



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Prevalencia y factores de riesgo de la Enfermedad hepática por depósito de grasa en pacientes con Enfermedad Inflamatoria Intestinal. Impacto del tratamiento biológico sobre la enfermedad hepática.

Fatty liver disease prevalence and risk factors in patients with Inflammatory Bowel Disease. Impact of biological treatment on liver disease.

Autor: D^a Eva Dávila Armesto

Directores: D. Javier Crespo García

D^a María Teresa Arias Loste

Santander, Junio 2018

Índice

Resumen.....	1
Introducción.....	3
Epidemiología.....	3
Etiopatogenia.....	4
Diagnóstico.....	7
Asociación con patologías inflamatorias inmunomediadas.....	9
Objetivos.....	10
Materiales y métodos.....	10
Diseño y procedimientos.....	10
Métodos diagnósticos.....	14
Análisis estadístico.....	15
Resultados.....	15
Características basales de la muestra.....	15
-Factores de riesgo cardiovasculares.....	15
-Carterísticas dependientes EII.....	17
Prevalencia de NAFLD.....	19
-Esteatosis.....	19
-Fibrosis.....	20
-Distribución según factores no modificables.....	21
Factores de riesgo para desarrollo de NAFLD.....	21
-Cardiovasculares.....	21
-Asociados a la EII.....	22
Evolución a los 6 y 12 meses.....	25
Conclusiones.....	26

Resumen

Introducción y objetivos: La enfermedad hepática por depósito de grasa (NAFLD) incluye un amplio espectro de lesiones hepáticas que abarcan desde esteatosis simple hasta la esteatohepatitis no alcohólica (NASH) que puede progresar a fibrosis avanzada y cirrosis. Diferentes factores relacionados con la Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) podrían favorecer el desarrollo y progresión del NAFLD. Por ello, el objetivo de este trabajo es comprobar en EII hay mayor prevalencia de NAFLD, cuáles podrían ser los factores modificadores y cuál es el efecto del tratamiento biológico en la evolución.

Método: se trata de un estudio prospectivo, longitudinal y observacional transversal en el que se recogieron datos clínicos y analíticos basales de 33 pacientes con EII previo al inicio de terapia biológica, y se repitieron estas dtereminaciones a los 6 meses y a los 12 meses. La esteatosis hepática se estudió mediante parámetros no invasivos: Fatty Liver Index (FLI) y Hepatic Steatosis Index (HSI). La fibrosis mediante NAFLD Fibrosis Score (NAFLD-FS), Fibrosis 4 calculator (FIB-4) y Hepamet fibrosis score. El riesgo cardiovascular se evaluó mediante realización de ecografía carotídea, endoPAT y estudio de lípidos.

Resultados: la prevalencia de NAFLD en los pacientes con EII, atendiendo a la presencia de esteatosis según parámetros no invasivos, resultado del 21,4% según FLI y 28,1% según HSI, similar a la descrita en población general. A excepción de un único paciente que desarrolló fibrosis avanzada al año según el Hepamet score, no hubo más casos de fibrosis significativa. El diagnóstico de NAFLD en pacientes con EII fue más frecuente entre aquellos que cumplían criterios de síndrome metabólico (50% vs 9,5%; $p=0,024$) y aquellos con un riesgo cardiovascular elevado ($p=0,016$), atendiendo a los factores clásicos (edad y sexo, tabaquismo, hipertensión arterial, aumento de LDL, disminución de HDL). Respecto a los factores asociados con la historia natural de la EII, encontramos que en aquellos sujetos que han presentado complicaciones asociadas a la EII como absceso, perforación, hemorragia y megacolon tóxico, la prevalencia de NAFLD era 75% frente al 12,5% en los que no las desarrollaban ($p=0,022$). Aunque la tendencia tras el inicio de tratamiento biológico es a disminuir la prevalencia de NAFLD de acuerdo con la puntuación FLI (21,4% basal, 17,4% a los 6 meses y 14,3 % al año), estas diferencias no alcanzaron la significación estadística.

Conclusiones: la prevalencia de NAFLD en los enfermos EII en nuestra población de estudio es similar a la de la población general. Los factores asociados a su desarrollo son la presencia de síndrome metabólico y un mayor riesgo cardiovascular, así como la severidad de la EII. Aunque la tendencia es hacia una disminución en la prevalencia del NAFLD al año de iniciar la terapia biológica, estas diferencias no alcanzaron significación estadística. Son precisos estudios a más largo plazo y con un mayor número de pacientes para establecer el efecto real de estos tratamientos sobre la lesión hepática.

Palabras clave: Nonalcoholic Fatty Liver Disease, esteatosis, Enfermedad Inflamatoria Intestinal, tratamiento biológico.

Abstract

Introduction and objectives: Liver disease due to fatty deposits (NAFLD) includes a broad spectrum of liver lesions ranging from simple steatosis to non-alcoholic steatohepatitis (NASH) that can progress to advanced fibrosis and cirrhosis. Different factors related to Inflammatory Bowel Disease (IBD) could promote the development and progression of NAFLD. Therefore, the objective of this study is to clarify if in IBD patients have a higher prevalence of NAFLD, which could be the modifying factors and what is the effect of biological treatment on its evolution.

Method: this is a prospective, longitudinal and observational cross-sectional study in which clinical and analytical data were collected from 33 patients with IBD at the beginning of biological therapy. These were repeated at 6 and 12 months. Hepatic steatosis was studied using non-invasive parameters: fatty liver index (FLI) and hepatic steatosis index (HSI). Fibrosis by NAFLD Fibrosis Score (NAFLD-FS), Fibrosis 4 calculator (FIB-4) and Hepamet fibrosis score. The cardiovascular risk was evaluated by performing a carotid ultrasound, endoPAT and lipid study.

Results: the prevalence of NAFLD in patients with IBD, according to the presence of steatosis, results 21.4% measured with FLI and 28.1% with HSI, which is similar to the one in the general population. With the exception of a single patient who developed advanced fibrosis at the annual visit according to the Hepamet score, there were no more cases of significant fibrosis. The diagnosis of NAFLD in patients with IBD was more frequent in those with metabolic syndrome (50% vs 9.5%, $p = 0.024$), and with increased cardiovascular risk ($p = 0.016$) calculated with the classic factors (age and sex, smoking, hypertension, increased LDL, decreased HDL). Regarding the factors associated with the natural history of IBD, we found that the prevalence of NAFLD was 75% in patients who presented complications associated with IBD such as abscess, perforation, hemorrhage and toxic megacolon, versus 12.5% in those who did not ($p = 0.022$). Although the prevalence seems to diminish with the biological treatment according to FLI (21.4% basal, 17.4% at 6 months and 14.3% at 12 months), these differences were not statically significant.

Conclusions: the prevalence of NAFLD in IBD patients from our study population is similar to the general population. The factors associated with its development are the presence of metabolic syndrome, an increased cardiovascular risk, and the severity of IBD. Although the trend is to decrease after a year of biological therapy, these differences did not reach statistical significance. Longer-term studies with a larger number of patients are needed to establish the real effect of these treatments on liver injury.

Keywords: Nonalcoholic Fatty Liver Disease, steatosis, Inflammatory Bowel Disease, biological treatment.

Introducción

La enfermedad hepática por depósito de grasa no alcohólica o *Non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD) incluye un amplio espectro de lesiones histológicas que abarcan desde la esteatosis simple, de curso por lo general benigno, hasta la esteatohepatitis no alcohólica (conocida en inglés como *Non-alcoholic steatohepatitis* o NASH). Son los pacientes con un diagnóstico histológico de NASH los que con más frecuencia pueden avanzar a formas más graves de la enfermedad, con un grado variable de fibrosis hepática que puede alcanzar el estadio de la cirrosis y presentar complicaciones como el hepatocarcinoma (Tiniakos, Vos, & Brunt, 2010).

Epidemiología

La prevalencia del NAFLD está aumentando a nivel mundial paralelamente a las cifras de obesidad y síndrome metabólico. El estilo de vida actual, incluidos el sedentarismo y determinados factores dietéticos, como una dieta hipercalórica, exceso de grasas saturadas, bebidas azucaradas o el alto consumo de fructosa, promueve el aumento de obesidad (Barrera & George, 2014), llegando a considerarse ésta una epidemia mundial (Said, Ghufraan, 2017). Estos mismos factores se han asociado con el desarrollo de NAFLD (Lim et al., 2010).

Algunas cifras para ilustrar este creciente problema son: el NAFLD se ha establecido como la primera causa de hepatopatía crónica a nivel mundial (Loomba & Sanyal, 2013). Mientras unas series sitúan la prevalencia de NAFLD entre el 10 y el 24 % de la población general (Angulo 2002), otras entre el 17-46% (Vernon, Baranova, & Younossi, 2011). En España, en un estudio realizado en población general mediante ecografía hepática se estableció una prevalencia en población del 25.8% (Caballeira et al., 2010). Estas amplias diferencias en cuanto a las cifras reportadas en los diferentes estudios se pueden explicar en parte por la variación de la prevalencia en función del área geográfica, de la población estudiada, así como de los métodos diagnósticos implementados. En este sentido, existen diferencias en cuanto a la prevalencia atendiendo al sexo, edad y etnia. El NAFLD es más frecuente entre los varones y su presencia aumenta con la edad, al igual que la probabilidad de presentar progresión de la enfermedad y complicaciones derivadas de la misma. Respecto a las diferencias étnicas, NAFLD es más frecuente entre la raza blanca hispánica, mientras que es especialmente baja entre la población afroamericana (Adams et al., 2005; Ong et al., 2008; Frith et al., 2009; Browning et al., 2004; Kallwitz et al., 2009).

La proporción de pacientes con NASH entre los diagnosticados de NAFLD se encuentra entre el 10 y el 20% (Tilg & Moschen, 2010). De éstos, un 2% habrían progresado a estadio de cirrosis. De la población Occidental total, hablaríamos de una prevalencia global de NASH de entre un 1 y un 3% (Tilg & Moschen, 2010).

La prevalencia descrita se incrementa en determinados grupos de población considerados de riesgo. El NAFLD presenta una fuerte asociación con la obesidad, la resistencia a la insulina y por lo tanto, con el síndrome metabólico. De este modo, la prevalencia se eleva al 70 % en los diabéticos tipo 2 (Williams et al., 2011) (Loomba et al., 2012). En el caso de los sujetos con un IMC ≥ 30 kg/m², la prevalencia se multiplica

por 4.6 (Bellentani, Saccoccio, & Masutti, 2000). En obesos mórbidos (aquellos con un IMC > 40 kg/m²) el diagnóstico de NAFLD se establece en un 90% (Silverman et al., 1990). Concretamente, la obesidad central parece ser un factor de riesgo relevante de NAFLD, incluso en pacientes con un IMC dentro de la normalidad (Ruderman, Chisholm, Pi-Sunyer, & Schneider, 1998).

La asociación de diabetes y obesidad parece tener un efecto sinérgico, ya que entre los pacientes con obesidad mórbida y diabetes tipo 2 se diagnosticó NAFLD en el 100% de los casos, en el 50% NASH y en el 19% cirrosis (Silverman, Pories & Caro 1989).

Debido a la potencial progresión a cirrosis y fallo hepático de los pacientes con NASH, (Angulo, 2002) se espera que en Estados Unidos para el 2020 la hepatopatía por NAFLD sea la primera causa de trasplante hepático (Wree, Broderick, Canbay, Hoffman, & Feldstein, 2013).

Etiopatogenia

El mecanismo etiopatogénico más vinculado y reproducido es la resistencia a la insulina (Marchesini et al., 1999).

La resistencia a la insulina aumenta la lipólisis y produce hiperinsulinemia.

La lipólisis incrementa la cantidad de ácidos grasos circulantes lo que implica una mayor entrada de éstos en los hepatocitos. Esto ocasiona una sobrecarga de los mecanismos oxidativos con el consiguiente acúmulo de ácidos grasos intrahepatocitarios.

Los ácidos grasos actúan de sustratos e inducen los citocromos P450E1 y 4A que conducen a un aumento de las especies reactivas de oxígeno (ROS). Los ROS producen peroxidación de los lípidos de las membranas hepatocitarias.

Por otro lado la hiperinsulinemia aumenta la glucólisis (que favorece la producción de ácidos grasos en el hepatocito) y disminuye la producción hepática de la apolipoproteína B-100 (que también promueve la acumulación de triglicéridos intrahepatocitarios).

Los ROS favorecen la progresión de esteatosis a esteatohepatitis y fibrosis por tres mecanismos:

- Peroxidación de los lípidos (producen muerte celular, formación de hialina de Mallory y activación las células de Ito que sintetizan colágeno, e inflamación tisular).
- Producción de citoquinas (TNF- α y TGF- β que activan la vía de las caspasas que lleva a la muerte hepatocitaria, además el TGF- β activa las células de Ito y favorece la hialina de Mallory y el TNF- α también daña el transporte de electrones en la cadena respiratoria, y la IL-8 que atrae neutrófilos).
- Inducción de Fas ligando (debido a los ROS se deplecionan los agentes antioxidantes hepáticos y se expresa esta molécula en la membrana del

hepatocito, que en contacto con la proteína Fas constitutivo de otros hepatocitos causa apoptosis (Angulo, 2002).

Una teoría es que la inflamación en ciertos casos precedería a la esteatosis. Así el NASH se plantea como una enfermedad en la cual la inflamación es la causa y la esteatosis la consecuencia, frente al NASH como consecuencia de un fallo de la protección antilipotóxica en el contexto de esteatosis simple.

En cualquiera de los casos serían necesarios múltiples impactos paralelos provenientes del intestino y/o el tejido adiposo, que favorecerían la inflamación (Tilg & Moschen, 2010).

Estudios indican que la microbiota y/o factores del huésped regulados por esta afectan la absorción de energía, tejido adiposo, inflamación sistémica y desarrollo de resistencia a la insulina (Dumas et al., 2006).

Muchas de las bacterias que forman parte de nuestra microbiota tienen como componente la endotoxina o lipopolisacárido (LPS) que juega un papel central en la respuesta inmune innata (RII) y se ha considerado en modelos previos de NASH, “el segundo impacto” (Day & James, 1998). Y es que, esta endotoxina podría intervenir en la acumulación hepática de grasa. Así, la manipulación de la superficie intestinal (como haríamos a través de la dieta) afectaría el metabolismo de LPS y acabaría resultando un aumento de ésta en el plasma (Tilg & Moschen, 2010). La endotoxemia no sólo conllevaría inflamación sistémica, sino que, también empeoraría la obesidad (y paralelamente la resistencia a la insulina) (Cani et al., 2007).

Un dato que lo respalda es, que en afectados con NAFLD se ha demostrado el aumento de permeabilidad intestinal y se ha correlacionado con la gravedad de la esteatosis hepática (pero no con el grado de inflamación) (Miele et., 2009).

La microbiota también influenciaría las respuestas inmunes a través de los ácidos grasos de cadena corta (short-chain fatty acids o SCFA), productos del metabolismo de la fibra. Se ha visto en algunos modelos de colitis que poseerían funciones antiinflamatorias (Vernia et al., 1995).

Los Toll-like receptor (TLR) se expresan en el epitelio intestinal y pueden responder a lípidos nutricionales (Medzhitov, 2001). Se han correlacionado diversos TLR en ratones con la inflamación asociada a la obesidad y/o la resistencia a la insulina. Se postula que el reconocimiento de ácidos grasos por TLR4 puede inducir la producción de citoquinas proinflamatorias (Shi et al., 2006).

De aquí, se deduce la importancia de por un lado, el sistema inmune innato y por otro la microbiota.

En cuanto al otro órgano extrahepático que ha cobrado importancia en la fisiopatología, es el tejido adiposo que tiene funciones tanto endocrinas como inmunes. La inflamación del tejido adiposo es un fenómeno común en obesos mórbidos, siendo este tejido la mayor fuente de citoquinas. Estas citoquinas favorecerían distalmente la inflamación hepática (Tilg & Moschen, 2010). Entre los factores que produce está la adiponectina. Ésta es una citoquina anti-inflamatoria. En

la obesidad los niveles sanguíneos de adiponectina están bajos (Shetty, Kusminski, & Scherer, 2009).

Otro mediador es la leptina. Los adipocitos se expanden al almacenar triglicéridos y proporcionalmente a este proceso se libera leptina (Procaccini et al., 2010). La leptina estimula la oxidación de los ácidos grasos (reduciendo el almacenamiento de grasa). Esta capacidad de oxidar lípidos mediado por la leptina, estaría presente en el hígado para minimizar el depósito ectópico de lípidos (Tilg & Moschen, 2010). IL-6 y TNF- α a través de mecanismos ya expuestos anteriormente, favorecen la inflamación y la resistencia a la insulina. Así la IL-6 liberada por el tejido adiposo regularía procesos metabólicos en el hígado y es que, en obesidades severas la principal fuente de IL-6 es el tejido adiposo. De este modo la inflamación del tejido adiposo podría preceder la inflamación hepática (Moschen et al., 2010). Otra prueba de la interacción grasa-hígado es que la inflamación hepática y la fibrosis se correlacionan con la cantidad de grasa visceral (van der Poorten et al., 2008). Por último, se ha postulado el factor de transcripción XBP1 como una molécula capaz de regular todos los aspectos del NAFLD, ya que interviene en la síntesis y acúmulo de lípidos, resistencia a la leptina, adipogénesis, inflamación y resistencia a la insulina (Ozcan et al., 2009; Sha et al., 2009). La acumulación de proteínas mal plegadas o desplegadas en el retículo endoplasmático (resultado de la exposición a lípidos tóxicos por un desbalance crónico en el aporte y demanda de energía) activaría vías de estrés celular que conducirían a la traducción de XBP1. Éste factor de transcripción regularía el metabolismo lipídico e interactuaría con las cascadas inflamatorias a diferentes niveles (Tilg & Moschen, 2010).

A pesar de que los factores ambientales como la dieta y la actividad física son determinantes en el desarrollo de la EHDG, se ha descrito también una susceptibilidad genética a padecer esta enfermedad. Esta predisposición genética se sustenta en la observación de una mayor agregación familiar no explicada por hábitos de vida comunes dentro de esas familias, así como las diferencias que ya se han mencionado en cuanto a la prevalencia de la enfermedad entre diferentes grupos raciales. La asociación entre el gen patatin-like phospholipase domain containing 3 (PNPLA3) y la EHDG fue descrita inicialmente por Romeo mediante un GWAS (genome wide association study) realizado en más de 2.100 pacientes de diferentes razas procedentes del Dallas Heart Study. En este estudio se describió la presencia de un polimorfismo de un nucleótido (SNP) en la posición rs738409 que se traduce en una sustitución de isoleucina por metionina en el residuo 148 (I148M) de la proteína codificada, la adiponutrina. Esta mutación se asocia con la presencia de EHDG y su severidad de manera independiente a la coexistencia de obesidad o síndrome metabólico (Romeo, et al. 2008; Chen et al., 2013).

Posteriormente se identificó un segundo SNP asociado con el desarrollo de NAFLD en el gen TM6SF2 (Transmembrane 6 Superfamily 2) localizado en el cromosoma 19p13.11, que codifica una proteína de función todavía no completamente aclarada. El polimorfismo rs58542926 que supone un cambio de ácido glutámico por lisina en la posición E167K en la proteína TM6SF2 se asocia con menores concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos, y por tanto menor riesgo cardiovascular. Sin embargo, este polimorfismo confiere un riesgo incrementado no solo de esteatosis,

sino también de progresión y gravedad de la enfermedad en forma de NASH y fibrosis, de forma independiente a la presencia de otros factores de riesgo conocidos, incluido el polimorfismo rs738409 del gen PNPLA3 (Kozlitina et al., 2014; Dongiovanni P et al., 2015).

Diagnóstico

Para establecer el diagnóstico de NAFLD, es necesario en primer lugar demostrar la presencia de depósito de grasa en el tejido hepático, bien mediante una prueba de imagen o histológicamente.

Posteriormente, se deben cumplir los siguientes criterios para establecer un diagnóstico definitivo:

1. Descartar un consumo perjudicial de alcohol, (Angulo 2002) que equivaldría a una ingesta de alcohol diaria en hombres ≥ 30 g y en mujeres ≥ 20 (Vlad Ratziu, Bellentani, Cortez-Pinto, Day, & Marchesini, 2010).
2. Excluir la presencia de otras condiciones que pueden cursar con un depósito de grasa secundario. Como enfermedad hepática grasa inducida por drogas, hígado graso asociado a virus de la hepatitis C, hemocromatosis, hepatitis autoinmune, enfermedad celíaca, enfermedad de Wilson, lipoatrofia, a/hipobetalipoproteinemia, hipotiroidismo, hipopituitarismo, errores congénitos del metabolismo, nutrición enteral, ayuno (Graffigna et al., 2017).
3. Excluir otras causas de hepatopatía crónica concomitante (Angulo 2002).

El *gold standard* para el diagnóstico es la biopsia hepática, (único que diferencia NAFLD y NASH (V Ratziu et al., 2005)) y permite el establecimiento del grado de fibrosis es la biopsia. La histología del NAFLD comprende: sólo esteatosis, esteatosis con inflamación lobular o portal sin balonización y esteatosis con balonización pero sin inflamación. El diagnóstico de NASH exige que la biopsia muestre esteatosis, balonización hepatocelular e inflamación lobular (EASL-EASD-EASO, 2016).

Esta técnica es un método invasivo, costoso e inapropiado para screening (Rockey, Caldwell, Goodman, Nelson, & Smith, 2009). Además presenta el inconveniente de la variabilidad de la muestra. Y está sujeta a posibles complicaciones graves como dolor, sangrado intraperitoneal, hematoma subcapsular, infección y lesión accidental de otros órganos (Ahmed, 2015).

A continuación se exponen los métodos no invasivos de valoración.

Para determinar la presencia de esteatosis se puede emplear marcadores séricos en *scores* como FLI (Fatty Liver Index), SteatoTest, NAFLD-LFS (NAFLD liver fat score), *Hepatic Steatosis Index* (HSI); el *Controlled attenuation parameter* o CAP, la ecografía y otras técnicas de imagen.

En la ecografía la infiltración grasa se percibe como un aumento de la ecogenicidad comparada con la de los riñones. La ecografía tiene una sensibilidad del 89% y una

especificidad del 93% en detectar esteatosis (frente a una sensibilidad del 77% y una especificidad del 89% para detectar fibrosis) (Joseph & Saverymuttu, 1991).

Es el estudio de imagen utilizado con más frecuencia para identificar hígado graso debido a su gran disponibilidad, seguridad, no invasividad, bajo costo y exactitud en el diagnóstico (Singh, Das, & Baruah, 2013).

Sin embargo, la ecografía tiene una sensibilidad limitada y no detecta de manera fiable la esteatosis cuando es < 20% (Saadeh et al., 2002)(Fishbein et al., 2005) o en los individuos con un índice de masa corporal (IMC) elevado (> 40 kg/m²) (Ryan, Johnson, Germin, & Marcos, 2002). Además el campo de observación es pequeño y es dependiente del operador y del equipo (Graffigna et al., 2017).

En tomografía computarizada (TC) el depósito graso se aprecia como una disminución de la densidad del parénquima hepático. La TC tiene una sensibilidad de 82% y una especificidad de 100% para diagnosticar esteatosis hepática cuando el contenido de grasa es ≥30% (S. H. Park et al., 2006). Como limitaciones, la radiación que supone, que no detecta bien esteatosis grado 1, que puede verse afectada por la presencia de otros factores como hierro, glucógeno, amiodarona, metrotexate, hepatitis tóxica aguda...(Y. S. Park et al., 2011).

También se puede utilizar la resonancia magnética nuclear (RMN), la cual es más sensible para la detección del incremento de grasa intrahepática y tiene la ventaja de diferenciar esteatosis focal de masas que pueden ser confundidas en TC o ecografía. La resonancia magnética por espectroscopia permite además cuantificar la grasa (Longo et al., 1995).

FLI, el SteatoTest y NAFLD-LFS se asocian a la RI y predicen de manera fiable la presencia, pero no la gravedad, de la esteatosis (Fedchuk et al., 2014).

- Steatotest: Un valor de 0,3 tiene una sensibilidad ≥ 85% para diagnosticar hígado graso y un resultado de 0,7 tiene una especificidad de 80% (Poynard et al., 2005).
- FLI: Un valor <30 descarta esteatosis con una sensibilidad de 87% y un valor predictivo negativo de 0,2 mientras que un score >60 se considera indicativo de presencia de esteatosis con una especificidad de 86% y un valor predictivo positivo de 4,3 (Bedogni et al., 2006)
- *NAFLD liver fat score* Un valor de -0,640 predice aumento del contenido de grasa hepática con una sensibilidad del 86% y una especificidad del 71% (Kotronen et al., 2009).
- HSI: un valor <30 tiene una sensibilidad de 93% para diagnóstico de esteatosis y un valor > 36 descarta esteatosis con una especificidad de 92% (Lee et al., 2010).

El CAP permite diagnosticar la esteatosis, pero tiene una capacidad limitada de discriminación de los grados histológicos.

En cuanto a los métodos no invasivos de valoración de la fibrosis se pueden emplear: elastografía (fibroskan) o biomarcadores como los incluidos en *NAFLD fibrosis score* (NFS), *fibrosis 4 calculator* (FIB-4) (Association et al., 2016) o *Hepamet score*.

El fibroskan incluye CAP y permite detección y medición simultánea de esteatosis hepática y fibrosis. Mide la elasticidad del tejido mediante la velocidad de onda por ecografía. Puede detectar cirrosis con alta exactitud pero la precisión disminuye en los estadios con menor fibrosis (Talwalkar, Kurtz, Schoenleber, West, & Montori, 2007). Estudios mostraron una sensibilidad de 88,9 a 100% y especificidad de 75 a 100% para distinguir entre fibrosis severa y leve (Graffigna et al., 2017). Sus resultados son poco fiables en presencia de un IMC y/o un grosor del pliegue torácico elevados (EASL-EASD-EASO, 2016).

Los *scores* de fibrosis alcanzan los mejores resultados en la distinción de la fibrosis avanzada (> F3) frente a la no avanzada, pero no son tan útiles para diferenciar la fibrosis significativa (> F2) o de cualquier grado (> F1) de la ausencia de fibrosis (Guha et al., 2008). Los valores predictivos negativos (VPN) para descartar una fibrosis avanzada son superiores a los correspondientes valores predictivos positivos (VPP) (McPherson, Anstee, Henderson, Day, & Burt, 2013). Por tanto, podrían usarse para descartar enfermedad grave, si bien es cierto que, se han aplicado en muestras con una probabilidad pre-test de fibrosis avanzada mayor que la general y éstos valores se modifican por las tasas de prevalencia.

- NFS: Un NFS>0,676 identifica la presencia de fibrosis avanzada con una sensibilidad y especificidad de 33 y 98%, respectivamente (Graffigna et al., 2017).
- FIB-4: Un índice FIB-4 3.25, tenía un VPP para F3-F4 del 82,1% con una especificidad del 98.2% (Vallet-Pichard et al., 2007).
- Hepamet Score: un índice de 24 tiene un VPN del 94% y una especificidad del 92% (Ampuero et al., 2018)

En cuanto al NASH, no se dispone en la actualidad de un marcador no invasivo validado en práctica clínica habitual que permita su diagnóstico. En este sentido, la CK-18 es un producto de degradación resultante de la apoptosis de los hepatocitos mediada por caspasa 3 y se ha estudiado como marcador de NASH, pero tiene una exactitud modesta (sensibilidad del 66%, especificidad del 82%) (Cusi et al., 2014; Kwok et al., 2014).

Asociación con patologías inflamatorias inmunomediadas

En los últimos años, diferentes líneas de investigación han relacionado el desarrollo de NAFLD con diversas patologías inflamatorias inmunomediadas (IMIDs), como es el caso de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII). Datos recientes muestran la coexistencia de *NAFLD* y EII. Ambas patologías están aumentando en prevalencia, tienen complicaciones significativas y supondrán un incremento en la carga de enfermedad futura.

Independientemente de los factores de riesgo clásicos para el desarrollo de NAFLD ya mencionados, se postulan factores de riesgo independiente y asociados con la patogenia de la EII en el desarrollo y gravedad del NAFLD en este contexto.

Entre ellos podemos encontrarlos relacionados con la patogenia de la enfermedad: la permeabilidad intestinal alterada, la disbiosis intestinal y la activación inmune (Chao et al., 2016). Y asociados a la historia natural de la enfermedad como: la inflamación crónica, la duración de la enfermedad, la malnutrición, la nutrición parenteral total, la cirugía intestinal y el tratamiento (hepatotoxicidad provocada por drogas, exposición a corticoesteroides y antiTNF) (Chao et al., 2016). Aunque a día de hoy, estos factores no son del todo conocidos.

La asociación entre IMIDs como la EII y el NAFLD puede ayudar a tomar la decisión de qué tratamiento aplicar a un paciente, debido al potencial hepatotóxico de muchos de ellos (Gisoni, Targher, Zoppini, & Girolomoni, 2009).

Este trabajo pretende examinar la prevalencia, factores de riesgo y modificadores del NAFLD en enfermos con EII.

Objetivos

Los principales propósitos de este estudio son:

1. Comprobar si la prevalencia de NAFLD es mayor en personas con EII que no han recibido tratamiento biológico previamente que en la población general.
2. Establecer los factores de riesgo que influyen en la presencia de NAFLD, incluyendo aquellos asociados a la EII.
3. Conocer la evolución de NAFLD en sujetos con EII sometidos a tratamiento con fármacos biológicos a los 6 y 12 meses.

Materiales y métodos

Diseño y procedimientos

Se trata de un estudio prospectivo, longitudinal y observacional. Los pacientes fueron seleccionados en la Unidad de EII del HUMV.

Como criterios de inclusión en el estudio se establecieron:

- No existir enfermedad cardiovascular previa en el paciente
- No estar embarazada
- No haber recibido tratamiento con fármaco biológico en los 12 meses previos

En aquellos que aceptaron y cumplían los criterios de inclusión se extrajo la siguiente información:

Datos clínicos y demográficos: etnia, edad, sexo, tabaquismo, realización de ejercicio físico y diagnóstico previo de diabetes mellitus, hiperlipemia, hipertensión, hipertrigliceridemia o tratamiento para alguna de estas patologías, síndrome

metabólico. Así mismo, se recogieron los antecedentes familiares de primer grado de EII, cáncer colorrectal o eventos cardiovasculares.

Para diagnosticar el síndrome metabólico se han utilizado los criterios ATP III (Adult Treatment Panel III son guías confeccionadas por National Cholesterol Education Program) actualizados en 2005 por American Heart Association (AHA)/National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) (Grundy, Cleeman, Daniels et al., 2005). Así, estos definen el síndrome metabólico como la presencia de tres de las siguientes condiciones:

- Obesidad abdominal, definida como una cintura ≥ 102 cm en hombres y ≥ 88 cm en mujeres.
- Triglicéridos plasmáticos ≥ 150 mg/dL o estar en tratamiento para hipertrigliceridemia.
- HDL plasmático < 40 mg/dL en hombres y < 50 mg/dL en mujeres, o seguir tratamiento para hipercolesterolemia.
- Tensión arterial $\geq 130/85$ mmHg o recibir tratamiento antihipertensivo.
- Glucemia en ayunas ≥ 100 mg/dL o tratamiento para hiperglucemia.

Exploración física: perímetro de cadera, perímetro de cintura, frecuencia cardíaca, talla, peso, IMC, tensión arterial sistólica (TAS), tensión arterial diastólica (TAD).

Tratamiento que recibían los pacientes en el momento que se recogieron los datos.

Características de la EII: fecha de diagnóstico, tipo EII, clasificaciones de Montreal, presencia y tipo de complicaciones de la EII, presencia y tipo de manifestaciones extraintestinales, tratamiento previo, cirugía previa y fecha, índice de Harvey (EC) e índice parcial Mayo clínico (CU).

Se ha utilizado el criterio de extensión de la clasificación Montreal para la colitis ulcerosa (Satsangi, Silverberg, Vermeire, & Colombel, 2006) para caracterizar la enfermedad:

→ Extensión (E)

- E1 Proctitis ulcerosa: afección limitada al recto (el límite superior de la inflamación no supera la unión rectosigmoidea).
- E2 Colitis izquierda (o colitis distal): afección limitada al colon izquierdo (el límite superior de la inflamación no supera el ángulo esplénico).
- E3 Colitis extensa (pancolitis): afección que se extiende más allá del ángulo esplénico.

Para EC se ha usado la clasificación de Montreal para Crohn (versión modificada de la clasificación de Viena) (Silverberg et al., 2005):

→ Edad al diagnóstico (A)

- A1: ≤ 16

- A2: 17-40 años
- A3: > 40

→ Localización (L)

- L1: Íleon terminal
- L2: Colon
- L3: Ileocólica
- L4: Tracto digestivo alto

→ Patrón clínico (B)

- B1: No estenosante, no fistulizante, o inflamatorio (B1p si inflamatorio con afección perianal asociada)
- B2: Estenosante (B2p si estenosante con afección perianal asociada)
- B3: Fistulizante (B3p si fistulizante con afección perianal asociada)

Como complicaciones de la EII se ha recogido la presentación de: absceso, perforación, hemorragia y megacolon tóxico.

En cuanto a manifestaciones extraintestinales se han analizado: sacroileítis/espondilitis, artropatía periférica tipo 1, artropatía periférica tipo 2, eritema nodoso, pioderma gangrenoso, uveítis, epiescleritis, colangitis esclerosante, trombosis arterial y trombosis venosa.

Para clasificar clínicamente la actividad de la EC se ha utilizado el índice de Harvey-Bradshaw (Harvey & Bradshaw, 1980) que incluye como ítems: estado general, dolor abdominal, número de deposiciones líquidas diarias, masa abdominal y complicaciones. El índice se obtiene sumando las puntuaciones individuales. Entre 1 y 6 puntos se interpreta como actividad leve; entre 6 y 12 como moderada, y mayor de 12 como grave.

Para la CU se ha aplicado el índice de Mayo parcial (Rutgeerts et al., 2005; Schroeder, Tremaine, & Ilstrup, 1987) para el cual no es necesaria la realización de una endoscopia. Ésta encuesta incluye: características de la rectorragia, frecuencia deposicional y percepción por parte del médico del estado global del paciente. Una puntuación <2 indica remisión, entre 2-4 actividad leve, 5-7 actividad moderada y <7 grave.

Se ha considerado respuesta completa al tratamiento con fármaco biológico a la respuesta total de los parámetros clínicos y analíticos. Respuesta parcial a la mejoría clínica y analítica pero sin que se alcance la normalización. Y no respuesta, a la ausencia de cambios en la enfermedad.

Pruebas complementarias: se extrajeron en ayunas de 12 horas las siguientes determinaciones sanguíneas: hemograma, bioquímica completa con reactantes de fase aguda y estudio específico de lípidos y riesgo CV. Adicionalmente, se obtuvo una muestra fecal para la determinación de calprotectina y se realizó en todos los pacientes una ecografía carotídea y EndoPAT.

El estudio específico de lípidos realizado en la Unidad de Lípidos del HUMV, permite establecer el riesgo cardiovascular de los pacientes según los factores de riesgo clásicos y los emergentes.

La relación entre los factores de riesgo clásicos y el riesgo de desarrollar enfermedad coronaria fue establecida en el estudio de Framingham (Wilson et al., 1998). Se consideran factores mayores de riesgo cardiovascular (Expert panel on detection and treatment of high blood cholesterol in adults, 2001):

- Edad y sexo (hombre ≥ 45 años, mujer ≥ 55 años)
- Tabaquismo
- Hipertensión arterial (PA $\geq 140/90$ mmHg o en tratamiento antihipertensivo)
- Aumento de colesterol LDL
- Disminución de colesterol HDL

Se han considerado factores emergentes (Expert panel on detection and treatment of high blood cholesterol in adults, 2001) para realizar el cálculo:

- Factores de riesgo lipídicos
 - Cociente colesterol total/coolesterol HDL
 - Apolipoproteínas
 - Subclases de las HDL
 - Triglicéridos
 - Partículas de LDL “pequeñas y densas”
 - Lipoproteínas residuales o remanentes
- Factores de riesgo no lipídicos
 - Marcadores de inflamación
 - Homocisteinemia
 - Glucemia en ayunas alterada
 - Factores trombogénicos/hemostáticos

Respecto a la ecografía carotídea, se estudió en imagen transversal las carótidas comunes, bulbos carotídeos y carótidas internas para evaluar la presencia de placas ateromatosas. Posteriormente, en imagen longitudinal a 10 mm del inicio del bulbo se midió con un programa semiautomático el grosor íntima-media carotídeo o *intima-media thickness* (IMT) (primera vez descrito por Pignoli, Tremoli, Poli, Oreste, & Paoletti, 1986). Los valores y rangos de referencia varían según edad y sexo (aumentan con la edad y son mayores en varones). Según la guía sobre hipertensión de ESH/ESC del 2013, un IMT > 0.9 mm (o presencia de placa) sería un marcador de daño orgánico asintomático (Mancia et al., 2013).

El Endo-PAT 2000 es un dispositivo que se usa para evaluar la función vasodilatadora endotelial de forma rápida, no invasiva y de forma operador no dependiente (Axtell, Gomari, & Cooke, 2010). La disfunción endotelial es uno de los eventos más precoces en el proceso fisiopatológico que conduce a los trastornos relacionados con la arteriosclerosis (Davies, 2007). El dispositivo registra los cambios mediados por el endotelio en la amplitud y forma de la onda del pulso digital, conocida como *peripheral*

arterial tone o PAT. Para medir estos cambios se ocluye el flujo sanguíneo colocando un manguito de presión en la arteria braquial durante cinco minutos. Esto ocasiona una hiperemia reactiva que la máquina detecta y establece un ratio PAT usando los valores pre y pos oclusión, comparándolos con el brazo contralateral que sirve como control de los efectos sistémicos no mediados por el endotelio, como puede ser el sistema simpático (Axtell et al., 2010).

RHI son las siglas de *Reactive Hyperemia Index* y se corresponde al ratio de la señal PAT post/pre oclusión en el brazo ocluido con relación a la misma proporción en el brazo control, y corregido por el tono vascular basal. Si a este índice se le aplica una transformación logarítmica tenemos el LnRHI. Una respuesta normal consiste en un aumento súbito en el flujo sanguíneo tras la retirada del manguito que se equipara con la medición basal. Una respuesta anormal muestra poco o ningún aumento del flujo de sangre al dedo en relación a los valores iniciales después de la eliminación de la oclusión (Cuadros & Llanos, 2010). LnRHI se considera normal si es $>0,51$ y anormal si es $\leq 0,51$.

Otro valor que se ha utilizado es el AI que se ajusta a Augmentation Index. Mide la rigidez arterial, a partir de la señal PAT y se considera un factor de riesgo cardiovascular independiente, no necesariamente correlacionado con la función endotelial. Reflejan mejor elasticidad arterial AI más bajos (incluidos negativos). El programa realiza mediciones y con una ecuación que expresa en porcentaje y ajusta a una frecuencia cardíaca de 75 latidos por minuto nos da el valor AI75 (<http://www.itamar-medical.com>).

La resistencia a la insulina se ha valorado con el índice *HOMeostasis Model Assessment Insulin Resistance* (HOMA-IR) (Matthews et al., 1985). Se ha descartado resistencia a la insulina los valores <3 , valores ≥ 3 se han considerado diagnósticos de resistencia a la insulina.

Métodos diagnósticos

Los scores utilizados para calcular la esteatosis han sido:

- Fatty Liver Index (FLI)(Bedogni et al., 2006) combina los valores de triglicéridos, la GGT, el perímetro abdominal e IMC. Valores <30 descartan NAFLD, 30-60 resulta indeterminado y >60 cataloga como NAFLD.
- HSI (Lee et al., 2010) incluye ratio ALT/AST, IMC y diabetes. Valores <30 significan que no hay esteatosis hepática, 30-36 indeterminado y >36 presencia de esteatosis.

En cuanto a la fibrosis se han empleado:

- NAFLD Fibrosis Score (NAFLD FS) (Angulo et al., 2007) incluye edad, IMC, glucemia, recuento de plaquetas, albúmina y relación AST/ALT. Valores $<-1,455$ se consideran fibrosis leve (F0-F1). Entre $-1,455$ y $0,675$ zona gris y $>0,675$ fibrosis avanzada (F3-F4).

- Fibrosis 4 calculator (FIB-4)(Vallet-Pichard et al., 2007)FIB-4 utiliza número de plaquetas, ALT, AST y edad.
Resultados <1,3 se catalogan como fibrosis leve (F0-F1), entre 1,3 y 2,67 indeterminado y >2,67 fibrosis avanzada (F3-F4).
- Hepamet Fibrosis Score que incluye Edad, IMC, HOMA, AST/ALT ratio, sexo, TG, plaquetas, albúmina (Ampuero, et al., 2018). Puntuaciones <0,12 corresponden a fibrosis leve (F0-F1). Entre 0,12 y 0,24 a zona gris. Y >0,24 a fibrosis avanzada.

Ánàlisis estadístico

El análisis estadístico se realizó empleando el paquete estadístico SPSS v22.0 (IBM. USA). Se comprobó la distribución normal de las variables implementando el test de Kolmogorov-Smirnov. En aquellas variables con distribución normal se utilizó en su análisis el test t de Student o ANOVA, mientras que en el caso de las variables cuya distribución no sigue la normalidad, se empleó el test U de Mann-Whitney. Las comparaciones entre variables categóricas se realizaron mediante el test de Chi-cuadrado o el test exacto de Fisher. La significación estadística se estableció de forma general cuando $p < 0.05$ y todos los valores p fueron bilaterales.

Resultados

A. Características basales de la muestra

En este estudio han participado 33 pacientes, 12 con diagnóstico de colitis ulcerosa (CU) y 21 de enfermedad de Crohn, seguidos por el servicio de Digestivo del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV).

Se han recogido las variables de 22 de ellos a los 6 meses y, de 12 de éstos a los doce meses.

– Variables relacionadas con el riesgo cardiovascular

A continuación se muestran las medias y las frecuencias de características basales de los sujetos de la muestra.

Edad (años)	33	48,03 (11,92)
Perímetro de cintura (cm)	28	88,54 (11,44)
IMC (kg/m ²)	29	24,61 (3,37)
TAS (mm Hg)	30	122,17 (17,48)
TAD (mm Hg)	30	76,10 (10,35)
Etnia caucásica	33	33 (100%)
Sexo masculino	33	18 (54,5 %)
HTA	33	4 (12,1%)
DM1	33	0 (0%)
DM2	33	1 (3%)
No DM	33	32 (97%)
Hipertrigliceridemia	33	1 (3%)

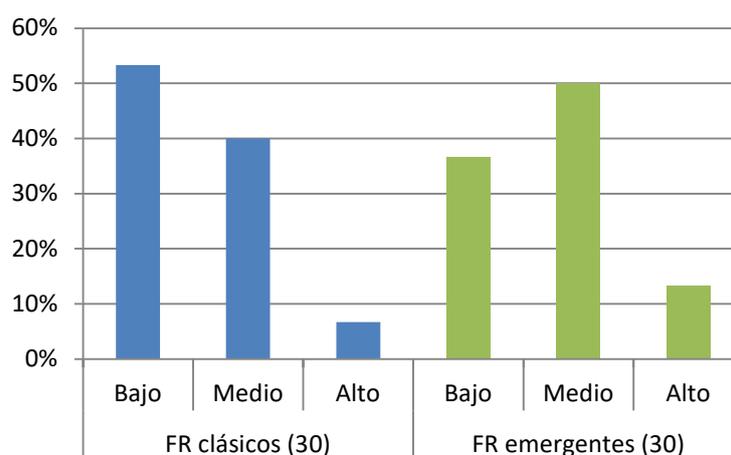
Dislipemia	33	3 (9,1%)
No fumador	33	13 (39,4%)
Fumador	33	11(33,3%)
Ex fumador	33	9 (27,3%)
Síndrome metabólico	27	5 (18,5%)
Sedentario	33	18 (54,5%)
Ejercicio leve	33	8 (24,2%)
Ejercicio moderado	33	6 (18,2%)
Ejercicio intenso	33	1 (3%)

Tabla de variables basales de los sujetos de la muestra. El tamaño muestral aparece recogido a la derecha del nombre de la variable. Las variables cualitativas se expresan como frecuencia (porcentaje) y las cuantitativas como media (desviación estándar). HTA: Hipertensión Arterial. DM: Diabetes Mellitus. IMC: Índice Masa Corporal. TAS: Tensión Arterial Sistólica. TAD: Tensión Arterial Diastólica.

La media de edad de los pacientes era 48,03 (11,93) años y la totalidad de ellos eran de raza caucásica. De la muestra el 54,5% eran varones. Un 12,1% tenían hipertensión, un 3% de diabetes tipo 2, un 3% hipertrigliceridemia y un 9,1% dislipemia. En cuanto al hábito tabáquico un 39,4% eran no fumadores, un 33,3% fumadores y un 27,3% ex fumadores. La media de paquetes/año fue 35,38.

En la exploración física el perímetro de cintura medio fue 88,54 (11,46) cm y el IMC 24,61 (3,37) kg/m², es decir, normopeso. Las medidas medias de tensión arterial sistólica (TAS) y tensión arterial diastólica (TAD) fueron 122,17 (17,483) y 76,10 (10,354) mm de Hg respectivamente.

El riesgo cardiovascular de los pacientes según los factores clásicos era bajo para el 53,3% (16/30), medio para el 40% (12/30) y alto para el 6,7% (2/30). Si se utilizan los factores cardiovasculares emergentes el riesgo resulta bajo para el 36,67% (11/30), medio para el 50% (15/30) y alto para el 13,33% (4/30).



En cuanto a la ecografía carotídea, en primer lugar se valoró la presencia de placas ateromatosas en el bulbo carotídeo. En un 57,6% (19) no se visualizaron placas, en contraposición al 42,4% (14) que sí se encontraron. Las medias en mm del IMT son,

para el lado izquierdo 0,70 y para el derecho 0,63. Es decir, se encuentran dentro de la normalidad. Así mismo ocurre con los valores del endopat.

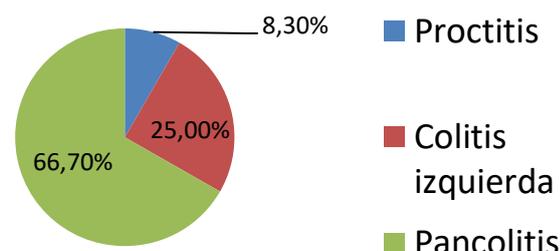
No placas	19 (57,6%)
Placas presentes	14 (42,4%)
IMT izquierdo (µm)	701,21 (113,03)
IMT derecho (µm)	630,00 (119,4)
LnRHI	50,37 (37,83)
AI	4,74 (20,81)
AI75	2,79 (19,57)
Percentil AI75	48,72 (30,65)

Tabla que recoge los resultados de la ecografía carotídea y el endopat. Los valores cuantitativos se expresan como media (desviación estándar) y los cualitativos como frecuencia (porcentaje). IMT: grosor íntima media carotídeo. AI: Augmentation Index.

– Variables dependientes de la EII

La distribución según la clasificación de Montreal en los afectos de CU resultó: 8,3% (1/12) proctitis, 25 % (3/12) colitis izquierda y 66,7 % (8/12) pancolitis.

Colitis ulcerosa



En el caso de aquellos afectos de EC, la clasificación de Montreal fue:

	Frecuencia (% válido)
A1	0 (0%)
A2	14 (66,67%)
A3	7(33,33%)
L1	13 (61,9%)
L2	3 (14,3%)
L3	5 (23,8%)
L4	0 (0%)
B1	9 (42,86%)
B2	5 (23,80%)
B3	4 (19,04%)
B2+B3	3 (14,29%) (no incluidos en B2 y B3)
P (perianal)	4 (1 paciente B3p y 3 pacientes B1p)
TOTAL	21

Tabla clasificación de Montreal para EC. Los datos se expresan como frecuencia (porcentaje).A: edad al diagnóstico (A1: ≤16, A2: 17-40 años y A3: > 40). L: localización (L1: Íleon terminal, L2: Colon, L3: Ileocólica y L4: Tracto digestivo alto). B: patrón clínico (B1: No estenosante, no fistulizante, o inflamatorio, B2: Estenosante, B3: Fistulizante, P: afectación perianal asociada).

De la muestra, 5 (15,2%) de los pacientes con EC experimentaron alguna complicación de la EII. Concretamente, 4 de ellos abscesos y 1, una perforación intestinal.

Presentaron manifestaciones extraintestinales 4 (12,1%) de los pacientes, siendo más precisos 1 sacroileítis, 2 artropatías periféricas tipo 1 y 1 eritema nodoso.

Respecto a las terapias previas de la EII ningún paciente recibió tratamiento con metrotexato, ni con biológicos. Anteriormente recibieron tratamiento con los siguientes fármacos: 81,8% corticoides (27/33), 30,3% inmunomoduladores (10/33), 78,8% (26/33) con 5asa. Tras la visita basal se inicia el tratamiento biológico que puede ir acompañado o no de otros fármacos, quedando la distribución como se muestra a continuación: 27,3% corticoides (9/33), 36,4% 5asa (12/33), 39,4% azatriopina (13/33). La distribución de los biológicos resulta 30,3% infliximab (10/33), 33,3% adalimumab (11/33), 18,2% golimumab (6/33).

Referente a valores analíticos de actividad de la enfermedad, se han recogido los valores de proteína C reactiva (PCR) y calprotectina fecal. Siendo la media de cPCR 1,7970 (2,78326) mg/dL y calprotectina 1545,71 (1325,071) mg/kg. El rango de normalidad del laboratorio para cPCR es de 0-3, y la calprotectina 0-50.

En cuanto a los índices clínicos de actividad basales:

- Media del Mayo clínico de los once pacientes con CU 6,55 (1,368), es decir, actividad moderada.
- Índice de Harvey medio de los 23 pacientes con EC 10 (5,054). Lo que equivaldría a una afectación moderada.

– Variables analíticas necesarias para el estudio no invasivo de NAFLD

	N	Media	Desviación estándar
Plaquetas (x10 ³ /ml)	32	322.437,50	123.439,40
ALT (U/L)	33	18,42	6,63
AST (U/L)	33	19,45	5,78
GGT (U/L)	33	30,70	39,90
FA (U/L)	33	69,58	18,79
Bilirrubina (mg/dL)	33	0,47	0,36
Albúmina (g/dL)	33	4,04	0,43
Glucosa en ayunas (mg/dl)	33	92,45	21,44
Insulina (µUI/ml)	29	9,18	5,38

Tabla con variables cuantitativas necesarias para calcular los scores que serán necesarios para valorar la presencia de esteatosis y fibrosis. ALT: alanino aminotransferasa AST: aspartato aminotransferasa GGT: gamma glutamil transpeptidasa FA: fosfatasa alcalina.

La media de todos los parámetros está dentro de los valores de la normalidad.

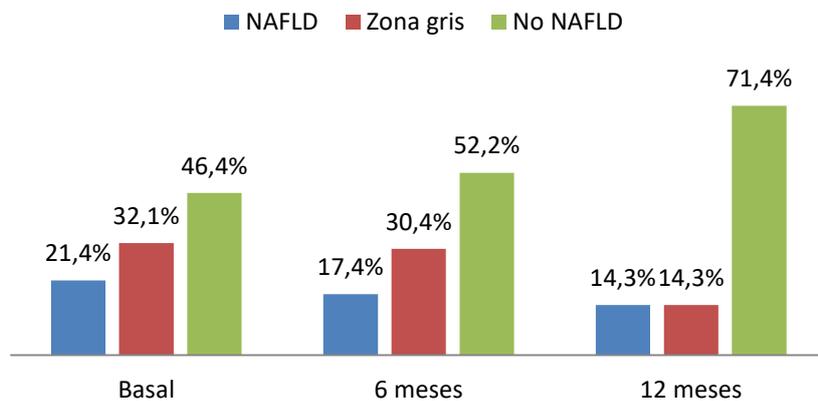
B. Prevalencia de NAFLD en población de estudio

– Esteatosis

Según el FLI basal el 21,4% (6) tienen NAFLD. De los que no tienen, el 40,9% (9 de 22) se quedan en la zona gris.

A los 6 meses el porcentaje de NAFLD es 17,4% (4). De los negativos el 36,8% (7 de 19) están en zona gris. Al año 14,3% (1) tienen esteatosis. Y de los que no, en zona gris se queda uno (de 6), es decir el 16,67%. Se aplica la prueba de McNemar para datos apareados a los seis y doce meses, y entre las prevalencias de NAFLD y no NAFLD (incluyendo no NAFLD y zona gris) no hay diferencias estadísticamente significativas. Tampoco encontramos diferencias significativas comparando los pacientes en zona gris a los 6 meses y al año.

FLI

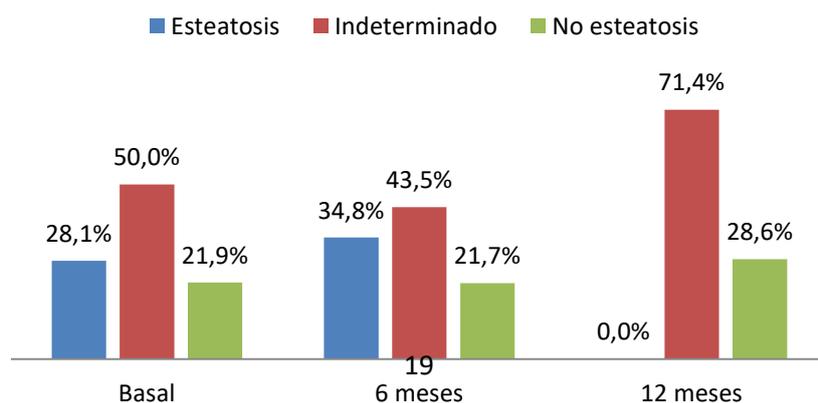


Si analizamos con el HSI en la medición basal el 28,1% (9) tiene esteatosis. De los que no tienen (23) el 69,57% (16) son indeterminados.

A los 6 meses 34,8% (8) tenían esteatosis hepática y de los que no, 66,67% (10 de 15) de sus resultados eran indeterminados. Al año no hay ningún diagnóstico de esteatosis y la proporción de indeterminados es el 66,67% (6).

Comparando esteatosis versus no esteatosis basal, seis, y doce meses según la fórmula del HSI tampoco se obtienen diferencias estadísticamente significativas.

HSI



– Fibrosis

Según el NAFLD-FS basal ningún paciente tenía fibrosis (F3-F4). 87,5% (28) quedaba descartada y 12,5% (4) eran clasificados en la zona gris.

A los 6 meses el NAFLD-FS sigue sin detectar ningún caso de fibrosis. En este caso el 86,4% (19) era descartada y 13,6% (3) quedaban en la zona gris.

Al año sigue sin haber un diagnóstico de fibrosis. La distribución resulta: no fibrosis 77,8% (7) y zona gris 13,6% (3).

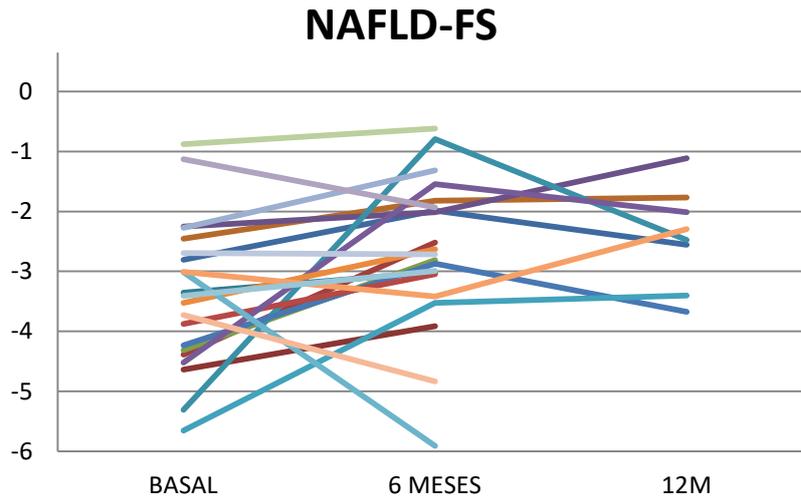


Gráfico donde se muestran las variaciones a lo largo de la primera (basal), segunda (6 meses) y tercera visita (12 meses) de los pacientes en la puntuación NAFLD-FS.

En cuanto al FIB-4 basal tampoco vamos a hallar casos de fibrosis en ninguna de las mediciones. En la basal los casos negativos fueron 90,9%(30), y los indeterminados 9,1% (3).

A los 6 meses 86,4% (19) eran catalogados como ausencia de fibrosis y 13,6% (3) como indeterminados.

Al año 88,9% (8) sin fibrosis y 11,1% (1) indeterminado.

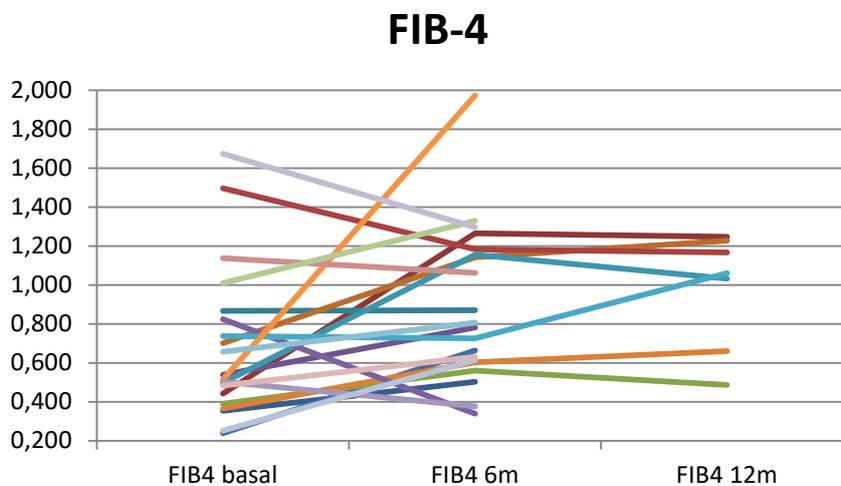


Gráfico donde se muestran las variaciones a lo largo de la primera (basal), segunda (6 meses) y tercera visita (12 meses) de los pacientes en la puntuación FIB-4.

Trabajando con el Hepamet Score en la medición basal el 96,6% (28) puntúan como no fibrosis y solamente uno, es decir, el 3,4% como zona gris. A los 6 meses todos están en la categoría no fibrosis. A los 12 meses, aparece el único caso de toda la muestra que presenta fibrosis, el resto 87,5% (7) puntúan como no fibrosis.

– Distribución respecto a factores no modificables

No hemos encontrado diferencias en cuanto a la presencia de NAFLD en función de la edad, sexo o etnia de los pacientes estudiados. La edad media de los pacientes con NAFLD fue 48,17 (10,534). La de los que no tenían fue 48,45 (12,682). De los que tenían NAFLD el 50% eran mujeres y el 50% hombres.

C. Factores de riesgo para el desarrollo de NAFLD

– Factores de riesgo cardiovascular

La prevalencia de placas en pacientes con esteatosis es de 33,33% (2/6), frente al 50% (11/22) entre los que no tienen esteatosis. Sin embargo, no es estadísticamente significativa la diferencia con una $p=0,468$.

	No NAFLD(FLI<60)	NAFLD (FLI>60)	p	n
Colesterol total (mg/dL)	186,64 (38,15)	198,17 (29,36)	0,5	28
Triglicéridos (mg/dL)	99,45 (44,32)	195,83 (105,46)	0,002	28
HDL (mg/dL)	52,48 (15,83)	39 (9,69)	0,061	27
LDL (mg/dL)	122,14 (33,17)	120 (36,94)	0,893	27

Tabla de variables cuantitativas del perfil lipídico dependiendo de la presencia de NAFLD. Los resultados se expresan como media (desviación estándar). $p<0,05$: diferencias estadísticamente significativas. n: tamaño muestral. HDL: High Density Lipoprotein. LDL: Low Density Lipoprotein. NAFLD: Non Alcoholic Fatty Liver Disease. FLI: Fatty Liver Index.

El aumento en los triglicéridos séricos es significativo en los pacientes con NAFLD.

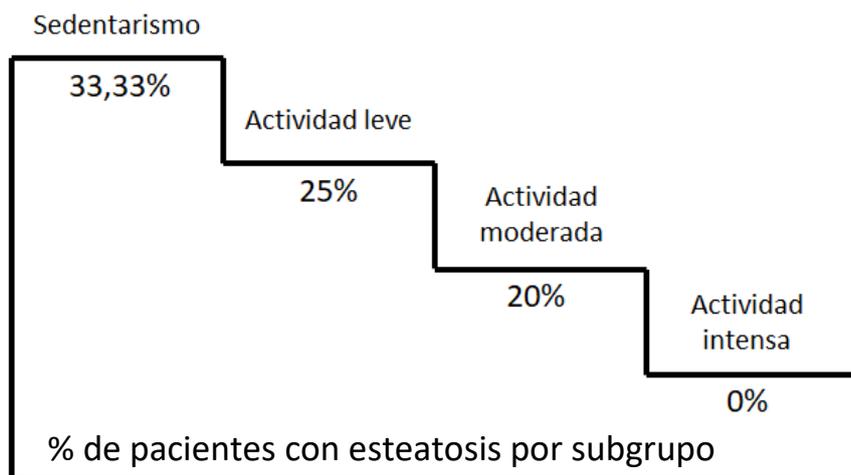
La prevalencia de síndrome metabólico en los pacientes con esteatosis hepática es del 50 % (3/6), frente en los que no tienen esteatosis que es del 9,5% (2/21), siendo estadísticamente significativo con una $p=0,024$.

Comparando la resistencia a la insulina (HOMA-IR>3) en los pacientes con NAFLD (considerado FLI>60) la prevalencia es 20%, en los no NAFLD (FLI<60) es 23,8 %, no existiendo por tanto diferencias.

En cuanto a la cifra de hemoglobina glicosilada basal en los pacientes con NAFLD (FLI) la media fue 6,34 % (1,84) mientras que en los que no tenían esteatosis fue de 5,51%

(0,506) ($p=0,077$). Estas diferencias si alcanzan la significación estadística cuando comparamos los pacientes en función de su puntuación de HSI, siendo la hemoglobina glicosilada media de los pacientes NAFLD de 6,23 (1,41) frente a los que no 5,41 (0,46) ($p=0,03$).

Estratificando el nivel de actividad física y según el HSI, de los sedentarios un 33,33% (6 de 18) tenían esteatosis, un 25% (2 de 8) de los que practicaban un ejercicio leve, un 20% (1 de 5) de los que éste era moderado y el único participante en el que la actividad era intensa no puntuaba para esteatosis (p no significativa).



De los que tenían NAFLD según FLI un 50% eran fumadores, un 33,33% no fumadores y un 16,67% ex fumadores ($P=0,547$).

Según la estratificación del riesgo cardiovascular por los factores tradicionales, los pacientes se dividían en tres grupos: riesgo bajo, medio y alto. De los que tenían un riesgo bajo, ninguno tenía NAFLD, de los de riesgo medio el 45,5%, y de riesgo alto el 50%. Éstas diferencias resultaron significativas con una $p=0,016$.

Si se analiza con los factores emergentes se observa que de los de bajo riesgo ninguno tenía esteatosis, de riesgo medio el 28,57% y de riesgo alto el 50% con una $p=0,096$.

– Factores asociados con la EII

En primer lugar comparamos la prevalencia de esteatosis hepática basal en el grupo de CU frente a EC, el 20% de los pacientes con CU tenían esteatosis, de los enfermos de Crohn 22,22% tenían esteatosis (p no significativa).

Analizando el comportamiento de la EC, la mayor prevalencia de NAFLD la encontramos en el grupo de penetrante, en el cual hasta el 50% de los casos de esteatosis. Sin embargo, no se encuentran diferencias significativas en la prevalencia entre los distintos grupos ($p=0,404$).

Según la localización, los pacientes con NAFLD y EC la localización de éste es en el 75% de los pacientes es ileal y el 25% ileocolónica. De los pacientes con afectación colónica ninguno fue diagnosticado de esteatosis ($p=0,595$). Atendiendo a la clasificación de Montreal para CU, el único paciente con proctitis no tiene NAFLD. El 33,33 % (1/3) de los que tienen colitis izquierda y un 16,67% (1 de 6) de los que afecta a todo el colón tienen NAFLD ($p=0,732$).

En cuanto a las diferencias en la duración de la enfermedad entre pacientes con NAFLD (media 44,33 meses) y sin NAFLD (112,82 meses). Estas diferencias no han sido estadísticamente significativas ($p=0,195$).

En cuanto a índices de actividad desde el punto de vista analítico, se dispone de la cPCR y calprotectina fecal, no existiendo diferencias estadísticamente significativas en cuanto a sus niveles en función de la presencia de esteatosis.

De los cuatro pacientes que tenían manifestaciones extraintestinales, dos de ellos no tenían todos los datos para calcular el FLI, los dos restantes no presentaron esteatosis.

Sin embargo, en aquellos sujetos en los que la enfermedad intestinal presentó complicaciones, sí encontramos diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la presencia de NAFLD ($p=0,022$ Fisher), según el FLI. La prevalencia de NAFLD entre los enfermos que presentan complicaciones es del 75% frente a los que no, que es del 12,5%.

El 33,33% de los pacientes que necesitaron intervención quirúrgica previa tenían NAFLD, frente al porcentaje en los que no habían sido operados que era del 18,18% ($p=0,581$).

La puntuación basal de los pacientes con EC y NAFLD en Harvey fue 9 (4,546) y los que no puntuaban en el FLI como NAFLD 10 (5,404). $P=0,738$. Para los enfermos de CU la media en los que tenían enfermedad hepática en el Mayo Clínico puntuaron 6,50 (0,707) y los que no 6,86 (1,345). $P=0,737$

		NAFLD		
		No (FLI<60)	Sí (FLI>60)	p
Diagnóstico	EC (18)	14 (77,78%)	4 (22,22%)	1
	CU (10)	8 (80%)	2 (20%)	
Fenotipo EC (18)	No penetrante no estenosante	3 (16,67%)	1 (5,56%)	0,404
	Estenosante	6 (33,33%)	0 (0%)	
	Penetrante	2 (11,11%)	2 (11,11%)	
	No penetrante no estenosante + perianal	2 (11,11%)	1 (5,56%)	
	Estenosante + penetrante	1 (5,56%)	0 (0%)	
Localización EC (18)	Ileal	8 (44,44%)	3 (16,67%)	0,595
	Colónica	3 (16,67%)	0 (0%)	
	Ileocolónica	3 (16,67%)	1 (5,56%)	
Montreal CU (10)	Proctitis	1 (10%)	0 (0%)	0,732
	Colitis izquierda	2 (20%)	1 (10%)	
	Pancolitis	5 (50%)	1 (10%)	
Duración enfermedad (meses)		112,82 (122,15)	44,33 (47,69)	0,195
cPCR ()		1,89 (3,05)	1,3 (1,43)	0,652
Calprotectina (mg/kg)		1713,16 (1326,30)	1554 (1576,2)	0,834
Complicaciones (28)	Sí	1 (3,57%)	3 (10,71%)	0,022
	No	21 (75%)	3 (10,71%)	
IQ previa (28)	Sí	4 (14,29%)	2 (7,14%)	0,581
	No	18 (64,28%)	4 (14,29)	

Tabla de factores asociados a la EII y prevalencia del NAFLD. Las variables cuantitativas se han expresado como media (desviación estándar) y las cualitativas como frecuencia (porcentaje). EC: Enfermedad de Crohn. CU: Colitis Ulcerosa cPCR: proteína C ultrasensible. IQ: Intervención Quirúrgica

A continuación se va a analizar la prevalencia de NAFLD dependiendo de los tratamientos previos que recibiesen.

En primer lugar, tenemos los pacientes que recibieron tratamiento con inmunomoduladores en los que la prevalencia de NAFLD era del 11,11%, frente a los que no lo recibieron para los cuales la prevalencia era de 26,31 % (p=0,36).

Entre los que recibieron tratamiento con corticoides 16,67% puntuaban en el FLI como NAFLD. De los que nunca recibieron corticoides tenían NAFLD un 50% (p=0,133).

En cuanto al tratamiento previo con 5ASA o mesalazina, un 17,39% de los que lo habían recibido tenían esteatosis. De los que no, un 40% (p=0,264).

Si nos basamos en la medicación que tomaban el día de la inclusión al estudio:

- El 22,22% de los que recibían corticoides tenían NAFLD versus el 21,05% en los que no los consumían p=1.
- De los que tomaban azatriopina el 16,67% tenían NAFLD frente al 25% de NAFLD que había entre los que no lo tomaban p=0,673.
- En cuanto al 5ASA desarrollaron NAFLD el 18,18% de los que lo tenían como tratamiento frente al 23,53% que lo desarrollaron y no recibían 5ASA p=1.

Si bien es cierto, que ninguna de estas diferencias eran significativas (Fisher).

Tratamiento previo		No NAFLD (FLI <60)	NAFLD (FLI > 60)	p
Corticoides (28)	Sí	20 (71,43 %)	4 (14,28%)	0,133
	No	2 (7,14 %)	2 (7,14%)	
Inmunomoduladores (28)	Sí	8 (28,57%)	1 (3,57%)	0,36
	No	14 (50%)	5 (17,86%)	
5ASA (28)	Sí	19 (67,86%)	4 (14,28%)	0,264
	No	3 (10,71%)	2 (7,14%)	
Tratamiento actual				
Corticoides (28)	Sí	7 (25%)	2 (7,14%)	1,00
	No	15 (53,57%)	4 (14,28%)	
Azatriopina (28)	Sí	10 (35,71%)	2 (7,14%)	0,673
	No	12 (42,86)	4 (14,28%)	
5ASA (28)	Sí	9 (32,14%)	2 (7,14%)	1,00
	No	13 (46,43%)	4 (14,28%)	

Tabla tratamiento de la EII y prevalencia de NAFLD. Se expresan los resultados como frecuencia y (porcentaje). 5-ASA: ácido 5 aminosalicílico.

D. Evolución a los 6 y 12 meses

Ya se comentó que la prevalencia global de esteatosis y fibrosis no había cambiado significativamente a los seis y doce meses de la toma de tratamiento biológico en pacientes con EII, pero se va a proceder a analizar en relación a ciertas variables.

Primero, se va a comprobar si la respuesta al biológico afecta al desarrollo/evolución de NAFLD.

A los 6 meses el 66,7% tienen respuesta completa de su EII al tratamiento biológico, el 19% respuesta parcial y el 14,3% no tienen respuesta.

A continuación se analiza si dividiendo en estos tres subgrupos hay mejorías significativas en el FLI.

- De los que no experimentan respuesta al tratamiento biológico (3), ninguno tiene NAFLD en la muestra basal. A los seis meses ninguno de los tres la desarrollan. Al año los dos que disponemos resultados continúan sin puntuar para NAFLD.
- Entre los que obtienen una respuesta parcial la prevalencia basal de NAFLD es del 75% (3/4). A los 6 meses está prevalencia disminuye al 25% (1/4). P=1,00. No se posee la evolución al año.
- Por último, en aquellos en los que se da una respuesta completa, la prevalencia basal es 1/11, es decir, 9,1%. A los seis meses, 2/11 tienen NAFLD (18,18%), con una p=0,182. Si comparamos los datos de los que a parte de respuesta

completa tienen datos tanto de 6 meses como 12, observamos que en las dos mediciones la prevalencia de NAFLD es 1/4, es decir el 25% con una $p=1,00$.

Lo siguiente que se va a valorar es si la propensión al aumento de los scores podría deberse a un incremento en el peso de la muestra. La media de IMC de la muestra en el momento inicial es 24,7288 (3,57803), a los seis meses 25,2295 (2,87090) y al año 25,6005 (2,54877). Una tendencia hacia el aumento que no llega a ser significativa estadísticamente con una $p=0,216$ (6m-basal) y una $p=0,155$ (12m-basal).

Otro factor relevante a analizar es la resistencia a la insulina. La prevalencia basal de resistencia a la insulina era 23,80% (5/21) y a los 6 meses se mantiene, pero dos pacientes la desarrollan de novo y en otros dos que la tenían cedió ($p=0,063$).

Analíticamente el HOMA basal (apareado) es 2,18314 (1,344406), a los 6 meses 2,06533 (1,499352) y a los 12 3,65013 (2,235168). $P=0,706$ entre basal y 6m, y $p=0,09$ entre basal y 12 meses.

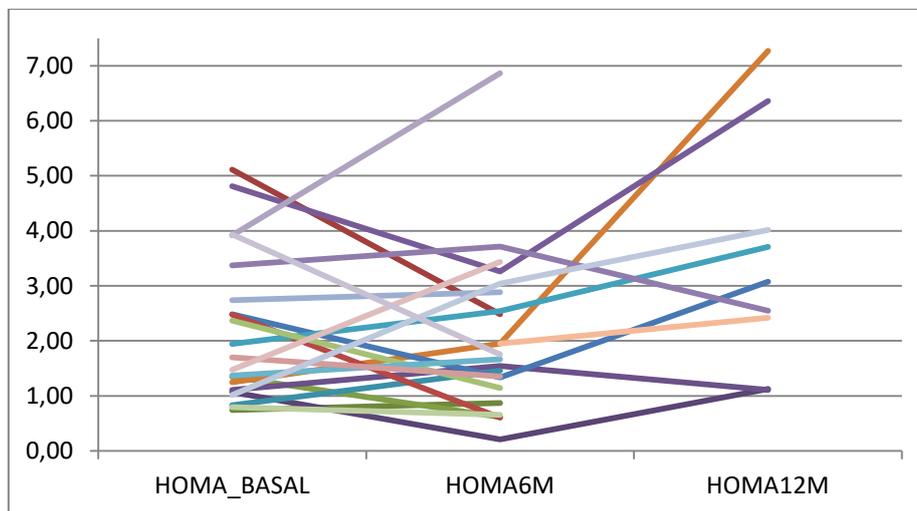


Gráfico donde se muestran las variaciones a lo largo de la primera (basal), segunda (6 meses) y tercera visita (12 meses) de los pacientes en la puntuación HOMA.

Conclusiones

El NAFLD está tomando relevancia a nivel mundial debido al incremento de su prevalencia y la morbilidad que ocasiona. En este trabajo se pretendía demostrar si la prevalencia de NAFLD era mayor en sujetos con EII que en la población general, cuáles eran los factores modificadores en este grupo y el efecto del tratamiento en la enfermedad hepática.

Tomando 25,24% como la prevalencia global de NAFLD (Younossi et al., 2016) no difiere mucho de la observada en la muestra estudiada que era según el FLI un 21,4% y según el HSI un 28,1%. Dado que ningún paciente padecía fibrosis significativa tampoco se puede afirmar que haya mayor porcentaje en estos enfermos de fibrosis.

Como era de esperar, un peor control glucometabólico traducido en unos mayores valores de hemoglobina glicosilada media, la presencia de síndrome metabólico, o mayor riesgo cardiovascular calculado según los factores de riesgo clásicos implican mayor prevalencia de NAFLD.

No hubo diferencias significativas comparando entre EC y CU y dentro de éstas, entre sus diversas localizaciones y comportamientos. Tampoco en la duración desde el diagnóstico de la enfermedad, la necesidad de intervención quirúrgica en su curso o los diversos tratamientos tanto previos como actuales. Incluso estratificando la respuesta al biológico la evolución del NAFLD no varía significativamente.

Sin embargo la aparición de complicaciones de la EII sí ha demostrado conllevar mayor número de diagnósticos de NAFLD. Esto, podría explicarse por el aumento de actividad inflamatoria global, si bien es cierto que los marcadores analíticos como cPCR y calprotectina y los índices clínicos como Harvey y Mayo parcial no mostraban diferencias entre los dos grupos.

A la hora de sacar conclusiones, hay que tener en cuenta que este estudio presenta varias limitaciones. En primer lugar, el tamaño muestral es pequeño, por lo que la falta de asociación estadística se puede explicar por este motivo. En segundo lugar, aunque los pacientes se han reclutado de manera prospectiva desde la Unidad de Enfermedad Inflamatoria Intestinal, se debe tener en cuenta que el diagnóstico de NAFLD se ha evaluado de manera retrospectiva a través de los parámetros ni invasivos recogidos de manera sistemática. Esto implica la ausencia de pruebas de imagen, como la ecografía o el fibroscan, que sustenten el diagnóstico de NAFLD. Además, en ningún caso se dispone de confirmación histológica de NAFLD como goldstandar actual. Por último, el tiempo de seguimiento es posiblemente corto, por lo que los efectos reales de la terapia biológica en estos pacientes a nivel de la lesión hepática puede ser infravalorado al ser probablemente patente a más largo plazo.

A pesar de lo anterior, podemos concluir que en los enfermos con EII el desarrollo de NAFLD se relaciona estrechamente con los factores clásicos de desarrollo de esta enfermedad, como son los factores metabólicos, pero también con la gravedad de la enfermedad y posiblemente su carga inflamatoria, como demuestra el hecho de que la prevalencia es significativamente mayor en los pacientes más complejos.

Bibliografía

- Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology*. 2005;129(1):113-21.
- Ampuero J, Aller R, Gallego-Durán R, Banales J, Crespo J, Vilar-Gomez E et al. Hepamet Score: a new non-invasive method for NAFLD-related fibrosis screening in clinical practice. *Journal of Hepatology*. 2018;68:S97-S98.
- Ahmed, M. (2015). Non-alcoholic fatty liver disease in 2015. *World Journal of Hepatology*. <https://doi.org/10.4254/wjh.v7.i11.1450>
- Angulo, P. (2002). Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *New England Journal of Medicine*, 346(16), 1221–1231. <https://doi.org/10.1056/NEJMra011775>
- Angulo, P., Hui, J. M., Marchesini, G., Bugianesi, E., George, J., Farrell, G. C., ... Day, C. P. (2007). The NAFLD fibrosis score: A noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*, 45(4), 846–854. <https://doi.org/10.1002/hep.21496>
- Association, E., Association, E., Easd, D., Association, E., & Easo, O. (2016). EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*, 64(6), 1388–1402. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.11.004>
- Axtell, A. L., Gomari, F. A., & Cooke, J. P. (2010). Assessing Endothelial Vasodilator Function with the Endo-PAT 2000. *Journal of Visualized Experiments*, (44). <https://doi.org/10.3791/2167>
- Barrera, F., & George, J. (2014). The role of diet and nutritional intervention for the management of patients with NAFLD. *Clinics in Liver Disease*. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2013.09.009>
- Bedogni, G., Bellentani, S., Miglioli, L., Masutti, F., Passalacqua, M., Castiglione, A., & Tiribelli, C. (2006). The fatty liver index: A simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterology*, 6. <https://doi.org/10.1186/1471-230X-6-33>
- Bellentani, S., Saccoccio, G., & Masutti, F. (2000). Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Annals of Internal Medicine* ...
- Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*. 2004;40(6):1387-95.
- Caballeira et al., *Eur.J.Gastroint.Hepatol.*, 2010
- Cani, P. D., Amar, J., Iglesias, M. A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., ... Burcelin, R. (2007). Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*, 56(7), 1761–1772. <https://doi.org/10.2337/db06-1491>
- Chao, C.-Y., Battat, R., Al Khoury, A., Restellini, S., Sebastiani, G., & Bessissow, T. (2016). Co-existence of non-alcoholic fatty liver disease and inflammatory bowel disease: A review article. *World Journal of Gastroenterology*, 22(34), 7727. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i34.7727>
- Chen QR, Braun R, Hu Y, Yan C, Brunt EM, Meerzaman D, et al. Multi-SNP analysis of GWAS data identifies pathways associated with nonalcoholic fatty liver disease. *PLoS one*. 2013;8(7):e65982
- Cusi, K., Chang, Z., Harrison, S., Lomonaco, R., Bril, F., Orsak, B., ... Tio, F. (2014). Limited value of plasma cytokeratin-18 as a biomarker for NASH and fibrosis in

- patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*, 60(1), 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.07.042>
- Davies, P. F. (2007). Endothelial mechanisms of flow-mediated athero-protection and susceptibility. *Circulation Research*, 101(1), 10–12. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.107.156539>
- Day, C. P., & James, O. F. W. (1998). Steatohepatitis: A tale of two “Hits”? *Gastroenterology*, 114(4), 842–845. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(98\)70599-2](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(98)70599-2)
- Dongiovanni P, Petta S, Maglio C, Fracanzani AL, Pipitone R, Mozzi E, et al. Transmembrane 6 superfamily member 2 gene variant disentangles nonalcoholic steatohepatitis from cardiovascular disease. *Hepatology*. 2015;61(2):506-14.
- Dumas, M.-E., Barton, R. H., Toye, A., Cloarec, O., Blancher, C., Rothwell, A., ... Nicholson, J. K. (2006). Metabolic profiling reveals a contribution of gut microbiota to fatty liver phenotype in insulin-resistant mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(33), 12511–12516. <https://doi.org/10.1073/pnas.0601056103>
- Expert panel on detection and treatment of high blood cholesterol in adults. (2001). Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. *JAMA*, (285), 544–560. Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Executive+summary#4>
- Fedchuk, L., Nascimbeni, F., Pais, R., Charlotte, F., Housset, C., & Ratziu, V. (2014). Performance and limitations of steatosis biomarkers in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 40(10), 1209–1222. <https://doi.org/10.1111/apt.12963>
- Fishbein, M., Castro, F., Cheruku, S., Jain, S., Webb, B., Gleason, T., & Stevens, W. R. (2005). Hepatic MRI for fat quantitation: Its relationship to fat morphology, diagnosis, and ultrasound. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 39(7), 619–625. <https://doi.org/10.1097/00004836-200508000-00012>
- Frith J, Day CP, Henderson E, Burt AD, Newton JL. Non-alcoholic fatty liver disease in older people. *Gerontology*. 2009;55(6):607-13.
- Gisondi, P., Targher, G., Zoppini, G., & Girolomoni, G. (2009). Non-alcoholic fatty liver disease in patients with chronic plaque psoriasis. *Journal of Hepatology*, 51(4), 758–764. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2009.04.020>
- Graffigna, M., Catoira, N., Soutelo, J., Azpelicueta, A., Berg, G., Perel, C., ... Farias, J. (2017). Diagnóstico de esteatosis hepática por métodos clínicos, bioquímicos y por imágenes. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo*, 54(1), 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.raem.2016.12.001>
- Guha, I. N., Parkes, J., Roderick, P., Chattopadhyay, D., Cross, R., Harris, S., ... Rosenberg, W. M. (2008). Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: Validating the European liver fibrosis panel and exploring simple markers. *Hepatology*, 47(2), 455–460. <https://doi.org/10.1002/hep.21984>
- Harvey, R. F., & Bradshaw, J. M. (1980). A SIMPLE INDEX OF CROHN'S-DISEASE ACTIVITY. *The Lancet*, 315(8167), 514. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(80\)92767-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(80)92767-1)
- Joseph, A. E. A., & Saverymuttu, S. H. (1991). Ultrasound in the assessment of diffuse

- parenchymal liver disease. *Clinical Radiology*, 44(4), 219–221. [https://doi.org/10.1016/S0009-9260\(05\)80182-5](https://doi.org/10.1016/S0009-9260(05)80182-5)
- Kotronen, A., Peltonen, M., Hakkarainen, A., Sevastianova, K., Bergholm, R., Johansson, L. M., ... Yki-Järvinen, H. (2009). Prediction of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Liver Fat Using Metabolic and Genetic Factors. *Gastroenterology*, 137(3), 865–872. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.06.005>
- Kozlitina J, Smagris E, Stender S, Nordestgaard BG, Zhou HH, Tybjaerg-Hansen A, et al. Exome-wide association study identifies a TM6SF2 variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nature genetics*. 2014;46(4):352-6
- Kwok, R., Tse, Y.-K., Wong, G. L.-H., Ha, Y., Lee, A. U., Ngu, M. C., ... Wong, V. W.-S. (2014). Systematic review with meta-analysis: non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease--the role of transient elastography and plasma cytokeratin-18 fragments. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 39(3), 254–269. <https://doi.org/10.1111/apt.12569>
- Loomba R, Sanyal AJ. The global NAFLD epidemic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology* 2013;10(11):686-90.
- Lee, J. H., Kim, D., Kim, H. J., Lee, C. H., Yang, J. I., Kim, W., ... Lee, H. S. (2010). Hepatic steatosis index: A simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Digestive and Liver Disease*, 42(7), 503–508. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2009.08.002>
- Lim JS, Mietus-Snyder M, Valente A, et al. The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010;7:251–64. doi:10.1038/nrgastro.2010.41
- Longo, R., Pollesello, P., Ricci, C., Masutti, F., Kvam, B. J., Bercich, L., ... Dalla Palma, L. (1995). Proton MR spectroscopy in quantitative in vivo determination of fat content in human liver steatosis. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 5(3), 281–285. <https://doi.org/10.1002/jmri.1880050311>
- Loomba, R., Abraham, M., Unalp, A., Wilson, L., Lavine, J., Doo, E., & Bass, N. M. (2012). Association between diabetes, family history of diabetes, and risk of nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 56(3), 943–951. <https://doi.org/10.1002/hep.25772>
- Mancia, G., Fagard, R., Narkiewicz, K., Redon, J., Zanchetti, A., Böhm, M., ... Wood, D. A. (2013). 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, 34(28), 2159–2219. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/eht151>
- Marchesini, G., Brizi, M., Morselli-Labate, A. M., Bianchi, G., Bugianesi, E., McCullough, A. J., ... Melchionda, N. (1999). Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *The American Journal of Medicine*, 107(5), 450–455. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(99\)00271-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(99)00271-5)
- Matthews, D. R., Hosker, J. P., Rudenski, a S., Naylor, B. a, Treacher, D. F., & Turner, R. C. (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 28(7), 412–419. <https://doi.org/10.1007/BF00280883>
- McPherson, S., Anstee, Q. M., Henderson, E., Day, C. P., & Burt, A. D. (2013). Are

- simple noninvasive scoring systems for fibrosis reliable in patients with NAFLD and normal ALT levels? *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 25(6), 652–658. <https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e32835d72cf>
- Medzhitov, R. (2001). Toll-like receptors and innate immunity. *Nature Reviews. Immunology*, 1(2), 135–145. <https://doi.org/10.1038/35100529>
- Moschen, A. R., Molnar, C., Geiger, S., Graziadei, I., Ebenbichler, C. F., Weiss, H., ... Tilg, H. (2010). Anti-inflammatory effects of excessive weight loss: potent suppression of adipose interleukin 6 and tumour necrosis factor alpha expression. *Gut*, 59, 1259–1264. <https://doi.org/10.1136/gut.2010.214577>
- Ong JP, Pitts A, Younossi ZM. Increased overall mortality and liver-related mortality in non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of hepatology*. 2008;49(4):608-12.
- Ozcan, L., Ergin, A. S., Lu, A., Chung, J., Sarkar, S., Nie, D., ... Ozcan, U. (2009). Endoplasmic Reticulum Stress Plays a Central Role in Development of Leptin Resistance. *Cell Metabolism*, 9(1), 35–51. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.12.004>
- Park, S. H., Kim, P. N., Kim, K. W., Lee, S. W., Yoon, S. E., Park, S. W., ... Cho, E. Y. (2006). Macrovesicular hepatic steatosis in living liver donors: use of CT for quantitative and qualitative assessment. *Radiology*, 239(1), 105–112. <https://doi.org/10.1148/radiol.2391050361>
- Park, Y. S., Park, S. H., Lee, S. S., Kim, D. Y., Shin, Y. M., Lee, W., ... Yu, E. S. (2011). Biopsy-proven nonsteatotic liver in adults: Estimation of reference range for difference in attenuation between the liver and the spleen at nonenhanced CT. *Radiology*, 258(3), 760–766. <https://doi.org/10.1148/radiol.10101233>
- Pignoli, P., Tremoli, E., Poli, A., Oreste, P., & Paoletti, R. (1986). Intimal plus medial thickness of the arterial wall: A direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation*, 74(6), 1399–1406. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.74.6.1399>
- Poynard, T., Ratziu, V., Naveau, S., Thabut, D., Charlotte, F., Messous, D., ... Albrecht, J. (2005). The diagnostic value of biomarkers (SteatoTest) for the prediction of liver steatosis. *Comparative Hepatology*, 4. <https://doi.org/10.1186/1476-5926-4-10>
- Procaccini, C., Galgani, M., De Rosa, V., Carbone, F., La Rocca, C., Ranucci, G., ... Matarese, G. (2010). Leptin: The Prototypic Adipocytokine and its Role in NAFLD. *Current Pharmaceutical Design*, 16(17), 1902–1912. <https://doi.org/10.2174/138161210791208884>
- Ratzu, V., Bellentani, S., Cortez-Pinto, H., Day, C., & Marchesini, G. (2010). A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. In *Journal of Hepatology* (Vol. 53, pp. 372–384). <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.04.008>
- Ratzu, V., Charlotte, F., Heurtier, a, Gombert, S., Giral, P., Bruckert, E., ... Grp, L. (2005). Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 128(7), 1898–1906. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.03.084>
- Rockey, D. C., Caldwell, S. H., Goodman, Z. D., Nelson, R. C., & Smith, A. D. (2009). Liver biopsy. *Hepatology*, 49(3), 1017–1044. <https://doi.org/10.1002/hep.22742>
- Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nature genetics*. 2008;40(12):1461-5
- Ruderman, N., Chisholm, D., Pi-Sunyer, X., & Schneider, S. (1998). The metabolically obese, normal-weight individual revisited. *Diabetes*.

- <https://doi.org/10.2337/diabetes.47.5.699>
- Rutgeerts, P., Sandborn, W. J., Feagan, B. G., Reinisch, W., Olson, A., Johanns, J., ... Colombel, J. F. (2005). Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *The New England Journal of Medicine*, *353*(23), 2462–2476. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa050516>
- Ryan, C. K., Johnson, L. A., Germin, B. I., & Marcos, A. (2002). One hundred consecutive hepatic biopsies in the workup of living donors for right lobe liver transplantation. *Liver Transplantation*, *8*(12), 1114–1122. <https://doi.org/10.1053/jlts.2002.36740>
- Saadeh, S., Younossi, Z. M., Remer, E. M., Gramlich, T., Ong, J. P., Hurley, M., ... Sheridan, M. J. (2002). The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, *123*(3), 745–750. <https://doi.org/10.1053/gast.2002.35354>
- Satsangi, J., Silverberg, M. S., Vermeire, S., & Colombel, J. F. (2006). The Montreal classification of inflammatory bowel disease: Controversies, consensus, and implications. *Gut*. <https://doi.org/10.1136/gut.2005.082909>
- Schroeder, K. W., Tremaine, W. J., & Ilstrup, D. M. (1987). Coated Oral 5-Aminosalicylic Acid Therapy for Mildly to Moderately Active Ulcerative Colitis. *New England Journal of Medicine*, *317*(26), 1625–1629. <https://doi.org/10.1056/NEJM198712243172603>
- Sha, H., He, Y., Chen, H., Wang, C., Zenno, A., Shi, H., ... Qi, L. (2009). The IRE1 α -XBP1 Pathway of the Unfolded Protein Response Is Required for Adipogenesis. *Cell Metabolism*, *9*(6), 556–564. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.04.009>
- Shetty, S., Kusminski, C. M., & Scherer, P. E. (2009). Adiponectin in health and disease: evaluation of adiponectin-targeted drug development strategies. *Trends in Pharmacological Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2009.02.004>
- Shi, H., Kokoeva, M. V., Inouye, K., Tzameli, I., Yin, H., & Flier, J. S. (2006). TLR4 links innate immunity and fatty acid – induced insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation*, *116*(11), 3015–3025. <https://doi.org/10.1172/JCI28898>.TLRs
- Silverberg, M. S., Satsangi, J., Ahmad, T., Arnott, I. D., Bernstein, C. N., Brant, S. R., ... Warren, B. F. (2005). Toward an Integrated Clinical, Molecular and Serological Classification of Inflammatory Bowel Disease: Report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Canadian Journal of Gastroenterology*, *19*(suppl a), 5A–36A. <https://doi.org/10.1155/2005/269076>
- Silverman, J. F., O'Brien, K. F., Long, S., Leggett, N., Khazanie, P. G., Pories, W. J., ... Caro, J. F. (1990). Liver pathology in morbidly obese patients with and without diabetes. *The American Journal of Gastroenterology*, *85*(10), 1349–1355. <https://doi.org/2220728>
- Singh, D., Das, C. J., & Baruah, M. P. (2013). Imaging of non alcoholic fatty liver disease: A road less travelled. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, *17*(6), 990–995. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.122606>
- Talwalkar, J. A., Kurtz, D. M., Schoenleber, S. J., West, C. P., & Montori, V. M. (2007). Ultrasound-based transient elastography for the detection of hepatic fibrosis: Systematic review and meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, *5*(10), 1214–1220. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2007.07.020>
- Tilg, H., & Moschen, A. R. (2010). Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: The multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology*, *52*(5), 1836–1846. <https://doi.org/10.1002/hep.24001>

- Tiniakos, D. G., Vos, M. B., & Brunt, E. M. (2010). Nonalcoholic fatty liver disease: pathology and pathogenesis. *Annual Review of Pathology*, *5*, 145–171. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-121808-102132>
- Vallet-Pichard, A., Mallet, V., Nalpas, B., Verkarre, V., Nalpas, A., Dhalluin-Venier, V., ... Pol, S. (2007). FIB-4: An inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. Comparison with liver biopsy and FibroTest. *Hepatology*, *46*(1), 32–36. <https://doi.org/10.1002/hep.21669>
- van der Poorten, D., Milner, K. L., Hui, J., Hodge, A., Trenell, M. I., Kench, J. G., ... George, J. (2008). Visceral fat: A key mediator of steatohepatitis in metabolic liver disease. *Hepatology*, *48*(2), 449–457. <https://doi.org/10.1002/hep.22350>
- Vernia, P., Marcheggiano, A., Caprilli, R., Frieri, G., Corraos, G., Valpianit, D., ... Torsoli, A. (1995). Short-chain fatty acid topical treatment in distal ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*, *9*, 309–313. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.1995.tb00386.x>
- Vernon, G., Baranova, A., & Younossi, Z. M. (2011). Systematic review: The epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2011.04724.x>
- Williams, C. D., Stengel, J., Asike, M. I., Torres, D. M., Shaw, J., Contreras, M., ... Harrison, S. A. (2011). Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: A prospective study. *Gastroenterology*, *140*(1), 124–131. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.09.038>
- Wilson, P. W., D'Agostino, R. B., Levy, D., Belanger, A. M., Silbershatz, H., & Kannel, W. B. (1998). Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*, *97*(18), 1837–1847. <https://doi.org/10.1161/01.cir.97.18.1837>
- Wree, A., Broderick, L., Canbay, A., Hoffman, H. M., & Feldstein, A. E. (2013). From NAFLD to NASH to cirrhosis—new insights into disease mechanisms. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.149>
- Younossi, Z. M., Koenig, A. B., Abdelatif, D., Fazel, Y., Henry, L., & Wymer, M. (2016). Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*, *64*(1), 73–84. <https://doi.org/10.1002/hep.28431>