante todos estos años. Mi abuelo a día de hoy todavía no entiende que no tenga libros de texto que estudiar, ni exámenes que aprobar, ni que no vaya al cole a estudiar, pero espero que a día de hoy entiendas mejor mi trabajo de estos años. A pesar de ello, te debo las gracias por confiar y no dejar nunca de rezar por mí.

No puedo dejar de mencionar a mi prima, Lida, quien me enseñó que en los malos momentos no se trata de ver ya el final, sino de ponerse pequeños objetivos y metas más fáciles de cumplir. Así, poco a poco, te acercas al final del camino y cuando todavía no sabes muy bien cómo lo has hecho te ves cruzando la línea final de meta.

Por supuesto no puedo dejar de dar las gracias a todo el equipo que ha estado conmigo durante mi año de máster y los 4 siguientes de doctorado. Son muchas las personas que he visto llegar al equipo de investigación y muchas las que he visto irse, algunas ya como doctoras. Todas y cada una de ellas se han cruzado en mi camino para enseñarme algo, de lo cual quizás no fui del todo consciente en su momento, pero hoy lo veo claro. No quiero olvidarme de nadie, son muchos años y muchas personas, y cada una tiene su lugar en mi corazón. Gracias por enseñarme a crecer personal y profesionalmente: Dra. Julibert, Dra. Abbate (a quien tengo que hacer especial mención por su gran paciencia a la hora de

dedicarme horas de clase de estadística y apoyo moral), Dra. Gallardo, Dra. Carreres, Cristina García (con quien compartí infinitas horas haciendo actividad física y cogí especial cariño), Patri, Jessica, Marina, Sílvia García, Emma, David, Alba, Lucía, Marga, Magdalena, Dr. Borràs, Dr. Pons, Dr. Sureda, Dr. Capó, Dra. Bibiloni y, como no, a la Dra. Tejada. Ella merece también una mención aparte por su gran apoyo moral e incondicional de cada mañana. Al igual que Sofy, con quien emprendí la recta final de este camino y quien me ha ayudado más allá de la tesis a nivel personal.

También quiero agradecer a todos los alumnos colaboradores, de TFG o TFM que en algún momento me han ayudado con el trabajo de campo. Igualmente, quiero dar las gracias a todos los participantes del estudio, puesto que sin ellos no hubiera sido posible este gran proyecto de investigación.

Por último, pero no por ello menos importantes, quiero dar las gracias a mis Directores de Tesis, el Dr. Tur y la Dra. Bouzas. Gracias por ayudarme y poner a mi disposición todo cuanto he necesitado para sacar adelante la Tesis, por confiar en mi trabajo y ayudarme a convertirme en doctora. Gracias por vuestra paciencia, por vuestro tiempo y por ofrecerme la oportunidad de crecer a vuestro lado.

Cuando me gradué en Bioquímica no sabía por dónde seguir, pero hoy tengo que dar las gracias al destino por poner en mi camino esta oportunidad, pues no hay palabras que puedan describir lo que se siente al terminar este capítulo de mi vida. No ha sido fácil, pero tengo muy claro que ha valido la pena.

Gracias, no puedo hacer más que daros las gracias a todos.

ÍNDICE Y LISTADO DE PUBLICACIONES

Índice

Índice y Listado de publicaciones	I
Índice	III
Publicaciones de la Tesis Doctoral.	VII
Abreviaturas.....	XI
Resumen / Summary / Resum	XVII
Introducción	1
1. Enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA).....	3
1.1. Fisiología del hígado.....	3
1.2. Epidemiología de EHGNA.	5
1.2.1. Incidencia.....	5
1.2.2. Prevalencia.....	5
1.2.3. Factores de riesgo.	7
1.3. Fisiopatología de EHGNA o historia natural.....	9
1.4. Diagnóstico de EHGNA.	11
1.4.1. Biopsias del hígado y estadios.....	12
1.4.2. Técnicas de imagen para evaluar EHGNA.....	13
1.4.3. Elastografía.....	15
1.5. Complicaciones de EHGNA.	15
1.5.1. Enfermedad cardiovascular.	15
1.5.2. Mortalidad.	16
1.6. EHGNA y otras enfermedades.	16
1.6.1. Resistencia a la insulina.....	16
1.6.2. Disfunción del tejido adiposo.....	17
1.6.3. Dieta y estilo de vida.	18
1.6.4. Microbiota intestinal.....	19
1.6.5. Genética.....	20
1.6.6. Estrés oxidativo y sobrecarga férrica.....	21
1.7. Tratamiento.....	21
1.7.1. Terapia farmacológica.	21
1.7.2. Estrategias de estilo de vida.....	22
2. Estilo de vida mediterráneo.....	24

2.1.	Dieta mediterránea.....	24
2.2.	Actividad física.....	26
2.3.	Efecto combinado de la dieta mediterránea y la actividad física.....	27
2.4.	Recomendaciones de actividad física para la población con EHGNA.....	28
3.	Relación entre EHGNA y un estilo de vida activo.....	29
4.	Pandemia Covid-19.....	30
	Hipótesis y Objetivos	33
	Hipótesis.....	35
	Objetivo general.....	37
	Objetivos específicos.....	37
	Metodología	39
1.	Diseño del estudio FLIPAN.....	41
1.1.	Descripción y objetivos del estudio.....	41
1.2.	Consentimiento informado y comité de ética.....	42
1.3.	Características de los participantes en estudio.....	42
1.4.	Reclutamiento y aleatorización.....	44
1.5.	Estrategias de intervención de cada grupo.....	47
1.6.	Información recogida.....	51
1.7.	Herramientas de evaluación y de recogida de datos.....	53
1.7.1.	Evaluación sociodemográfica general, calidad de vida y psicosocial.....	53
1.7.2.	Evaluación dietética.....	53
1.7.3.	Evaluación de actividad física.....	55
1.7.4.	Evaluación de antropometría y presión sanguínea.....	61
1.7.5.	Evaluación de imágenes hepáticas.....	62
1.7.6.	Evaluación bioquímica.....	63
1.8.	Creación de variables nuevas.....	65
1.9.	Metodología de la revisión sistemática.....	65
1.10.	Análisis estadístico.....	66
	Resultados	69
	Manuscrito I.....	71
	Association between Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Mediterranean Lifestyle: A Systematic Review.....	71
	Manuscrito II.....	73

Association between Physical Activity and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Adults with Metabolic Syndrome: The FLIPAN Study.....	73
Manuscrito III	75
Association between Stages of Hepatic Steatosis and Physical Activity Performance in Adults with Metabolic Syndrome: A Cross-Sectional Analysis in FLIPAN Study.....	75
Manuscrito IV	77
Effect of a Six-Month Lifestyle Intervention on the Physical Activity and Fitness Status of Adults with NAFLD and Metabolic Syndrome.	77
Manuscrito V	79
Impact of Physical Activity Differences Due to COVID-19 Pandemic Lockdown on Non-Alcoholic Fatty Liver Parameters in Adults with Metabolic Syndrome....	79
Recapitulación.....	81
1. Enfermedad de hígado graso no alcohólico y estilo de vida Mediterráneo.....	83
2. Enfermedad de hígado graso no alcohólico y actividad física.	87
3. Grados de esteatosis hepática y práctica de actividad física.	91
4. Cambio del estilo de vida sobre el estado físico de adultos con enfermedad de hígado graso no alcohólico.	94
5. Efecto de la diferencia de actividad física sobre la enfermedad de hígado graso no alcohólico durante el confinamiento por Covid-19.	97
Fortalezas y Limitaciones	101
Conclusiones.....	107
Bibliografía.....	111

Publicaciones de la Tesis Doctoral.

Mascaró CM, Bouzas C, Tur JA. **Association between Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Mediterranean Lifestyle: A Systematic Review.**

Nutrients. 2021 Dec 23; 14(1):49.

DOI: [10.3390/nu14010049](https://doi.org/10.3390/nu14010049)

Revista: Nutrients

Factor de impacto (2021): 6.706

15/90 - Nutrition & Dietetics, Q1.

Mascaró CM, Bouzas C, Montemayor S, Casares M, Gómez C, Ugarriza L, Borràs P-A, Martínez JA, Tur JA. **Association between Physical Activity and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Adults with Metabolic Syndrome: The FLIPAN Study.**

Nutrients. 2022 Mar 3; 14(5):1063.

DOI: [10.3390/nu14051063](https://doi.org/10.3390/nu14051063)

Revista: Nutrients

Factor de impacto (2021): 6.706

15/90 - Nutrition & Dietetics, Q1.

Mascaró CM, Bouzas C, Montemayor S, Casares M, Gómez C, Ugarriza L, Borràs P-A, Martínez JA, Tur JA. **Association between Stages of Hepatic Steatosis and Physical Activity Performance in Adults with Metabolic Syndrome: A Cross-Sectional Analysis in FLIPAN Study.**

Nutrients. 2022 Apr 24; 14(9):1790.

DOI: [10.3390/nu14091790](https://doi.org/10.3390/nu14091790)

Revista: Nutrients

Factor de impacto (2021): 6.706

15/90 - Nutrition & Dietetics, Q1.

Mascaró CM, Bouzas C, Montemayor S, Casares M, Llompart I, Ugarriza L, Borràs P-A, Martínez JA, Tur JA. **Effect of a Six-Month Lifestyle Intervention on the Physical Activity and Fitness Status of Adults with NAFLD and Metabolic Syndrome.**

Nutrients. 2022 Apr 26; 14(9):1813.

DOI: [10.3390/nu14091813](https://doi.org/10.3390/nu14091813)

Revista: Nutrients

Factor de impacto (2021): 6.706

15/90 - Nutrition & Dietetics, Q1.

Mascaró CM, Bouzas C, Montemayor S, García S, Mateos D, Casares M, Gómez C, Ugarriza L, Borràs P-A, Martínez JA, Tur JA. **Impact of Physical Activity Differences Due to COVID-19 Pandemic Lockdown on Non-Alcoholic Fatty Liver Parameters in Adults with Metabolic Syndrome.**

Nutrients. 2022 Jun 8; 14(12):2370.

DOI: [10.3390/nu14122370](https://doi.org/10.3390/nu14122370)

Revista: *Nutrients*

Factor de impacto (2021): 6.706

15/90 - Nutrition & Dietetics, Q1.

ABREVIATURAS

AASLD	Asociación Americana para el Estudio de las Enfermedades Hepáticas
ALT	Alanina aminotransferasa
AST	Aspartato aminotransferasa
CD	<i>Conventional Diet</i> (dieta convencional)
CIS	Centro de Investigaciones Sociológicas
DASH	<i>Dietary Approaches to Stop Hypertension</i>
DIOS	Síndrome de Sobrecarga de Hierro Dismetabólico
eGFR	<i>estimated Glomerular Filtration Rate</i> (filtración glomerular estimada)
EHGNA	Enfermedad del hígado graso no alcohólico
EHNA	Esteatohepatitis No Alcohólica
FFQ	Cuestionario de Frecuencia de Alimentos y bebidas
FIB-4	Índice de fibrosis-4
FLI	<i>Fatty Liver Index</i> (índice de hígado graso)
FLIPAN	Prevención y reversión de la enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA) entre pacientes obesos con síndrome metabólico mediante intervención nutricional y de actividad física personalizada
GGT	Gamma-Glutamil Transferasa
GICAFFE	Departamento de Ciencias de la actividad física y el deporte
HDL	<i>High-Density Lipoprotein</i> (lipoproteínas de alta densidad)
HSI	<i>Hepatic Steatosis Index</i> (índice de esteatosis hepática)
HOMA-IR	<i>Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance</i> (modelo Homeostático de Resistencia a la Insulina)
IC	Intervalos de Confianza
IDF	<i>International Diabetes Federation</i>
IFC-NMR	<i>Intrahepatic Fat Content by Nuclear Magnetic Resonance</i> (contenido de grasa intrahepática medido por resonancia magnética nuclear)
IL-6	Interleuquina-6
IMC	Índice de Masa Corporal
INR	Ratio Internacional Normalizado
IQR	Rango intercuartílico
LDL	<i>Low-Density Lipoprotein</i> (lipoproteínas de baja densidad)
MAFLD	<i>Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease</i>

MD-HMF	<i>Mediterranean Diet-High Meal Frequency</i> (dieta mediterránea-alta frecuencia de comidas)
MD-PA	<i>Mediterranean Diet-Physical Activity</i> (dieta mediterránea-actividad física)
MET	<i>Metabolic Equivalent of Task</i>
NAS	<i>Non-alcoholic fatty liver disease Activity Score</i> (Puntuación de actividad de la EHNA)
NUCOX	Nutrición Comunitaria y Estrés Oxidativo
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	Odds Ratio
P-LCR	Proporción de plaquetas grandes
(PPAR)-γ	Receptor gamma Activado por el Proliferador de Peroxisomas
PNPLA3	Dominio de la Fosfolipasa Similar a la Patatina 3
RESMENA	Reducción del Síndrome Metabólico en Navarra
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
ROI	Región de Interés
S0	<i>Stage 0</i> (grupo control)
S1	<i>Stage 1</i>
S2	<i>Stage 2</i>
SER	<i>Self-reported eating rate</i>
SSPS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
STAI	Inventario de ansiedad Estado-Rasgo
SWM	Onda de Corte
TM6SF2	Miembro 2 de la Superfamilia Transmembrana 6
TNF-α	Factor de Necrosis Tumoral- α
TSH	Hormona estimulante de la tiroides
TyG	Índice de triglicéridos y glucosa
UCI	Unidades de Cuidados Intensivos
UIB	Universidad de las Islas Baleares
UNAV	Universidad de Navarra
VAS	Escala Analógica Visual
VLDL	<i>Very Low-Density Lipoproteins</i> (lipoproteínas de muy baja densidad)

VO₂ máx Capacidad aeróbica máxima

RESUMEN

SUMMARY / RESUM



Universitat
de les Illes Balears

ACTIVIDAD FÍSICA Y ESTILO DE VIDA EN PACIENTES CON HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO Y SÍNDROME METABÓLICO

Tesis doctoral, Catalina Maria Mascaró Bestard, Grupo de Investigación en Nutrición Comunitaria y Estrés Oxidativo, Departamento de Biología Fundamental y Ciencias de la Salud, Universitat de les Illes Balears, IdISBa y CIBEROBN, Palma.

Resumen

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) es una patología que se caracteriza por la acumulación de grasa en los hepatocitos sin que el consumo abusivo de alcohol sea su causa. Los hábitos de vida poco saludables como el sedentarismo y una dieta poco saludable, junto con alguna o algunas de las anomalías del síndrome metabólico (obesidad abdominal, hipertrigliceridemia, hipertensión, glucosa en ayunas elevada y/o el colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad bajo o HDL) son factores que se relacionan con el desarrollo de la EHGNA.

Actualmente, no existe tratamiento farmacológico para la EHGNA, aunque se trata de una enfermedad cada vez más frecuente y cuya prevalencia aumenta con los años. La progresión hacia estadios más graves no es inmediata, pero la EHGNA puede progresar hacia fibrosis, cirrosis e incluso hacia carcinoma hepatocelular. Además, se relaciona con muchas otras enfermedades como complicaciones hepáticas, dificultades del sueño, obesidad abdominal, enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2 y patología renal crónica. Por eso es tan importante el adecuado diagnóstico y manejo de la EHGNA.

La primera estrategia a aplicar en el manejo de la EHGNA es el cambio de estilo de vida. Se trata del mejor tratamiento descrito hasta el momento para mejorar, tanto las alteraciones propias del síndrome metabólico, como la EHGNA. El tratamiento

recomendado es la práctica de actividad física y una dieta saludable, que no solo mejora la EHGNA, sino también la salud cardiovascular y metabólica, así como la tasa de mortalidad.

Todos los estudios analizados en la presente Tesis Doctoral muestran asociaciones beneficiosas entre los parámetros clínicos de la EHGNA y del síndrome metabólico cuando se sigue una dieta mediterránea y una práctica regular de actividad física.

Los participantes con altos niveles de actividad física tuvieron mayor gasto energético y gastaron más calorías de las que ingirieron. Además, la actividad física fue un factor de riesgo para los niveles del aspartato aminotransferasa, pero un factor protector para la alanina aminotransferasa, la gamma-glutamil transferasa (GGT) y el contenido de grasa intrahepática. Los pacientes con estadios de esteatosis más elevados, a la hora de realizar las pruebas de aptitud física, presentaron menor capacidad de agarre en posición sentada y de pie, valores inferiores en la prueba del Chester-step, en la eficiencia del sueño y el gasto energético, y una mayor intensidad de actividad física ligera y moderada.

Una intervención con dieta y actividad física regular durante seis meses mejoró la aptitud funcional en pacientes de mediana edad con EHGNA y síndrome metabólico. Además, también mejoró la capacidad aeróbica en estas personas.

La interrupción de actividad física regular junto con un estilo de vida poco saludable condujo al empeoramiento del síndrome metabólico y la EHGNA. El confinamiento por COVID-19 indujo una disminución de la actividad física en las personas más activas, mientras que las inactivas aumentaron dichos niveles. La motivación fue muy importante durante ese periodo de confinamiento.

El estilo de vida mediterráneo, basado en el cumplimiento de una dieta mediterránea y la práctica regular de actividad física, es esencial para tratar la EHGNA y disminuir el síndrome metabólico. Es importante tener en cuenta la importancia de combinar ambas prácticas, tanto la dietética como la actividad física, pues tienen la misma relevancia y se complementan para combatir la EHGNA.



Universitat
de les Illes Balears

PHYSICAL ACTIVITY AND LIFESTYLE IN PATIENTS WITH NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE AND METABOLIC SYNDROME

PhD Thesis, Catalina Maria Mascaró Bestard, Research Group on Community Nutrition and Oxidative Stress, Department of Fundamental Biology and Health Sciences, University of the Balearic Islands, IdISBa and CIBEROBN, Palma.

Summary

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a pathology characterized by the accumulation of fat in the hepatocytes without alcohol abuse being the cause. Unhealthy lifestyle habits, i.e. sedentary lifestyle and poor diet, together with one or more of the abnormalities of metabolic syndrome (abdominal obesity, hypertriglyceridemia, hypertension, elevated fasting glucose and/or low high-density lipoprotein (HDL) cholesterol) are factors that are associated with the very possible development of NAFLD..

Currently, there is no pharmacological treatment for NAFLD, although it is a growing disease and its prevalence is expected to continue to increase over the years. Progression to more severe stages is not immediate, but it should be noted that NASH can progress to fibrosis, cirrhosis and even possible hepatocellular carcinoma. In addition, it is related to many other diseases such as other types of liver complications, sleep difficulties, abdominal obesity, cardiovascular diseases, type 2 diabetes mellitus and chronic renal pathology. This is why proper diagnosis and management of NASH is so important.

The first strategy to apply in the management of NAFLD is lifestyle change. This is the best treatment described to date for improving both the set of diseases that constitute the

metabolic syndrome and NAFLD. The recommended treatment is to practice physical activity and a healthy diet, which improves NAFLD, but also cardiovascular and metabolic health, as well as overall mortality.

All the studies analyzed in this Doctoral Thesis show beneficial associations between the clinical parameters of NAFLD and metabolic syndrome when a Mediterranean diet and regular physical activity are followed.

Participants with high levels of physical activity had higher energy expenditure and expended more calories than they ingested. In addition, physical activity was a risk factor for aspartate aminotransferase levels, and is a protective factor for alanine aminotransferase, gamma-glutamyl transferase (GGT) and intrahepatic fat content. Patients with higher steatosis stages, when performing physical fitness tests, presented lower sitting and standing handgrip capacity, lower values in the Chester-step test, in sleep efficiency and energy expenditure, and higher intensity of light and moderate physical activity.

An intervention with diet and regular physical activity for six months improved functional fitness in middle-aged patients with NAFLD and metabolic syndrome. In addition, it also improved aerobic capacity in these individuals.

Discontinuation of regular physical activity together with an unhealthy lifestyle led to worsening of metabolic syndrome and NAFLD. Confinement by COVID-19 induced a decrease in physical activity in the more active individuals, while the inactive ones increased such levels. Motivation was very important during this period of confinement.

Thus, the Mediterranean lifestyle, based on adherence to a Mediterranean diet and regular physical activity, is essential to treat NAFLD and decrease metabolic syndrome. It is important to keep in mind the importance of combining both dietary and physical practices, as they have the same relevance and complement each other in combating NAFLD.



Universitat
de les Illes Balears

ACTIVITAT FÍSICA I ESTIL DE VIDA EN PACIENTS AMB FETGE GRAS NO ALCOHÒLIC I SÍNDROME METABÒLICA

Tesi doctoral, Catalina Maria Mascaró Bestard, Grup de Recerca en Nutrició Comunitària i Estrès Oxidatiu, Departament de Biologia Fonamental i Ciències de la Salut, Universitat de les Illes Balears, IdISBa i CIBEROBN, Palma.

Resum

La malaltia del fetge gras no alcohòlic (MFGNA) és una patologia que es caracteritza per l'acumulació de greix en els hepatòcits sense que el consum abusiu d'alcohol en sigui la seva causa. Els hàbits de vida poc saludables, és a dir, el sedentarisme i una dieta poc saludable, juntament amb alguna o algunes de les anomalies de la síndrome metabòlica (obesitat abdominal, hipertrigliceridèmia, hipertensió, glucosa en dejú elevada i/o el colesterol lligat a lipoproteïnes d'alta densitat o HDL) són factors que es relacionen amb el molt possible desenvolupament de la MFGNA.

Actualment, no hi ha tractament farmacològic per a la MFGNA, encara que es tracta d'una malaltia en auge cada vegada més freqüent i la prevalença de la qual s'estima que segueixi augmentat amb els anys. La progressió cap a estadis més greus no és immediata, però cal tenir en compte que la MFGNA pot progressar cap a fibrosi, cirrosi i fins i tot cap a un possible carcinoma hepatocel·lular. A més, es relaciona amb moltes altres malalties com és el cas d'una altra mena de complicacions hepàtiques, dificultats amb el somni, obesitat abdominal, malalties cardiovasculars, diabetis mellitus tipus 2 i patologia renal crònica. Per això és tan important l'adequat diagnòstic i maneig de la MFGNA.

La primera estratègia a aplicar en el maneig de la MFGNA és el canvi d'estil de vida. Es tracta del millor tractament descrit fins al moment per a millorar, tant el conjunt de

malalties que constitueixen la síndrome metabòlica, com la MFGNA. El tractament recomanat és la pràctica de l'activitat física junt a dieta saludable, que no sols millora la MFGNA, sinó també, la salut cardiovascular i metabòlica, així com amb la mortalitat en general.

Tots els estudis analitzats en la present Tesi Doctoral mostren associacions beneficioses entre els paràmetres clínics de la MFGNA i de la síndrome metabòlica quan es compleix amb una dieta mediterrània i pràctica regular d'activitat física.

Els participants amb alts nivells d'activitat física van tenir major despesa energètica i van gastar més calories de les que van ingerir. A més, l'activitat física va ser un factor de risc per als nivells de l'aspartat aminotransferasa, alhora que un factor protector per a l'alanina aminotransferasa, la gamma-glutamil transferasa (GGT) i el contingut de greix intrahepàtic. Els pacients amb estadis de esteatosis més elevats, a l'hora de realitzar les proves d'aptitud física, van presentar menor força manual en posició asseguda i dempeus, valors inferiors en la prova del Chester-step, en l'eficiència del somni i la despesa energètica, i una major intensitat d'activitat física lleugera i moderada.

Una intervenció amb dieta i activitat física regular durant sis mesos va millorar l'aptitud funcional en pacients de mitjana edat amb MFGNA i síndrome metabòlica. A més, també va millorar la capacitat aeròbica en aquestes persones.

La interrupció d'activitat física regular juntament amb un estil de vida poc saludable va conduir a l'empitjorament de la síndrome metabòlica i la MFGNA. El confinament per COVID-19 va induir una disminució de l'activitat física en les persones més actives, mentre que les inactives van augmentar aquests nivells. La motivació va ser molt important durant aquest període de confinament.

Llavors, l'estil de vida mediterrani, basat en el compliment d'una dieta mediterrània i la pràctica regular d'activitat física, és essencial per a tractar la MFGNA i disminuir la síndrome metabòlica. És important tenir en compte la importància de combinar totes dues pràctiques, tant la dietètica com la física, perquè tenen la mateixa rellevància i es complementen l'una amb l'altra a l'hora de combatre la MFGNA.

INTRODUCCIÓN

1. Enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA).

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) se define como la acumulación excesiva de grasa en el hígado, principalmente en forma de triglicéridos y ácidos grasos libres, sin que exista un abuso de alcohol. Dicha acumulación grasa deriva en inflamación, estrés oxidativo y progresión de la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) hacia fibrosis, cirrosis e incluso cáncer hepático (1–3). La EHGNA se considera la manifestación hepática del síndrome metabólico, puesto que está asociada a la diabetes mellitus tipo 2, a la obesidad, a la hipertensión y a la dislipidemia (4).

1.1. Fisiología del hígado.

El hígado es un órgano importante que cumple con numerosas funciones relacionadas entre sí, motivo por el cual suelen aparecer varias disfunciones metabólicas cuando hay algún trastorno hepático. Las principales funciones del hígado son (5):

- Filtración y almacenamiento de la sangre.
- Síntesis de factores de coagulación.
- Formación de la bilis.
- Metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas, grasas, hormonas y compuestos químicos extraños.
- Depósito de hierro y vitaminas.

En la **Figura 1** puede contemplarse de forma esquemática la anatomía del hígado que le permite llevar a cabo todas estas funciones recién mencionadas.

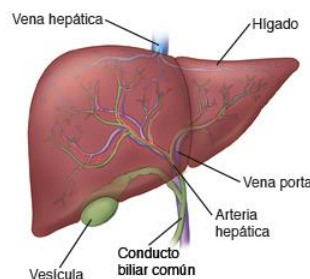


Figura 1: Anatomía del hígado. Fuente:

<https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=how-the-liver-works-90-P05112>

(6).

Haciendo hincapié en el metabolismo energético, después de la ingesta de alimentos y la correspondiente digestión gastrointestinal se obtienen los correspondientes nutrientes (mono-/disacáridos, aminoácidos y ácidos grasos libres) que pasan al flujo sanguíneo. De ahí serán absorbidos por el hígado que los metabolizará para la obtención de energía. En lo que refiere a los hidratos de carbono, el hígado transforma el exceso de glucosa en glucógeno gracias a la glucogénesis, y/o la utiliza para la síntesis de triglicéridos y/o aminoácidos. En cuanto a los aminoácidos, el hígado los desamina para obtener energía o para la síntesis de proteínas, glucosa, lípidos y otro tipo de partículas bioactivas. Finalmente, con respecto a los ácidos grasos libres, el hígado los estratifica con el glicerol-3-fosfato para obtener triglicéridos que se almacenarán en los hepatocitos o se devolverán a la circulación en forma de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL del inglés “very low density lipoproteins”) (5,7,8).

En estado de ayuno, cuando la glucemia desciende, el hígado libera glucosa a la sangre al desdoblar el glucógeno que tiene almacenado (glucogenólisis) para que otros órganos puedan aprovecharla y seguir con su funcionamiento normal, especialmente el cerebro y el resto de tejidos periféricos. Si las reservas de glucógeno se agotan, el hígado sintetizará la glucosa a partir del lactato, la alanina y el glicerol mediante el proceso de gluconeogénesis para seguir proporcionando glucosa al organismo. La situación de ayuno también estimula el proceso de lipólisis en el tejido adiposo con la consiguiente liberación de ácidos grasos libres que serán captados por el hígado para ser convertidos en cuerpos cetónicos gracias a la β -oxidación y la cetogénesis. Así, los cuerpos cetónicos volverán a la circulación para servir de combustible energético al resto de tejidos (5,7).

Los procesos metabólicos del hígado están regulados por sistemas hormonales y neuronales. En concreto, una de las hormonas que regula el metabolismo de la glucosa es la insulina, la cual estimula la glucólisis e inhibe la gluconeogénesis en el hígado, al igual que también promueve la lipogénesis. La disfunción del metabolismo energético hepático deriva en la aparición de resistencia a la insulina, diabetes mellitus tipo 2 y EHGNA (7).

1.2.Epidemiología de EHGNA.

1.2.1. Incidencia.

Es difícil determinar la incidencia global de EHGNA puesto que existen diferentes técnicas de diagnóstico y resulta complicado la comparación entre estudios (9). La gran mayoría de datos para estimar la incidencia de EHGNA se extraen de estudios basados en las ecografías, puesto que las biopsias hepáticas no se utilizan para hacer cribados a gran escala al ser un método invasivo y poco económico. Las imágenes por resonancia magnética son todavía escasas como para conocer la incidencia a partir de ellas (10).

Algunos estudios asiáticos que han estimado la incidencia de EHGNA proporcionan los siguientes datos. La incidencia de EHGNA según diagnóstico por ecografía en un estudio de 11448 sujetos durante 5 años fue del 12%, es decir, 1418 personas desarrollaron la enfermedad REFERENCIA. En otro estudio con un total de 635 personas y un seguimiento de 11.6 años, reportaron una incidencia de 19.9 por 1000 personas al año (a partir de los datos extraídos por ecografía) REFERENCIA. Un estudio de 3 a 5 años de duración y con 565 participantes calculó una incidencia de 34 por 1000 personas al año con EHGNA a través de la resonancia magnética, lo que representa un 13.5% (11). Un artículo reciente que ha reunido diferentes estudios de países distintos, con un total de 9121 sujetos, ha reportado una incidencia de EHGNA (diagnosticada por resonancia magnética y ecografía) entre personas no obesas de 24.6 por 1000 personas al año. En cambio, la incidencia entre personas con obesidad fue del 50.2 por 1000 personas al año (12).

1.2.2. Prevalencia.

La prevalencia estimada de EHGNA a nivel mundial es del 25%, siendo la más alta en el Medio Oriente con un 32% y en el Sur de América con un 30%, y la más baja con un 13% en África. Cabe destacar que en África las encuestas poblacionales son escasas y, por tanto, es un factor que puede modificar la prevalencia comentada. Concretamente, en España, la prevalencia de EHGNA oscila entre el 20 y el 29.9%, y en Europa se estima que es del 24%. Además, se prevé que en 2030 la prevalencia de EHGNA en España sea del 27.6%, lo que representaría 12.7 millones de personas (9,13). Otras referencias actuales confirman que la prevalencia global de EHGNA es del 20-30% (14). La **Figura 2** muestra la prevalencia global de la EHGNA.

También se ha visto que la prevalencia global de EHGNA en personas con obesidad es del 58-74%, y en personas **con** diabetes mellitus tipo 2 del 56% (9).

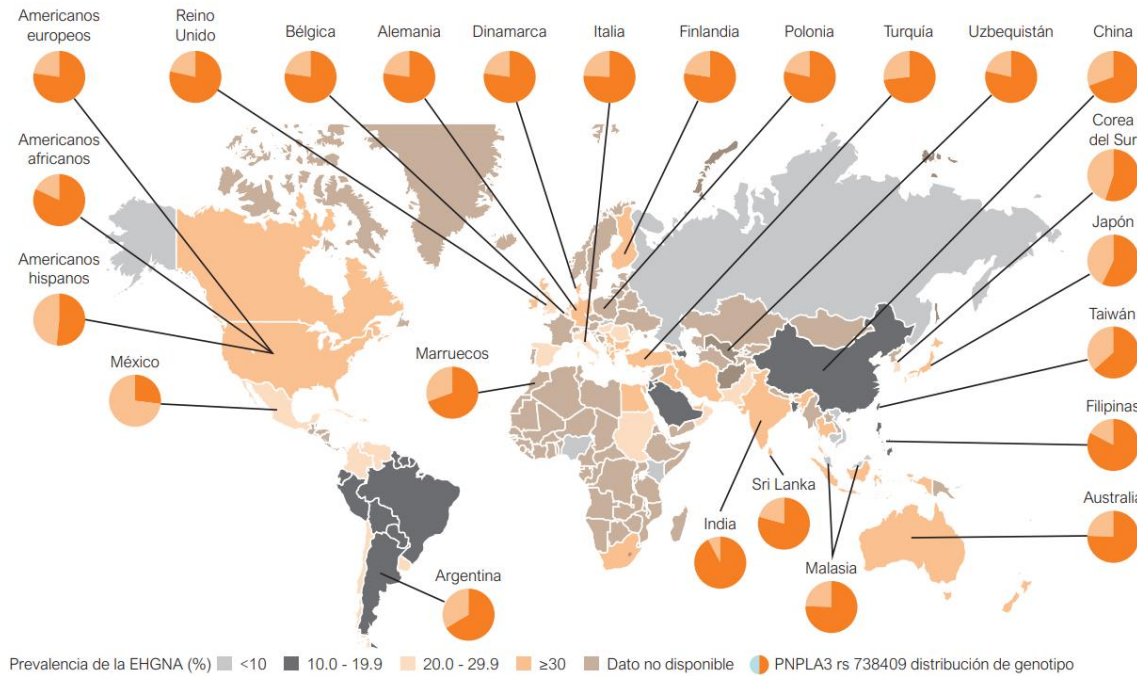


Figura 2: Prevalencia global de la EHGNA. Fuente: Lazarus J, et al, 2021 (9).

En función del sexo y según estudios realizados en Estados Unidos, España y sur-oeste de China, tal como muestra la **Figura 3**, la prevalencia de EHGNA es mayor en los hombres, además de verse aumentada con la edad (15).

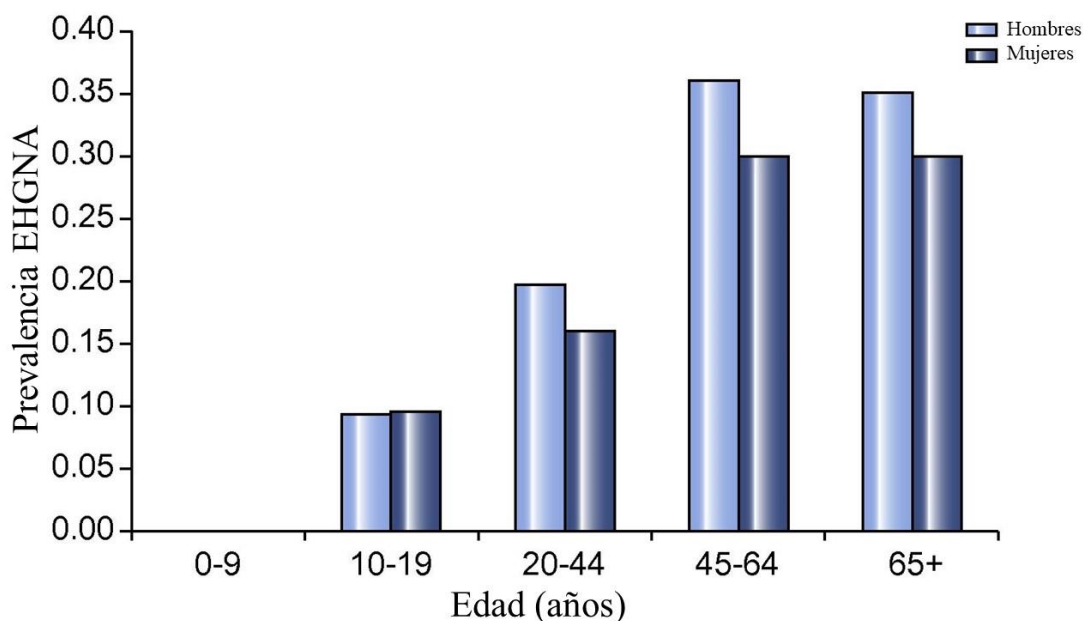


Figura 3: Prevalencia de la EHGNA en función del sexo. Fuente: modificada de Younossi ZM, 2019 (15).

1.2.3. Factores de riesgo.

1.2.3.1. Síndrome metabólico.

El síndrome metabólico es un claro y fuerte factor de riesgo para EHGNA, hasta el punto de que EHGNA podría ser la manifestación de un síndrome metabólico todavía no diagnosticado (16). Los principales componentes del síndrome metabólico, es decir, la obesidad abdominal, la dislipidemia, la hipertensión, la diabetes y la resistencia a la insulina son los que se convierten en factores de riesgo para EHGNA (17). De forma más concreta, la obesidad abdominal y la resistencia a la insulina son dos factores que juegan un papel importante en la relación entre EHGNA y síndrome metabólico (18).

La dislipidemia es un factor de riesgo para EHGNA, pero también es una consecuencia de ella, por lo que puede explicar que las personas con EHGNA tengan también un riesgo mayor de padecer enfermedades cardiovasculares. La dislipidemia en este tipo de personas provoca un aumento de los triglicéridos en sangre y de las partículas pequeñas y densas de LDL (lipoproteínas de baja densidad del inglés “low-density lipoprotein”), mientras que disminuye los niveles de colesterol HDL (lipoproteínas de alta densidad del inglés “high-density lipoprotein”) (19). El resultado de un mal funcionamiento del metabolismo de las lipoproteínas termina provocando la acumulación de grasa en el hígado, su inflamación y la progresión del estado de fibrosis. Así como avanza EHGNA

también avanza el grado de dislipidemia (20,21). La dislipidemia tiene una prevalencia global del 60% entre los pacientes con EHGNA (41% para el caso concreto de la hipertrigliceridemia), y del 72% entre los pacientes con EHNA (83% cuando se trata de la hipertrigliceridemia) (22).

En lo que refiere a esta bidireccionalidad de las patologías, se observa algo similar en el caso de la hipertensión arterial y la EHGNA. Las personas hipertensas tienen más probabilidades de agravar la situación de EHGNA, pero también las personas con EHGNA tienen más probabilidades de desarrollar hipertensión (23). Los supuestos mecanismos fisiopatológicos implicados en esta interacción son la resistencia a la insulina, la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona y del sistema nervioso simpático, y la rigidez arterial (24). En este caso, la hipertensión tiene una prevalencia global del 39% entre los pacientes con EHGNA, y del 68% entre los pacientes con EHNA (22).

1.2.3.2. Diabetes mellitus.

La diabetes mellitus es uno de los componentes del síndrome metabólico y, como tal, es un factor de riesgo para el desarrollo de EHGNA. Las personas con diabetes mellitus tipo 2 tienen más probabilidades de desarrollar EHGNA que las personas no diabéticas. En consecuencia, también tienen aumentado el riesgo de la evolución de EHGNA hacia fibrosis y cirrosis. Aproximadamente, de un 70 a un 75% de las personas con diabetes mellitus tipo 2 presentan EHGNA (25). Cuando los factores de riesgo metabólico empeoran también aumenta el riesgo de que la EHGNA evolucione hacia EHNA y fibrosis, lo que demuestra la indudable relación entre ellos (26). Los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 presentan también estadios de EHGNA más graves que los pacientes sin diabetes (27).

Además, la presencia de niveles elevados de las enzimas hepáticas debido a la EHGNA tiene una estrecha relación con la futura aparición de diabetes mellitus tipo 2. La mayoría de los pacientes con EHGNA termina desarrollando diabetes o intolerancia a la glucosa con el paso del tiempo (28). También se ha visto que son los estadios más avanzados de EHGNA los que tienen mayor relación con el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2, y no los estados más leves. Incluso la EHGNA puede actuar como factor de riesgo

independiente para la diabetes mellitus tipo 2, convirtiéndose así en un posible predictor de diagnóstico temprano de diabetes mellitus (29).

La diabetes mellitus tipo 2 en personas con EHGNA tiene una prevalencia global del 23%, mientras que en los pacientes con EHNA es del 44% (22).

1.2.3.3. Enfermedad renal crónica.

Existen pruebas que demuestran la relación entre EHGNA y la enfermedad renal crónica. En particular, la EHGNA agudiza ciertas complicaciones metabólicas como son la resistencia a la insulina y la dislipidemia; además de inducir la liberación de mediadores proinflamatorios, prooxidantes, profibrogénicos y/o procoagulantes, los cuales están estrechamente implicados en la fisiopatología de la enfermedad renal crónica. El aumento de la gravedad de la EHGNA, o su progresión, está fuertemente asociado a una mayor prevalencia de la enfermedad renal crónica. Concretamente, la prevalencia de la enfermedad renal crónica en personas con EHGNA es del 20-50%, en contraste con el 15-30% de los pacientes sin EHGNA. La EHGNA no sólo afecta al hígado, sino que también puede aumentar el riesgo de desarrollar enfermedades extrahepáticas, como es el caso de la enfermedad renal crónica, entre otras (30,31).

Además, hay que tener en cuenta que la presencia de enfermedad renal crónica deteriora los riñones y su función, provocando un aumento de los niveles de albúmina en orina. Esto actúa como factor de riesgo para las enfermedades cardiovasculares y aumenta considerablemente el riesgo de sufrir eventos cardiacos adversos (32).

1.3.Fisiopatología de EHGNA o historia natural.

Se considera que la EHGNA tiene una evolución lenta en cuanto a la histología hepática (9), pero tiene un espectro patológico que va desde la esteatosis simple hasta patologías más avanzadas como el cáncer o la propia mortalidad. Aunque la esteatosis simple (acumulación hepática de grasa) suele ser asintomática y puede revertir fácilmente con un cambio en el estilo de vida, también puede progresar hasta EHNA cuando el hígado se inflama, hasta cirrosis cuando aparecen lesiones fibróticas y, en última instancia, hasta hepatocarcinoma, tal como se muestra en la **Figura 4**. Se ha visto que incluso en ausencia

de cirrosis, algunas personas con EHNA pueden desarrollar directamente un tumor hepático (33).

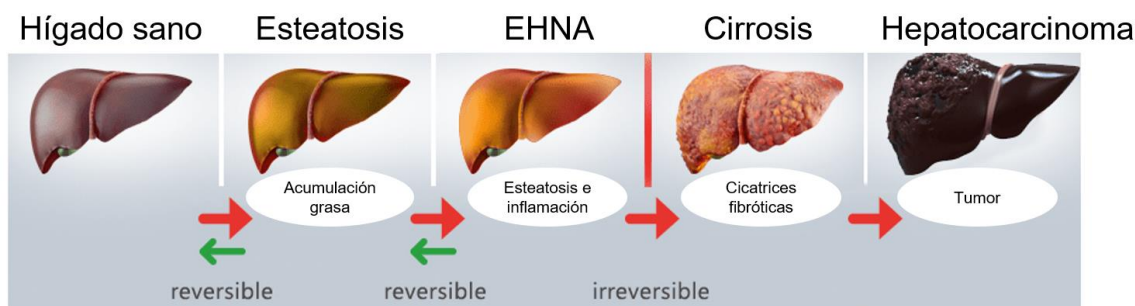


Figura 4: Progresión de la EHGNA. Fuente: <https://medicinaintegrativayfuncional.com/tratamientos#> (34).

Existen diferentes factores que influyen en la progresión de la EHGNA, los cuales van desde el conjunto de patologías que componen el síndrome metabólico, hasta factores ambientales y genéticos (35). Sin embargo, la mortalidad en personas con EHGNA va más allá del daño hepático, sino que está altamente relacionada con complicaciones cardiovasculares y cáncer extrahepático (36,37).

Un meta-análisis afirmó que personas con esteatosis simple progresaban hasta el estado fibrótico en una media de 14.3 años, mientras que pacientes con EHNA evolucionaban hasta la fibrosis en menor tiempo, concretamente, 7.1 años (38). Estos resultados muestran la importancia de los factores metabólicos, además de dejar ver como la presencia de inflamación aumenta considerablemente el riesgo de evolución hasta estadios más graves en contraste con la sola presencia de esteatosis simple (26). En general, todas las personas con EHGNA tienen el riesgo de evolucionar hasta enfermedades hepáticas más graves, pero la fibrosis es un marcador clave para predecir posteriores complicaciones hepáticas e incluso la muerte. Aunque la EHNA suele tener una evolución más lenta, se ha descrito que una cuarta parte de los pacientes con EHNA pueden desarrollar fibrosis y ya sí desarrollar riesgos mayores (39).

Aproximadamente, los pacientes con EHGNA que evolucionan hasta la inflamación hepática y, por tanto, desarrollan EHNA es del 59% (22), y desde este estadio de EHNA, se estima que el 37.6% de los individuos progresarán hacia la fibrosis en una media de 5.3 años (40). Ya en el estado fibrótico, es más fácil el desarrollo de cirrosis, de hecho,

un estudio determinó que el 22% de los pacientes con fibrosis avanzada evolucionó rápidamente hasta la cirrosis (41). Entonces, una vez llegado al estado cirrótico, existe un mayor riesgo de desarrollar hepatocarcinoma (42). Se estima que el 7% de los pacientes con cirrosis han desarrollado algún tumor hepático en 6.5 años (9). Los pacientes con EHGNA que llegan a cirrosis disminuyen considerablemente su esperanza de vida (43).

Recientemente se ha introducido el concepto de enfermedad del hígado graso asociada al metabolismo, más conocido como MAFLD por sus siglas en inglés “metabolic associated fatty liver disease”. Este concepto refleja la íntima relación existente entre la EHGNA y la obesidad, la diabetes mellitus tipo 2, la hipertensión, la dislipidemia y/o el sedentarismo, es decir, el síndrome metabólico. Así queda patente el importante impacto que tienen las condiciones metabólicas de un individuo y el hígado graso sobre la historia natural de distintas enfermedades hepáticas. Es poco probable que los sujetos con esteatosis hepática que no cumplan con la definición de MAFLD sufran algún tipo de enfermedad hepática severa (44).

1.4. Diagnóstico de EHGNA.

Aunque la mayoría de los pacientes son asintomáticos o simplemente manifiestan algo de fatiga o dolor abdominal, y al margen de la gravedad de la EHGNA, el diagnóstico de dicha patología se basa en la presencia de tres características fundamentales (45):

- Características histopatológicas (la presencia de grasa hepática es primordial).
- Exclusión estricta del alcohol como origen de la enfermedad.
- Investigaciones adecuadas para descartar otras formas de enfermedad hepática crónica.

Algunos pacientes se someten al diagnóstico de EHGNA mediante pruebas de imagen después de notar algunos síntomas, de haber obtenido una bioquímica anormal u otras razones médicas (11).

La presencia de enzimas hepáticas elevadas (aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), gamma-glutamil transferasa (GGT)), los niveles de la fosfatasa alcalina también aumentados y/o la presencia de algunos de los criterios del síndrome metabólico son indicadores que alertan de la posible presencia de EHGNA. El incremento de las enzimas hepáticas no se relaciona directamente con la gravedad de la enfermedad,

pero sus niveles elevados de forma persistente sí son una señal para predecir EHGNA (46,47). También se ha visto que pacientes con las características histopatológicas de EHGNA no presentan niveles elevados de ALT, por lo que niveles normales de esta enzima no garantizan la ausencia de la enfermedad (48).

1.4.1. Biopsias del hígado y estadios.

El 1883 se realizaron las primeras biopsias hepáticas, convirtiéndose en la prueba estrella para el diagnóstico de EHGNA, pues permite confirmar estadios tempranos de fibrosis, clasificar la enfermedad y distinguir entre EHGNA y EHNA. Sin embargo, es una técnica invasiva que puede generar efectos secundarios adversos desde simples a más severos (49). Por esto, la práctica rutinaria de biopsias hepáticas en cada sujeto con sospecha de EHGNA es un tema controvertido, y no se considera una herramienta útil para hacer cribados (50). Por una parte, la Asociación Americana para el Estudio de las Enfermedades Hepáticas (AASLD), establece que las biopsias hepáticas deben realizarse sólo en aquellas personas en las que realmente sea necesario por motivos justificados, como por ejemplo niños con un diagnóstico dudoso o que requieran de medicación (51). Por otra parte, la Asociación Europea para el Estudio de las Enfermedades Hepáticas recomienda las biopsias hepáticas en todos los sujetos de cirugía bariátrica, y como criterio de valoración en todos los ensayos clínicos (52).

Existe un sistema semicuantitativo de clasificación para describir y unificar la perspectiva de las lesiones histopatológicas de la EHNA y la fibrosis. Se conoce como “Puntuación de actividad de la EHNA” (o NAS por sus siglas en inglés, “non-alcoholic fatty liver disease activity score”). Este sistema de puntuación incluye toda la gama de lesiones que pueden darse en EHGNA y EHNA. Se representa como la suma no ponderada de las puntuaciones del grado de esteatosis, la inflamación lobular y el abombamiento de los hepatocitos. En la **Tabla 1** puede verse el sistema de puntuaciones establecido para la “Puntuación de actividad de la EHNA” (50).

Tabla 1: “Puntuación de actividad de la EHNA”

Grado de esteatosis (% de grasa hepática)	Inflamación lobular (focos por 200 x campo)	Abombamiento de los hepatocitos (número de hepatocitos abombados)
0: <5%	0: No	0: Ninguno
1: 5-33%	1: <2	1: Pocos
2: 34-66%	2: 2-4	2: Muchos
3: >66%	3: >4	

Tabla adaptada de Nalbantoglu IL, et al, 2014 (50).

Aunque ha habido grandes avances en las pruebas diagnósticas no invasivas, todavía no son lo suficientemente minuciosas como para reemplazar todo el espectro de hallazgos que proporciona la biopsia hepática (50).

1.4.2. Técnicas de imagen para evaluar EHGNA.

1.4.2.1. Ecografía.

La ecografía es un instrumento diagnóstico útil, preciso y fiable en la detección de la EHGNA. Aunque no puede substituir a las biopsias hepáticas, su facilidad de uso, accesibilidad y bajos efectos secundarios la convierten en una herramienta de diagnóstico ampliamente usada capaz de reducir la realización de biopsias (53).

El diagnóstico de esteatosis hepática por ecografía se basa en un aumento de la ecogenicidad del hígado, la presencia de brillos hepáticos y el desenfoque o borrosidad de la vena porta. Cabe destacar que la sensibilidad y especificidad del diagnóstico son altas cuando la presencia de grasa en el hígado es $\geq 20\%$ (54). También hay que tener en cuenta que la sensibilidad de una ecografía disminuye para la detección de fibrosis (55).

La clasificación clínica acerca de la gravedad de la EHGNA se realiza a través de una escala de 4 puntos en función del porcentaje de grasa hepática: <5% (normal o grado 0), 5-33% (medio o grado 1), 33-66% (moderado o grado 2), >66% (severo o grado 3) (56).

1.4.2.2. Técnicas de resonancia magnética.

La resonancia magnética es una prueba no invasiva, alternativa a la biopsia hepática, capaz de evaluar la fibrosis y la esteatohepatitis en pacientes con EHGNA (57). En comparación con otras técnicas, como la ecografía o la tomografía computarizada, las

imágenes de resonancia magnética se correlacionan estrechamente con la evaluación histopatológica de la esteatosis y muestran las diferencias entre los grados de esteatosis; además de tener mejor precisión en el diagnóstico (58). Es importante destacar que la sensibilidad y especificidad de la resonancia magnética en la detección de esteatosis hepática son elevadas, pudiendo hacer el diagnóstico incluso cuando el porcentaje de grasa en el hígado es inferior al 5% (58).

Este tipo de prueba realiza una evaluación objetiva de la esteatosis hepática gracias al uso de un índice cuantitativo altamente reproducible. Se trata de la densidad de protones de la fracción grasa, el cual se obtiene dividiendo el número de protones unidos a grasa por la cantidad total de protones del hígado (tanto los protones unidos a grasa como los unidos a agua), dando como resultado la cantidad de grasa hepática (59).

Un estudio demostró que existía correlación entre los grados de esteatosis hepática y la densidad de protones de la fracción grasa proporcionada por las imágenes de resonancia magnética. Así se permite la clasificación del grado de esteatosis hepática con una alta precisión y especificidad (60). En la **Tabla 2** se presenta dicha clasificación de forma simplificada.

Tabla 2: Clasificación del grado de esteatosis hepática según la cantidad de grasa hepática proporcionada por la resonancia magnética

Grado de esteatosis (formato categórico)	Porcentaje de grasa hepática (formato cuantitativo)
0	<6.4%
1	6.4-17.4%
2	>17.4-22.1%
3	>22.1%

Tabla adaptada de Tang A, et al, 2013 (60)(50).

1.4.3. Elastografía.

La elastografía por ultrasonidos es un método no invasivo, relativamente nuevo, que permite la medición de la fibrosis hepática en personas con EHGNA. Mide la elasticidad del tejido hepático, o lo que es lo mismo, la rigidez o cantidad de tejido fibroso (61).

Esta técnica incluye la elastografía transitoria, la cual transmite vibraciones al hígado induciendo ondas de cizallamiento que se propagan a través del tejido hepático subyacente. La velocidad de la onda está directamente relacionada con la rigidez del tejido hepático (62).

Es una prueba precisa que puede realizarse en la mayoría de los pacientes con EHGNA y que permite diferenciar el grado de fibrosis hepática. La medición de la rigidez del hígado no se correlaciona con la esteatosis ni la inflamación hepática, así como tampoco con la obesidad, por lo que no se puede evaluar con exactitud la EHGNA si no hay fibrosis (63,64).

1.5. Complicaciones de EHGNA.

1.5.1. Enfermedad cardiovascular.

Existe un mayor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares entre los pacientes con EHGNA, el cual aumenta también con la gravedad del estado hepático, aunque puede desembocar en mortal o no (65,66). Se ha visto también que el estadio de fibrosis avanzado (3 ó 4) se asocia tanto a una mayor mortalidad global como específica por enfermedad cardiovascular (67). La EHGNA se asocia a varias complicaciones cardíacas, ya sean arritmias, calcificaciones de válvulas o hipertrofias ventriculares. Las complicaciones subyacentes a la EHGNA son, probablemente, las que aumentan el riesgo cardiovascular. La resistencia a la insulina, la hipertensión, la dislipidemia aterogénica, y la activación de mediadores proinflamatorios, procoagulantes y proaterogénico pueden contribuir enormemente al desarrollo de complicaciones y enfermedades cardiovasculares. Por eso es muy importante la evaluación cardíaca en pacientes con EHGNA (68).

1.5.2. Mortalidad.

Los sujetos con EHGNA presentan un riesgo mayor de muerte. En términos generales, las principales causas de muerte entre los pacientes con EHGNA, en comparación con la población general, son enfermedades cardiovasculares, tumores malignos extrahepáticos y complicaciones hepáticas; aunque también se ha visto que pueden ser causas secundarias. Además, los pacientes con EHGNA tienen una frecuencia de padecer carcinoma hepatocelular 1000 veces mayor que el resto (69). La presencia prolongada de altos niveles de las enzimas hepáticas se correlaciona con un riesgo mayor a desarrollar una enfermedad hepática terminal (28). Un estudio afirma que las personas con EHGNA tienen un riesgo elevado de mortalidad por todas las causas con respecto a las personas que no lo presentan. También afirma que dicha relación entre la EHGNA y todas las causas de mortalidad es independiente de la edad, el sexo, el índice de masa corporal (IMC), la presencia de diabetes mellitus tipo 2, la hipertensión o el tiempo de seguimiento (70).

El riesgo de mortalidad en personas con EHGNA incrementa de forma exponencial con la presencia y grado de fibrosis hepático (71). Los pacientes con fibrosis tienen un menor tiempo de supervivencia que los pacientes sin fibrosis (72). Se ha visto que el avance de la fibrosis también se relaciona a una mayor resistencia a la insulina y a un pronunciado aumento de peso (28). Los pacientes con EHGNA sin fibrosis tienen menor riesgo de mortalidad por todas las causas en comparación con los pacientes con EHGNA con fibrosis. Además, el riesgo de mortalidad por todas las causas en pacientes con EHGNA y fibrosis aumenta según aumenta también el grado de fibrosis (71).

1.6.EHGNA y otras enfermedades.

1.6.1. Resistencia a la insulina.

La resistencia a la insulina y la acumulación de grasa hepática están estrechamente relacionadas (73). Según se ha visto, la EHGNA no es una causa primaria de la resistencia a la insulina, sino que se considera más bien una consecuencia (74). Entonces, el desarrollo de EHGNA se relaciona directamente con la presencia de resistencia a la insulina, puesto que es un factor crucial en las desregulaciones metabólicas que inician la acumulación de grasa en el hígado (75).

Los pacientes con EHGNA tienen reducida la sensibilidad a la insulina a nivel hepático, pero también a nivel de músculo esquelético y tejido adiposo, lo que provoca el aumento de los niveles plasmáticos de glucosa y la consecuente liberación de insulina (76). Entonces, los niveles incrementados de insulina, dentro del proceso patológico de la resistencia a la insulina, favorecen la síntesis hepática de triglicéridos y la gluconeogénesis. Además, también conducen a la resistencia al efecto antilipolítico de la insulina en el tejido adiposo, por lo que aumentan los ácidos grasos libres. Entre todo, se contribuye a la liberación de citoquinas proinflamatorias y a la progresión de la esteatosis hepática debido a la acumulación de grasa hepática en exceso (74,76).

1.6.2. Disfunción del tejido adiposo.

En condiciones normales, la función principal del tejido adiposo es almacenar energía en forma de ácidos grasos, teniendo también capacidad para llevar a cabo los procesos de lipogénesis y lipólisis. Así, frente a una situación de excesiva energía se activa la lipogénesis para sintetizar triacilgliceroles que se almacenarán en el tejido adiposo; mientras que en una situación de escasez energética se activa la lipólisis para movilizar la grasa acumulada y liberar ácidos grasos a la sangre para que otros tejidos puedan oxidarlos y obtener energía (77).

El tejido adiposo no es sólo un depósito de energía, sino que también es un órgano endocrino que libera muchos péptidos y citoquinas a la circulación. En personas con obesidad se altera el equilibrio y los adipocitos producen más citoquinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y la interleuquina-6 (IL-6), y menos péptidos antiinflamatorios como la adiponectina (78). Todo ello contribuye al desarrollo de la resistencia a la insulina, la inflamación crónica y EHGNA, con sus respectivas complicaciones hasta el estado de cirrosis (79,80). Además, hay que tener en cuenta que el exceso de grasa visceral también se relaciona directamente con la fibrosis hepática e inflamación crónica (81). El aumento de la grasa hepática y visceral son conocidos como depósitos de grasa ectópica, los cuales inducen efectos paracrinos y endocrinos que promueven el síndrome metabólico y potencian el riesgo cardiovascular (79).

La adiponectina tiene efectos positivos en la EHGNA pues reduce la resistencia a la insulina, la inflamación y el estado de esteatosis. Dichos beneficios se atribuyen a que la adiponectina promueve la oxidación de los ácidos grasos y disminuye la gluconeogénesis,

así como la lipogénesis de novo. Sin embargo, sus niveles están disminuidos en la EHGNA, mientras que los niveles de TNF- α y IL-6 están aumentados. Éstos tienen efectos negativos para la EHGNA, concretamente, se ha visto que TNF- α tiene efecto inflamatorio e induce la resistencia a la insulina. Los niveles de la leptina también se han visto aumentados en la EHGNA, lo cual puede desarrollar efectos secundarios negativos ya que es un adipocina fibrogénica e inflamatoria (82).

1.6.3. Dieta y estilo de vida.

A día de hoy no existe un tratamiento farmacológico específico o exclusivo para la EHGNA, sino únicamente se aplica específicamente a las complicaciones que pueden derivar en EHGNA, es decir, a las anomalías metabólicas que constituyen el síndrome metabólico. El principal tratamiento que se propone es conductual, y se basa en adoptar un estilo de vida saludable basado en la dieta Mediterránea y la actividad física, lo cual reduce los factores de riesgo de dicha enfermedad y contribuye a su prevención y/o regresión (83). Así pues, la dieta y el estilo de vida influyen notablemente sobre la EHGNA.

En general se ha visto que las personas con EHGNA suelen tener un mayor consumo de ácidos grasos saturados procedentes de la carne y azúcares simples procedentes de refrescos y dulces varios, lo cual potencia aún más la EHGNA con independencia del sexo, la edad, las calorías totales y el IMC (84). Además, también suelen ser personas más sedentarias de lo normal o que pasan largos tiempos sentados (85). Un estudio ha demostrado que una alta ingesta calórica (aparte de ser calorías de pobre calidad nutricional) y un comportamiento sedentario contribuyen a la progresión de la EHGNA, puesto que aumentan la infiltración grasa en los hepatocitos, la acumulación de grasa visceral, el incremento de los niveles sanguíneos de ALT, e inducen la resistencia a la insulina (86).

Por una parte, los ácidos grasos saturados de la dieta, en comparación con los insaturados, estimulan la síntesis de citoquinas proinflamatorias, la resistencia a la insulina y, en algunas ocasiones, también promueven la apoptosis de los hepatocitos por estrés oxidativo, contribuyendo a la progresión de la EHGNA (87). Además, se ha visto que el consumo de azúcares simples, especialmente de fructosa, induce la lipogénesis *de novo*,

la inflamación y se correlaciona con el incremento de grasa hepática y la progresión de las complicaciones de la EHGNA (88,89).

Por otra parte, la sarcopenia (pérdida de fuerza y masa muscular esquelética) puede desarrollarse al mismo tiempo que una persona sufre obesidad por un exceso de grasa visceral, lo que termina induciendo inflamación, resistencia a la insulina y una mayor reducción de la masa muscular esquelética (90). Asimismo, la sarcopenia, la cual puede ser contrarrestada con la práctica de actividad física, es un factor de riesgo para EHGNA y para la progresión de la fibrosis (91).

1.6.4. Microbiota intestinal.

Literatura existente afirma que la microbiota intestinal es una herramienta cada vez más importante a tener en cuenta sobre la salud, pues está implicada en mecanismos patogénicos de algunas enfermedades metabólicas e inflamatorias, incluida la EHGNA (92).

El enlace entre la microbiota intestinal y la patogénesis de la EHGNA podría ser la interacción entre el intestino y el hígado, conocida como “eje intestino-hígado”. Esta interacción permite el intercambio de sustancias entre ambos órganos, pues gran parte del suministro sanguíneo que recibe el hígado procede del intestino a través de la vena porta, así como muchas sustancias hepáticas son absorbidas por el intestino. Las bacterias intestinales juegan un papel importante en el mantenimiento del “eje intestino-hígado” (93).

Hay diferentes mecanismos propuestos por los cuales la microbiota intestinal puede estar involucrada en el desarrollo de la EHGNA. Éstos son (94):

- Aumento de la producción y absorción de los ácidos grasos de cadena corta en el intestino.
- Alteración del metabolismo de la colina de la dieta por parte de la microbiota.
- Alteración de las reservas de ácidos biliares por parte de la microbiota.
- Aumento del suministro de etanol derivado de la microbiota al hígado.
- Alteraciones de la permeabilidad del intestino y la liberación de endotoxinas (el aumento de permeabilidad intestinal relacionada con un sobrecrecimiento

intestinal de bacterias se relaciona directamente con la EHGNA y su gravedad (95)).

- Interacción entre la dieta y la microbiota (la dieta influye sobre la diversidad y composición de la microbiota intestinal).

1.6.5. Genética.

La EHGNA se considera una enfermedad compleja que tiene lugar cuando los factores ambientales interactúan con los factores genéticos y potencian el desarrollo de la patología y su progresión. A pesar de que la EHGNA está muy marcada por los factores ambientales, también hay los factores genéticos que juegan un papel fundamental en la respuesta al exceso calórico y el consecuente estrés metabólico. Aunque todavía queda mucho trabajo por hacer, se han realizado avances sustanciales en nuestra comprensión de los modificadores genéticos. Aunque el genoma es amplio, se han identificado dos genes importantes en la EHGNA, el gen que contiene el “dominio de la fosfolipasa similar a la patatina 3” (PNPLA3) con expresión en el tejido adiposo y el hígado, y el gen conocido como “miembro 2 de la superfamilia transmembrana 6” (TM6SF2) expresado en el hígado (96).

La variante I148M del gen PNPLA3 tiene un importante efecto sobre la EHGNA, ya sea sobre la acumulación de grasa hepática, como también sobre la gravedad de la enfermedad y susceptibilidad de ser más agresiva, con la progresión hacia inflamación y fibrosis (es decir, sobre la evolución de la EHGNA) (97). Como dato curioso, se ha encontrado que la prevalencia de esta variante es mayor en personas hispánicas que en africanas, coincidiendo con la prevalencia global de EHGNA comentada en apartados anteriores (98).

El polimorfismo rs58542926 de TM6SF2 se asoció recientemente con la EHGNA y con la fibrosis hepática, cirrosis avanzada (99). También se asoció con el aumento de los niveles séricos de AST y ALT, y con la disminución de los niveles plasmáticos de triglicéridos y colesterol (98). Así, se ha propuesto a TM6SF2 como el posible “regulador maestro” de la progresión del síndrome metabólico, pues determina el riesgo de padecer una patología hepática avanzada, pero también la evolución de una posible enfermedad cardiovascular (96).

1.6.6. Estrés oxidativo y sobrecarga férrica.

El estrés oxidativo es otro factor capaz de estimular el desarrollo de la EHGNA y su consecuente agravamiento gracias a la presencia aumentada de las especies reactivas de oxígeno. Entre otros efectos, las especies reactivas de oxígeno dañan los ácidos grasos e inducen la peroxidación lipídica, y desarrollo de EHGNA. Los sistemas implicados en el desarrollo de estrés oxidativo que más se relacionan con la EHGNA son la disfunción del metabolismo férrico y mitocondrial, y el estrés del retículo endoplasmático. A su vez, se ha visto que también están implicados en otras complicaciones metabólicas relacionadas con la EHGNA, como son la obesidad, la diabetes mellitus tipo 2 y la resistencia a la insulina (100,101).

La sobrecarga férrica, también conocida como el síndrome de sobrecarga de hierro dismetabólico (DIOS), es otro de los factores relacionado con la EHGNA. Se trata de un exceso leve de hierro hepático y de una hiperferritinemia moderada con una saturación de transferrina normal o moderadamente aumentada, todo enmarcado dentro del contexto de los componentes del síndrome metabólico. Se calcula que la mitad de los diagnósticos con DIOS también sufren la EHGNA (102), lo cual no parece ser casualidad, pues ambas patologías comparten el mismo factor desencadenante, es decir, la resistencia a la insulina. Asimismo, ambas también comparten la presencia de alguna anomalía metabólica como pueden ser la obesidad, la hipertensión, la glucosa en ayuna elevada, la dislipidemia, etc. (103). Una de las principales consecuencias del exceso del hierro que ayuda al progreso de la EHNA es el estrés oxidativo, quien induce la síntesis de citoquinas proinflamatorias y el progreso fibrótico (104).

1.7.Tratamiento.

1.7.1. Terapia farmacológica.

La primera línea de tratamiento de la EHGNA es la modificación del estilo de vida para conseguir pérdida de peso, básicamente a través de la dieta y el ejercicio. La pérdida de peso es clave para mejorar las características histopatológicas de la EHGNA. Sin embargo, también está presente el tratamiento farmacológico de las complicaciones metabólicas asociadas, es decir, la resistencia a la insulina, la diabetes mellitus tipo 2, la

hiperlipidemia, y la obesidad. El tratamiento para tratar las anomalías metabólicas en pacientes con EHGNA debería aplicarse cuando el cambio en el estilo de vida no es suficiente y sólo cuando hay un diagnóstico claro de fibrosis (11).

Existen evidencias de como las tiazolidinedionas son capaces de revertir la resistencia a la insulina en situación de obesidad, la disfunción del tejido adiposo y la diabetes mellitus tipo 2 en personas con EHGNA. Las tiazolidinedionas son ligandos del factor de transcripción nuclear del receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR)- γ , el cual regula el metabolismo glucídico y lipídico (11). Dentro de esta familia cabe destacar la pioglitazona, la cual mejora el perfil metabólico e histológico de sujetos con EHNA. Éstos suelen tener bajos niveles de adiponectina en plasma y aumentadas las vías proinflamatorias, de manera que la pioglitazona permite aumentar los niveles de adiponectina en plasma, estimula la oxidación de ácidos grasos, inhibe su síntesis en el hígado y promueve efectos antiinflamatorios (105). También mejora la fibrosis y es efectiva en personas con prediabetes, diabetes mellitus tipo 2 y EHNA (106).

La EHNA también está asociada al estrés oxidativo como ya se ha visto anteriormente (107). Algunos estudios han asociado los productos de oxidación lipídica, derivados de las especies reactivas de oxígeno que se generan en situación de estrés oxidativo, a la EHGNA/EHNA. Por eso, la vitamina E es un potencial tratamiento por sus efectos beneficiosos como antioxidante (108). En concreto, se ha visto que el tratamiento con vitamina E mejora los niveles de las enzimas hepáticas, la fibrosis no invasiva y reduce el estado de inflamación (109).

1.7.2. Estrategias de estilo de vida.

A día de hoy, uno de los mejores tratamientos existentes para la EHGNA es el estilo de vida mediterráneo, basado en la dieta mediterránea y en la práctica regular de actividad física, pues contribuye a mejorar el síndrome metabólico y a reducir los factores de riesgo de la EHGNA (83).

Por un lado, la base de la dieta mediterránea es el consumo de alimentos ricos en componentes antioxidantes y antiinflamatorios, ácidos grasos insaturados y fibra; mientras que reduce el consumo de ácidos grasos saturados y proteínas animales. Todo ello contribuye positivamente sobre los diferentes componentes del síndrome metabólico, las enfermedades cardiovasculares, el cáncer y a la mortalidad en general (110–112).

Además, tal como ya se ha mencionado en los apartados anteriores, la inflamación y el estrés oxidativo juegan un papel importante en la EHGNA, por lo que la ingesta de alimentos que aporten nutrientes antioxidantes y antiinflamatorios que contrarresten el efecto serán beneficios para prevenir y/o revertir la enfermedad (113). Una alta adherencia a la dieta mediterránea puede mejorar la resistencia a la insulina y el estado de la fibrosis, además de reducir la grasa hepática medida por resonancia magnética (114).

Por otro lado, también es muy importante la práctica regular de actividad física, pues la inactividad ha sido reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un problema de salud pública y como el cuarto factor de riesgo de mortalidad (115). Mantenerse activo mejora los trastornos lipídicos, reduciendo los niveles altos de triglicéridos e incrementando los bajos niveles de colesterol HDL, además de ayudar con la pérdida de peso y regulación de la presión arterial (116). Entonces, la realización de actividad física también contribuye positivamente sobre el síndrome metabólico, la diabetes mellitus tipo 2 y la EHGNA (117,118).

Adoptar un estilo de vida con dieta mediterránea y actividad física regular de intensidad moderada consigue la pérdida de peso por parte de los pacientes y, consecuentemente, reducir su perímetro de cintura e IMC. Así, se ha visto que los parámetros del síndrome metabólico mejoran y se normalizan los niveles elevados de las enzimas hepáticas (119). La combinación de ambos factores, es decir, la dieta mediterránea y la actividad física consiguen una mayor pérdida de peso que sólo hacer dieta (120). Asimismo, la suma de dieta y ejercicio también muestran mejores resultados sobre la mejora de la EHGNA y sus respectivos factores de riesgos que por separado (121).

2. Estilo de vida mediterráneo.

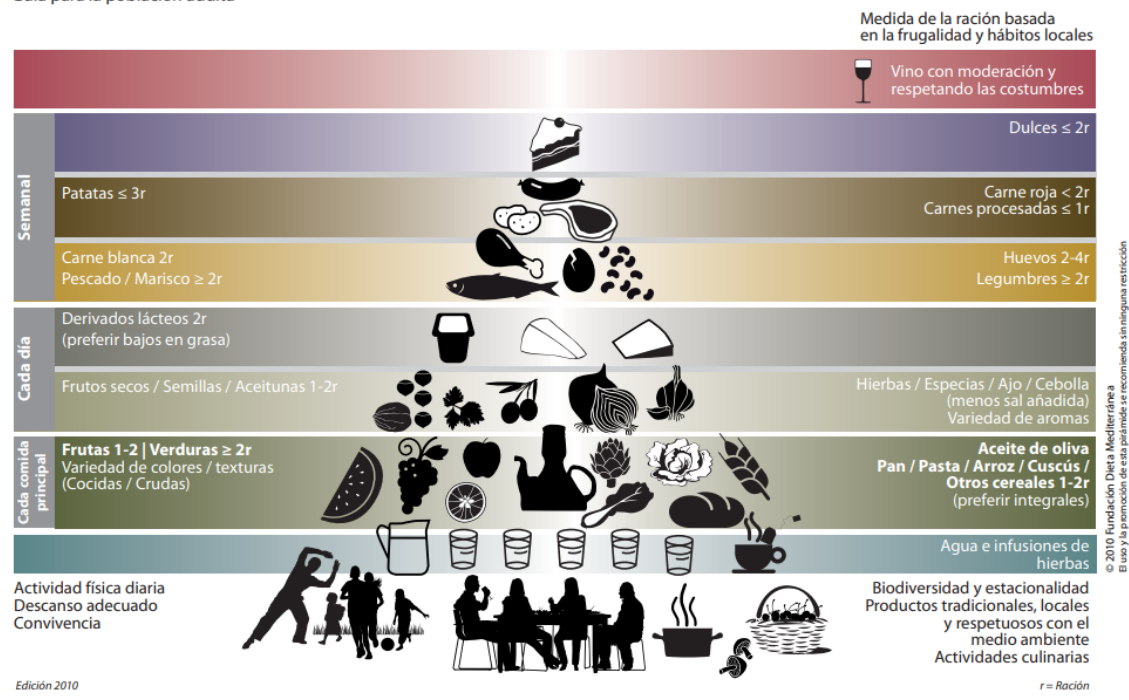
2.1. Dieta mediterránea.

La dieta mediterránea es el nombre que se le da al patrón alimentario tradicional de los países que conforman la región del mediterráneo (122). Se caracteriza por una alta ingesta de frutas, verduras, legumbres, frutos secos, cereales sin refinar (integrales), y aceite de oliva. También se basa en el consumo moderado de pescado, aves de corral y productos lácteos, mientras que reduce la ingesta de carnes rojas. Igualmente, recomienda que los lípidos saturados sean muy escasos, y que haya un consumo moderado de etanol, el cual tiene que ser básicamente en forma de vino y durante las comidas (123).

La **Figura 5** representa la pirámide la Dieta Mediterránea, cuya base indica las prácticas que tendrían que realizarse diariamente, así como los alimentos que tendrían que ingerirse mayoritariamente en cada comida y también de forma diaria. Allí están las frutas y verduras, el aceite de oliva y los cereales integrales. A medida que se sube en la pirámide, la frecuencia disminuye, tal es el caso de los frutos secos, semillas, aceitunas, hierbas, especias, ajo, cebolla y productos lácteos, los cuales se recomienda consumir diariamente pero no en cada comida. Ya en la parte más superior de la pirámide están los alimentos de consumo semanal, entre los cuales hay que priorizar, la carne blanca, el pescado y el marisco, los huevos y las legumbres; mientras que las patatas, la carne roja y carnes procesadas tendrían que ser alimentos de baja frecuencia. En la cúspide se encuentran los dulces, los cuales son el último alimento recomendado a añadir en la dieta. También contempla el consumo de vino tinto con moderación (124).

Pirámide de la Dieta Mediterránea: un estilo de vida actual

Guía para la población adulta



ICAF
International Commission on the
Anthropology of Food and Nutrition



Predimed
Promoción de la Dieta Mediterránea



Figura 5: Pirámide la Dieta Mediterránea (versión 2010). Fuente: Fundación Dieta Mediterránea, <https://dietamediterranea.com/nutricion-saludable-ejercicio-fisico/> (124).

Uno de los alimentos clave de la dieta mediterránea es el aceite de oliva virgen extra, al cual se le han reconocido propiedades antiinflamatorias, además de ser la principal grasa de dicha dieta. A pesar de estar constituido por varios componentes bioactivos, uno que es esencial es el ácido oleico, perteneciente a la familia de los ácidos grasos monoinsaturados, al cual se le han atribuido potenciales mejoras en lo que refiere a la regulación del perfil lipídico, glucídico y la sensibilidad a la insulina (125).

En general, la dieta mediterránea tiene muchos y variados beneficios sobre la salud gracias a todos sus componentes: disminución del riesgo de enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes mellitus tipo 2, EHGNA (especialmente por su papel en la mejora de la fibrosis, el contenido de grasa hepática y la resistencia a la insulina), patrones depresivos y de deterioro cognitivo, inflamación, asma, así como la mejora de los parámetros del síndrome metabólico (obesidad, dislipidemia, hipertensión,

hiperglucemia) y la disminución de la mortalidad por todas las causas y/o por patologías específicas (114,122,126,127).

2.2.Actividad física.

En primer lugar, es necesario definir el concepto de actividad física. Se trata de cualquier tipo de movimiento corporal realizado por los músculos esqueléticos con un consecuente gasto energético. Por otro lado está la aptitud física, que serían las cualidades o habilidades relacionadas con la salud que tiene cada persona, lo cual puede medirse mediante la realización de pruebas físicas (128).

Actualmente, la inactividad física se considera el cuarto factor de riesgo de mortalidad según la OMS, por lo que es un problema de salud pública (115). Se ha señalado como una pandemia mundial por ser uno de los problemas más destacados de salud pública del siglo XXI (129). El sedentarismo es común entre las personas que sufren algún tipo de trastorno metabólico (130,131). De forma aproximada, la inactividad física se contempla como causa del 21-25% de los cánceres de mama y colon, el 30% de las cardiopatías isquémicas, y el 27% de la diabetes mellitus tipo 2 (132). El sedentarismo se relaciona con una mortalidad mayor en comparación con un estilo de vida activo (133).

La práctica regular de actividad física se asocia a numerosos beneficios sobre la salud de las personas. Entre ellos, reduce el peso corporal, la hipertensión, los niveles elevados de triglicéridos plasmáticos, aumenta los niveles de colesterol HDL, y mejora la capacidad fibrinolítica y la sensibilidad a la insulina. Así pues, se relaciona con la mejora del perfil de EHGNA, la diabetes mellitus tipo 2 y el síndrome metabólico en general, reduciendo también el riesgo de sufrir cardiopatías (116–118,134,135).

La OMS quiere transmitir el mensaje de que todo movimiento cuenta a la hora de hacer actividad física, y que ser más activo supone beneficios para el cuerpo, la mente y el corazón. Por eso, la **Figura 6** muestra de manera muy resumida el plan de acción mundial que han elaborado para concienciar a las personas de la importancia de la actividad física y animar a las personas a ser más activas. La representación es en forma de escalera, siendo el escalón límite más bajo el sedentarismo. Entonces se van subiendo escalones indicando que cualquier tipo de actividad física es mejor que no hacer nada. En mujeres embarazadas y en periodo de postparto se recomiendan 150 minutos de actividad física

semanal, lo cual se incrementa hasta los 300 minutos semanales en personas adultas y mayores. En el caso de los niños y adolescentes la recomendación de actividad física es considerablemente más alta, unos 60 minutos al día. En lo que refiere a días por semana, sugieren la práctica de actividad física con ejercicios de fortalecimiento muscular, al menos, dos días a la semana en el caso de los adultos; y a la práctica de actividades variadas para el equilibrio y la fuerza, al menos tres días a la semana, en el caso de los adultos mayores. En lo más alto de la escalera, en el último escalón, hay la actividad física ideal para cualquier persona: la práctica de más de 300 minutos semanales de actividad física (132).



WHO guidelines on physical activity and sedentary behaviour (2020).
For more information, visit: www.who.int/health-topics/physical-activity



Figura 6: Guía de la OMS sobre la actividad física (versión 2020). Fuente: https://www.who.int/health-topics/physical-activity#tab=tab_1 (132).

2.3.Efecto combinado de la dieta mediterránea y la actividad física.

La alta adhesión a la dieta mediterránea junto la práctica regular de actividad física como estilo de vida tienen efectos beneficiosos sobre la salud, especialmente sobre los factores de riesgo metabólico (136). El efecto combinado de la dieta mediterránea junto con la actividad física tiene mejores resultados sobre el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares y mortalidad por todas las causas que ambos por separado (137). Además, un estilo de vida mediterráneo también reduce la gravedad y el riesgo de la

EHGNA (138). El estilo de vida mediterráneo, caracterizado precisamente por la combinación de dieta mediterránea y práctica regular de actividad física, ha demostrado que mejora el síndrome metabólico y la EHGNA. Probablemente, se deba al efecto beneficioso que tiene sobre los distintos parámetros que constituyen el síndrome metabólico, es decir, la obesidad, la hipertrigliceridemia, la diabetes mellitus de tipo 2 y la hipertensión. Entonces, se reduce la grasa hepática y la esteatosis al seguir un estilo de vida mediterráneo. No obstante, todavía se requieren más estudios que profundicen en el efecto combinado de dieta mediterránea y actividad física sobre la EHGNA (83).

2.4.Recomendaciones de actividad física para la población con EHGNA.

Todavía no se han estipulado unas recomendaciones de actividad física claras para la población con EHGNA, pero la presencia de diversos estudios que investigan sobre el tema ha dado algunas pistas para conocer ciertas pautas. Se ha señalado que para la obtención de los beneficios de la actividad física sobre la EHGNA las intensidades de actividad más idóneas tienen que ir de moderadas a intensas (139). Se ha demostrado que entre 3 y 5 sesiones a la semana de actividad física moderada o vigorosa (lo que equivaldría aproximadamente a unos 150-200 minutos semanales) disminuye el desarrollo de EHGNA (140). Se recomienda que además sean ejercicios de fuerza aeróbicos con una duración de 30 a 60 minutos por sesión (141). Incluso un estudio determinó que realizar 2500 pasos diarios adicionales a lo habitual puede reducir la enfermedad hepática en un 38% y, en concreto, la EHGNA en un 47% (142).

3. Relación entre EHGNA y un estilo de vida activo.

Como ya se ha comentado, un estilo de vida activo con práctica regular de actividad física, tiene importantes beneficios sobre la salud de las personas (83). En concreto, se ha reportado que existe una relación entre la actividad física y el riesgo a padecer EHGNA, siendo más habitual la falta de actividad física precisamente entre las personas con EHGNA (143–145). Un estilo de vida activo puede mejorar la diabetes mellitus tipo 2 y los parámetros que componen el síndrome metabólico, los cuales son importantes factores de riesgo para la EHGNA. Tal efecto se consigue a través de la actividad física porque reduce el peso, la hipertrigliceridemia, la hipertensión, aumenta los niveles bajos de colesterol HDL y mejora la resistencia a la insulina (83,141).

Estudios recientes han demostrado que la actividad física se asocia a una disminución de la EHGNA, incluso con independencia de la adiposidad (142). Igualmente, los altos niveles de actividad física y el entrenamiento de resistencia disminuyen el riesgo de desarrollar EHGNA (146). No obstante, aunque cada vez son más los estudios que evalúan la relación entre la actividad física o el estilo de vida activo y la EHGNA, todavía no existe una asociación clara entre distintas pruebas de aptitud física y la EHGNA, o entre la intensidad de la actividad y la EHGNA. Es un tema emergente pero aún faltan más estudios que profundicen en el tema, de ahí la importancia del estudio y trabajo realizado para la presente Tesis Doctoral.

4. Pandemia Covid-19.

El 14 de marzo de 2020 se declaró todo el estado español en estado de alarma, limitando la libertad de circulación de las personas debido a la pandemia del Covid-19 (147). Lo que empezó siendo una contención de quince días, se prorrogó hasta cuatro veces, hasta el 24 de mayo de ese mismo año. Entonces, empezó un plan de desescalada para recuperar las actividades sociales y económicas poco a poco. Este plan se basó en la “Hoja de ruta común europea para el levantamiento de las medidas de contención de la COVID-19” que fue elaborada por la Comisión Europea y el respectivo presidente del Consejo Europeo teniendo en cuenta las pautas recomendadas por la OMS (148). La **Figura 7** muestra algunas de las portadas de periódicos españoles anunciando el estado de alarma.



Figura 7: Portadas de periódicos anunciando el estado de alarma en España el 14 de marzo de 2020. Fuente:

<https://www.europapress.es/nacional/noticia-portadas-periodicos-sabado-14-marzo-2020-20200314013015.html>

[https://www.who.int/health-topics/physical-activity - tab=tab 1\(149\).](https://www.who.int/health-topics/physical-activity - tab=tab 1(149))

En total, de manera aproximada, fueron casi tres meses de confinamiento, lo que, por supuesto, tuvo importantes consecuencias sobre la salud de la población. Durante todo ese tiempo, como puede verse en la **Figura 8**, las noticias mostraban una triste realidad nunca vivida anteriormente: equipos realizando trabajos de desinfección e informando a la gente de la importancia de quedarse en casa para frenar los contagios de Covid-19, traslados de pacientes contagiados, habilitación de hoteles para acoger a los enfermos por

sobresaturación de hospitales y sanitarios, muertes, personal sanitario realizando pruebas Covid-19 dentro de los propios vehículos de los posibles contagiados, la soledad en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) y un largo y triste etcétera (150). Todo ello provocó ansiedad, miedo, desorientación, desconsolación y, en definitiva, importantes trastornos de salud mental entre la sociedad. Durante el confinamiento el 46% de la población en España declaró haber aumentado su malestar psicológico. Según el Centro de Investigaciones Sociológicas (CIS), un 43.7% de la población ha padecido ansiedad desde que empezó la pandemia, y un 35.5% depresión (151).



Figura 8: Imágenes de la situación en España durante el periodo de confinamiento por Covid-19. Fuente:

https://elpais.com/elpais/2020/04/14/album/1586850601_616193.html#foto_gal_8
https://www.who.int/health-topics/physical-activity - tab=tab_1 (150).

El estado de alarma y el periodo de confinamiento aparecieron durante el desarrollo del estudio realizado para la presente Tesis Doctoral, lo que supuso parar el protocolo presencial establecido hasta el momento y adoptar uno nuevo online para no perder el seguimiento de los pacientes por completo.

En términos generales, la pandemia por Covid-19 y el consecuente confinamiento modificaron el estilo de vida de las personas. Como ya se ha dicho, la salud mental de las

personas se vio afectada de manera muy negativa, lo que provocó desgana y falta de optimismo (151). Entonces, aumentaron los niveles de sedentarismo, disminuyó la práctica regular de actividad física, y aumentó la obesidad (152). De forma más específica, los pacientes con EHGNA disminuyen su adherencia a la dieta mediterránea y a la actividad física durante el confinamiento. Esta modificación en el estilo de vida supone un incremento del riesgo metabólico puesto que, tal como se ha reportado, los pacientes con EHGNA mostraron un aumento de su peso y la evolución del hígado graso (153).

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis.

La EHGNA es una de las enfermedades hepáticas más frecuentes en la actualidad, con una prevalencia global que ya supera el 25%. Se caracteriza por la acumulación grasa en exceso en el hígado, sin que el abuso de alcohol sea la causa (83,154). También se define como la expresión hepática del síndrome metabólico, por lo que recientemente ha surgido el concepto de MAFLD (44). El conjunto de patologías que se engloban bajo el síndrome metabólico y que, por tanto, se convierten en potenciales factores de riesgo para la EHGNA son la obesidad, la hipertensión, la dislipidemia (hipertrigliceridemia y bajos niveles plasmáticos de colesterol HDL), la resistencia a la insulina y/o la diabetes mellitus tipo 2 (155).

No existe un tratamiento farmacológico específico para la EHGNA sino para las anomalías metabólicas que derivan en dicha patología, por lo que el mejor tratamiento existente hasta ahora es la modificación del estilo de vida con una dieta apropiada y la realización de actividad física con regularidad (156). La dieta más recomendada y estudiada por el momento es la dieta mediterránea, beneficiosa por sus componentes antioxidantes y antiinflamatorios, los cuales ralentizan el desarrollo de esteatosis hepática, mejoran los componentes del síndrome metabólico, y reducen el riesgo cardiovascular, así como la probabilidad de sufrir cáncer y muerte por cualquier causa (111,113,157,158).

Además, otro factor muy importante en el tratamiento de la EHGNA a través del estilo de vida es la actividad física. El sedentarismo o falta de actividad física se relaciona con un riesgo aumentado de enfermedades cardiovasculares, así como también una mayor mortalidad y morbilidad en adultos (159,160). Por el contrario, la práctica regular de actividad física tiene numerosos beneficios sobre la salud, entre los que destaca la disminución del riesgo de EHGNA. Un estudio determinó que la relación positiva entre la actividad física y la EHGNA podría darse incluso en casos en que no haya pérdida de peso (161). En esta línea, otro estudio señaló que el aumento de actividad física y reducción de EHGNA podría darse independientemente de la adiposidad (142). También hay estudios que profundizan un poco más y reportan que además de la práctica regular de actividad física, también es importante un entrenamiento de resistencia y altos niveles de actividad física para conseguir disminuir el riesgo de EHGNA, indicando que la intensidad de actividad física tendría que ser de moderada a vigorosa para obtener

beneficios en relación a la EHGNA (139,146). Un estilo de vida activo ayuda a regular los bajos niveles de colesterol-HDL y los altos niveles de triglicéridos en plasma, así como reduce el peso corporal y la hipertensión (162).

Así pues, la hipótesis de la presente Tesis Doctoral postula que la actividad física regular, en el marco de un estilo de vida saludable que incluye una dieta saludable, tiene efectos beneficiosos sobre la progresión y/o reversión de la EHGNA en adultos con síndrome metabólico.

Objetivo general.

El objetivo general de la presente Tesis Doctoral es evaluar la relación entre varios parámetros de la actividad física, el estilo de vida y la progresión y/o reversión de la enfermedad del hígado graso no alcohólico en una población de adultos con edades comprendidas entre los 40 y los 60 años con sobrepeso u obesidad, así como la evolución de dichos parámetros tras realizar seis meses de tratamiento sobre el estilo de vida.

Objetivos específicos.

Con el fin de alcanzar el objetivo general, se plantearon los siguientes objetivos específicos que se abordaron en distintos manuscritos:

1. Evaluar la evidencia científica sobre la relación entre el efecto del estilo de vida mediterráneo (actividad física regular y dieta mediterránea) en la prevención y reversión de la EHGNA.
2. Evaluar la asociación entre la actividad física y la EHGNA en adultos con síndrome metabólico.
 - a) Evaluar la relación entre los distintos parámetros del síndrome metabólico y los niveles de actividad física.
 - b) Evaluar la relación entre los indicadores de EHGNA y los niveles de actividad física.
3. Evaluar la asociación entre los estadios de esteatosis hepática y el rendimiento de actividad física en adultos con síndrome metabólico y EHGNA.
4. Analizar la evolución de distintos parámetros de actividad física y la propia condición física de adultos con EHGNA y síndrome metabólico después de una intervención de estilo de vida, con dieta y actividad física, de seis meses de duración.
5. Evaluar cómo las diferencias de actividad física debidas al confinamiento por la pandemia del Covid-19 afectan a los parámetros de actividad física y a la EHGNA en adultos con síndrome metabólico.

METODOLOGÍA

1. Diseño del estudio FLIPAN.

1.1. Descripción y objetivos del estudio.

El estudio sobre la “Prevención y reversión de la enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA) entre pacientes obesos con síndrome metabólico mediante intervención nutricional y de actividad física personalizada”, al que se le dio el acrónimo de FLIPAN (Fatty Liver In Physical Activity And Nutrition), es un ensayo clínico aleatorizado, multicéntrico, de grupos paralelos y de 1 año de duración; finalizado en abril de 2021.

Los pacientes del estudio padecían obesidad o sobrepeso, presentaban al menos 3 de los criterios de síndrome metabólico y tenían el diagnóstico de EHGNA por resonancia magnética nuclear (RMN). En el estudio se les proponía una intervención nutricional personalizada basada en la dieta Mediterránea, altamente rica en componentes bioactivos antiinflamatorios y antioxidantes, junto con actividad física también personalizada para prevenir y/o revertir EHGNA. Este tratamiento fue comparado con otras dos intervenciones nutricionales, una más convencional basada en la propuesta de AASLD (11), y otra también basada en la dieta Mediterránea, pero con 7 tomas al día.

El objetivo principal del estudio FLIPAN es evaluar en qué medida una intervención nutricional y de actividad física personalizada puede producir cambios en los depósitos de grasa hepática y, hasta qué punto, puede prevenir o retroceder a estadios posteriores la progresión de EHGNA durante un periodo de 1 año. Además, también pretende investigar nuevos biomarcadores no invasivos y económicos para la detección precoz de la enfermedad en futuras personas con obesidad; así como estudiar si existe una relación entre el hígado y los riñones.

Los objetivos secundarios incluyen la evaluación de los efectos de las intervenciones nutricionales con o sin actividad física sobre la propia aptitud física, la composición corporal (peso; circunferencia de cintura, cadera y cuello; grasa corporal y masa muscular libre de grasa; densidad mineral ósea), las pruebas de función hepática (transaminasas AST, ALT y GGT; albúmina; fosfatasa alcalina; recuento de plaquetas; tiempo de protrombina; bilirrubina total), los factores de riesgo relacionados con enfermedades hepáticas (IMC; obesidad abdominal; resistencia a la insulina; hipertensión; inflamación y estrés oxidativo), así como también los factores de riesgo relacionados con complicaciones cardiovasculares, la calidad del sueño, el bienestar psicológico, la calidad

de vida, o los gastos de tratamientos (teniendo en cuenta una menor necesidad de medicamentos farmacológicos).

1.2. Consentimiento informado y comité de ética.

Todos los participantes fueron informados de los objetivos y de las implicaciones del estudio, pudiendo reflexionar, hacer todas las preguntas que consideraran oportunas y tomar una decisión final totalmente voluntaria y libre. Al dar su consentimiento para participar en el estudio, mediante la firma del consentimiento informado, tenían claro su derecho a retirar dicho consentimiento en cualquier momento y dejar de participar. Conocen la información que están proporcionando al estudio, el uso que se hará de sus datos, así como su finalidad, y son conscientes de su autoridad para decidir sobre este uso.

Todos los procedimientos y el protocolo de estudio, elaborado siguiendo los estándares éticos de la Declaración de Helsinki, fueron aprobados por el Comité Ético de las Islas Baleares (ref. IB 2251/14 PI) y por el Comité Ético de la Universidad de Navarra (ref. 054/2015mod2).

El estudio se registró el 2020 en ClinicalTrials.gov con el número de identificación NCT04442620 (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04442620>).

1.3. Características de los participantes en estudio.

Todos los participantes del estudio son adultos de edad media, con sobrepeso u obesidad, diagnóstico de EHGNA y con, al menos, 3 de los criterios de síndrome metabólico según la definición publicada por “International Diabetes Federation” (IDF) (163). Entonces, al inicio del estudio los criterios de inclusión establecidos y evaluados fueron los que se muestran en la **Figura 9** (158).











-  Edad comprendida entre 40 y 60 años
-  Diagnóstico de EHGNA por ecografía y RMN
-  IMC ≥ 27 i < 40 Kg/m²
-  Reunir al menos 3 de los 5 criterios del síndrome metabólico según IDF
 -  IMC > 30 Kg/m² o aumento de la circunferencia de la cintura: ≥ 94 cm ♂ y ≥ 80 cm ♀
 -  Niveles de triglicéridos ≥ 150 mg/dL (1.7 mmol/L) o tratamiento específico
 -  Reducción del colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL): < 40 mg/dL (1.03 mmol/L) ♂ y < 50 mg/dL (1.29 mmol/L) ♀ o tratamiento específico
 -  Aumento de la glucosa plasmática en ayunas ≥ 100 mg/dL (5.6 mmol/L), o diagnóstico previo de diabetes mellitus tipo 2
 -  Aumento de la presión arterial: PA sistólica ≥ 130 o PA diastólica ≥ 85 mmHg, o tratamiento para la hipertensión previamente diagnosticada
-  Firma de consentimiento informado

Figura 9: Criterios de inclusión en el estudio FLIPAN. Fuente: Elaboración propia.

No obstante, los participantes no entraban en el estudio si cumplían alguno de los siguientes criterios de exclusión (158):

- Incapacidad o falta de voluntad para dar el consentimiento informado o comunicarse con el personal del estudio.
- Antecedentes documentados de enfermedad cardiovascular previa (angina de pecho, infarto de miocardio, procesos de revascularización coronaria, accidente cerebrovascular (isquémico o hemorrágico, incluidos los ataques isquémicos transitorios), arteriopatía periférica sintomática que haya requerido cirugía o que haya sido diagnosticada con técnicas de imagen vascular, arritmia ventricular, fibrilación auricular no controlada, insuficiencia cardíaca congestiva, miocardiopatía hipertrófica, y antecedentes de aneurisma aórtico ≥ 5.5 cm de diámetro o cirugía de aneurisma aórtico).
- Hemocromatosis.
- Antecedentes documentados de enfermedades hepáticas previas (distintas de la EHGNA).
- Cáncer activo o antecedentes de neoplasia en los últimos 5 años.
- Falta de voluntad o incapacidad para adherirse a la intervención dietética y de actividad física durante todo el periodo de estudio.

- Incumplimiento de las visitas programadas.
- Pérdida de peso (>5 Kg) durante los 6 meses anteriores al inicio del estudio.
- Procedimientos quirúrgicos previos para la pérdida de peso o cirugía bariátrica programada en los próximos 12 meses.
- Uso de medicamentos para perder peso durante los 6 meses anteriores a la visita.
- Antecedentes de resección intestinal, enfermedad inflamatoria intestinal.
- Obesidad asociada a una enfermedad endocrina (excepto hipotiroidismo tratado).
- Alergia a los alimentos o componentes de la dieta mediterránea.
- Trastornos psiquiátricos graves (esquizofrenia, trastorno bipolar, trastornos alimentarios, o depresión con hospitalización en los últimos 6 meses) o una puntuación en el cuestionario de Depresión de Beck >30 (164).
- Enfermedad grave con menos de 24 meses de esperanza de vida.
- Abuso crónico de drogas o alcohol (>21 y >14 unidades de alcohol a la semana para hombres y mujeres, respectivamente; 1 unidad = 125 mL de vino).
- Tratamiento con esteroides.
- Embarazo.

1.4. Reclutamiento y aleatorización.

El estudio FLIPAN es multicéntrico porque se ha desarrollado en dos centros:

1. El grupo de investigación en Nutrición Comunitaria y Estrés Oxidativo (NUCOX) de la Universidad de las Islas Baleares (UIB)-IUNICS, IdISBa y CIBEROBN, Palma, España.
2. El departamento de Ciencias de la Alimentación y Fisiología de la Facultad de Farmacia y Nutrición de la Universidad de Navarra (UNAV), Pamplona, España.

Ambos han tenido en cuenta los mismos criterios de inclusión y exclusión anteriormente expuestos para el proceso de reclutamiento y el mismo nivel de implicación, tanto en dicho proceso como en la toma de datos y mediciones.

El reclutamiento empezó el 26 de octubre de 2017 y se prolongó hasta el 29 de noviembre de 2019. Se elaboraron carteles informando del estudio y se repartieron entre los centros de atención primaria asociados a las dos universidades, además de en las mismas universidades. Los médicos de familia identificaron algunos posibles participantes y otros

se interesaron personalmente al ver los carteles. El personal del estudio contactó con todos ellos vía telefónica o por correo electrónico para explicarles brevemente el estudio e invitarles a asistir presencialmente a las sesiones informativas iniciales que tenían lugar en las dos universidades. Allí se explicaba el estudio, se resolvían todas las dudas que surgían entre los candidatos y se firmaba el consentimiento informado. En este momento se les informaba de que tendrían que cumplir con todos los criterios de elegibilidad para poder entrar en el estudio o, de lo contrario, serían excluidos. Todos los candidatos rellenaban la ficha de participante con sus datos personales y se les tomaba la presión sanguínea y algunas medidas antropométricas: altura, peso, IMC, circunferencia de cintura, cadera y cuello. Además, también debían informar de sus antecedentes médicos, historial de medicamentos previos, y de su estado psicológico a través del cuestionario de Depresión de Beck (164). Finalmente, se les entregaban ciertos cuestionarios para rellenar en casa y devolver en la siguiente visita (en caso de haber sido seleccionados según el cumplimiento o no de los criterios de inclusión y exclusión).

Con toda la información recopilada el personal del estudio analizó candidato a candidato si era apto o no para el estudio. Entonces, prosiguieron informando a cada uno de ellos, telefónicamente, de su inclusión o exclusión en el estudio. En caso de ser excluidos se informaba del por qué.

Todos los participantes incluidos en el estudio fueron aleatorizados en uno de los 3 grupos de intervención. La aleatorización fue estratificada de acuerdo con los siguientes criterios clínicos:

- a) Estadio de EHGNA o nivel de esteatosis hepática según la última ecografía realizada: 1 (medio), 2 (moderado), 3 (severo).
- b) Enfermedad diagnosticada de diabetes mellitus tipo 2: sí, no.
- c) Sexo: hombre, mujer.

Y a continuación, los pacientes seleccionados en cada una de estas tres secciones se aleatorizaron en una proporción 1:1:1 en los 3 grupos de intervención. Para este fin se utilizó el programa de minimización de escritorio de código abierto MinimPy (165).

Los grupos de intervención mencionados eran:

- CD: dieta convencional; según las recomendaciones AASLD (11) (“Conventional Diet”).
- MD-HMF: dieta mediterránea-alta frecuencia de comidas (“Mediterranean Diet-High Meal Frequency”).
- MD-PA: dieta mediterránea-actividad física (“Mediterranean Diet-Physical Activity”).

En la **Figura 10** puede observarse el “Flow-chart” del proceso de inclusión de los participantes en el estudio FLIPAN y de su posterior aleatorización.

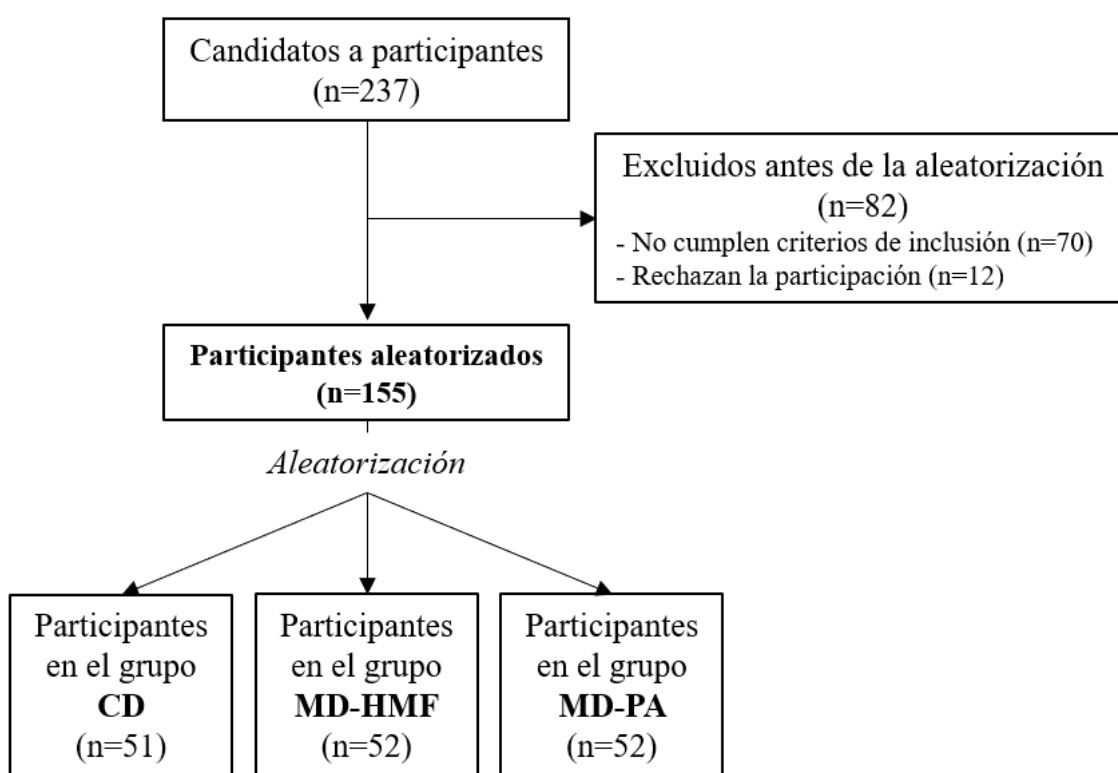


Figura 10: “Flow-chart” del proceso de inclusión y aleatorización en el estudio FLIPAN. Fuente: Elaboración propia.

Es importante dejar claro que, aunque fueron 155 los participantes finalmente aleatorizados, no todos los datos han sido utilizados para el análisis estadístico de los distintos artículos presentados en la presente Tesis Doctoral. El motivo de tal hecho es la ausencia de información en algunas variables, otras con datos ilógicos o confusos, así como el abandono voluntario del estudio por parte de algunos participantes a lo largo de los dos años de duración de éste.

1.5. Estrategias de intervención de cada grupo.

Todos los participantes incluidos en el FLIPAN continuaron recibiendo la atención sanitaria primaria en sus respectivos centros de salud, y por sus médicos de cabecera habituales, durante toda la duración del estudio. En ningún momento el personal propio del estudio prestó atención médica.

Como ya se ha mencionado, los participantes se aleatorizaron en tres grupos de intervención, los cuales todos comparten el objetivo de reducir el aporte calórico un 25-30% y aumentar el gasto energético en 400 Kcal/70 Kg, lo que equivaldría a 5.7 Kcal por 1 Kg de peso corporal. No obstante, aunque el objetivo y la recogida de datos fue similar en todos ellos, la intervención aplicada en cada grupo fue diferente.

❖ GRUPO CD

Los participantes en el grupo CD o dieta convencional tenían que conseguir la reducción del aporte calórico un 25-30% a través de una dieta constituida por los siguientes macronutrientes: 30% de grasa, 15% de proteínas, 55% de carbohidratos, y la ingesta de 25 g/día de fibra y <250 mg/día de colesterol. Además, la actividad física propuesta fue caminar, mínimo, 10000 pasos diarios, los cuales podían contabilizar con podómetros o aplicaciones del móvil recomendadas por el personal de actividad física del estudio. La **Figura 11** muestra de forma gráfica las recomendaciones dietéticas y de actividad física de este grupo de intervención.

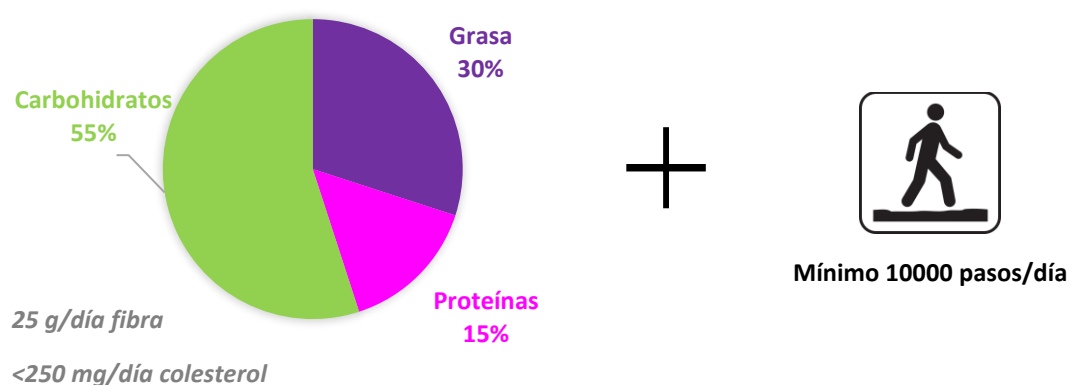


Figura 11: recomendaciones dietéticas y de actividad física del grupo CD. Fuente: Elaboración propia.

Para la dieta se siguieron las recomendaciones publicadas por AASLD (11). Ésta propone seguir las pautas generales del Departamento de Salud y Servicios Humanos y del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (166) para conseguir una restricción energética que permita la pérdida del 3% al 5% del peso corporal para observar mejoras en la esteatosis hepática. En cambio, para mejorar la fibrosis y el resto de parámetros histopatológicos característicos de EHNA recomienda perder entre un 7% y un 10% del peso corporal (11).

Para la actividad física se siguieron las directrices de actividad física marcadas por la OMS de caminar, al menos, 10000 pasos al día (167).

❖ GRUPO MD-HMF

Los participantes en el grupo MD-HMF o dieta mediterránea-alta frecuencia de comidas tenían que conseguir la reducción del aporte calórico un 25-30% a través de una dieta constituida por los siguientes macronutrientes: 30-35% de grasa, 25% de proteínas, 40-45% de carbohidratos. Se hizo especial hincapié en la importancia de consumir grasas saludables y alimentos con bajo índice glucémico y ricos en antioxidantes (frutas y verduras). La peculiaridad de este grupo es tenían que repartir su ingesta en 7 tomas a lo largo del día e ir reduciendo el contenido calórico en cada comida. Además, la actividad física propuesta fue también caminar, mínimo, 10000 pasos diarios, los cuales podían contabilizar con podómetros o aplicaciones del móvil recomendadas por el personal de actividad física del estudio. La **Figura 12** muestra de forma gráfica las recomendaciones dietéticas y de actividad física de este grupo de intervención.

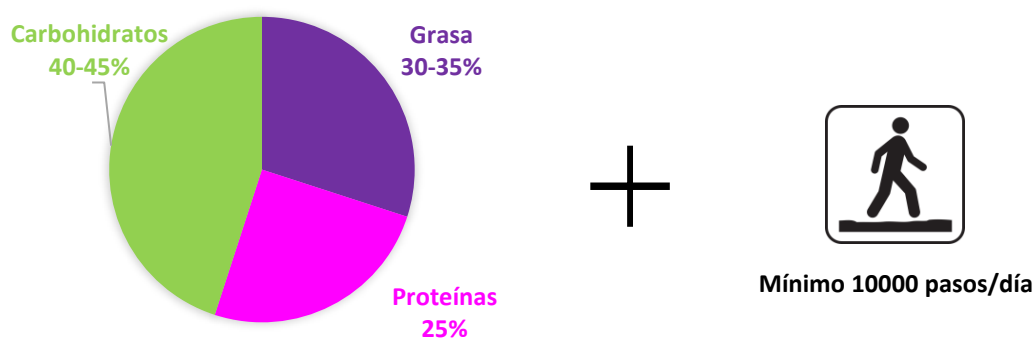


Figura 12: recomendaciones dietéticas y de actividad física del grupo MD-HMF.
Fuente: Elaboración propia.

La dieta de este grupo se basó en las recomendaciones de la dieta RESMENA (Reducción del Síndrome Metabólico en Navarra), la cual se ha visto que permite la pérdida de peso al reducir la masa grasa en personas con síndrome metabólico, además de mejorar el estado de estrés oxidativo en este tipo de pacientes (168). Sugiere una alta adherencia a la dieta mediterránea, lo que significa incorporar alimentos ricos en ácidos grasos mono- y poliinsaturados, como el aceite de oliva virgen extra, las nueces y otros alimentos ricos en omega-3. Además, recomienda que la fuente principal de proteínas sea vegetal y que los carbohidratos sean ricos en fibra y con bajo índice glucémico (169). La dieta RESMENA destaca dos elementos: la distribución de comidas a lo largo del día y una alta Capacidad Antioxidante Total. Defiende la idea de que la frecuencia y distribución de tomas al día ayuda a tener mayor sensación de saciedad y, por tanto, los participantes cumplen mejor con la dieta propuesta (168,170). Por eso, los participantes de este grupo tienen que realizar un total de 7 comidas al día, con el mayor aporte calórico al principio del día.

Para la actividad física se siguieron las directrices de actividad física marcadas por la OMS de caminar, al menos, 10000 pasos al día (167).

❖ GRUPO MD-PA

Los participantes en el grupo MD-PA o dieta mediterránea-actividad física tenían que conseguir la reducción del aporte calórico un 25-30% a través de una dieta constituida por los siguientes macronutrientes: 35-40% de grasa, 20% de proteínas, 40-45% de carbohidratos. También se le dio mucha importancia al consumo de grasas saludables y alimentos con bajo índice glucémico y ricos en antioxidantes (frutas y verduras). En este grupo la actividad física propuesta fue un entrenamiento de 35 minutos de duración, 3 días a la semana (dos sesiones presenciales con un instructor y una prescrita a distancia). La **Figura 13** muestra de forma gráfica las recomendaciones dietéticas y de actividad física de este grupo de intervención.

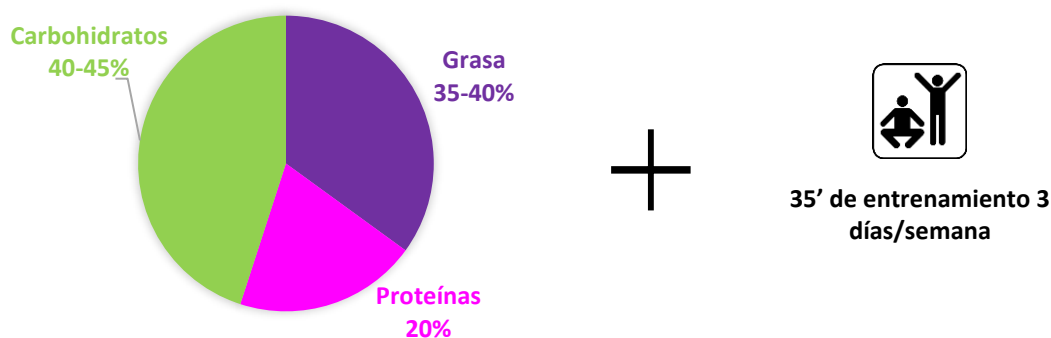


Figura 13: recomendaciones dietéticas y de actividad física del grupo MD-PA. Fuente: Elaboración propia.

La dieta propuesta en este grupo se basa en la dieta mediterránea, pero con 5 tomas al día. De forma más concreta, la distribución que propone dentro del consumo de grasas es que un 8-10% sean ácidos grasos saturados, >20% ácidos grasos monoinsaturados, >10% ácidos grasos poliinsaturados, y <300 mg/día de colesterol. Además, también propone que los carbohidratos elegidos tengan bajo índice glucémico, con un consumo rico en fibra (30-35 g/día). Finalmente, reduce el consumo de sodio a sólo 2.4 g/día, es decir, un máximo de 6g diarios de sal (171).

En cuanto a la actividad física, se propuso un entrenamiento semanal, adaptado a las necesidades de cada individuo, de intensidad moderada equivalente al gasto calórico de caminar 10000 pasos diarios (400 Kcal/70 Kg, como ya se ha comentado). El personal del Departamento de Ciencias de la actividad física y el deporte (GICAFE) de la UIB elaboró los protocolos de entrenamiento y formó al personal voluntario necesario para dar las sesiones de entrenamiento semanales. Éstas tenían una duración total de 35 minutos y consistían en 5 de calentamiento, 20 minutos de entrenamiento como tal, y 10 minutos de vuelta a la normalidad. El entrenamiento en sí estaba constituido por cinco ejercicios que permitían trabajar todos los músculos al final de cada sesión, los cuales iban cambiando para evitar la monotonía y conseguir una mayor adherencia a la actividad física. Al principio, cada uno de los cinco ejercicios duraba 45 segundos, seguidos de 90 segundos de recuperación; pero, con el avance del estudio, la duración de cada ejercicio se prolongó hasta los 60 segundos, y la recuperación se redujo también a 60 segundos. Dos sesiones se impartían presencialmente con personal formado, mientras que la tercera se realizó de forma remota (destacar que los participantes tenían a su alcance vídeos

elaborados por el equipo de investigación realizando la sesión de actividad física, además de folletos explicando dichos ejercicios).

Para facilitar la adherencia al tratamiento dietético, las dietistas se basaron en las preferencias alimentarias que registraron, cada uno de ellos, en sus respectivos recordatorios de 24 horas. Así mismo, la reducción calórica se calculó a partir de la estimación del gasto energético total, que se obtuvo de la estimación de la tasa metabólica en reposo mediante las ecuaciones de Harris-Benedict (172), y la aplicación sobre la tasa metabólica en reposo del correspondiente factor de actividad (173).

1.6. Información recogida.

Para llevar a cabo las intervenciones recién expuestas en el apartado anterior, los participantes incluidos y aleatorizados, después de la visita de reclutamiento, completaron la primera visita presencialmente donde tenían que traer los cuestionarios debidamente rellenos que se habían llevado a casa, y terminar la recogida de datos de esta primera visita con la ayuda del personal del estudio. La información recogida en esta visita y en las posteriores hasta completar los dos años del estudio se muestra en la **Tabla 3**.

Tabla 3: Recogida de datos en las distintas visitas del estudio FLIPAN.

Número de visitas programadas	V1	V2	V3	V4	V5
<i>Tiempo</i> ¹	<i>0M</i>	<i>5%</i>	<i>10%</i>	<i>6M</i>	<i>12M</i>
Ficha del participante ²	X				
Medidas antropométricas ³	X	X	X	X	X
Recordatorio dietético de 24h	X				
Criterios de inclusión y exclusión	X				
Aleatorización	X				
Tratamientos concomitantes	X	X	X	X	X
Eventos adversos	X	X	X	X	X
Electrocardiograma (en reposo)	X			X	X
Tensión arterial ⁴	X	X	X	X	X
Análisis sanguíneos	X			X	X
Análisis de orina ⁵	X			X	X
Heces ⁶	X			X	X
HOMA-IR	X			X	X
Evaluación de actividad física ⁷	X	X*	X*	X	X
Evaluación dietética ⁸	X	X†	X†	X	X
Ecografía	X			X	X
Evaluación de la fibrosis hepática ⁹	X			X	X
RMN	X			X	X
Cuestionario Beck	X			X	X
Cuestionario SER	X	X	X	X	X
Cuestionarios de calidad de vida/psicosociales ¹⁰	X			X	X

¹*Tiempo*: M=meses; 5%=pérdida del 5% del peso inicial; 10%=pérdida del 10% del peso inicial. Si los pacientes no consiguen la pérdida del 5% o del 10% de su peso inicial entre la visita basal y la de los 6 meses no hacen las visitas V2 y V3.

²*Ficha del participante*: incluye los consentimientos informados (el de participación en el estudio y el de uso de datos genéticos) y datos personales (demográficos, estilo de vida, estado civil, educación, situación profesional, historia familiar, maternidad en caso de las mujeres, enfermedades y tratamientos previos al estudio).

³*Medidas antropométricas*: altura, peso, IMC, circunferencia de cintura, cadera y cuello, y bioimpedancia.

⁴*Presión arterial*: en V1 se toma la presión arterial en ambos brazos para conocer en cuál la tensión es más elevada. A partir de ahí siempre se toma en el brazo de mayor presión arterial.

⁵*Análisis de orina*: se trata de la primera orina de la mañana. Los datos analizados son la albúmina, creatinina y el índice de albúmina/creatinina.

⁶*Heces*: evaluación mediante el cuestionario del patrón de defecación, y el cuestionario de Escala de heces de Bristol.

⁷*Evaluación de actividad física*: registro semanal de pasos, cuestionario Minnesota, batería de pruebas ALPHA-fit, capacidad aeróbica (prueba del Chester-step) y acelerómetro. *sólo se registran los pasos semanales.

⁸*Evaluación dietética*: cuestionario de frecuencia de alimentos y bebidas (FFQ de 148 preguntas), cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea, registro de alimentos de 72 horas. †sólo se registra el cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea.

⁹*Evaluación de la fibrosis hepática*: a través de medición de la onda de corte (SWM) (en la UIB), y elastografía transitoria (en la UNAV).

¹⁰*Cuestionario de calidad de vida y psicosocial*: SF-36, inventario de ansiedad estado-rasgo (STAI), cuestionario de saciedad mediante escala analógica visual (VAS), e índice de calidad del sueño mediante Pittsburgh.

Todas las visitas se realizaron presencialmente, pero si los participantes tenían dudas o cualquier tipo de problema, siempre tenían el contacto del personal del estudio para poder contactar y realizar visitas extra, ya fueran telefónicas o presenciales. Todas las visitas que fueron anuladas por algún motivo, se volvieron a reprogramar. Además de las visitas principales, es decir, 0, 6 y 12 meses, entre la basal y el medio año, las dietistas llamaron a los participantes para cerciorarse de si habían perdido el 5% o el 10% de su peso inicial. De ser así, hacían la visita presencial, aunque de manera más resumida que el resto de visitas principales. Cabe destacar que las visitas del 5% y el 10% no las realizaron todos los participantes, pues no todos obtuvieron esta pérdida de peso entre la visita inicial y la de los 6 meses. En cada visita principal los grandes bloques de estudio eran: dieta, actividad física, enfermería e imágenes hepáticas.

1.7. Herramientas de evaluación y de recogida de datos.

1.7.1. Evaluación sociodemográfica general, calidad de vida y psicosocial.

La gran mayoría de estos datos se recogieron con la ficha del participante (y posteriormente con las fichas de seguimiento): sexo, edad, procedencia, estado civil, nivel de educación, situación profesional, número de personas con las que convive, hábitos de consumo de alcohol y tabaco, posible maternidad en el caso de las mujeres, antecedentes familiares de enfermedades, antecedentes personales sobre posibles alergias y otras enfermedades, y posología en caso de tomar medicamentos. Además se completaron los cuestionarios de depresión de Beck (164), el de Pittsburgh de calidad del sueño (174), el de calidad de vida SF-36 (175), y el inventario de ansiedad estado-rasgo (STAI) (176) para conocer mejor el estado psicosocial y la calidad de vida de los participantes.

1.7.2. Evaluación dietética.

Tal como su nombre ya indica, esta evaluación y recogida de datos la hicieron dietistas-nutricionistas totalmente preparadas y entrenadas. El objetivo era incrementar la adherencia a la intervención dietética de cada grupo y, posteriormente, mantener esta adherencia. La evaluación se hizo, principalmente, a través de tres grandes medios:

- El recordatorio de 72h.

Se trata de un pequeño diario elaborado por las dietistas con instrucciones específicas escritas en su inicio para que los participantes sepan en todo momento cómo proceder. Los recordatorios de 72 horas se daban a los participantes antes de cada visita para que pudieran reportar todo lo consumido los 3 días anteriores a dicha visita, y entregarlo ese día a su correspondiente dietista. Tenían que anotar todos y cada uno de los alimentos que consumían durante ese periodo de tiempo, incluidas su forma de cocción y el peso crudo o cocinado, además de las bebidas.

- El cuestionario de adhesión a la dieta mediterránea.

Es un cuestionario de 17 ítems o, mejor dicho, de 17 objetivos sobre la dieta mediterránea. Cada uno de ellos pregunta por la ingesta de un alimento o grupo de alimentos y establece la cantidad de ingesta adecuada. Si los participantes cumplen con la ingesta establecida en cada ítem se asigna 1 punto, de lo contrario 0 puntos. Una vez completado el cuestionario se suman todas las puntuaciones obtenidas con cada pregunta, obteniendo un resultado final entre 0 y 17 puntos. Cuanto más alta sea la puntuación más alta es también la adherencia a la dieta mediterránea por parte de los participantes, mientras que cuanto más baja sea la puntuación peor es su adherencia. Cabe mencionar que este cuestionario tiene su origen en el estudio PREDIMED (177).

En el caso del estudio FLIPAN es necesario hacer una mención especial al último ítem: “17. ¿Bebe usted vino? ¿Cuánto consume a la semana?”. Si los participantes cumplen con la respuesta establecida “Hombres: 2-3 vasos/día; mujeres: 1-2 vasos/día” obtienen un 1 punto en esta pregunta. Sin embargo, hay que tener en cuenta que los participantes del estudio FLIPAN tienen EHGNA, y que ésta puede estar estrechamente relacionada con el consumo de alcohol moderado (178). Por eso se recomendó a los participantes que cumplieran con este ítem no beber ningún tipo de bebida alcohólica, ni tan solo vino. Entonces, en estos casos concretos la puntuación más alta que podían obtener en este cuestionario, indicando la máxima adherencia a la dieta mediterránea, eran 16 puntos.

- El cuestionario de frecuencia de alimentos y bebidas (FFQ de 148 ítems).

Con este cuestionario se recoge información sobre la ingesta dietética del último año (179). Se trata de una extensa lista de 148 alimentos y bebidas, cada uno de ellos con unas determinadas proporciones o cantidades. Se preguntó a los participantes cuál era la frecuencia de consumo de cada uno de los ítems establecidos y tenían que escoger una de las nueve posibles frecuencias que se plantean por respuesta, desde “nunca o casi nunca”

hasta el aumento progresivo de “seis o más veces al día”. Así pues, cada una de las frecuencias de consumo se multiplicaba por las proporciones o cantidades establecidas para cada alimento para conocer la ingesta de energía y nutrientes, a través de un programa informático basado en tablas de composición de alimentos (180). Los macronutrientes que se extrajeron del FFQ fueron: grasas totales, grasas de origen vegetal y animal, ácidos grasos mono- y poliinsaturados, ácidos grasos saturados, ácidos grasos linolénico, linoleico y omega-3, colesterol; carbohidratos totales y fibra; proteínas totales y proteínas de origen vegetal y animal; ingesta de alcohol (todos expresados en gramos por día); y energía total (expresada en kilocalorías por día). A su vez, los micronutrientes que se extrajeron del FFQ fueron: fósforo, potasio, sodio, calcio, magnesio, hierro (todos ellos expresados en miligramos por día) y selenio (expresado en microgramos por día); además de las vitaminas A, B12, ácido fólico y D (expresadas en microgramos por día), B1, B2, B3, B6, C y E (expresadas en miligramos por día).

Sin embargo, además de estos tres grandes cuestionarios, las dietistas recopilaron más información relacionada con la alimentación a través de otros cuestionarios como el SER (del inglés “Self-reported eating rate”) (181,182) y el de saciedad mediante escala analógica visual (VAS) (183).

1.7.3. Evaluación de actividad física.

Todos los grupos de intervención (CD, MD-HMF, MD-PA), independientemente de cuales fueran sus recomendaciones, realizaron las mismas pruebas de evaluación de estado físico en cada visita. La recogida de datos fue realizada por personal entrenado a tal fin y consistía en dos grandes bloques:

- El cuestionario de actividad física en tiempo libre de Minnesota.

Este cuestionario es realizado por el personal del estudio y recoge la actividad realizada por los participantes en su tiempo libre y/o tareas del hogar en el último año (184,185). Consta de un total de 63 actividades diferentes las cuales, a su vez, se dividen en 8 categorías específicas: andar, bailar, subir escaleras / ejercicios de mantenimiento general / actividades acuáticas / deportes de invierno / deportes en general / actividades en el jardín / trabajos y actividades caseras / caza y pesca. Además, hay un apartado de “otros (sin especificar)” en caso de que el participante haga algún tipo de actividad distinta a las

contempladas. Entonces, para cada actividad, los participantes tenían que indicar el promedio de veces al mes que realizaban dicha actividad y su duración. Cada ejercicio o actividad se correspondía con un código determinado de intensidad, el cual, junto con la duración anual del ejercicio en minutos, permitía calcular el gasto energético reportado expresado como equivalentes metabólicos de trabajo o, en inglés, “Metabolic Equivalent of Task” (MET)·min·día⁻¹ (186).

- Batería de pruebas ALPHA-Fit para adultos de edad 18-69 años (187) y prueba del Chester Step.

Por un lado, la aptitud funcional de los participantes se midió a través de la batería de pruebas ALPHA-Fit, las cuales medían el control postural a través de la prueba de equilibrio, la fuerza de agarre y presión manual de pie y sentados, la potencia extensora de las extremidades inferiores mediante la prueba de salto, y la capacidad de resistencia de las extremidades superiores y estabilidad del tronco a través de la realización de flexiones.

A) La prueba de equilibrio consistía en aguantar el propio peso corporal sobre una pierna el máximo tiempo posible, es decir, hasta un minuto, sin apoyarse ni sujetarse a nada. Los participantes podían elegir sobre qué pierna querían realizar el ejercicio y, de no llegar al minuto, tenían una segunda evaluación para intentar mejorar el resultado.

b) La siguiente prueba, la de fuerza manual, consistía en apretar con la máxima fuerza un dinamómetro (Takei TKK 5401, Tokio, Japón, rango = 5–100 kg, precisión = 0.1 kg) con el brazo dominante y estando de pie (los participantes tenían dos evaluaciones). En cambio, la siguiente prueba era igual a la anterior pero sentados y con el brazo apoyado sobre una mesa, teniendo tres posibles evaluaciones. Tanto en la prueba de fuerza manual de pie como sentados se dejaban 10 segundos de descanso entre evaluación y evaluación.

c) Seguidamente se realizaba la prueba del salto, en la cual los participantes tenían que colocarse erguidos, de lado junto a una pared y con su brazo dominante completamente estirado para arriba sobre una regla pegada a dicha pared. Entonces, el personal del estudio tomaba esta primera marca en posición inicial. A continuación, los participantes podían bajar el brazo para ayudarse a coger impulso para arriba y saltar lo más alto posible dando un toque con la mano hasta donde llegasen de la regla. En este momento el personal del estudio debía tomar esta segunda marca, que era la del salto, pues la resta de ésta y la inicial eran los centímetros de salto de los participantes. Tenían también dos evaluaciones.

d) Finalmente, la última prueba contemplada en esta batería eran las flexiones modificadas. Los participantes empezaban en posición prona con las manos sobre las lumbares. Al empezar el tiempo tenían que llevar las manos a la altura de sus hombros y levantar el cuerpo recto hasta tener los brazos completamente estirados. En ese momento debían tocarse una mano con la otra del brazo contrario y volver a bajar para reiniciar el proceso. El personal del estudio iba contando el número de repeticiones bien hechas que hacían los participantes durante 40 segundos.

Por otro lado, se midió la capacidad aeróbica máxima (VO_2 máx.) a través de la prueba del Chester Step (188). Los participantes tenían que subir y bajar un escalón de 15 centímetros de altura (Chester Step Test Single Step 15 cm Height, Cartwright Fitness Limited, Huntington, Chester CH3 6DF, Reino Unido) al ritmo marcado por un metrónomo, sin apoyarse a ningún sitio y siguiendo las instrucciones ARRIBA/ARRIBA/ABAJO/ABAJO (teniendo en cuenta que cada una de estas indicaciones corresponde a una pierna, por lo que se sube una pierna, después la otra, se baja una pierna y después la otra, de manera reiterada). Cada ritmo tiene una duración de 2 minutos y, a ese tiempo, el personal del estudio tomaba la frecuencia cardíaca y aumentaba ligeramente el ritmo hasta que el participante indicaba que no podía seguir más, hasta que el pulsioxímetro marcaba alrededor del 80% de la frecuencia cardíaca máxima de cada participante, o hasta que completaban los 5 niveles establecidos. Una vez terminada la prueba, el personal del estudio calculaba VO_2 máx. a través de un programa informático del Chester Step (189). Para ello necesitaban la edad, el sexo y los datos de frecuencia cardíaca obtenidos durante la realización de la prueba.

En la **Figura 14** pueden observarse los distintos ejercicios explicados.

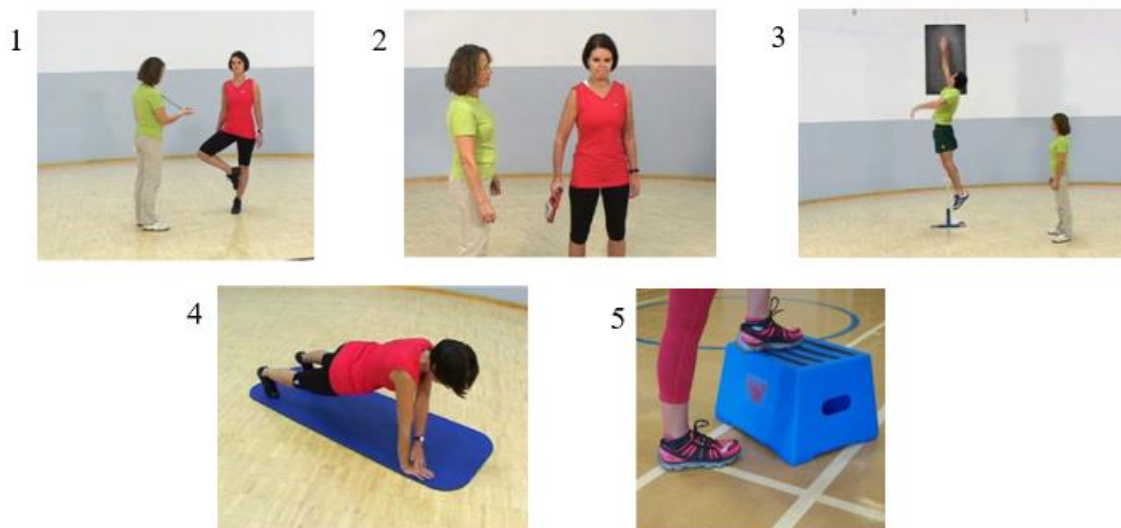


Figura 14: 1) Prueba de equilibrio, 2) prueba de fuerza y presión manual de pie, 3) prueba del salto, 4) prueba de flexiones modificadas, 5) prueba del Chester Step (187,189).

Además, a todos los participantes se les daba un acelerómetro (ActiGraph wGT3X-B; ActiGraph LLC, Pensacola, FL, USA) que debían llevar puesto en la muñeca izquierda durante 7 días, de día y de noche, sin quitárselo tampoco en contacto con el agua (190). Así, a su vuelta, el personal del estudio procesaba los acelerómetros para obtener información relativa a la actividad física de los participantes (quilocalorías y MET gastados a la semana, pasos diarios, sedentarismo y minutos de actividad con intensidades ligera, moderada, vigorosa y muy vigorosa a la semana), además de su calidad del sueño (eficiencia del sueño entre otros).

Debido a la importancia de este conjunto de pruebas físicas en el análisis de los resultados de los manuscritos presentados en la presente Tesis Doctoral, la **Figura 15** muestra la hoja de registro de batería de pruebas físicas. Todas ellas fueron realizadas en el mismo orden expuesto, por personal entrenado y en el mismo día. A la hora de analizar los datos siempre se hacía con la mejor puntuación obtenida de las distintas evaluaciones en cada prueba, la cual se contrastó con el rango de puntuaciones normales en función de la edad y el sexo (187).



HOJA DE REGISTRO BATERÍA DE PRUEBAS FÍSICAS

Código: _____ Mes: __ Fecha de la encuesta: __ / __ / ____

Localidad: _____

Persona responsable: _____

Batería de test de condición física

La realización de las pruebas físicas se efectuarán por el siguiente orden:

Equilibrio estático	1ª Evaluación		2ª Evaluación	
	Derecha	Izquierda	Derecha	Izquierda
Equilibrio sobre una pierna (60'')				

*El paciente puede elegir la pierna sobre la que quiere aguantarse. 60'' tiempo máximo.
Resultado: tiempo máximo de equilibrio.*

Fuerza y Presión Manual de pie	1ª Evaluación		2ª Evaluación	
	Derecha	Izquierda	Derecha	Izquierda
Dinamometría manual (Kg)				

*El paciente puede elegir el brazo preferido. Entre ambas evaluaciones debe haber 10''.
Resultado: mejor resultado de los 2 intentos.*

Fuerza y Presión Manual sentado	1ª Evaluación		2ª Evaluación		3ª Evaluación	
	Derecha	Izquierda	Derecha	Izquierda	Derecha	Izquierda
Dinamometría manual (Kg)						

*El paciente puede elegir el brazo preferido. Entre las tres evaluaciones debe haber 10''.
El paciente tiene que estar sentado y con el brazo apoyado sobre una mesa.
Resultado: valor de la media entre las dos medidas más altas.*

Potencia extensora de piernas	1ª Evaluación	2ª Evaluación
Altura de pie-Altura de salto (cm)		

*Se eleva la extremidad superior dominante.
Resultado: máximo salto.*

Capacidad de resistencia extremidades superiores y tronco	1ª Evaluación
Nº flexiones correctas	

40'' tiempo máximo.



CHESTER STEP TEST

ID: _____ SEXO: _____ EDAD: _____
 NOMBRE: _____ APELLIDOS: _____
 Altura step: _____ (normalmente siempre 30 cm / 12 inch)

	Heart Rate (bpm)	Rating Perceived Exertion (escala de Borg* 6-20)
Nivel I (15 steps/min=60bpm)		
Nivel II (20 steps/min=80bpm)		
Nivel III (25 steps/min=100bpm)		
Nivel IV (30 steps/min=120bpm)		
Nivel V (35 steps/min=140bpm)		
<i>Observaciones: Para poder pasar de nivel es necesario cumplir HR<80% y RPE<14 Cada nivel dura 2 minutos.</i>		

***ESCALA DE BORG**

Descripción de su esfuerzo	Calificación Borg	Descripción
Ninguno	6	Leer un libro o ver la TV.
Muy, muy ligero	7 – 8	Atar zapatos.
Muy ligero	9 – 10	Doblar ropa.
Bastante ligero	11 – 12	Esfuerzo insuficiente para acelerar la respiración (pasear).
Algo duro	13 – 14	Esfuerzo moderado: aceleración del ritmo cardiaco y la respiración, pero no quedarse sin aliento (caminar a paso ligero).
Difícil	15 – 16	Esfuerzo vigoroso: el corazón palpita y la respiración es muy rápida (natación).
Muy duro	17 – 18	Nivel máximo de actividad que puede sostener.
Muy, muy difícil	19 – 20	Actividad que no puede mantener durante mucho tiempo.

Figura 15: hoja de registro de batería de pruebas físicas para la evaluación de actividad física en cada visita.

1.7.4. Evaluación de antropometría y presión sanguínea.

A excepción de la altura que sólo se tomó en la primera visita, el resto de parámetros medidos se tomaron en cada visita realizada por los participantes. Éstos fueron: peso y composición corporal, IMC, y la circunferencia de cintura, cadera y cuello. Todas las medidas se tomaron por duplicado y con el sujeto ligero de ropa, sin zapatos y sin otro tipo de complementos que pudieran enmascarar las mediciones. Para medir la altura se siguieron las instrucciones marcadas por la OMS (191), es decir, el sujeto tenía que estar en posición totalmente recta, con la cabeza en el plano horizontal de Frankfort, y con la parte media de la espalda, las nalgas y los talones unidos en contacto con el tallímetro. Entonces, tenía que inspirar profundamente e inmediatamente después se medía su altura. Para ello se utilizó un estadiómetro móvil (Seca 213, SECA Deutschland, Hamburgo, Alemania). El peso y composición corporal se obtuvieron con un analizador de composición corporal por segmentos para pruebas de impedancia (Tanita MC780P-MA, Tanita, Tokio, Japón) y, aunque los participantes fueran descalzos y con ropa ligera, se restaron 0.6 Kg al peso corporal medido en representación de la ropa que llevaban puesta. El IMC fue calculado según la fórmula estándar, es decir, dividiendo el peso corporal de los participantes entre su altura al cuadrado en metros (Kg/m^2). Finalmente, las circunferencias de cintura, cadera y cuello se midieron con una cinta métrica no extensible y con los participantes erguidos. La cintura se midió en la línea horizontal del punto medio entre la última costilla y la cresta ilíaca, la cadera en la línea horizontal más ancha de las caderas, y el cuello en la línea horizontal entre la mitad de la columna cervical y la mitad del cuello anterior.

Referente a la presión sanguínea, también fue tomada en cada visita, y los participantes tenían que vestir manga corta o quitarse las camisetas con mangas largas para que la ropa no interfiriera en las mediciones. Entonces, se sentaban apoyando el codo de su brazo no dominante sobre la mesa, más o menos, a la altura del corazón. Después de relajarse 5 minutos, se les tomaba la tensión por triplicado con un oscilómetro semiautomático validado (Omron HEM-705CP, Hoofddorp, Países Bajos). Entre medida y medida se dejaron 2 minutos de descanso.

1.7.5. Evaluación de imágenes hepáticas.

En cada visita principal (basal, 6 y 12 meses), uno de los bloques importantes era el de las imágenes hepáticas. Éstas se realizaban en la Clínica Universidad de Navarra (Pamplona) para el grupo de la UNAV, y en el Hospital Juaneda Miramar (Palma) para el grupo de la UIB. Básicamente fueron: ecografía y medición de fibrosis (elastografía) y RMN, las cuales se describen con más detalle a continuación.

- Ecografía y medición de fibrosis (elastografía).

La técnica de ultrasonografía estudiaba el nivel de esteatosis hepática a través de la evaluación visual de la ecogenicidad del hígado, de la correlación visual de la diferencia en la amplitud del eco entre el hígado y los riñones, y en la determinación de la claridad de las estructuras de los vasos sanguíneos en el hígado. La clasificación que se extrajo para el hígado graso a partir de esta técnica de imagen fue: grado 0 (<5%), grado 1 (5-33%), grado 2 (33-66%) y grado 3 (>66%) (192).

La evaluación de la fibrosis hepática se determinó estudiando la elasticidad o rigidez del hígado. Según cada centro se utilizaron: un ecógrafo Arietta V70 (Hitachi Medical Systems Europe Holding AG. Steinhausen. Suiza) con sonda convexa y un software SWM (del inglés “Shear Wave Measurement”, es decir, medición de ondas de cizallamiento); y un FibroScan® (Echosens, París, Francia) para la elastografía transitoria. Ambos sistemas proporcionan resultados similares, pues SWM tiene un rendimiento diagnóstico comparable a la elastografía transitoria (193–195). Las dos técnicas requerían la misma posición por parte de los sujetos de estudio, éstos tenían que tumbarse en posición decúbito supino y mantener una respiración relajada, con su brazo derecho por encima de la cabeza, dejando así un fácil acceso al costado.

Por una parte, en SWN, el personal encargado de realizar las ecografías, situó una región de interés (ROI) en el parénquima hepático evitando los grandes vasos sanguíneos. Entonces, el impulso de ultrasonidos focalizado del ecógrafo generó ondas de cizallamiento, la velocidad de propagación de las cuales se convierte en una medida cuantitativa de la rigidez del tejido hepático, que se expresa en Kilopascales. Cuanto más rígido estaba el hígado, mayor velocidad de propagación de las ondas de cizallamiento se obtenía (196).

Por otra parte, en la elastografía transitoria, se realizaron disparos repetidos después de encontrar un fragmento hepático adecuado libre de grandes vasos, hasta obtener un total de 10 mediciones consideradas válidas (197). Finalmente, la fibrosis hepática se clasificó siguiendo la puntuación METAVIR: F0-F1 o sin fibrosis-fibrosis leve, F2 o fibrosis moderada (con punto de corte 6.44 kPa), F3 o fibrosis severa (con punto de corte 7.82 kPa), F4 o cirrosis (con punto de corte 8.40 kPa) (198,199).

- RMN.

Con esta técnica no invasiva se calculaba el porcentaje de grasa hepática media de cada participante mediante la resonancia magnética abdominal (Signa Explorer 1.5T, General Electric Healthcare, Chicago, Illinois, Estados Unidos, o Siemens Aera 1.5T, Siemens Medical Systems, Erlangen, Alemania; en función de cada centro). La RMN se basa en el principio básico de la diferencia de frecuencia inherente entre la resonancia de metileno en los lípidos y el agua. La pérdida de señal durante la realización de la prueba es proporcional a los lípidos acumulados, por lo que el grado de pérdida de señal es proporcional a la cantidad de lípidos en el hígado, lo que permite detectar el grado de hígado graso (200). De acuerdo a la clasificación de Tang, la EHGNA evaluada por RMN se clasificó en: inexistente o grado 0 si el porcentaje de grasa hepática es <6.4%, medio o grado 1 si el porcentaje de grasa hepática es 6.4-17.4%, moderado o grado 2 si el porcentaje de grasa hepática es >17.4-22.1%, y severo o grado 3 si el porcentaje de grasa hepática es >22.1% (60).

Esta misma técnica de detección fue utilizada para evaluar el hierro hepático en los participantes pertenecientes al grupo de la UIB. A través de la estación de trabajo Advantage con el software CARDIAC VX (AW, General Electric Healthcare, Chicago, Illinois, Estados Unidos) se cuantificó la sobrecarga de hierro del parénquima hepático de los dos lóbulos que constituyen el hígado mediante secuencias ponderadas en T2*. Finalmente, el hierro hepático se clasificó en normal (>20 ms), medio o moderado (10-20 ms) y severo (<10 ms) (201).

1.7.6. Evaluación bioquímica.

En cada visita se realizaron extracciones sanguíneas en ayunas y recolecta de la primera orina de la mañana. Una parte de estas muestras se congelaron para posteriores análisis,

y otra parte se utilizó para extraer información bioquímica en el laboratorio usando los métodos enzimáticos estándar. En el caso del grupo de la UNAV, el trabajo de laboratorio tuvo lugar en la Clínica Universidad de Navarra (Pamplona), mientras que en el grupo de la UIB se realizó en el Hospital Universitari Son Espases (Palma). La lista final de parámetros obtenidos es la siguiente: glucosa, insulina, hemoglobina normal y glucosilada (HbA1c), hemoglobina corpuscular media y concentración de hemoglobina corpuscular media, colesterol total, colesterol LDL y HDL, triglicéridos, AST, ALT, GGT, bilirrubina directa y total, proteína C reactiva, fosfatasa alcalina, albúmina, ácido úrico, creatinina, homocisteína total, hormona estimulante de la tiroides o más conocida como TSH, tiempo de protrombina (en segundos, en porcentaje y en el ratio internacional normalizado o INR), recuento de eritrocitos, neutrófilos, monocitos, linfocitos, leucocitos, eosinófilos y basófilos, hematocrito, volumen celular medio, ancho de la distribución de las células sanguíneas rojas, coeficiente de variación del ancho de la distribución de las células sanguíneas rojas, ancho de la distribución de plaquetas, plaquetas, proporción de plaquetas grandes (P-LCR), volumen plaquetario medio, y componente plasmático de la trombotina. Además, el grupo de la UIB solicitó análisis extra: calcio, cloro, ferritina, hierro, potasio, sodio, transferrina y saturación de transferrina, urea, creatina fosfoquinasa, osmolaridad sérica, fibrinógeno, colesterol no-HDL, VLDL, tiroxina o T4 (en caso de que la TSH saliera fuera del rango de normalidad), tiempo de trombotina parcial activado y proteínas totales.

A partir de estos parámetros se aplicaron ciertas fórmulas para calcular algunos índices relacionados con el estado de hígado graso. Fue el caso del índice de esteatosis hepática (HSI por sus siglas en inglés “Hepatic Steatosis Index”) (202), el índice de hígado graso (FLI por sus siglas en inglés “Fatty Liver Index”) (203), y el índice de fibrosis-4 (FIB-4) (204). Además, también se calcularon otros índices como el modelo homeostático de resistencia a la insulina (HOMA-IR, del inglés “homeostatic model assessment for insulin resistance”) (205), el índice de triglicéridos y glucosa (TyG) (206), así como la filtración glomerular estimada (eGFR del inglés “estimated glomerular filtration rate”) (207).

Todos los resultados se entregaron a los participantes en sus respectivas visitas y, en caso de que hubiera resultados clínicamente significativos, se les llamó para informarles con anterioridad, darles nuevas indicaciones, o recomendarles visitar su médico de cabecera.

1.8. Creación de variables nuevas.

Con el fin de estudiar los distintos ejercicios planteados para la evaluación del estado físico, en su conjunto, se crearon dos nuevas variables sobre la puntuación de aptitud física funcional con las que se han realizado los manuscritos. En cada uno de ellos se explica de forma más detallada.

Por una parte, está la puntuación de aptitud física funcional de las pruebas (“fitness score tests” en los manuscritos) y, por otra, la puntuación de aptitud física funcional de los acelerómetros (“accelerometer fitness score” en los manuscritos).

El primer paso para la elaboración de la puntuación de aptitud física funcional de las pruebas fue calcular la mediana según el sexo de las pruebas de actividad física de equilibrio con una pierna, fuerza y presión manual de pie, salto y flexiones. Entonces, la mediana según el sexo de cada prueba se utilizó como valor de corte específico:

- todas las puntuaciones inferiores a la mediana obtuvieron 0 puntos (nivel de aptitud física funcional inferior a la mediana para su sexo),
- todas las puntuaciones por encima de la mediana obtuvieron 1 punto (nivel de aptitud física funcional superior a la mediana para su sexo).

Así, la mejor puntuación de aptitud física funcional de las pruebas para cada participante era 4, es decir, conseguir 1 punto en cada prueba física expuesta.

Para elaborar la puntuación de aptitud física funcional de los acelerómetros se realizó el mismo procedimiento explicado, pero con las mediciones realizadas por los acelerómetros en cuanto a las distintas intensidades de actividad física (sedentarismo, ligero, moderado) y eficiencia del sueño. De este modo, la mejor puntuación de aptitud física funcional de los acelerómetros volvía a ser 4, es decir, conseguir 1 punto en cada intensidad de actividad física y eficiencia del sueño.

1.9. Metodología de la revisión sistemática.

El primer manuscrito de la presente Tesis Doctoral se trata de una revisión sistemática, la cual se elaboró siguiendo las pautas recomendadas por la guía PRISMA (208). Todos los artículos incluidos fueron revisados por dos revisores como mínimo y, en caso de diferencia de opiniones, se resolvieron por consenso mutuo.

1.10. Análisis estadístico.

Todos los cálculos estadísticos se realizaron con el programa informático SSPS (del inglés “Statistical Package for Social Sciences”) versión 25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, Estados Unidos). La normalidad de las variables cuantitativas fue estudiada mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov (cuando el tamaño de la muestra era >30). Entonces, se expresaron como media y desviación estándar y/o como mediana y rango intercuartílico (IQR). Las variables cualitativas se expresaron como número de participantes (n) y porcentaje.

- Análisis transversal.

El primer paso fue evaluar la normalidad de las variables cuantitativas pues, en función de si seguían una distribución normal o no, se aplicaron pruebas paramétricas o no paramétricas, respectivamente. En los manuscritos de la presente Tesis Doctoral con análisis transversal, todas las variables siguieron una distribución no normal, por eso la comparación de medias se realizó con las pruebas de U-Mann-Whitney (en comparaciones de 2 grupos) y Kruskal-Wallis (en comparaciones de 3 grupos). Las pruebas post-hoc se ajustaron de acuerdo con Bonferroni. Los resultados con un p-valor inferior a 0.05 (siempre bilateral) se consideraron estadísticamente significativos.

Para las variables cualitativas se utilizó la prueba estadística del Chi cuadrado de Pearson (X^2).

La relación entre variables se analizó con modelos de Regresión Logística Binaria para calcular el Odds Ratio (OR) y sus respectivos intervalos de confianza (IC) al 95%. Se hicieron varios análisis, el primero siempre crudo sin ajustar, y el resto ajustados por las posibles variables de confusión.

En este tipo de análisis todos los cálculos se han hecho en el tiempo basal del estudio.

- Análisis longitudinal.

De nuevo, el primer paso fue determinar la normalidad de las variables tal como se ha descrito en el anterior análisis. Todas ellas presentaron una distribución no normal, por lo que se hizo una transformación logarítmica previa al análisis para considerar normalidad. Sin embargo, los resultados se presentaron como datos sin transformar en las tablas para facilitar su interpretación.

El análisis estadístico aplicado para estudiar los cambios ocurridos entre los distintos grupos de intervención durante los 6 primeros meses de intervención fue el ANCOVA de medidas repetidas de dos factores, a través del Modelo Lineal Generalizado. Los factores fueron, el tiempo (basal y 6 meses) como medida repetida y el grupo (de acuerdo a los grupos de intervención establecidos). Todas las pruebas post-hoc se ajustaron por Bonferroni, tanto en las comparaciones intra-grupos como en las inter-grupos. Otra vez, los resultados con un p-valor inferior a 0.05 (siempre bilateral) se consideraron estadísticamente significativos.

RESULTADOS

Manuscrito I

Association between Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Mediterranean Lifestyle: A Systematic Review.

Mascaró CM, Bouzas C, Tur JA.

Nutrients. 2021 Dec 23; 14(1):49.

DOI: [10.3390/un14010049](https://doi.org/10.3390/un14010049)

Revista: Nutrients

Factor de impacto (2021): 6.706

15/90 - Nutrition & Dietetics, Q

Manuscrito II

Association between Physical Activity and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Adults with Metabolic Syndrome: The FLIPAN Study.

Mascaró CM, Bouzas C, Montemayor S, Casares M, Gómez C, Ugarriza L, Borràs P-A, Martínez JA, Tur JA.

Nutrients. 2022 Mar 3; 14(5):1063.

DOI: [10.3390/un14051063](https://doi.org/10.3390/un14051063)

Revista: Nutrients

Factor de impacto (2021): 6.706

15/90 - Nutrition & Dietetics, Q1

Manuscrito III

Association between Stages of Hepatic Steatosis and Physical Activity Performance in Adults with Metabolic Syndrome: A Cross-Sectional Analysis in FLIPAN Study.

Mascaró CM, Bouzas C, Montemayor S, Casares M, Gómez C, Ugarriza L, Borràs P-A, Martínez JA, Tur JA.

Nutrients. 2022 Apr 24; 14(9):1790.

DOI: [10.3390/un14091790](https://doi.org/10.3390/un14091790)

Revista: Nutrients

Factor de impacto (2021): 6.706

15/90 - Nutrition & Dietetics, Q1

Manuscrito IV

Effect of a Six-Month Lifestyle Intervention on the Physical Activity and Fitness Status of Adults with NAFLD and Metabolic Syndrome.

Mascaró CM, Bouzas C, Montemayor S, Casares M, Llompart I, Ugarriza L, Borràs P-A, Martínez JA, Tur JA.

Nutrients. 2022 Apr 26; 14(9):1813.

DOI: [10.3390/un14091813](https://doi.org/10.3390/un14091813)

Revista: Nutrients

Factor de impacto (2021): 6.706

15/90 - Nutrition & Dietetics, Q1

Manuscrito V

Impact of Physical Activity Differences Due to COVID-19 Pandemic Lockdown on Non-Alcoholic Fatty Liver Parameters in Adults with Metabolic Syndrome.

Mascaró CM, Bouzas C, Montemayor S, García S, Mateos D, Casares M, Gómez C, Ugarriza L, Borràs P-A, Martínez JA, Tur JA.

Nutrients. 2022 Jun 8; 14(12):2370.

DOI: [10.3390/un14122370](https://doi.org/10.3390/un14122370)

Revista: Nutrients

Factor de impacto (2021): 6.706

15/90 - Nutrition & Dietetics, Q1

RECAPITULACIÓN

La EHGNA se trata de una patología ligada a ciertas anomalías metabólicas que, en su conjunto, son más conocidas como síndrome metabólico. La resistencia a la insulina es uno de los factores desencadenantes más importantes. El tratamiento farmacológico específico actual para la EHGNA sigue siendo inexistente, pero, por desgracia, es una enfermedad en auge cada vez más frecuente y cuya prevalencia se estima que siga aumentando con los años. El único tratamiento farmacológico que existe en estos casos es aquel que combate las anomalías metabólicas que propician el desarrollo de EHGNA. Aunque la progresión hacia estadios más graves no es inmediata, cabe destacar que puede progresar hasta fibrosis, cirrosis e incluso hacia un carcinoma hepatocelular (9). Además, se relaciona con muchas otras enfermedades como es el caso de otro tipo de complicaciones hepáticas, dificultades con el sueño, obesidad abdominal, enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2 y patología renal crónica (209). Por eso es tan importante el adecuado diagnóstico y manejo de la EHGNA.

La primera estrategia a aplicar en el manejo de la EHGNA es el cambio de estilo de vida. Se trata del mejor tratamiento descrito hasta el momento para mejorar tanto el conjunto de enfermedades que constituyen el síndrome metabólico, como la EHGNA (157,210). Se ha visto que el comportamiento conductual de las personas con más impacto negativo sobre la EHGNA es el sedentarismo, la baja frecuencia de actividad física y seguir una dieta inadecuada. Así, el tratamiento que se recomienda en personas con EHGNA es seguir una dieta mediterránea y la práctica regular de actividad física, pues ésta se relaciona directamente con la EHGNA, la salud cardiovascular y metabólica, así como con la mortalidad en general. Además, se ha visto que la pérdida de peso también reduce el riesgo cardiovascular, el de diabetes y puede retroceder la enfermedad hepática (157).

1. Enfermedad de hígado graso no alcohólico y estilo de vida Mediterráneo.

Dieta mediterránea y EHGNA.

La dieta mediterránea tiene numerosos beneficios en lo que respecta a los desórdenes metabólicos que conforman el síndrome metabólico, las enfermedades cardiovasculares y la diabetes mellitus tipo 2 (111). Su composición rica en polifenoles, carotenoides,

vitaminas y grasas poliinsaturadas, con efectos antioxidantes y antiinflamatorios, es la que hace posible la mejora del síndrome metabólico al conseguir restablecer alguna, o la mayoría, de las patologías que lo conforman, es decir, la hipertrigliceridemia, los bajos niveles de colesterol HDL, la hipertensión, la obesidad abdominal y la glucemia en ayunas elevada (111,211). El conjunto de estos desórdenes metabólicos supone un riesgo aumentado de padecer diabetes mellitus tipo 2 y/o enfermedades cardiovasculares, por lo que la dieta mediterránea, por una parte, al mejorar el perfil lipídico y la glucemia protege contra la diabetes mellitus tipo 2; y por otra, al mejorar también la obesidad, la hipertensión y los altos niveles de colesterol, protege contra el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Por tanto, de forma global contribuye a la mejora del síndrome metabólico gracias, principalmente a la ingesta de alimentos como el aceite de oliva virgen extra, las frutas y verduras, los cereales integrales y el pescado, ricos en compuestos con efecto antioxidante y antiinflamatorio (127).

Otros alimentos tipo de esta dieta, a parte del aceite de oliva como ya se ha mencionado, son los frutos secos, de los que se destacan las nueces y el vino tinto (con moderación), los cuales son ricos en polifenoles. Éstos regulan genes y vías de señalización implicados en el proceso de inflamación, aterosclerosis, estrés oxidativo y función mitocondrial. De forma más concreta, ciertos estudios demuestran que los polifenoles inducen el incremento de la expresión de los ARN mensajero de los genes implicados en las vías reguladoras de la obesidad, la dislipidemia y la diabetes mellitus tipo 2. En primer lugar, regulan a la baja la expresión genética de la adipogénesis y la proliferación de adipocitos, y también disminuyen la acumulación de los triglicéridos circulantes, lo que contribuye a reducir la obesidad. En segundo lugar, referente a la dislipidemia, disminuyen la oxidación del colesterol LDL, lo cual tiene efecto positivo porque dicha oxidación desequilibra los niveles de lipoproteínas y desemboca en síndrome metabólico. En tercer lugar, los polifenoles reducen los niveles plasmáticos de glucosa y la consecuente secreción de insulina, lo que mejora la resistencia a la insulina y se asocia con los efectos beneficiosos sobre la diabetes mellitus tipo 2. Finalmente, se ha visto que los polifenoles también reducen la expresión de genes implicados en la regulación de la inflamación y genes ateroscleróticos, traduciéndose en un menor riesgo de enfermedad cardiovascular (212).

Un ensayo clínico estudió el efecto de una dieta para detener la hipertensión, conocida bajo el nombre de DASH por sus siglas en inglés “Dietary Approaches to Stop

Hypertension”, sobre la pérdida de peso y el estado metabólico en pacientes con sobrepeso y EHGNA. La base nutricional de DASH se basaba en la ingesta de frutas y verduras, cereales integrales y pocos ácidos grasos saturados y colesterol. Sin embargo, sólo se recomendó mantener la actividad física que los pacientes ya realizaban, sin introducir nuevas pautas de actividad ni ninguna intervención. Aun así, la dieta DASH mostró buenos resultados en cuanto a la mejora de la hipertrigliceridemia, los marcadores de insulina y las enzimas hepáticas, por tanto, el resultado final fue también una mejora de la EHGNA (213). Otro estudio recomendó a los pacientes seguir las pautas de una dieta mediterránea con frutas y verduras, cereales integrales, pescado, legumbres y poco ácidos grasos saturados; además de recomendar también una intervención de actividad física. La mejora de la EHGNA fue evidente (214). Así pues, queda patente que, a pesar de que las dietas tengan nombres diferentes, una base nutricional parecida a la propone la dieta mediterránea es muy importante para obtener resultados positivos sobre la EHGNA.

Existen numerosos artículos con suficiente evidencia científica de que seguir una dieta mediterránea se asocia a la prevención o mejora de la EHGNA (214–221). Específicamente, los componentes de la dieta mediterránea, como los ácidos grasos monoinsaturados del aceite de oliva, reducen los lípidos intrahepáticos y la presión arterial, además de controlar los niveles de glucosa y mejorar la sensibilidad a la insulina, la cual se asocia directamente con una menor gravedad de la EHGNA (222). Igualmente, también contribuye a la pérdida de peso corporal, y a la reducción del IMC, del perímetro de la cintura, de los índices de hígado graso, de los elevados niveles plasmáticos de triglicéridos y de ALT. Además, algunos resultados mostraron una cierta tendencia a disminuir también los niveles de AST (223). Estas evidencias reflejan que, en la mayoría de los casos, los beneficios de la dieta mediterránea sobre los parámetros del síndrome metabólico están estrechamente relacionados con los beneficios que se consiguen sobre la EHGNA (130).

Dieta mediterránea, actividad física y EHGNA.

La práctica regular de actividad física es un factor clave para mantener un buen estado de salud. En lo que refiere al tema de interés de la presente Tesis Doctoral, la actividad física tiene sus beneficios sobre la obesidad, la hipertensión, los trastornos lipídicos, como el descenso de la hipertrigliceridemia y el incremento de los niveles del colesterol HDL, y

otras características propias del síndrome metabólico, entre las cuales destaca la mejora de la resistencia a la insulina. Según la literatura científica, es necesario un buen entrenamiento de resistencia para conseguir también beneficios sobre la EHGNA. No obstante, también es necesario que la práctica de actividad física vaya ligada a una correcta dieta y a la mejora progresiva de la aptitud cardiorrespiratoria. Según un estudio, la intervención de 3 a 12 meses con ejercicio podría mejorar los niveles de aptitud cardiorrespiratoria y reducir el riesgo cardiovascular (130,223). Combinar los efectos de la actividad física y de la dieta mediterránea mejora los criterios del síndrome metabólico y de la EHGNA (215,218). A pesar de ello, ciertos estudios no dejan claro qué tipo de actividad física y qué intensidad es la más adecuada para conseguir los efectos descritos, al igual que también dudan del tipo de dieta más idóneo en estos casos (223,224). Un estudio más reciente, de acuerdo con el desarrollo de la presente Tesis Doctoral, informó de que el ejercicio ideal para obtener los beneficios de la actividad física sobre la EHGNA sería aquel que permitiera un gasto energético de 400 kcal para una persona que pesa 70 kg con una frecuencia de tres días a la semana. Además, considera que la intensidad de la actividad física tiene que adaptarse a la condición física y a las necesidades de cada persona para que tenga un mayor efecto (225). También es importante destacar que no cualquier dieta consigue efectos beneficiosos en el progreso de la EHGNA. La presente Tesis Doctoral demuestra que es la dieta mediterránea la mejor para paliar los factores de riesgo de la EHGNA y mejorar dicha patología por sus nutrientes ricos en antioxidantes. La mayoría de autores coinciden en que la combinación de una intervención con dieta mediterránea y práctica regular de actividad física proporciona mayores efectos positivos sobre la EHGNA (154,216,217,219–221,225–227). Se ha visto también que los efectos del estilo de vida mediterráneo serían evidentes, aproximadamente, tras un año de seguimiento (225).

Sheka AC et al., apoyó en uno de sus estudios el cambio de estilo de vida, incluyendo dieta y actividad física, de las personas con EHGNA para tratar la patología, pero también contemplaba la opción de recurrir a la cirugía bariátrica (228). El trabajo desarrollado en la presente Tesis Doctoral demuestra que una alta adherencia a la dieta mediterránea es capaz de reducir el peso corporal y el IMC sin necesidad de pasar por cirugía y el estrés que ello supone (217,219,220). Hay que tener en cuenta que someterse a una cirugía genera estrés en los pacientes, lo que origina la síntesis de especies reactivas de oxígeno (ROS) por la presencia de estrés oxidativo. Entonces, cabe recordar que las ROS atacan

a los ácidos grasos e inducen la reacción en cadena de la peroxidación lipídica, promoviendo el desarrollo de la EHGNA, lo cual es totalmente contraproducente con el efecto que se pretende obtener con el estilo de vida mediterráneo que defiende el aporte de antioxidantes a través de la dieta para reducir el estrés oxidativo (101).

A pesar de que en alguna ocasión se ha definido la obesidad como un factor de riesgo independiente para la EHGNA y que, por tanto, el peso, el IMC y la propia obesidad se relacionan directamente con mayores posibilidades de desarrollar EHGNA (229), los resultados de la presente Tesis Doctoral demuestran que no siempre es suficiente con esto, sino que se puede padecer EHGNA sin tener obesidad y/o viceversa (215,216). Es cierto que la probabilidad de desarrollar EHGNA aumenta con la presencia de tres o más criterios del síndrome metabólico, pero, aunque uno de ellos es la obesidad abdominal, también incluye otros tales como la hipertrigliceridemia, el colesterol HDL bajo y la glucemia en ayunas elevada (154,215).

No existe un tratamiento farmacológico como tal para combatir la EHGNA, sino para las complicaciones del síndrome metabólico, por lo que la esperanza de las personas con tal patología es la regresión de la enfermedad a través del cambio del estilo de vida con dieta saludable y práctica de actividad física (230). Hasta el momento se ha hablado de personas adultas con EHGNA, pero no hay que descartar tampoco la presencia de niños con esta patología (231), a los cuales los pediatras les dan las mismas recomendaciones que a los adultos. La presente Tesis Doctoral aporta una clara evidencia de que el tratamiento más sano y eficaz para combatir la EHGNA es cumplir con una dieta mediterránea y actividad física regular; es decir, adoptar un estilo de vida mediterráneo. Tanto la dieta mediterránea como la actividad física se consideran igualmente importantes para paliar la EHGNA.

2. Enfermedad de hígado graso no alcohólico y actividad física.

Actividad física y características sociodemográficas.

Por una parte, es habitual que las personas con exceso de peso tengan niveles más bajos de actividad física (115). Por otra, también es común que sean las personas con mayores

niveles de actividad física las que muestren mejores características antropométricas, pues es bien sabido que la actividad física contribuye a reducir el peso y el IMC (232), además de ser importantes predictores del contenido de grasa hepática y de la EHGNA (233). Sin embargo, los datos de la presente Tesis Doctoral desvelaron lo contrario, es decir, los participantes con un peso ligeramente superior fueron los que tenían mayores niveles de actividad física. Igualmente, presentaban una mayor circunferencia de cadera, aunque tuvieron una menor circunferencia del cuello. Esto probablemente se deba a que se analizaron los datos al inicio del estudio cuando todavía no se había aplicado ninguna intervención.

Las personas del grupo de actividad física elevada indicaron una mayor ingesta de proteínas y una menor de lípidos en comparación con el grupo de personas que tenían niveles más bajos de actividad física. Según la literatura existente, la práctica de actividad física y el aumento de la ingesta de proteínas se asocian a la disminución del peso y de la grasa corporal en adultos con sobrepeso y/o obesidad. Entonces, resulta beneficioso sobre la composición corporal y la reducción de la grasa intrahepática en pacientes con EHGNA (234,235). Además, también se ha visto que la dieta mediterránea o una dieta baja en carbohidratos son más eficaces que las dietas bajas en grasas. En ocasiones, la calidad de las grasas que se consumen es más importante que la cantidad (236), por eso, durante el desarrollo del trabajo de campo para esta Tesis Doctoral se tuvo en cuenta el tipo de grasa de la dieta mediterránea.

La práctica regular de actividad física también incrementa el gasto energético o calórico, de manera que las personas con altos niveles de actividad física gastan más calorías que las personas que realizan menos actividad. Este hecho, sumado a una dieta equilibrada, da lugar a una clara pérdida de peso, pues las calorías gastadas son mayores a las ingeridas en las personas con alta actividad física (237,238). Los altos niveles de actividad física y el consecuente gasto energético elevado son beneficiosos para disminuir el contenido de grasa intrahepática y, por tanto, el riesgo de EHGNA (239). En la presente Tesis Doctoral, tanto el gasto energético diario medido por los acelerómetros como el reportado a través del cuestionario de Minnesota fue mayor en los individuos con alta actividad física. A su vez, éstos notificaron un gasto energético menor al que realmente hicieron al obtener una diferencia entre el gasto energético medido y el reportado positiva. Tal como señala la bibliografía existente, es normal que a mayor actividad física también haya un mayor gasto energético. Asimismo, también es común que el gasto energético medido por

acelerometría y el reportado con cuestionarios no coincidan (240). Esto se debe a que los acelerómetros evalúan la actividad física de forma objetiva y continua, mientras que con los cuestionarios están expuestos al sesgo de recuerdo o sesgo de información, pues resulta difícil para los pacientes recordar o estimar con precisión todas las actividades realizadas o la intensidad exacta de actividad física (241).

Actividad física y síndrome metabólico.

La presente Tesis Doctoral demostró que la actividad física actúa como un factor protector frente a la hipertrigliceridemia y la glucemia en ayunas elevada en aquellos pacientes con EHGNA, mientras que no resulta tan significativa en el caso de la hipertensión cuando intervienen otros factores de confusión. Otros estudios también demostraron que seguir una dieta mediterránea y practicar actividad física regular, como parte de un estilo de vida saludable, disminuía los niveles plasmáticos de triglicéridos y glucosa tanto en los pacientes con EHGNA (216,219) como en los que no tiene un diagnóstico de EHGNA (242). También existen estudios que mostraron como los programas de promoción de la actividad física pueden conseguir reducir con éxito los problemas de hipertensión (243,244).

La actividad física y la fracción de calorías ingeridas y gastadas por los pacientes están fuertemente relacionadas, por lo que se vio que la actividad física influía sobre los parámetros del síndrome metabólico pero que, al ajustar por la fracción de calorías ingeridas y gastadas la actividad física dejaba de tener un papel tan significativo. De esta forma, se pone de manifiesto la importancia de tener en cuenta siempre ambos factores, tanto la actividad física como la dieta, pues el incremento del gasto energético por la práctica regular de actividad física y la baja ingesta calórica en adultos, con síndrome metabólico y EHGNA, pueden mejorar las anomalías metabólicas que constituyen, precisamente, el síndrome metabólico (225).

Actividad física e indicadores de EHGNA.

Las personas con EHGNA y síndrome metabólico, sin otro tipo de enfermedades hepáticas crónicas, acostumbran a presentar niveles elevados de la enzima AST (245). Se trata de una enzima hepática cuya monitorización permite conocer el estado de daño

hepático (246), aunque también las personas que practican actividad física de forma regular suelen presentar niveles aumentados de AST como un indicador de daño muscular (247). Este hecho podría explicar el por qué altos niveles de actividad física se convierten en un factor de riesgo para AST tras ajustar por las características sociodemográficas en el análisis de los datos de la presente Tesis Doctoral.

Por otro lado, la actividad física resultó ser un factor protector para otras dos enzimas hepáticas cuya variación muestra el nivel de daño hepático, ALT y GGT (246), al igual que para el contenido de grasa intrahepática medido por resonancia magnética nuclear (IFC-NMR en los manuscritos por sus siglas en inglés “intrahepatic fat content by nuclear magnetic resonance”).

Los altos niveles de actividad física fueron un fuerte factor protector para ALT en los pacientes con EHGNA, lo cual coincide con la literatura existente. Una intervención con dieta mediterránea y sesiones de intensidad moderada de actividad física en pacientes con EHGNA permitió la disminución del peso, del perímetro de la cintura y del IMC. Además, normalizaron algunas enzimas hepáticas, especialmente ALT, y mejoraron ciertos parámetros del síndrome metabólico (216,219,220). Entonces, la mejora en los niveles de ALT se vio relacionada con una notable reducción del contenido de grasa hepática lo que, al final, se traduce en una mejora de la EHGNA (106). En el caso de ALT también es necesario tener en cuenta que los altos niveles de actividad física pueden aumentar los de ALT pero que, aun así, los aumenta menos que en el caso anterior de AST. Igualmente, a las pocas horas de terminar la actividad física, los niveles de ALT se recuperan a los valores iniciales (247).

En lo que refiere a los niveles de GGT, la literatura confirma que la mejora del daño hepático y la pérdida de peso se relacionan con la disminución de los niveles de esta enzima (106). Como se ha comentado previamente, el estilo de vida mediterráneo, permite bajar de peso y mejorar los parámetros del síndrome metabólico en personas con EHGNA (83). Por lo tanto, aumentar la actividad física, teniendo en cuenta las características sociodemográficas, puede convertirse en un factor de protección contra los altos niveles de GGT en los pacientes con EHGNA.

La actividad física también resultó ser un factor protector para la IFC-NMR. Ensayos anteriores ya habían visto que el ejercicio y el entrenamiento constante de actividad física, acompañado de una dieta correcta, podían reducir el contenido de grasa intrahepática

tanto en sujetos con EHGNA como en otros con obesidad pero sin esta patología (248,249). El estado de salud y las características sociodemográficas también juegan un papel importante en este efecto como parte del estilo de vida propio de cada uno (248).

3. Grados de esteatosis hepática y práctica de actividad física.

De forma general, los resultados obtenidos determinan que las pruebas de aptitud física, la capacidad aeróbica, la eficiencia del sueño y el gasto energético son menores en los pacientes con EHGNA que en los participantes sin dicha patología.

Pruebas de aptitud física.

Según datos previos, presentar alguna o algunas de las características del síndrome metabólico se asocia con una menor fuerza muscular (250). Además, según estudios anteriores, no existen diferencias entre la fuerza manual de agarre en posición sentada o de pie (251,252). Nuestros resultados confirmaron que la menor fuerza manual de agarre en posición sentada era más probable entre aquellas personas con estadios más avanzados de esteatosis intrahepática, es decir, los estadios S1 y S2 (por sus siglas en inglés, “stage 1”: S1 y “stage 2”: S2). Después de ajustar por los factores de confusión, esta evidencia fue la misma para la fuerza manual de agarre de pie y las personas con esteatosis hepática intermedia (S1).

Por otro lado, las personas sin EHGNA, es decir, el estadio S0 (“stage 0” o grupo control en el manuscrito) o las personas con EHGNA en estadios poco avanzados (S1 después de tener en cuenta los factores de confusión), tienen mayor probabilidad de realizar más flexiones modificadas correctas que las personas con EHGNA avanzada. Esto confirma que el exceso de grasa interfiere con la fuerza y el rendimiento del ejercicio. Ya se había demostrado que el ejercicio de resistencia basado en flexiones mejoraba los componentes del síndrome metabólico en personas con EHGNA (221), aunque también se demostró que la obesidad disminuye la fuerza muscular máxima y dificulta algunos ejercicios (253).

Capacidad aeróbica.

Tal como afirma la literatura, nuestros resultados también mostraron que las personas con EHGNA tienen más dificultades para realizar actividad física de resistencia o aeróbica (254). Las personas con esteatosis hepática moderada (S1) tienen menor capacidad aeróbica en el Chester Step Test que las personas sin EHGNA (S0 o grupo de control). En el caso de las personas con esteatosis hepática avanzada (S2) la capacidad aeróbica todavía es menor en comparación con los controles.

El entrenamiento aeróbico ayuda a mejorar algunos parámetros relacionados con la EHGNA, como las enzimas hepática AST y ALT, los niveles de colesterol total, y lo del HDL y LDL (255). También se ha visto que, en individuos diabéticos con obesidad y EHGNA, los intervalos de alta intensidad o el entrenamiento continuo de intensidad moderada pueden reducir los lípidos viscerales y los triglicéridos intrahepáticos (256). Por el contrario, las personas muy inactivas, con una falta importante de actividad física, suelen presentar problemas de salud, como un corazón más débil, un metabolismo más lento, una peor forma física o una capacidad aeróbica reducida, entre otros (189). La mayoría de los sujetos con EHGNA tienen un nivel de actividad física sedentario (257). Sin embargo, en la presente Tesis Doctoral, los pacientes con estadios avanzados de esteatosis hepática (tanto S1 como S2) presentaron menos probabilidades de mostrarse más sedentarios que los que no tenían el hígado graso. Sólo tras el ajuste por las características sociodemográficas, las personas con S2 mostraron más probabilidades de sedentarismo que los controles. Entonces, los participantes de nuestro estudio con esteatosis hepática S1 o S2 fueron más propensos a practicar niveles ligeros y moderados de actividad física en comparación con los participantes sin esteatosis; aunque nadie registró niveles vigorosos de actividad. Cabe mencionar que el estatus socioeconómico influye mucho en los hábitos dietéticos, el tiempo y el interés por la actividad física (154,258), de forma que esto podría explicar nuestros resultados. Las personas que eran conscientes de su enfermedad intentaron aumentar los minutos al día de actividad física para mejorar su condición de salud en comparación con las personas control. A su favor, existe un estudio que demostró cómo el aumento de la actividad física moderada/vigorosa es necesario para la prevención de la EHGNA (139).

Eficacia del sueño.

Una mala calidad del sueño está relacionada con el desarrollo y/o la progresión de la EHGNA, pero también hay asociación a la inversa, es decir, las alteraciones hepáticas también afectan a la calidad del sueño (259). De hecho, una duración corta del sueño y una pobre eficiencia de éste son factores de riesgo para la EHGNA (260). Nuestros resultados confirmaron la teoría. Los pacientes con estadios de esteatosis hepática S1 y S2 fueron más propensos a presentar una menor eficacia del sueño que los pacientes con estadio S0.

Gasto energético.

El gasto energético se analizó a través de los MET reportados a través del cuestionario Minnesota y de los medidos por acelerometría. En general, la probabilidad de presentar unos MET bajos se mostró en los estadios más avanzados de esteatosis hepática con respecto a los que no tenían EHGNA. De forma detallada, por una parte, fue más probable que los MET reportados más bajos se dieran en personas del estadio S1 de esteatosis hepática que no en personas del grupo control (estadio S0). Por otra parte, los MET medidos más bajos fueron más probables en las personas del estadio S2 de esteatosis hepática que en las del grupo control S0. Lo cierto es que la actividad física regular siempre ha sido una de las asignaturas pendientes en la sociedad general (261). Los pacientes con EHGNA presentan MET más bajos que los pacientes sin EHGNA (260). Además, los adultos con síndrome metabólico más avanzado tienen niveles más bajos de actividad física vigorosa y realizan MET diarios (131). La actividad física en el tiempo libre es un factor de protección contra la EHGNA, mientras que el sedentarismo es un claro factor de riesgo. Aun así, la tendencia de la población es adoptar un estilo de vida más bien sedentario. Por ello, los cambios en el estilo de vida son tan importantes como tratamiento o prevención de la EHGNA (262). Muestra de ello es como la composición de la dieta, la práctica regular de actividad física, el tabaquismo y/o el consumo moderado de alcohol, influyen sobre la progresión de la EHGNA (263,264). Sin embargo, muchos de los individuos con riesgo metabólico también expresan mayor interés por conocer más acerca del tema y por saber cómo mejorar la condición de EHGNA (265). De hecho, los resultados de la presente Tesis Doctoral mostraron que son, precisamente, las personas con EHGNA en estadio S2 las que presentan un mayor porcentaje de no fumadores y de

no consumidores de alcohol en comparación con los participantes con estadio S1 y los controles, lo que reafirma la idea de que intentan mejorar sus hábitos de vida y la EHGNA.

También se ha visto que los patrones dietéticos más correctos, con menor consumo de azúcares simples, mayor eficiencia del sueño y menor resistencia a la insulina o diabetes mellitus tipo 2 se da en familias que tienen un nivel socioeconómico más alto. Así, al disminuir los factores de riesgo de la EHGNA, también mejoran los estadios de esteatosis hepática (266). Nuestros resultados confirman esta premisa, pues las personas control (S0) representaron el porcentaje mayor de personas con un nivel socioeconómico alto y con más años de educación en comparación con las personas en los estadios S1 y S2 de EHGNA.

4. Cambio del estilo de vida sobre el estado físico de adultos con enfermedad de hígado graso no alcohólico.

Estado físico evaluado mediante pruebas físicas.

La práctica regular de actividad física aumenta la aptitud física y musculoesquelética de los individuos (267) y, a su vez, se ha afirmado que la fuerza muscular es importante para predecir el riesgo de la EHGNA, por lo que una buena fuerza manual podría ayudar a prevenir dicha enfermedad (154). En la presente Tesis Doctoral se demostró que, a los 6 meses de intervención, el grupo CD había conseguido mejores resultados en la prueba de fuerza manual de agarre que el grupo MD-HMF, el cual incluso había disminuido en 0.2 Kg la fuerza manual. A los participantes de ambos grupos se les recomendó exactamente lo mismo, es decir, caminar un mínimo de 10000 pasos diarios, pero les diferenciaba el tipo de intervención dietética aplicada. Probablemente, el hecho de que las personas del grupo MD-HMF tuvieran una intervención dietética con siete tomas al día, lo cual no es tan común como sólo hacer las cinco habituales del grupo CD, hizo que se centraran más en la dieta que no en la intervención física.

Por su parte, los participantes del grupo MD-PA, los cuales realizaron entrenamientos de resistencia y práctica regular de actividad física, consiguieron realizar un número mayor de flexiones correctas a los 6 meses de intervención que los participantes del grupo CD,

los cuales sólo tenían la recomendación de caminar. Entonces, se confirma que la fuerza muscular mejora con la práctica regular de actividad física. Otros estudios también refuerzan esta idea, ya que han demostrado que la práctica regular de ciertos ejercicios de resistencia, como las mismas flexiones de brazos, implican la mejora de la fuerza muscular y también de los criterios metabólicos relacionados con la EHGNA (221).

A su vez, el grupo MD-PA también mostró un aumento significativo de su capacidad aeróbica o VO_2 máx. en comparación con el grupo MD-HMF a los 6 meses. Los participantes de los grupos CD y MD-HMF disminuyeron la capacidad aeróbica, aunque los pacientes del grupo CD tuvieron una menor pérdida en comparación con los del grupo MD-HMF. Como era de esperar, las sesiones de entrenamiento semanales de los participantes del grupo MD-PA aumentaron la capacidad aeróbica más que el simple hecho de sólo caminar, lo cual coincide con la literatura existente. La práctica regular de actividad física puede aumentar hasta un 100% el VO_2 máx. de las personas que no están en forma, y hasta un 20-40% el de las personas que están moderadamente en forma. Algunos ejercicios que se han descrito para mejorar la capacidad aeróbica son nadar, correr o montar en bicicleta, por ejemplo (268). La prueba que permitió medir la capacidad aeróbica fue la del Chester Step Test, la cual da una buena aproximación de la aptitud cardiorrespiratoria general o de la resistencia de las personas que realizan dicha prueba (188).

Tal como se ha descrito en el apartado de Materiales y Métodos (sección 1.8. *Creación de variables nuevas*) para el desarrollo de la presente Tesis Doctoral se creó una variable de puntuación de aptitud física funcional de las pruebas, la cual aparece como “fitness score tests” en los manuscritos presentados. Ésta supone un instrumento de medición alternativo para evaluar ciertas pruebas funcionales en su conjunto en adultos con EHGNA. En teoría, los resultados que se esperaban obtener eran la mejora global de la aptitud funcional de aquellas personas que hubiesen seguido un programa regular de actividad física frente a aquellas que sólo hubiesen caminado (269). No obstante, después de los 6 de intervención, tanto el grupo CD como el MD-PA habían empeorado de aptitud física funcional general, pero los pacientes del grupo MD-PA tenían una puntuación ligeramente peor que los pacientes del grupo CD. Entonces, se pone de manifiesto la importancia de esta variable, pues fue de gran utilidad evaluar la aptitud física funcional de manera global. La realidad que ha podido causar la discordancia de resultados es que las personas del grupo CD realizaron más ejercicios aparte de caminar los 10000 pasos

diarios y que, las personas del grupo MD-PA quizás no cumplieron de manera estricta con el programa de ejercicios recomendados durante las sesiones a distancia.

Estado físico evaluado mediante acelerometría.

El estado físico de los participantes también fue medido mediante acelerometría. Después de 6 meses de intervención, los datos referentes a las intensidades de actividad física medidas por el acelerómetro mostraron que el grupo MD-PA había disminuido la intensidad ligera y aumentado la moderada en comparación con el resto de grupos, es decir, CD y MD-HMF. Éstos mostraron los resultados opuestos: aumentaron la intensidad ligera y disminuyen la moderada. La explicación radica en el hecho de que a los participantes de los grupos CD y MD-HMF sólo se les recomendó caminar, mientras a los del grupo MD-PA se le recomendó sesiones de entrenamiento de intensidad moderada tres días semanales. Otro tipo de ensayo, que también utilizó acelerómetros para medir intensidades de actividad física, determinó que las recomendaciones de actividad física deberían apostar por ejercicios de intensidad moderada. A pesar de ello, también defiende que, en personas inactivas, la introducción de actividad física, aunque sea a intensidades ligeras, es muy recomendable y beneficiosa para la salud, pudiendo ayudar a reducir enfermedades cardiometabólicas y el riesgo de mortalidad (270).

Estado físico reportado por cuestionarios.

Otro método de evaluación del estado físico fue a través del Cuestionario de Actividad Física en Tiempo Libre de Minnesota, en el cual los participantes reportaron el nivel de actividad física que consideraban realizar (271). Las personas del grupo CD reportaron haber aumentado los MET diarios a los 6 meses en contraste con las personas del grupo MD-HMF que no reportaron ningún cambio. Las recomendaciones de actividad física eran las mismas para ambos grupos, pero los participantes del grupo CD realizaron más actividad de la recomendada durante los 6 meses de intervención, en contraste con los del grupo MD-HMF que no cambiaron su rutina. A pesar de ello es importante destacar que los MET medidos por acelerómetros son más objetivos que los MET reportados, por lo que es aconsejable comparar los resultados (241) y, en este caso, no se observaron cambios significativos en los MET medidos por acelerómetro.

5. Efecto de la diferencia de actividad física sobre la enfermedad de hígado graso no alcohólico durante el confinamiento por Covid-19.

Son muchos los estudios que hablan de los beneficios de la práctica de actividad física, pero pocos los que hablan de los efectos que surgen cuando se para de forma drástica una intervención dietética y de actividad física. La aparición de la pandemia por Covid-19 y el consiguiente confinamiento durante el desarrollo del estudio de la presente Tesis Doctoral permitió analizar las consecuencias. La interrupción de la práctica regular de actividad física y la adopción de un estilo de vida poco saludable empeoraron el estado de la EHGNA y del síndrome metabólico en las personas de estudio. No obstante, durante el confinamiento por Covid-19 las personas que previamente realizaban menos actividad física se mostraron más activas que las personas que realizaban niveles más elevados de actividad física antes del confinamiento.

Los pacientes con mayores niveles de actividad física antes del confinamiento, presentaron también mayores niveles de sedentarismo durante el mismo en comparación con los pacientes que mantenían niveles bajos/moderados de actividad física. Además, el grupo de alta actividad física también descendió la actividad física de intensidad ligera y moderada. Por el contrario, los pacientes que antes del confinamiento realizaban bajos niveles de actividad física disminuyeron el comportamiento sedentario y aumentaron la práctica de actividad física ligera y moderada. Así pues, los participantes más activos antes del confinamiento fueron también los que más empeoraron durante ese periodo de confinamiento. Los MET diarios medidos a través de los acelerómetros también confirmaron este comportamiento. Aunque parece contradictorio, la literatura existente confirma este patrón. Otros estudios también reportaron que fueron los adultos más activos los que disminuyeron la actividad física y aumentaron el sedentarismo durante el confinamiento por Covid-19, es decir, durante ese periodo fue común que las personas con mayor actividad física mostraran mayores cambios en la práctica de actividad física regular que las personas que eran menos activas (272–274). No obstante, también hubo adultos que aumentaron la actividad física durante el confinamiento, lo que les permitió obtener una mejor puntuación en las pruebas de aptitud física (275). Este patrón pone de manifiesto que una buena promoción de la salud, dirigida especialmente a las personas que por costumbre son más inactivas, puede ser esencial para mejorar el estilo de vida.

Igualmente, la motivación es clave para propiciar cambios en el hábito físico de los individuos inactivos (276). Además, hay que tener en cuenta que incluso las actividades de la casa también son consideradas una forma de actividad física (277,278).

Sin embargo, hay que tener en cuenta que la pandemia y el confinamiento por Covid-19 fueron totalmente imprevistos, inesperados y muy recientes, por lo que aún se requieren más estudios para completar el conocimiento sobre el tema. Por ejemplo, una revisión sistemática afirma que todavía hacen falta más estudios para los adultos pertenecientes a la franja de edad de los 45 a los 65 años, que es precisamente el rango de edad de los participantes que se seleccionaron para la presente Tesis Doctoral.

El confinamiento alteró negativamente el estado de ánimo de las personas, asociándose también con una alteración en los patrones de sueño, tales como retrasos a la hora de acostarse, la aparición de pesadillas nocturnas e insomnio (279,280). Este fenómeno, en general, provocó que la calidad del sueño disminuyera durante la pandemia por Covid-19 (281). En nuestro caso, los pacientes más activos fueron los que presentaron menores niveles de actividad física y de la eficiencia del sueño durante el confinamiento; mientras que las personas que eran más inactivas, aumentaron los niveles de actividad física y también la eficiencia del sueño, aunque no fuera un aumento muy significativo. Este hecho probablemente se deba a que la práctica de actividad física tiene un refuerzo positivo sobre la calidad del sueño (282).

Es bien sabido que un estilo de vida saludable con actividad física y dieta mediterránea se asocia a la pérdida de peso y a la mejora de las anomalías del síndrome metabólico en personas que padecen EHGNA. Además, la actividad física es un factor esencial para mantener los niveles de GGT dentro de la normalidad (83,219,283). Entonces, no es de extrañar que después del confinamiento se observara que los pacientes que se habían confinado con niveles altos/moderados de actividad física, pero que disminuyeron su actividad y aumentaron el sedentarismo durante ese periodo, tuvieron niveles más altos de GGT. En cambio, el grupo que tenía baja actividad física antes de confinarse, incrementó los niveles ligeros y moderados de actividad física durante el confinamiento, redujo el estilo de vida sedentario, y lograron obtener unos niveles de GGT más bajos.

El grado de esteatosis hepática, y en consecuencia FLI, mejoran en las personas con EHGNA que apuestan por un estilo de vida saludable con dieta mediterránea y actividad física regular (155). Después del periodo de confinamiento, FLI se vio aumentado en

todos los participantes, es decir, tanto lo que eran más activos como los que no. En general, el estado de la EHGNA empeoró con el confinamiento. De forma más detallada, el grupo de personas que eran más inactivas antes del confinamiento y que aumentaron su actividad durante dicho periodo tuvieron un menor aumento del FLI en comparación con el grupo de personas que era más activo, pero que disminuyó la actividad. La explicación a estos resultados probablemente se deba a que el primer grupo de personas llevó un estilo de vida más activo durante el confinamiento, aunque se ha demostrado que los niveles de actividad física no fueron lo suficientemente elevados como para frenar el empeoramiento del estado de esteatosis hepática.

Igualmente, todos los participantes también obtuvieron menores niveles de colesterol HDL después del confinamiento, que es uno de los parámetros del síndrome metabólico que puede mejorar con un estilo de vida mediterráneo (83,116). Se ha visto que la actividad física regular en concreto puede aumentar los bajos niveles de colesterol HDL (116). El confinamiento indujo un aumento de la ingesta de alimento poco saludables y fuera de la línea de una dieta mediterránea, además de aumentar los niveles de sedentarismo en términos generales (284), motivo por el cual se observó la desregulación del síndrome metabólico o, en este caso, de los niveles del colesterol HDL.

Son muchos los factores que influyeron en el estilo de vida de las personas durante el confinamiento y, en la presente Tesis Doctoral, se pusieron de manifiesto dos en concreto. Al analizar el contenido de grasa intrahepática que nos había proporcionado la prueba de RMN se obtuvieron resultados con diferencias significativas pero, al ajustar por el nivel socioeconómico y el estado civil de los pacientes, la significación desapareció, lo que deja ver que fueron dos factores importantes durante el confinamiento (285,286).

Finalmente, otro estudio realizado en tiempo de confinamiento confirma que la mayoría de los sujetos no realizaron actividad física y que tenían una baja adherencia a la dieta mediterránea, por lo que su peso había aumentado en más de la mitad de los casos. Además, no hubo ninguna mejora en la condición de la EHGNA. Entonces, se confirma que las situaciones en las que no se sigue un estilo de vida mediterráneo son un factor de riesgo para las enfermedades metabólicas, y que tanto la actividad física como la dieta mediterránea son igualmente importantes para actuar contra este tipo enfermedades (153).

FORTALEZAS Y LIMITACIONES

La fortaleza principal de la presente Tesis Doctoral es aumentar la escasa evidencia sobre el estilo de vida mediterráneo, con dieta mediterránea y práctica regular de actividad física, en adultos de mediana edad con sobrepeso u obesidad, síndrome metabólico y EHGNA. Además, los manuscritos II, III, IV y V exponen los resultados de un ensayo clínico multicéntrico y aleatorizado que ha durado dos años: el estudio FLIPAN (158). El protocolo estandarizado del estudio reduce el sesgo de información. También se asegura la correcta recogida de información y la uniformidad en las técnicas de recogida de información, ya que el personal encargado de realizarlo (dietistas-nutricionistas, entrenadores/-as, bioquímicos/-as, enfermeros/-as, médicos/-as) estaba perfectamente entrenado, cualificado y con el conocimiento suficiente para llevarlo a cabo. Para evaluar la actividad física se ha aplicado una amplia propuesta de métodos que permiten analizar varios parámetros de actividad física, desde las pruebas de aptitud motora, la capacidad aeróbica, las distintas intensidades de actividad física y el gasto energético. Se han utilizado tanto métodos subjetivos, como son los cuestionarios, como métodos más objetivos, como es el caso de los acelerómetros. Igualmente, se ha incorporado una herramienta alternativa para obtener una visión global de las pruebas funcionales a través de una prueba de puntuación de aptitud física o fitness.

Por su parte, el manuscrito I, aporta alguna de las fortalezas propias de las revisiones sistemáticas, como proporcionar información actualizada y extensamente revisada sobre la asociación entre el EHGNA y el estilo de vida mediterráneo. Además, no profundiza sólo en la dieta mediterránea o en la actividad física, sino que da la misma importancia a ambos. Otro punto fuerte es que engloba diferentes tipos de estudio con diferentes diseños, lo que permite una visión más generalizada y fiable del tema bajo diferentes puntos de vista.

Los manuscritos II, III y V comparten la fortaleza de estudiar el grado de esteatosis hepática o el contenido de grasa intrahepática a partir de los resultados obtenidos mediante las imágenes de RMN, la cual es una de las técnicas más sensibles y precisas para cuantificar el contenido graso intrahepático (287).

De forma concreta, cada manuscrito aporta una fortaleza principal a la totalidad de la Tesis Doctoral. El manuscrito II tiene la fortaleza principal de analizar diversos aspectos de la misma muestra en el mismo punto temporal, es decir, datos de actividad física, dietéticos, bioquímicos y de imágenes hepáticas. El III contribuye a la escasa evidencia que aborda la asociación entre las pruebas individuales de aptitud motora y la población

adulta con EHGNA y su relación con los aspectos sociodemográficos y socioeconómicos. El IV aporta más conocimiento sobre los cambios en los parámetros de actividad física, después de seis meses, entre tres grupos de intervención dietética y de actividad física diferentes. Finalmente, el V aumenta el conocimiento del impacto de las diferencias de actividad física debido al confinamiento por Covid-19 (con un cambio repentino de un estilo de vida saludable a otro menos saludable) en adultos con EHGNA y síndrome metabólico.

Los manuscritos IV y V comparten la fortaleza del propio diseño longitudinal, el cual proporciona más información y solidez que un diseño transversal.

Una fortaleza muy importante es que todos los métodos utilizados podrían trasladarse fácilmente a la práctica clínica diaria para tratar la EHGNA, lo cual es esencial porque no existe un tratamiento farmacológico específico para la EHGNA, sino que se aplica un tratamiento farmacológico para las patologías propias del síndrome metabólico (156).

No obstante, la presente Tesis Doctoral también tiene ciertas limitaciones. La principal limitación es que el estudio se ha centrado sólo en personas con edades comprendidas entre los 40 y 60 años, lo que limita la extensión de los resultados al resto de población. También se tiene que tener en cuenta que los cuestionarios auto reportados son subjetivos y que pueden implicar un sesgo de recuerdo o de información, aunque estén validados. Igualmente, a pesar de que los resultados de los análisis estadísticos están ajustados por varios factores de confusión, pueden existir otros que también hayan intervenido en las relaciones estudiadas y que no se hayan medido. Otra limitación del estudio es que en el trabajo con humanos es difícil conocer con precisión y exactitud su adherencia al tratamiento del estilo de vida que se les da. Siempre será una limitación, ya que los investigadores tienen que confiar en los participantes. También cabe destacar que el tamaño muestral no fue muy extenso.

En cuanto al manuscrito I hay algunas limitaciones a mencionar. La primera es que hay estudios que aplicaron una intervención clasificando a los participantes en grupos de tratamiento y de control, mientras que otros analizaron a los participantes como un todo y no aplicaron la intervención. Otros no aclararon el método utilizado de clasificación de

los participantes en distintos grupos. También está la heterogeneidad de los estudios en cuanto a la duración del seguimiento, las características de los participantes, los diferentes momentos de recogida de datos y las medidas de los resultados. Un sesgo a tener en cuenta en el manuscrito I es el de publicación, así como el de pérdida de participantes (por abandono, incumplimiento con el protocolo, etc.). Igualmente, la literatura buscada sólo se ha recuperado de la base de datos MEDLINE, por lo que es probable que algunos estudios no hayan sido incluidos.

Los manuscritos II y III tienen una limitación marcada por su propio diseño. Al ser transversales, no se pueden establecer inferencias causales y tampoco se permite conocer la secuencia temporal de los acontecimientos. Además, junto con el manuscrito IV, la condición física de los pacientes no siempre era ideal para realizar correctamente todas las pruebas físicas, lo que podría interferir con los resultados finales.

Finalmente, en lo que refiere al manuscrito V, una limitación a destacar es que el estudio no se diseñó inicialmente con este fin. No se tenía previsto en ningún momento interrumpir las intervenciones dietéticas ni de actividad física, sino que fue la inesperada pandemia por Covid-19 quien las frenó repentinamente. Entonces, al estar confinados, la información proporcionada por los participantes durante las consultas telefónicas es subjetiva, y el estado psicológico, la diferente motivación y/o la condición física de los participantes también suponen factores limitantes.

CONCLUSIONES

1. El tratamiento más eficaz hasta el momento para prevenir y/o revertir la EHGNA, y reducir los factores de riesgo, es el estilo de vida mediterráneo, con práctica regular de actividad física y dieta mediterránea.
2. El estilo de vida mediterráneo tiene efectos beneficiosos sobre el conjunto de trastornos que constituyen el síndrome metabólico, es decir, la obesidad, la hipertensión, la hipertrigliceridemia y la diabetes mellitus tipo 2, consiguiendo así reducir el grado de esteatosis hepática y la cantidad de grasa hepática.
3. Las personas con altos niveles de actividad física tienen un mayor gasto energético que las personas con bajos niveles de actividad física. La actividad física tiene un impacto positivo sobre los trastornos del síndrome metabólico siempre que se ingieran menos calorías de las que se gastan.
4. La actividad física elevada incrementa los niveles de la enzima hepática AST, pero normaliza los niveles de las otras dos enzimas hepáticas, ALT y GGT, así como el contenido de grasa intrahepática medido por RMN entre las personas con EHGNA.
5. Las personas con EHGNA tienen un estado físico, una capacidad aeróbica, una eficacia del sueño y un gasto energético inferior a las personas sin EHGNA.
6. Una buena condición física contribuye positivamente sobre el estado de salud de las personas con EHGNA.
7. El ejercicio ideal para obtener los beneficios de la actividad física sobre la EHGNA sería aquel que permitiera un gasto energético de 400 kcal para una persona que pesa 70 kg con una frecuencia de tres días a la semana.

8. Una intervención sobre el estilo de vida, con dieta y actividad física regular mejora la aptitud física funcional en personas de mediana edad con EHGNA y síndrome metabólico.
9. La capacidad aeróbica de las personas con EHGNA y síndrome metabólico que siguen una dieta mediterránea y sesiones regulares de entrenamiento mejora significativamente.
10. La interrupción de la actividad física regular junto con un estilo de vida poco saludable, debido al confinamiento por la pandemia del Covid-19, condujo a un empeoramiento del síndrome metabólico y la EHGNA.
11. El confinamiento por Covid-19 disminuyó los niveles de actividad física de las personas que eran más activas, mientras que las personas más inactivas antes del confinamiento aumentaron la actividad física durante este periodo. La motivación fue un factor importante durante el confinamiento a la hora de practicar actividad física.

BIBLIOGRAFÍA

1. Petroni ML, Brodosi L, Marchignoli F, Musio A, Marchesini G. Moderate Alcohol Intake in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: To Drink or Not to Drink?. *Nutrients*. 2019;11(12):3048.
2. Than NN, Newsome PN. Non-alcoholic fatty liver disease: when to intervene and with what. *Clin Med (Lond)*. 2015;15(2):186-190.
3. Sanyal AJ. Putting non-alcoholic fatty liver disease on the radar for primary care physicians: how well are we doing?. *BMC Med*. 2018;16(1):148.
4. Kneeman JM, Misdraji J, Corey KE. Secondary causes of nonalcoholic fatty liver disease. *Therap Adv Gastroenterol*. 2012;5(3):199-207.
5. Hall JE, Guyton C. *Tratado de Fisiología médica*. 12ª edición. Mississippi: Elsevier; 1970.
6. Cómo funciona el hígado – Stanford Children’s Health [Internet]. Bahía de San Francisco: 2021 [cited 2022 Jul 11]. Available from: <https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=how-the-liver-works-90-P05112>
7. Rui L. Energy metabolism in the liver. *Compr Physiol*. 2014;4(1):177-197.
8. Tortora GJ, Derrickson B. *Principios de Anatomía y Fisiología*. 13ª edición. México: Editorial Médica Panamericana, S.A.; 2011.
9. Lazarus J, Calleja JL, Crespo J, Romero M, Agustín S, Berenguer M, et al., EHGNA. *Enfermedad de hígado graso no alcohólico: un estudio integral*. Asociación Española para el Estudio del Hígado. Fundación Gaspar Casal. 2021.
10. Mitra S, De A, Chowdhury A. Epidemiology of non-alcoholic and alcoholic fatty liver diseases. *Transl Gastroenterol Hepatol*. 2020;5:16.
11. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2018;67(1):328-357.

12. Ye Q, Zou B, Yeo YH, Li J, Huang DQ, Wu Y, et al. Global prevalence, incidence, and outcomes of non-obese or lean non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5(8):739-752.
13. Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Castiglione A, Crocè LS, Tiribelli C, et al. Incidence and natural course of fatty liver in the general population: the Dionysos study. *Hepatology*. 2007;46(5):1387-1391.
14. Carretto, F. HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO. *Revista Médica de Rosario*. 2021;87(2):87-88.
15. Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease - A global public health perspective. *J Hepatol*. 2019;70(3):531-544.
16. Tsai CH, Li TC, Lin CC. Metabolic syndrome as a risk factor for nonalcoholic fatty liver disease. *South Med J*. 2008;101(9):900-905.
17. Shi FY, Gao WF, Tao EX, Liu HQ, Wang SZ. Metabolic syndrome is a risk factor for nonalcoholic fatty liver disease: evidence from a confirmatory factor analysis and structural equation modeling. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016;20(20):4313-4321.
18. Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med*. 1999;107(5):450-455.
19. Chatrath H, Vuppalanchi R, Chalasani N. Dyslipidemia in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis*. 2012;32(1):22-29.
20. Cohen DE, Fisher EA. Lipoprotein metabolism, dyslipidemia, and nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis*. 2013;33(4):380-388.
21. Jiang ZG, Robson SC, Yao Z. Lipoprotein metabolism in nonalcoholic fatty liver disease. *J Biomed Res*. 2013;27(1):1-13.
22. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016;64(1):73-84.

23. Lonardo A, Nascimbeni F, Mantovani A, Targher G. Hypertension, diabetes, atherosclerosis and NASH: Cause or consequence? *J Hepatol.* 2018;68(2):335-352.
24. Oikonomou D, Georgiopoulos G, Katsi V, Kourek C, Tsioufis C, Alexopoulou A, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and hypertension: coprevalent or correlated? *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2018;30(9):979-985.
25. Targher G, Bertolini L, Padovani R, Rodella S, Tessari R, Zenari L, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2007;30(5):1212-1218.
26. Pais R, Charlotte F, Fedchuk L, Bedossa P, Lebray P, Poynard T, et al. A systematic review of follow-up biopsies reveals disease progression in patients with non-alcoholic fatty liver. *J Hepatol.* 2013;59(3):550-556.
27. Goh GB, Pagadala MR, Dasarathy J, Unalp-Arida A, Sargent R, Hawkins C, et al. Clinical spectrum of non-alcoholic fatty liver disease in diabetic and non-diabetic patients. *BBA Clin.* 2014;3:141-145.
28. Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology.* 2006;44(4):865-873.
29. Park SK, Seo MH, Shin HC, Ryou JH. Clinical availability of nonalcoholic fatty liver disease as an early predictor of type 2 diabetes mellitus in Korean men: 5-year prospective cohort study. *Hepatology.* 2013;57(4):1378-1383.
30. Musso G, Gambino R, Tabibian JH, Ekstedt M, Kechagias S, Hamaguchi M, et al. Association of non-alcoholic fatty liver disease with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.* 2014;11(7):e1001680.
31. Targher G, Byrne CD. Non-alcoholic fatty liver disease: an emerging driving force in chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* 2017;13(5):297-310.
32. Gansevoort RT, Correa-Rotter R, Hemmelgarn BR, Jafar TH, Heerspink HJ, Mann JF, et al. Chronic kidney disease and cardiovascular risk: epidemiology, mechanisms, and prevention. *Lancet.* 2013;382(9889):339-352.

33. Turchinovich A, Baranova A, Drapkina O, Tonevitsky A. Cell-Free Circulating Nucleic Acids as Early Biomarkers for NAFLD and NAFLD-Associated Disorders. *Front Physiol.* 2018;9:1256.
34. Medicina Holística - Terapia Holística [Internet] Integrative Health. [cited 2022 Jun 17]. Available from: <https://medicinaintegrativayfuncional.com/tratamientos>
35. Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology.* 2005;42(1):44-52.
36. Stepanova M, Rafiq N, Makhlof H, Agrawal R, Kaur I, Younoszai Z, et al. Predictors of all-cause mortality and liver-related mortality in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Dis Sci.* 2013;58(10):3017-3023.
37. Ong JP, Pitts A, Younossi ZM. Increased overall mortality and liver-related mortality in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2008;49(4):608-612.
38. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015;13(4):643-e40.
39. Adams LA, Ratziu V. Non-alcoholic fatty liver - perhaps not so benign. *J Hepatol.* 2015;62(5):1002-1004.
40. Argo CK, Northup PG, Al-Osaimi AM, Caldwell SH. Systematic review of risk factors for fibrosis progression in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* 2009;51(2):371-379.
41. Sanyal AJ, Harrison SA, Ratziu V, Abdelmalek MF, Diehl AM, Caldwell S, et al. The Natural History of Advanced Fibrosis Due to Nonalcoholic Steatohepatitis: Data From the Simtuzumab Trials. *Hepatology.* 2019;70(6):1913-1927.
42. White DL, Kanwal F, El-Serag HB. Association between nonalcoholic fatty liver disease and risk for hepatocellular cancer, based on systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2012;10(12):1342-1359.e2.

43. Agopian VG, Kaldas FM, Hong JC, Whittaker M, Holt C, Rana A, et al. Liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis: the new epidemic. *Ann Surg.* 2012;256(4):624-633.
44. Wong, V.W.;Wong, G.L.;Woo, J.; Abrigo, J.M.; Chan, C.K.; Shu, S.S.; Leung, J.K.-Y.; Chim, A.M.-L.; Kong, A.P.-S.; Lui, G.C.-Y.; et al. Impact of the New Definition of Metabolic Associated Fatty Liver Disease on the Epidemiology of the Disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2021, 19, 2161–2171.e5.
45. James OF, Day CP. Non-alcoholic steatohepatitis (NASH): a disease of emerging identity and importance. *J Hepatol.* 1998;29(3):495-501.
46. Tomic D, Kemp WW, Roberts SK. Nonalcoholic fatty liver disease: current concepts, epidemiology and management strategies. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2018;30(10):1103-1115.
47. Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis. *Med Clin North Am.* 1996;80(5):1147-1166.
48. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, et al. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology.* 2003;37(6):1286-1292.
49. Kobyliak N, Abenavoli L. The role of liver biopsy to assess non-alcoholic fatty liver disease. *Rev Recent Clin Trials.* 2014;9(3):159-169.
50. Nalbantoglu IL, Brunt EM. Role of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2014;20(27):9026-9037.
51. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology [published correction appears in *Gastroenterology.* 2012 Aug;143(2):503]. *Gastroenterology.* 2012;142(7):1592-1609.
52. Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol.* 2010;53(2):372-384.

53. Khov N, Sharma A, Riley TR. Bedside ultrasound in the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(22):6821-6825.
54. Dasarathy S, Dasarathy J, Khiyami A, Joseph R, Lopez R, McCullough AJ. Validity of real time ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis: a prospective study. *J Hepatol*. 2009;51(6):1061-1067.
55. Saverymuttu SH, Joseph AE, Maxwell JD. Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1986;292(6512):13-15.
56. Cantero I, Elorz M, Abete I, Marin BA, Herrero JI, Monreal JI, et al. Ultrasound/Elastography techniques, lipidomic and blood markers compared to Magnetic Resonance Imaging in non-alcoholic fatty liver disease adults. *Int J Med Sci*. 2019;16(1):75-83.
57. Selvaraj EA, Mózes FE, Jayaswal ANA, Zafarmand MH, Vali Y, Lee JA, et al. Diagnostic accuracy of elastography and magnetic resonance imaging in patients with NAFLD: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol*. 2021;75(4):770-785.
58. van Werven JR, Marsman HA, Nederveen AJ, Smits NJ, ten Kate FJ, van Gulik TM, et al. Assessment of hepatic steatosis in patients undergoing liver resection: comparison of US, CT, T1-weighted dual-echo MR imaging, and point-resolved 1H MR spectroscopy. *Radiology*. 2010;256(1):159-168.
59. Lee SS, Park SH. Radiologic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(23):7392-7402.
60. Tang A, Tan J, Sun M, Hamilton G, Bydder M, Wolfson T, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: MR imaging of liver proton density fat fraction to assess hepatic steatosis. *Radiology*. 2013;267(2):422-431.
61. Ochi H, Hirooka M, Koizumi Y, Miyake T, Tokumoto Y, Soga Y, et al. Real-time tissue elastography for evaluation of hepatic fibrosis and portal hypertension in nonalcoholic fatty liver diseases. *Hepatology*. 2012;56(4):1271-1278.
62. Nobili V, Vizzutti F, Arena U, Abraldes JG, Marra F, Pietrobattista A, et al. Accuracy and reproducibility of transient elastography for the diagnosis of fibrosis in pediatric nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2008;48(2):442-448.

63. Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chan HL, Le Bail B, et al. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2010;51(2):454-462.
64. Palmeri ML, Wang MH, Rouze NC, Abdelmalek MF, Guy CD, Moser B, et al. Noninvasive evaluation of hepatic fibrosis using acoustic radiation force-based shear stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2011;55(3):666-672.
65. Targher G, Byrne CD, Lonardo A, Zoppini G, Barbui C. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of incident cardiovascular disease: A meta-analysis. *J Hepatol*. 2016;65(3):589-600.
66. Chimakurthi CR, Rowe IA. Establishing the independence and clinical importance of non-alcoholic fatty liver disease as a risk factor for cardiovascular disease. *J Hepatol*. 2016;65(6):1265-1266.
67. Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, Fredrikson M, Stål P, Kechagias S, et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology*. 2015;61(5):1547-1554.
68. Targher G, Corey KE, Byrne CD. NAFLD, and cardiovascular and cardiac diseases: Factors influencing risk, prediction and treatment. *Diabetes Metab*. 2021;47(2):101215.
69. Söderberg C, Stål P, Askling J, Glaumann H, Lindberg G, Marmur J, et al. Decreased survival of subjects with elevated liver function tests during a 28-year follow-up. *Hepatology*. 2010;51(2):595-602.
70. Liu Y, Zhong GC, Tan HY, Hao FB, Hu JJ. Nonalcoholic fatty liver disease and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: a meta-analysis. *Sci Rep*. 2019;9(1):11124.
71. Dulai PS, Singh S, Patel J, Soni M, Prokop LJ, Younossi Z, et al. Increased risk of mortality by fibrosis stage in nonalcoholic fatty liver disease: Systematic review and meta-analysis. *Hepatology*. 2017;65(5):1557-1565.
72. Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, Adams LA, Bjornsson ES, Charatcharoenwitthaya P, et al. Liver Fibrosis, but No Other Histologic Features,

- Is Associated With Long-term Outcomes of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2015;149(2):389-97.e10.
73. Muzurović E, Mikhailidis DP, Mantzoros C. Non-alcoholic fatty liver disease, insulin resistance, metabolic syndrome and their association with vascular risk. *Metabolism*. 2021;119:154770.
 74. Gaggini M, Morelli M, Buzzigoli E, DeFronzo RA, Bugianesi E, Gastaldelli A. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease. *Nutrients*. 2013;5(5):1544-1560.
 75. Abd El-Kader SM, El-Den Ashmawy EM. Non-alcoholic fatty liver disease: The diagnosis and management. *World J Hepatol*. 2015;7(6):846-858.
 76. Caballeria J, Caballeria L. Esteatohepatitis no alcohólica y diabetes. *Endocrinol y Nutr*. 2016;63(8):377–9.
 77. Esteve Ràfols M. Tejido adiposo: heterogeneidad celular y diversidad funcional. *Endocrinol y Nutr*. 2014;61(2):100–12.
 78. Weiss R. Fat distribution and storage: how much, where, and how? *Eur J Endocrinol*. 2007;157 Suppl 1:S39-S45.
 79. Gustafson B, Smith U. Regulation of white adipogenesis and its relation to ectopic fat accumulation and cardiovascular risk. *Atherosclerosis*. 2015;241(1):27-35.
 80. McGillis JP. White adipose tissue, inert no more! *Endocrinology*. 2005;146(5):2154-2156.
 81. van der Poorten D, Milner KL, Hui J, Hodge A, Trenell MI, Kench JG, et al. Visceral fat: a key mediator of steatohepatitis in metabolic liver disease. *Hepatology*. 2008;48(2):449-457.
 82. Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Adipokines in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2016;65(8):1062-1079.
 83. Mascaró CM, Bouzas C, Tur JA. Association between Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Mediterranean Lifestyle: A Systematic Review. *Nutrients*. 2021;14(1):49.

84. Zelber-Sagi S, Nitzan-Kaluski D, Goldsmith R, Webb M, Blendis L, Halpern Z, et al. Long term nutritional intake and the risk for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a population based study. *J Hepatol.* 2007;47(5):711-717.
85. Ryu S, Chang Y, Jung HS, Yun KE, Kwon MJ, Choi Y, et al. Relationship of sitting time and physical activity with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2015;63(5):1229-1237.
86. Kechagias S, Ernersson A, Dahlqvist O, Lundberg P, Lindström T, Nystrom FH, et al. Fast-food-based hyper-alimentation can induce rapid and profound elevation of serum alanine aminotransferase in healthy subjects. *Gut.* 2008;57(5):649-654.
87. Leamy AK, Egnatchik RA, Young JD. Molecular mechanisms and the role of saturated fatty acids in the progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Prog Lipid Res.* 2013;52(1):165-174.
88. Sevastianova K, Santos A, Kotronen A, Hakkarainen A, Makkonen J, Silander K, et al. Effect of short-term carbohydrate overfeeding and long-term weight loss on liver fat in overweight humans. *Am J Clin Nutr.* 2012;96(4):727-734.
89. Solga S, Alkhouraishe AR, Clark JM, Torbenson M, Greenwald A, Diehl AM, et al. Dietary composition and nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci.* 2004;49(10):1578-1583.
90. Tovo CV, Fernandes SA, Buss C, de Mattos AA. Sarcopenia and non-alcoholic fatty liver disease: Is there a relationship? A systematic review. *World J Hepatol.* 2017;9(6):326-332.
91. Pan X, Han Y, Zou T, Zhu G, Xu K, Zheng J, et al. Sarcopenia Contributes to the Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease- Related Fibrosis: A Meta-Analysis. *Dig Dis.* 2018;36(6):427-436.
92. Aron-Wisnewsky J, Gaborit B, Dutour A, Clement K. Gut microbiota and non-alcoholic fatty liver disease: new insights. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19(4):338-348.
93. Compare D, Coccoli P, Rocco A, Nardone OM, De Maria S, Carteni M, et al. Gut-liver axis: the impact of gut microbiota on non alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2012;22(6):471-476.

94. Yu J, Marsh S, Hu J, Feng W, Wu C. The Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Interplay between Diet, Gut Microbiota, and Genetic Background. *Gastroenterol Res Pract*. 2016;2016:2862173.
95. Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2009;49(6):1877-1887.
96. Anstee QM, Day CP. The Genetics of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Spotlight on PNPLA3 and TM6SF2. *Semin Liver Dis*. 2015;35(3):270-290.
97. Sookoian S, Pirola CJ. Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2011;53(6):1883-1894.
98. Severson TJ, Besur S, Bonkovsky HL. Genetic factors that affect nonalcoholic fatty liver disease: A systematic clinical review. *World J Gastroenterol*. 2016;22(29):6742-6756.
99. Liu YL, Reeves HL, Burt AD, Tiniakos D, McPherson S, Leathart JB, et al. TM6SF2 rs58542926 influences hepatic fibrosis progression in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nat Commun*. 2014;5:4309.
100. Masarone M, Rosato V, Dallio M, Gravina AG, Aglitti A, Loguercio C, et al. Role of Oxidative Stress in Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease [published correction appears in *Oxid Med Cell Longev*. 2021 Jul 28;2021:9757921]. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018:9547613.
101. Abenavoli L, Milanović M, Milić N, Luzzza F, Giuffrè AM. Olive oil antioxidants and non-alcoholic fatty liver disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;13(8):739-749.
102. Jézéquel C, Lainé F, Laviolle B, Kiani A, Bardou-Jacquet E, Deugnier Y. Both hepatic and body iron stores are increased in dysmetabolic iron overload syndrome. A case-control study. *PLoS One*. 2015;10(6):e0128530.
103. Deugnier Y, Bardou-Jacquet É, Lainé F. Dysmetabolic iron overload syndrome (DIOS). *Presse Med*. 2017;46(12 Pt 2):e306-e311.

104. Britton LJ, Subramaniam VN, Crawford DH. Iron and non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2016;22(36):8112-8122.
105. Belfort R, Harrison SA, Brown K, Darland C, Finch J, Hardies J, et al. A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2006;355(22):2297-2307.
106. Gepner Y, Shelef I, Komy O, Cohen N, Schwarzfuchs D, Bril N, et al. The beneficial effects of Mediterranean diet over low-fat diet may be mediated by decreasing hepatic fat content. *J Hepatol*. 2019;71(2):379-388.
107. Sumida Y, Nakashima T, Yoh T, Furutani M, Hirohama A, Kakisaka Y, et al. Serum thioredoxin levels as a predictor of steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2003;38(1):32-38.
108. Sumida Y, Niki E, Naito Y, Yoshikawa T. Involvement of free radicals and oxidative stress in NAFLD/NASH. *Free Radic Res*. 2013;47(11):869-880.
109. Fukui A, Kawabe N, Hashimoto S, Murao M, Nakano T, Shimazaki H, et al. Vitamin E reduces liver stiffness in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*. 2015;7(27):2749-2756.
110. Martínez-González MA, Salas-Salvadó J, Estruch R, Corella D, Fitó M, Ros E, et al. Benefits of the Mediterranean Diet: Insights From the PREDIMED Study. *Prog Cardiovasc Dis*. 2015;58(1):50-60.
111. Anania C, Perla FM, Olivero F, Pacifico L, Chiesa C. Mediterranean diet and nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2018;24(19):2083-2094.
112. Romero-Gómez M, Zelber-Sagi S, Trenell M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. *J Hepatol*. 2017;67(4):829-846.
113. Abenavoli L, Greco M, Milic N, Accattato F, Foti D, Gulletta E, et al. Effect of Mediterranean Diet and Antioxidant Formulation in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized Study. *Nutrients*. 2017;9(8):870.
114. Katsagoni CN, Papatheodoridis GV, Ioannidou P, Deutsch M, Alexopoulou A, Papadopoulos N, et al. Improvements in clinical characteristics of patients with non-alcoholic fatty liver disease, after an intervention based on the Mediterranean lifestyle: a randomised controlled clinical trial. *Br J Nutr*. 2018;120(2):164-175.

115. Gallardo-Alfaro L, Bibiloni MDM, Mateos D, Ugarriza L, Tur JA. Leisure-Time Physical Activity and Metabolic Syndrome in Older Adults. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(18):3358.
116. González-Gross M, Meléndez A. Sedentarism, active lifestyle and sport: Impact on health and obesity prevention. *Nutr Hosp*. 2013;28 Suppl 5:89-98.
117. Asada F, Nomura T, Hosui A, Kubota M. Influence of increased physical activity without body weight loss on hepatic inflammation in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Environ Health Prev Med*. 2020;25(1):18.
118. Carroll S, Dudfield M. What is the relationship between exercise and metabolic abnormalities? A review of the metabolic syndrome. *Sports Med*. 2004;34(6):371-418.
119. Mascaró CM, Bouzas C, Montemayor S, Casares M, Gómez C, Ugarriza L, et al. Association between Physical Activity and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Adults with Metabolic Syndrome: The FLIPAN Study. *Nutrients*. 2022;14(5):1063.
120. Wu T, Gao X, Chen M, van Dam RM. Long-term effectiveness of diet-plus-exercise interventions vs. diet-only interventions for weight loss: a meta-analysis. *Obes Rev*. 2009;10(3):313-323.
121. Tutino V, De Nunzio V, Caruso MG, Bonfiglio C, Franco I, Mirizzi A, et al. Aerobic Physical Activity and a Low Glycemic Diet Reduce the AA/EPA Ratio in Red Blood Cell Membranes of Patients with NAFLD. *Nutrients*. 2018;10(9):1299.
122. Georgoulis M, Kontogianni MD, Yiannakouris N. Mediterranean diet and diabetes: prevention and treatment. *Nutrients*. 2014;6(4):1406-1423.
123. deKoning L, Anand SS. Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. Trichopoulos A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. *N Engl J Med* 2003; 348: 2599-608. *Vasc Med*. 2004;9(2):145-146.
124. ¿QUÉ ES LA DIETA MEDITERRÁNEA? – FUNDACIÓN DIETA MEDITERRÁNEA [Internet]. Barcelona: 2010 [cited 2022 Jun 23]. Available from: <https://dietamediterranea.com/nutricion-saludable-ejercicio-fisico/>

125. Pérez-Martínez P, Mikhailidis DP, Athyros VG, Bullo M, Couture P, Covas MI, et al. Lifestyle recommendations for the prevention and management of metabolic syndrome: an international panel recommendation. *Nutr Rev.* 2017;75(5):307-326.
126. Widmer RJ, Flammer AJ, Lerman LO, Lerman A. The Mediterranean diet, its components, and cardiovascular disease. *Am J Med.* 2015;128(3):229-238.
127. Kastorini CM, Milionis HJ, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos JA, Panagiotakos DB. The effect of Mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: a meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(11):1299-1313.
128. Siscovick DS, LaPorte RE, Newman J, Health; Iverson DC, Fielding JE. Physical activity, Exercise, and Physical Fitness: Definitions and Distinctions for Health-Related Research. *Public Health Rep.* 1985;100(2):126-131.
129. Al Tunaiji H, Davis JC, Mansournia MA, Khan KM. Population attributable fraction of leading non-communicable cardiovascular diseases due to leisure-time physical inactivity: a systematic review. *BMJ Open Sport Exerc Med.* 2019;5(1):e000512.
130. Myers J, Kokkinos P, Nyelin E. Physical Activity, Cardiorespiratory Fitness, and the Metabolic Syndrome. *Nutrients.* 2019;11(7):1652.
131. Gallardo-Alfaro L, Bibiloni MDM, Mascaró CM, Montemayor S, Ruiz-Canela M, Salas-Salvadó J, et al. Leisure-Time Physical Activity, Sedentary Behaviour and Diet Quality are Associated with Metabolic Syndrome Severity: The PREDIMED-Plus Study. *Nutrients.* 2020;12(4):1013.
132. World Health Organization – Europe. (WHO-Europe). Physical activity [Internet]. Copenhagen, Denmark. [cited 2022 Jun 17]. Available from: https://www.who.int/health-topics/physical-activity#tab=tab_1
133. Westheim A, Os I. Physical activity and the metabolic cardiovascular syndrome. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1992;20 Suppl 8:S49-S53.
134. Lee IM, Shiroma EJ, Lobelo F, Puska P, Blair SN, Katzmarzyk PT, et al. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an

- analysis of burden of disease and life expectancy. *Lancet*. 2012;380(9838):219-229.
135. McPhee JS, French DP, Jackson D, Nazroo J, Pendleton N, Degens H. Physical activity in older age: perspectives for healthy ageing and frailty. *Biogerontology*. 2016;17(3):567-580.
136. Malakou E, Linardakis M, Armstrong MEG, Zannidi D, Foster C, Johnson L, et al. The Combined Effect of Promoting the Mediterranean Diet and Physical Activity on Metabolic Risk Factors in Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomised Controlled Trials. *Nutrients*. 2018;10(11):1577.
137. Alvarez-Alvarez I, Zazpe I, Pérez de Rojas J, Bes-Rastrollo M, Ruiz-Canela M, Fernandez-Montero A, et al. Mediterranean diet, physical activity and their combined effect on all-cause mortality: The Seguimiento Universidad de Navarra (SUN) cohort. *Prev Med*. 2018;106:45-52.
138. Gelli C, Tarocchi M, Abenavoli L, Di Renzo L, Galli A, De Lorenzo A. Effect of a counseling-supported treatment with the Mediterranean diet and physical activity on the severity of the non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2017;23(17):3150-3162.
139. Tsunoda K, Kitano N, Kai Y, Jindo T, Uchida K, Arao T. Dose-response relationships of accelerometer-measured sedentary behaviour and physical activity with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2021;54(10):1330-1339.
140. Sargeant JA, Bawden S, Aithal GP, Simpson EJ, Macdonald IA, Turner MC, et al. Effects of sprint interval training on ectopic lipids and tissue-specific insulin sensitivity in men with non-alcoholic fatty liver disease. *Eur J Appl Physiol*. 2018;118(4):817-828.
141. Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición. RECOMENDACIONES PARA PERSONAS CON ENFERMEDAD DE HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO (EHGNA) [Internet]. Burgos y Navarra, España. [cited 2022 Jun 17]. Available from: https://www.seen.es/ModulGEX/workspace/publico/modulos/web/docs/apartado_s/2069/090221_114438_1463307379.pdf

142. Schneider CV, Zandvakili I, Thaiss CA, Schneider KM. Physical activity is associated with reduced risk of liver disease in the prospective UK Biobank cohort. *JHEP Rep.* 2021;3(3):100263.
143. Lee K. Relationship Between Handgrip Strength and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Nationwide Surveys. *Metab Syndr Relat Disord.* 2018;16(9):497-503.
144. Qiu S, Cai X, Sun Z, Li L, Zügel M, Steinacker JM, et al. Association between physical activity and risk of nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *Therap Adv Gastroenterol.* 2017;10(9):701-713.
145. Medrano M, Arenaza L, Migueles JH, Rodríguez-Vigil B, Ruiz JR, Labayen I. Associations of physical activity and fitness with hepatic steatosis, liver enzymes, and insulin resistance in children with overweight/obesity. *Pediatr Diabetes.* 2020;21(4):565-574.
146. Park JH, Lim NK, Park HY. Protective Effect of Leisure-Time Physical Activity and Resistance Training on Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Nationwide Cross-Sectional Study. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(4):2350.
147. BOE.es - BOE-A-2020-3692 Real Decreto 463/2020, de 14 de marzo, por el que se declara el estado de alarma para la gestión de la situación de crisis sanitaria ocasionada por el COVID-19. [Internet]. España: 2020 [cited 2022 Jun 17]. Available from: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2020-3692>
148. BOE.es - BOE-A-2020-5243 Real Decreto 537/2020, de 22 de mayo, por el que se prorroga el estado de alarma declarado por el Real Decreto 463/2020, de 14 de marzo, por el que se declara el estado de alarma para la gestión de la situación de crisis sanitaria ocasionada por el COVID-19. [Internet]. España: 2020 [cited 2022 Jun 17]. Available from: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2020-5243>
149. Las portadas de los periódicos del sábado 14 de marzo de 2020 [Internet]. España: 2020 [cited 2022 Jun 17]. Available from: <https://www.europapress.es/nacional/noticia-portadas-periodicos-sabado-14-marzo-2020-20200314013015.html>
150. Fotos: Primer mes del confinamiento en España, en imágenes | Sociedad | EL PAÍS [Internet]. España: 2020 [cited 2022 Jun 17]. Available from:

https://elpais.com/elpais/2020/04/14/album/1586850601_616193.html#foto_gal_16

151. Confederación Salud Mental España. Salud mental y COVID-19, un año de pandemia. 2021.
152. Flanagan EW, Beyl RA, Fearnbach SN, Altazan AD, Martin CK, Redman LM. The Impact of COVID-19 Stay-At-Home Orders on Health Behaviors in Adults. *Obesity (Silver Spring)*. 2021;29(2):438-445.
153. Shanmugam H, Di Ciaula A, Di Palo DM, Molina-Molina E, Garruti G, Faienza MF, et al. Multiplying effects of COVID-19 lockdown on metabolic risk and fatty liver. *Eur J Clin Invest*. 2021;51(7):e13597.
154. Cho J, Lee I, Park DH, Kwak HB, Min K. Relationships between Socioeconomic Status, Handgrip Strength, and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Middle-Aged Adults. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(4):1892.
155. Eslam M, Newsome PN, Sarin SK, Anstee QM, Targher G, Romero-Gomez M, et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *J Hepatol*. 2020;73(1):202-209.
156. Jeznach-Steinhagen A, Ostrowska J, Czerwonogrodzka-Senczyna A, Boniecka I, Shahnazaryan U, Kuryłowicz A. Dietary and Pharmacological Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Medicina (Kaunas)*. 2019;55(5):166.
157. Romero-Gómez M, Zelber-Sagi S, Trenell M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. *J Hepatol*. 2017;67(4):829-846.
158. NCT04442620. Prevention and Reversion of NAFLD in Obese Patients with Metabolic Syndrome by Mediterranean Diet and Physical Activity (FLIPAN) [Internet]. *ClinicalTrials.gov*. 2020. [cited 2022 Jun 23]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04442620>
159. Dunn AL, Marcus BH, Kampert JB, Garcia ME, Kohl HW 3rd, Blair SN. Reduction in cardiovascular disease risk factors: 6-month results from Project Active. *Prev Med*. 1997;26(6):883-892.

160. Martin SB, Morrow JR Jr, Jackson AW, Dunn AL. Variables related to meeting the CDC/ACSM physical activity guidelines. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32(12):2087-2092.
161. Del Ben M, Polimeni L, Baratta F, Pastori D, Loffredo L, Angelico F. Modern approach to the clinical management of non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2014;20(26):8341-8350.
162. Mascaró CM, Bouzas C, Montemayor S, Casares M, Llompart I, Ugarriza L, et al. Effect of a Six-Month Lifestyle Intervention on the Physical Activity and Fitness Status of Adults with NAFLD and Metabolic Syndrome. *Nutrients.* 2022;14(9):1813.
163. The International Diabetic Federation (IDF). The IDF Consensus Worldwide Definition of Definition of the Metabolic Syndrome. [Internet]. Brussels, Belgium [cited 2022 Jun 23]. Available from: http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Meta_def_final.pdf
164. Beck AT, Steer RA, Carbin MG. Psychometric properties of the Beck depression inventory: twenty-five years of evaluation. *Clin Psychol Rev.* 1988;8(1):77-100.
165. Saghaei M, Saghaei S. Implementation of an open-source customizable minimization program for allocation of patients to parallel groups in clinical trials. *J Biomed Sci Eng.* 2011;4(11):734-739.
166. U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture. 2015–2020 Dietary Guidelines for Americans. 8th Edition. December 2015. Available from: <http://health.gov/dietaryguidelines/2015/guidelines/>
167. Global Recommendations on Physical Activity for Health. Geneva: World Health Organization; 2010.
168. Zulet MA, Bondia-Pons I, Abete I, De La Iglesia R, López-Legarrea P, Forga L, et al. The reduction of the metabolic syndrome in Navarra-Spain (RESMENA-S) study: a multidisciplinary strategy based on chrononutrition and nutritional education, together with dietetic and psychological control. *Nutr Hosp.* 2011;26(1):16-26.

169. De la Iglesia R, Lopez-Legarrea P, Abete I, Bondia-Pons I, Navas-Carretero S, Forga L, et al. A new dietary strategy for long-term treatment of the metabolic syndrome is compared with the American Heart Association (AHA) guidelines: the MEtabolic Syndrome REduction in NAvarra (RESMENA) project. *Br J Nutr.* 2014;111(4):643-652.
170. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Tzima N, Chrysohoou C, Economou M, Zampelas A, et al. Adherence to the Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in healthy adults: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr.* 2005;82(3):694-699.
171. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, et al. Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet Supplemented with Extra-Virgin Olive Oil or Nuts. *N Engl J Med.* 2018;378(25):e34.
172. Mifflin MD, St Jeor ST, Hill LA, Scott BJ, Daugherty SA, Koh YO. A new predictive equation for resting energy expenditure in healthy individuals. *Am J Clin Nutr.* 1990;51(2):241-247.
173. World Health Organization. Energy and protein requirements: Report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. [Internet]. WHO Technical Report Series No. 724. Geneva, Switzerland: 1985 [cited 2022 Jun 23]. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39527/WHO_TRS_724_%28chp1-chp6%29.pdf?sequence=1
174. Buysse DJ, Reynolds CF 3rd, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res.* 1989;28(2):193-213.
175. Vilagut G, Ferrer M, Rajmil L, Rebollo P, Permanyer-Miralda G, Quintana JM, et al. El Cuestionario de Salud SF-36 español: una década de experiencia y nuevos desarrollos. *Gac Sanit.* 2005;19(2):135–50.
176. Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene RE. Manual del Cuestionario de Ansiedad Estado-Rasgo Adaptación española. 9ª edición revisada. Madrid, España: TEA Ediciones, S.A.U.; 2015.

177. Schröder H, Fitó M, Estruch R, Martínez-González MA, Corella D, Salas-Salvadó J, et al. A short screener is valid for assessing Mediterranean diet adherence among older Spanish men and women. *J Nutr*. 2011;141(6):1140-1145.
178. Weng G, Dunn W. Effect of alcohol consumption on nonalcoholic fatty liver disease. *Transl Gastroenterol Hepatol*. 2019;4:70.
179. Willett WC, Sampson L, Stampfer MJ, Rosner B, Bain C, Witschi J, et al. Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. *Am J Epidemiol*. 1985;122(1):51-65.
180. Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C. *Tablas De Composición De Alimentos (Ciencia y Técnica). Guía de prácticas*. 19ª edición. Madrid, España: Ediciones Pirámide; 2018.
181. Petty AJ, Melanson KJ, Greene GW. Self-reported eating rate aligns with laboratory measured eating rate but not with free-living meals. *Appetite*. 2013;63:36-41.
182. Ferriday D, Bosworth ML, Lai S, et al. Effects of eating rate on satiety: A role for episodic memory?. *Physiol Behav*. 2015;152(Pt B):389-396.
183. Hill AJ, Blundell JE. Nutrients and behaviour: research strategies for the investigation of taste characteristics, food preferences, hunger sensations and eating patterns in man. *J Psychiatr Res*. 1982;17(2):203-212.
184. Elosua R, Garcia M, Aguilar A, Molina L, Covas MI, Marrugat J. Validation of the Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire In Spanish Women. Investigators of the MARATDON Group. *Med Sci Sports Exerc*. 2000;32(8):1431-1437.
185. Elosua R, Marrugat J, Molina L, Pons S, Pujol E. Validation of the Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire in Spanish men. The MARATHOM Investigators. *Am J Epidemiol*. 1994;139(12):1197-1209.
186. Richardson MT, Leon AS, Jacobs DR Jr, Ainsworth BE, Serfass R. Comprehensive evaluation of the Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire. *J Clin Epidemiol*. 1994;47(3):271-281.

187. Suni J, Husu P, Rinne M. Fitness for Health: The ALPHA-FIT Test Battery for Adults Aged 18-69—Tester’s Manual. [Internet] UUK Inst: 2009. [cited 2022 Jun 23]. Available from: <http://www.ukkinstituutti.fi/en/alpha>
188. Bennett H, Parfitt G, Davison K, Eston R. Validity of Submaximal Step Tests to Estimate Maximal Oxygen Uptake in Healthy Adults. *Sports Med.* 2016;46(5):737-750.
189. Chester Step Test Kit (Official) by Professor Kevin Sykes [Internet]. [Cited 2022 Jun 23] Available from: <https://cartwrightfitness.co.uk/product/chester-step-test-kit/>
190. User Guide ActiGraph wGT3X-BT + ActiLife. [Internet] Pensacola, Florida: 2019. [cited 2022 Jun 23]. Available from: https://s3.amazonaws.com/actigraphcorp.com/wpcontent/uploads/2020/03/05155605/ActiGraph_wGT3X-BT_UserGuide_E.200.6003_Revision5_FINAL.pdf
191. Organización Mundial de la Salud. Manual de vigilancia STEPS de la OMS, Parte 3: Guías para la formación e instrucciones prácticas; Sección 4: Guía para las mediciones físicas (STEP 2) [Internet]. 2009. [cited 2022 Jun 23]. Available from: https://www.who.int/ncds/surveillance/steps/Parte3_Seccion4.pdf
192. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2005;41(6):1313-1321.
193. Meng F, Zheng Y, Zhang Q, Mu X, Xu X, Zhang H, et al. Noninvasive evaluation of liver fibrosis using real-time tissue elastography and transient elastography (FibroScan). *J Ultrasound Med.* 2015;34(3):403-410.
194. Ferraioli G, Tinelli C, Lissandrin R, Zicchetti M, Bello BD, Filice G, et al. Point shear wave elastography method for assessing liver stiffness. *World J Gastroenterol.* 2014;20(16):4787-4796.
195. O’Hara S, Hodson S, Hernaman C, Wambeek N, Olynyk J. Concordance of transient elastography and shear wave elastography for measurement of liver stiffness. *Sonography.* 2017;4(4):141-145.

196. Cañas Maciá TM. Elastografía cuantitativa tipo ARFI: Valores normales en niños sanos en hígado y bazo y su utilidad en niños con enfermedad hepática asociada a fibrosis quística [Doctor]. Universidad Autónoma de Madrid; 2016.
197. Castéra L, Foucher J, Bernard PH, Carvalho F, Allaix D, Merrouche W, et al. Pitfalls of liver stiffness measurement: a 5-year prospective study of 13,369 examinations. *Hepatology*. 2010;51(3):828-835.
198. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. The French METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*. 1994;20(1):15-20.
199. Ferraioli G, Maiocchi L, Lissandrin R, De Silvestre A, Tinelli C, Filice C, et al. Non-invasive staging of liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis: performance of a shear wave measurement method [Internet]. Pavia, Italy, 2017. [cited 2022 Jun 23]. Available from: <https://epos.myesr.org/poster/esr/ecr2017/B-1248/purpose>
200. Sharma P, Altbach M, Galons JP, Kalb B, Martin DR. Measurement of liver fat fraction and iron with MRI and MR spectroscopy techniques. *Diagn Interv Radiol*. 2014;20(1):17-26.
201. Chandarana H, Lim RP, Jensen JH, Hajdu CH, Losada M, Babb JS, et al. Hepatic iron deposition in patients with liver disease: preliminary experience with breath-hold multiecho T2*-weighted sequence. *AJR Am J Roentgenol*. 2009;193(5):1261-1267.
202. Lee JH, Kim D, Kim HJ, Lee CH, Yang JI, Kim W, et al. Hepatic steatosis index: a simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis*. 2010;42(7):503-508.
203. Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, et al. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol*. 2006;6:33.
204. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006;43(6):1317-1325.

205. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-419.
206. Guerrero-Romero F, Simental-Mendía LE, González-Ortiz M, Martínez-Abundis E, Ramos-Zavala MG, Hernández-González SO, et al. The product of triglycerides and glucose, a simple measure of insulin sensitivity. Comparison with the euglycemic-hyperinsulinemic clamp. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(7):3347-3351.
207. Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang Y, Hendriksen S, et al. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate [published correction appears in *Ann Intern Med*. 2008 Oct 7;149(7):519] [published correction appears in *Ann Intern Med*. 2021 Apr;174(4):584]. *Ann Intern Med*. 2006;145(4):247-254.
208. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JPA, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *BMJ*. 2009;339:b2700.
209. Adams LA, Anstee QM, Tilg H, Targher G. Non-alcoholic fatty liver disease and its relationship with cardiovascular disease and other extrahepatic diseases. *Gut*. 2017;66(6):1138-1153.
210. Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Oramas B, Gonzalez-Fabian L, et al. Weight Loss Through Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2015;149(2):367-e15.
211. Babio N, Toledo E, Estruch R, Ros E, Martínez-González MA, Castañer O, et al. Mediterranean diets and metabolic syndrome status in the PREDIMED randomized trial. *CMAJ*. 2014;186(17):E649-E657.

212. Finicelli M, Squillaro T, Di Cristo F, Di Salle A, Melone MAB, Galderisi U, et al. Metabolic syndrome, Mediterranean diet, and polyphenols: Evidence and perspectives. *J Cell Physiol.* 2019;234(5):5807-5826.
213. Razavi Zade M, Telkabadi MH, Bahmani F, Salehi B, Farshbaf S, Asemi Z. The effects of DASH diet on weight loss and metabolic status in adults with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized clinical trial. *Liver Int.* 2016;36(4):563-571.
214. Abbate M, Mascaró CM, Montemayor S, Barbería-Latasa M, Casares M, Gómez C, et al. Energy Expenditure Improved Risk Factors Associated with Renal Function Loss in NAFLD and MetS Patients. *Nutrients.* 2021;13(2):629.
215. Kim JY, Lee C, Oh M, Im JA, Lee JW, Chu SH, et al. Relationship between non-alcoholic fatty liver disease, metabolic syndrome and insulin resistance in Korean adults: A cross-sectional study. *Clin Chim Acta.* 2016;458:12-17.
216. Konerman MA, Walden P, Joseph M, Jackson EA, Lok AS, Rubenfire M. Impact of a structured lifestyle programme on patients with metabolic syndrome complicated by non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2019;49(3):296-307.
217. Sorrentino G, Crispino P, Coppola D, De Stefano G. Efficacy of lifestyle changes in subjects with non-alcoholic liver steatosis and metabolic syndrome may be improved with an antioxidant nutraceutical: a controlled clinical study. *Drugs R D.* 2015;15(1):21-25.
218. Georgoulis M, Kontogianni MD, Margariti A, Tiniakos D, Fragopoulou E, Zafiropoulou R, et al. Associations between dietary intake and the presence of the metabolic syndrome in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hum Nutr Diet.* 2015;28(4):409-415.
219. Gelli C, Tarocchi M, Abenavoli L, Di Renzo L, Galli A, De Lorenzo A. Effect of a counseling-supported treatment with the Mediterranean diet and physical activity on the severity of the non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2017;23(17):3150-3162.

220. Copaci I, Lupescu I, Caceaune E, Chiriac G, Ismail G. Noninvasive Markers of Improvement of Liver Steatosis Achieved by Weight Reduction in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Rom J Intern Med.* 2015;53(1):54-62.
221. Takahashi A, Abe K, Usami K, Imaizumi H, Hayashi M, Okai K, et al. Simple Resistance Exercise helps Patients with Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Sports Med.* 2015;36(10):848-852.
222. Marin-Alejandro BA, Abete I, Cantero I, Monreal JI, Elorz M, Herrero JI, et al. The Metabolic and Hepatic Impact of Two Personalized Dietary Strategies in Subjects with Obesity and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The Fatty Liver in Obesity (FLiO) Randomized Controlled Trial. *Nutrients.* 2019;11(10):2543.
223. Farzanegi P, Dana A, Ebrahimipoor Z, Asadi M, Azarbayjani MA. Mechanisms of beneficial effects of exercise training on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): Roles of oxidative stress and inflammation. *Eur J Sport Sci.* 2019;19(7):994-1003.
224. Ordonez R, Carbajo-Pescador S, Mauriz JL, Gonzalez-Gallego J. Understanding nutritional interventions and physical exercise in non-alcoholic fatty liver disease. *Curr Mol Med.* 2015;15(1):3-26.
225. Abbate M, Mascaró CM, Montemayor S, Barbería-Latasa M, Casares M, Gómez C, et al. Energy Expenditure Improved Risk Factors Associated with Renal Function Loss in NAFLD and MetS Patients. *Nutrients.* 2021;13(2):629.
226. Bullón-Vela V, Abete I, Tur JA, Pintó X, Corbella E, Martínez-González MA, et al. Influence of lifestyle factors and staple foods from the Mediterranean diet on non-alcoholic fatty liver disease among older individuals with metabolic syndrome features. *Nutrition.* 2020;71:110620.
227. Lee I, Cho J, Park J, Kang H. Association of hand-grip strength and non-alcoholic fatty liver disease index in older adults. *J Exerc Nutrition Biochem.* 2018;22(4):62-68.
228. Sheka AC, Adeyi O, Thompson J, Hameed B, Crawford PA, Ikramuddin S. Nonalcoholic Steatohepatitis: A Review [published correction appears in *JAMA.* 2020 Apr 28;323(16):1619]. *JAMA.* 2020;323(12):1175-1183.

229. Li L, Liu DW, Yan HY, Wang ZY, Zhao SH, Wang B. Obesity is an independent risk factor for non-alcoholic fatty liver disease: evidence from a meta-analysis of 21 cohort studies. *Obes Rev.* 2016;17(6):510-519.
230. Mann JP, Valenti L, Scorletti E, Byrne CD, Nobili V. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children. *Semin Liver Dis.* 2018;38(1):1-13.
231. Anderson EL, Howe LD, Jones HE, Higgins JP, Lawlor DA, Fraser A. The Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2015;10(10):e0140908.
232. Lee CH, Cheung B, Yi GH, Oh B, Oh YH. Mobile health, physical activity, and obesity: Subanalysis of a randomized controlled trial. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(38):e12309.
233. Kühn T, Nonnenmacher T, Sookthai D, Schübel R, Quintana Pacheco DA, von Stackelberg O, et al. Anthropometric and blood parameters for the prediction of NAFLD among overweight and obese adults. *BMC Gastroenterol.* 2018;18(1):113.
234. Brown AF, Prado CM, Ghosh S, Leonard SM, Arciero PJ, Tucker KL, et al. Higher-protein intake and physical activity are associated with healthier body composition and cardiometabolic health in Hispanic adults. *Clin Nutr ESPEN.* 2019;30:145-151.
235. Yaskolka Meir A, Rinott E, Tsaban G, Zelicha H, Kaplan A, Rosen P, et al. Effect of green-Mediterranean diet on intrahepatic fat: the DIRECT PLUS randomised controlled trial. *Gut.* 2021;70(11):2085-2095.
236. Shai I, Schwarzfuchs D, Henkin Y, Shahar DR, Witkow S, Greenberg I, et al. Weight loss with a low-carbohydrate, Mediterranean, or low-fat diet [published correction appears in *N Engl J Med.* 2009 Dec 31;361(27):2681]. *N Engl J Med.* 2008;359(3):229-241.
237. Li J, O'Connor LE, Zhou J, Campbell WW. Exercise patterns, ingestive behaviors, and energy balance. *Physiol Behav.* 2014;134:70-75.

238. Hoffmann DA, Carels RA. Does when you eat and exercise matter? Differences in eating and physical activity patterns in overweight and obese adults. *Eat Weight Disord.* 2016;21(1):91-98.
239. Winn NC, Liu Y, Rector RS, Parks EJ, Ibdah JA, Kanaley JA. Energy-matched moderate and high intensity exercise training improves nonalcoholic fatty liver disease risk independent of changes in body mass or abdominal adiposity - A randomized trial. *Metabolism.* 2018;78:128-140.
240. Colley RC, Butler G, Garriguet D, Prince SA, Roberts KC. Comparison of self-reported and accelerometer-measured physical activity among Canadian youth. *Health Rep.* 2019;30(7):3-12.
241. Skender S, Ose J, Chang-Claude J, Paskow M, Brühmann B, Siegel EM, et al. Accelerometry and physical activity questionnaires - a systematic review. *BMC Public Health.* 2016;16:515.
242. Salas-Salvadó J, Díaz-López A, Ruiz-Canela M, Basora J, Fitó M, Corella D, et al. Effect of a Lifestyle Intervention Program With Energy-Restricted Mediterranean Diet and Exercise on Weight Loss and Cardiovascular Risk Factors: One-Year Results of the PREDIMED-Plus Trial. *Diabetes Care.* 2019;42(5):777-788.
243. Kwak MS, Kim D, Chung GE, Kim W, Kim JS. The preventive effect of sustained physical activity on incident nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* 2017;37(6):919-926.
244. Arija V, Villalobos F, Pedret R, Vinuesa A, Jovani D, Pascual G, et al. Physical activity, cardiovascular health, quality of life and blood pressure control in hypertensive subjects: randomized clinical trial. *Health Qual Life Outcomes.* 2018;16(1):184.
245. Yu AS, Keeffe EB. Elevated AST or ALT to nonalcoholic fatty liver disease: accurate predictor of disease prevalence?. *Am J Gastroenterol.* 2003;98(5):955-956.
246. Carobene A, Braga F, Roraas T, Sandberg S, Bartlett WA. A systematic review of data on biological variation for alanine aminotransferase, aspartate

- aminotransferase and γ -glutamyl transferase. *Clin Chem Lab Med*. 2013;51(10):1997-2007.
247. Noakes TD. Effect of exercise on serum enzyme activities in humans. *Sports Med*. 1987;4(4):245-267.
248. Brouwers B, Schrauwen-Hinderling VB, Jelenik T, Gemmink A, Sparks LM, Havekes B, et al. Exercise training reduces intrahepatic lipid content in people with and people without nonalcoholic fatty liver. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2018;314(2):E165-E173.
249. Cuthbertson DJ, Shojaee-Moradie F, Sprung VS, Jones H, Pugh CJA, Richardson P, et al. Dissociation between exercise-induced reduction in liver fat and changes in hepatic and peripheral glucose homeostasis in obese patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Sci (Lond)*. 2016;130(2):93-104.
250. Rodrigues de Lima T, González-Chica DA, Santos Silva DA. Clusters of cardiovascular risk factors and its association with muscle strength in adults. *J Sports Med Phys Fitness*. 2020;60(3):479-485.
251. Hillman TE, Nunes QM, Hornby ST, Stanga Z, Neal KR, Rowlands BJ, et al. A practical posture for hand grip dynamometry in the clinical setting. *Clin Nutr*. 2005;24(2):224-228.
252. Vargas-Pinilla OC, Rodríguez-Grande EI. Reproducibility and agreement between three positions for handgrip assessment. *Sci Rep*. 2021;11(1):12906.
253. Tomlinson DJ, Erskine RM, Morse CI, Winwood K, Onambélé-Pearson G. The impact of obesity on skeletal muscle strength and structure through adolescence to old age. *Biogerontology*. 2016;17(3):467-483.
254. Austin P, Gerber L, Paik JM, Price JK, Escheik C, Younossi ZM. Aerobic capacity and exercise performance in nonalcoholic fatty liver disease. *J Sports Med Phys Fitness*. 2019;59(8):1376-1388.
255. Xiong Y, Peng Q, Cao C, Xu Z, Zhang B. Effect of Different Exercise Methods on Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Meta-Analysis and Meta-Regression. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(6):3242.

256. Abdelbasset WK, Tantawy SA, Kamel DM, Alqahtani BA, Elnegamy TE, Soliman GS, et al. Effects of high-intensity interval and moderate-intensity continuous aerobic exercise on diabetic obese patients with nonalcoholic fatty liver disease: A comparative randomized controlled trial [published correction appears in *Medicine (Baltimore)*. 2020 Sep 11;99(37):e22388]. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(10):e19471.
257. Kistler KD, Brunt EM, Clark JM, Diehl AM, Sallis JF, Schwimmer JB, et al. Physical activity recommendations, exercise intensity, and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(3):460-469.
258. Murray TC, Rodgers WM, Fraser SN. Exploring the relationship between socioeconomic status, control beliefs and exercise behavior: a multiple mediator model. *J Behav Med*. 2012;35(1):63-73.
259. Marin-Alejandre BA, Abete I, Cantero I, Riezu-Boj JI, Milagro FI, Monreal JI, et al. Association between Sleep Disturbances and Liver Status in Obese Subjects with Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Comparison with Healthy Controls. *Nutrients*. 2019;11(2):322.
260. Kim CW, Yun KE, Jung HS, Chang Y, Choi ES, Kwon MJ, et al. Sleep duration and quality in relation to non-alcoholic fatty liver disease in middle-aged workers and their spouses. *J Hepatol*. 2013;59(2):351-357.
261. Katsagoni CN, Georgoulis M, Papatheodoridis GV, Fragopoulou E, Ioannidou P, Papageorgiou M, et al. Associations Between Lifestyle Characteristics and the Presence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Case-Control Study. *Metab Syndr Relat Disord*. 2017;15(2):72-79.
262. Kim D, Vazquez-Montesino LM, Li AA, Cholankeril G, Ahmed A. Inadequate Physical Activity and Sedentary Behavior Are Independent Predictors of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology*. 2020;72(5):1556-1568.
263. Kechagias S, Nasr P, Blomdahl J, Ekstedt M. Established and emerging factors affecting the progression of nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2020;111S:154183.

264. Jung HS, Chang Y, Kwon MJ, Sung E, Yun KE, Cho YK, et al. Smoking and the Risk of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Cohort Study. *Am J Gastroenterol*. 2019;114(3):453-463.
265. Wieland AC, Mettler P, McDermott MT, Crane LA, Cicutto LC, Bambha KM. Low awareness of nonalcoholic fatty liver disease among patients at high metabolic risk. *J Clin Gastroenterol*. 2015;49(1):e6-e10.
266. Orkin S, Brokamp C, Yodoshi T, Trout AT, Liu C, Meryum S, et al. Community Socioeconomic Deprivation and Nonalcoholic Fatty Liver Disease Severity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2020;70(3):364-370.
267. Sasaki H, Kasagi F, Yamada M, Fujita S. Grip strength predicts cause-specific mortality in middle-aged and elderly persons. *Am J Med*. 2007;120(4):337-342.
268. Morris M, Deery E, Sykes K. Chester treadmill police tests as alternatives to 15-m shuttle running. *Occup Med (Lond)*. 2019;69(2):133-138.
269. Sousa N, Mendes R, Abrantes C, Sampaio J, Oliveira J. Effectiveness of combined exercise training to improve functional fitness in older adults: A randomized controlled trial. *Geriatr Gerontol Int*. 2014;14(4):892-898.
270. Füzéki E, Engeroff T, Banzer W. Health Benefits of Light-Intensity Physical Activity: A Systematic Review of Accelerometer Data of the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *Sports Med*. 2017;47(9):1769-1793.
271. Richardson MT, Leon AS, Jacobs DR Jr, Ainsworth BE, Serfass R. Comprehensive evaluation of the Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire. *J Clin Epidemiol*. 1994;47(3):271-281.
272. Castañeda-Babarro A, Arbillaga-Etxarri A, Gutiérrez-Santamaría B, Coca A. Physical Activity Change during COVID-19 Confinement. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(18):6878.
273. Meyer J, McDowell C, Lansing J, Brower C, Smith L, Tully M, et al. Changes in Physical Activity and Sedentary Behavior in Response to COVID-19 and Their Associations with Mental Health in 3052 US Adults [published correction appears in *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Sep 23;17(19):]. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(18):6469.

274. Pérez-Rodrigo C, Gianzo Citores M, Hervás Bárbara G, Ruiz-Litago F, Casis Sáenz L, Arija V, et al. Patterns of Change in Dietary Habits and Physical Activity during Lockdown in Spain Due to the COVID-19 Pandemic. *Nutrients*. 2021;13(2):300.
275. Wunsch K, Kienberger K, Niessner C. Changes in Physical Activity Patterns Due to the Covid-19 Pandemic: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(4):2250.
276. Maltagliati S, Rebar A, Fessler L, Forestier C, Sarrazin P, Chalabaev A, et al. Evolution of physical activity habits after a context change: The case of COVID-19 lockdown. *Br J Health Psychol*. 2021;26(4):1135-1154.
277. Carvalho VO, Gois CO. COVID-19 pandemic and home-based physical activity. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2020;8(8):2833-2834.
278. Lesser IA, Nienhuis CP. The Impact of COVID-19 on Physical Activity Behavior and Well-Being of Canadians. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(11):3899.
279. Petrov ME, Pituch KA, Kasraeian K, Jiao N, Mattingly J, Hasanaj K, et al. Impact of the COVID-19 pandemic on change in sleep patterns in an exploratory, cross-sectional online sample of 79 countries. *Sleep Health*. 2021;7(4):451-458.
280. Targa ADS, Benítez ID, Moncusí-Moix A, Arguimbau M, de Batlle J, Dalmases M, et al. Decrease in sleep quality during COVID-19 outbreak. *Sleep Breath*. 2021;25(2):1055-1061.
281. Martínez-de-Quel Ó, Suárez-Iglesias D, López-Flores M, Pérez CA. Physical activity, dietary habits and sleep quality before and during COVID-19 lockdown: A longitudinal study. *Appetite*. 2021;158:105019.
282. Jurado-Fasoli L, De-la-O A, Molina-Hidalgo C, Migueles JH, Castillo MJ, Amaro-Gahete FJ. Exercise training improves sleep quality: A randomized controlled trial. *Eur J Clin Invest*. 2020;50(3):e13202.
283. Nivukoski U, Niemelä M, Bloigu A, , Bloigu R, Aalto M, Laatikainen T, et al. Impacts of unfavourable lifestyle factors on biomarkers of liver function, inflammation and lipid status. *PLoS One*. 2019;14(6):e0218463.

284. Sánchez-Sánchez E, Ramírez-Vargas G, Avellaneda-López Y, Orellana-Pecino JI, García-Marín E, Díaz-Jimenez J. Eating Habits and Physical Activity of the Spanish Population during the COVID-19 Pandemic Period. *Nutrients*. 2020;12(9):2826.
285. Zhu Y, Duan MJ, Dijk HH, Freriks RD, Dekker LH, Mierau JO, et al. Association between socioeconomic status and self-reported, tested and diagnosed COVID-19 status during the first wave in the Northern Netherlands: a general population-based cohort from 49 474 adults. *BMJ Open*. 2021;11(3):e048020.
286. Purba FD, Kumalasari AD, Novianti LE, Kendhawati L, Noer AH, Ninin RH. Marriage and quality of life during COVID-19 pandemic. *PLoS One*. 2021;16(9):e0256643.
287. Roldan-Valadez E, Favila R, Martínez-López M, Uribe M, Méndez-Sánchez N. Imaging techniques for assessing hepatic fat content in nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol*. 2008;7(3):212-220.

