

Samuel Jesús Martínez Domínguez

Aspectos diferenciales de la
enfermedad hepática grasa no
alcohólica y la respuesta
inmunológica en pacientes con
enfermedad inflamatoria intestinal

Director/es

Gargallo Puyuelo, Carla Jerusalén
Gomollón García, Fernando

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>



© Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606

Tesis Doctoral

ASPECTOS DIFERENCIALES DE LA
ENFERMEDAD HEPÁTICA GRASA NO
ALCOHÓLICA Y LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA
EN PACIENTES CON ENFERMEDAD
INFLAMATORIA INTESTINAL

Autor

Samuel Jesús Martínez Domínguez

Director/es

Gargallo Puyuelo, Carla Jerusalén
Gomollón García, Fernando

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA
Escuela de Doctorado

2024

Departamento de Medicina, Psiquiatría y Dermatología



Universidad Zaragoza

**Aspectos diferenciales de la enfermedad hepática grasa no alcohólica y la
respuesta inmunológica en pacientes con enfermedad inflamatoria
intestinal**

Samuel Jesús Martínez Domínguez

**Directores: Prof. Fernando Gomollón García, Dra. Carla Jerusalén
Gargallo Puyuelo**

Tutor: Dr. Luis Sáez Comet

**Memoria presentada por D. Samuel Jesús Martínez Domínguez para
optar al título de Doctor**

2024

Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación del Instituto de Salud Carlos III (contrato de investigación Río Hortega CM23/00089), el CIBER de enfermedades hepáticas y digestivas (CIBERehd), y el Gobierno de Aragón, mediante la concesión de subvenciones a la actividad investigadora de los grupos de investigación de referencia reconocidos por el Gobierno de Aragón (Grupo de investigación traslacional en patología digestiva, B12_20R, Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón).

El Profesor Titular de Medicina Don Fernando Gomollón García

CERTIFICA:

Que el trabajo titulado “Aspectos diferenciales de la enfermedad hepática grasa no alcohólica y la respuesta inmunológica en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal”, que presenta el graduado en Medicina Don Samuel Jesús Martínez Domínguez, ha sido realizado bajo mi dirección en el Departamento de Medicina y reúne, a mi juicio, originalidad y contenido suficiente para que sea presentado ante el Tribunal correspondiente y optar al título de Doctor por la Universidad de Zaragoza.

Y para que así conste y a los efectos oportunos, se realiza el presente certificado en Zaragoza a 24 de marzo de 2024.

Fdo. Fernando Gomollón García

Profesor Titular de Medicina

La Doctora en Medicina Doña Carla Jerusalén Gargallo Puyuelo

CERTIFICA:

Que el trabajo titulado “Aspectos diferenciales de la enfermedad hepática grasa no alcohólica y la respuesta inmunológica en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal”, que presenta el graduado en Medicina Don Samuel Jesús Martínez Domínguez, ha sido realizado bajo mi dirección en el Departamento de Medicina y reúne, a mi juicio, originalidad y contenido suficiente para que sea presentado ante el Tribunal correspondiente y optar al título de Doctor por la Universidad de Zaragoza.

Y para que así conste y a los efectos oportunos, se realiza el presente certificado en Zaragoza a 24 de marzo de 2024.

Fdo. Carla Jerusalén Gargallo Puyuelo

Doctora en Medicina

El Profesor vinculado doctor Don Luis Sáez Comet

CERTIFICA:

Que el trabajo titulado “Aspectos diferenciales de la enfermedad hepática grasa no alcohólica y la respuesta inmunológica en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal”, que presenta el graduado en Medicina Don Samuel Jesús Martínez Domínguez, ha sido realizado bajo mi tutela en el Departamento de Medicina y reúne, a mi juicio, originalidad y contenido suficiente para que sea presentado ante el Tribunal correspondiente y optar al título de Doctor por la Universidad de Zaragoza.

Y para que así conste y a los efectos oportunos, se realiza el presente certificado en Zaragoza a 24 de marzo de 2024.

Fdo. Luis Sáez Comet

Profesor vinculado doctor de Medicina

El graduado en Medicina Don Samuel Jesús Martínez Domínguez solicita la presentación de su tesis doctoral como compendio de publicaciones con unidad temática en “Enfermedad inflamatoria intestinal”. Para ello hace constar las referencias completas de los artículos que constituyen el cuerpo de la tesis, la posición que ocupa el doctorando como autor en cada publicación, el factor de impacto y el cuartil basado en el “Science Citation Index”:

1. Martínez-Domínguez, S.J.; García-Mateo, S.; Gargallo-Puyuelo, C.J.; Gallego Llera, B.; Refaie, E.; Callau, P.; Mendi, C.; Baptista, P.M.; Hernández Ainsa, M.; Arroyo-Villarino, M.T.; López de la Cruz, J.; Martínez-García, J.; Alfambra, E.; Simón Marco, M.A.; Ampuero, J.; Gomollón, F. Crohn’s Disease is an independent risk factor for liver fibrosis in patients with inflammatory bowel disease and non-alcoholic fatty liver disease. *Eur J Intern Med.* 2024; 120: 99-106. doi: 10.1016/j.ejim.2023.10.019. PMID: 37872034

Primer autor y autor de correspondencia.

Factor de Impacto: 8,0. Primer cuartil.

2. Martínez-Domínguez, S.J.; García-Mateo, S.; Gargallo-Puyuelo, C.J.; Gallego-Llera, B.; Callau, P.; Mendi, C.; Arroyo-Villarino, M.T.; Simón-Marco, M.A.; Ampuero, J.; Gomollón, F. Inflammatory Bowel Disease is an independent risk factor for metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease in lean individuals. *Inflamm Bowel Dis.* 2023. Online ahead of print. doi: 10.1093/ibd/izad175. PMID: 37607330.

Primer autor y autor de correspondencia.

Factor de impacto: 4,9. Segundo cuartil.

3. Martínez-Domínguez, S.J.; García-Mateo, S.; Sainz-Arnal, P.; Martínez-García, J.; Gallego Llera, B.; Lozano Limones, M.J.; Hidalgo, S.; Gargallo-Puyuelo, C.J.; Latre Santos, M.; Nocito Colon, M.M.L.; Martínez-Lostao, L.; Refaie, E.; Arroyo-Villarino, M.T.; del Río-Nechaevsky, M.; Ramirez-Labrada, A.; Pardo, J.; Gomollón, F.; Baptista, P.M. Unravelling the cellular response to the SARS-CoV-2 vaccine in inflammatory bowel disease patients on biologic drugs. *Sci Rep.* 2023, 13(1), 23061.doi: 10.1038/s41598-023-50537-y. PMID: 38155275

Primer autor y autor de correspondencia.

Factor de impacto: 4,6. Segundo cuartil.

4. Martínez-Domínguez, S.J.; García-Mateo, S.; Laredo, V.; Gargallo-Puyuelo, C.J.; Gallego Llera, B.; López de la Cruz, J.; Gomollón, F. Liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease and progression to hepatocellular carcinoma in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review. *Cancers.* 2023; 15(13), 3367. doi: 10.3390/cancers15133367. PMID: 37444477

Primer autor y autor de correspondencia.

Factor de impacto: 5,2. Segundo cuartil.

Factor de impacto total: 22,7

En Zaragoza, a 24 de marzo 2024

Fdo. Samuel Jesús Martínez Domínguez

Abreviaturas

AASLD: asociación americana para el estudio del hígado (del inglés “american association for the study of liver”).

ADN: ácido desoxirribonucleico.

AINE: antiinflamatorios no esteroideos.

ALEH: asociación latinoamericana para el estudio del hígado.

ALT: alanina aminotransferasa.

aOR: odds ratio ajustada.

ARN: ácido ribonucleico.

5-ASA: ácido 5-aminosalicílico (del inglés “5-aminosalicylic acid”).

AST: aspartato aminotransferasa.

CAP™: parámetro de atenuación controlada (del inglés “controlled attenuation parameter”).

CI: colitis indeterminada.

COVID-19: enfermedad por coronavirus 2019.

CTLA-4: antígeno-4 asociado al linfocito T citotóxico (del inglés “cytotoxic T lymphocyte antigen-4”).

CU: colitis ulcerosa.

DM: diabetes mellitus.

EC: enfermedad de Crohn.

EASL: asociación europea para el estudio del hígado (del inglés “european association for the study of the liver”).

EHGNA: enfermedad hepática grasa no alcohólica.

EII: enfermedad inflamatoria intestinal.

ELISA: ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (del inglés “enzyme-linked immunosorbent assay”).

GWAS: estudios de asociación de genoma completo (del inglés “genome-wide association studies”).

HLA: antígeno leucocitario humano (del inglés “human leukocyte antigen”).

IC: intervalo de confianza.

IFN: interferón.

IL: interleuquina.

IMC: índice de masa corporal.

E: especificidad.

ET: elastografía de transición.

FLI: índice de hígado graso (del inglés “Fatty Liver Index”).

Foxp3: proteína P3 de la caja de la cabeza de tenedor (del inglés “Forkhead box protein 3”).

GETECCU: grupo español de trabajo en enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa.

GITR: receptor del factor de necrosis tumoral inducido por glucocorticoides (del inglés “glucocorticoid induced tumor necrosis factor receptor”).

HSI: índice de esteatosis hepática (del inglés “hepatic steatosis index”).

JAK: Janus quinasas (del inglés “Janus kinases”).

LAP: producto de acumulación lipídica (del inglés “lipid accumulation product”).

NK: células asesinas naturales (del inglés “natural killer”).

MAdCAM1: molécula de adhesión celular adresina de mucosas-1 (del inglés “mucosal addressin cell-adhesion molecule 1”).

MIC: molécula relacionada con la cadena del complejo mayor de histocompatibilidad clase I (del inglés “major histocompatibility complex class I chain related molecule”).

NOD2: receptor dominio de oligomerización de nucleótidos 2 (del inglés “nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2”).

PAMPs: patrones moleculares asociados a patógenos (del inglés “pathogen-associated molecular patterns”).

PAS: ácido periódico-Schiff (del inglés “periodic acid-Schiff”).

PNPLA3: proteína 3 que contiene el dominio de la fosfolipasa tipo patatina (del inglés “Patatin like phospholipase domain-containing protein 3”).

PRRs: receptores de reconocimiento de patrones (del inglés “pattern-recognition receptors”).

RM: resonancia magnética.

RM-PDFF: fracción de grasa por densidad protónica por resonancia magnética (del inglés “proton density fat fraction”).

S: sensibilidad.

SARS-CoV-2: coronavirus de tipo 2 causante del síndrome respiratorio agudo grave (del inglés “severe acute respiratory syndrome coronavirus 2”).

STAT: transductor de señales y activador de la transcripción (del inglés “signal transducer and activator of transcription”).

TC: tomografía computarizada.

TGF: factor de crecimiento transformante (del inglés “transforming growth factor”).

TLR: receptores tipo Toll (del inglés “Toll-like receptors”).

TNF: factor de necrosis tumoral (del inglés “tumor necrosis factor”).

Tabla de contenidos

Introducción	11
Hipótesis	64
Objetivos	66
Aportaciones del doctorando	72
 <u>Capítulo 1: Prevalencia y factores de riesgo para enfermedad hepática grasa no alcohólica en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal</u>	 76
Crohn’s Disease is an independent risk factor for liver fibrosis in patients with inflammatory bowel disease and non-alcoholic fatty liver disease. Eur J Intern Med. 2024; 120:99-106.	
 <u>Capítulo 2. Prevalencia y factores de riesgo para enfermedad hepática grasa no alcohólica en pacientes delgados con enfermedad inflamatoria intestinal</u>	 88
Inflammatory Bowel Disease is an independent risk factor for metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease in lean individuals. Inflamm Bowel Dis. 2023; izad175.	
 <u>Capítulo 3. Seroprevalencia de la infección por SARS-CoV-2 y respuesta inmunológica a la vacuna frente a SARS-CoV-2 en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal.</u>	 101
Unravelling the cellular response to the SARS-COV-2 vaccine in inflammatory bowel disease patients on biologic drugs. Sci Rep. 2023, 13(1): 23061.	
 <u>Capítulo 4. Papel de la fibrosis hepática en la progresión a carcinoma hepatocelular en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal y enfermedad hepática grasa no alcohólica.</u>	 115
Liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease and progression to hepatocellular carcinoma in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review. Cancers. 2023; 15(13): 3367.	
 Discusión general	 131
Conclusiones	153
Perspectivas futuras	155

Introducción

La comorbilidad es una condición médica con creciente interés tanto en el plano asistencial como en la investigación biomédica. Se define como el riesgo de desarrollar una segunda enfermedad en pacientes que ya padecen una enfermedad específica(1). El término multimorbilidad tiene una connotación diferente al de comorbilidad, ya que no hace énfasis en una enfermedad primaria o índice, sino en la coexistencia entre dos o más enfermedades crónicas en un paciente(2).

Las diferentes definiciones utilizadas en la literatura médica han dificultado la estimación de la prevalencia de la multimorbilidad, que ha oscilado entre el 13% y el 72%(3). Sin embargo, existe una clara tendencia ascendente de la prevalencia de la multimorbilidad a lo largo de los años. De hecho, un estudio publicado en Reino Unido en 2018 estimó que en el año 2035 el número de personas mayores con más de 4 enfermedades será del doble que en 2015(4). Este fenómeno está en parte justificado por el incremento de la edad media de la población en las últimas décadas, que se espera siga aumentando. Otros factores de riesgo para la multimorbilidad son la ausencia de apoyo familiar o un bajo nivel socioeconómico(5).

Se ha descrito que la multimorbilidad influye negativamente sobre la calidad de vida(6), incrementa el uso de recursos sanitarios y los costes sanitarios, deteriora el estado físico y funcional de los pacientes(7), e incrementa la mortalidad(8). Consecuentemente, el abordaje de los pacientes con dos o más enfermedades crónicas debería ser integral.

Sin embargo, los sistemas sanitarios están habitualmente diseñados para atender patologías individuales en lugar de pacientes con comorbilidades, derivando en duplicidad en el consumo de recursos, ineficiencia y deterioro en la seguridad de los pacientes(9). Por tanto, sería esencial migrar desde un enfoque dirigido a la patología individual a un enfoque centrado en el paciente con el objetivo de proteger y promover un buen estado de salud de las personas(5).

Tradicionalmente se han estudiado las manifestaciones extraintestinales de la Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII), que suelen afectar a los ojos, las articulaciones, la piel, el hígado o las vías biliares. Sin embargo, la presencia de comorbilidades que no presentan una correlación directa con la EII o sus tratamientos ha sido menos estudiada(10). Un estudio retrospectivo publicado en 2022 reportó que las comorbilidades más frecuentes en pacientes con EII eran la diabetes mellitus (DM), la hipertensión arterial (HTA) y la anemia ferropénica(11). La importancia de estas últimas radica en su potencial influencia sobre el pronóstico de la enfermedad, sobre la presencia de actividad de la EII o de las manifestaciones extraintestinales, y sobre la elección de la terapia farmacológica para la EII más adecuada(10).

1. Enfermedad inflamatoria intestinal

El término Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII), que incluye a la enfermedad de Crohn (EC), a la colitis ulcerosa (CU) y a la colitis indeterminada (CI), hace referencia a enfermedades caracterizadas por inflamación crónica del tracto gastrointestinal que evolucionan en períodos de actividad/remisión y que pueden derivar a largo plazo en una destrucción progresiva e irreversible del mismo(12).

1.1 *Perspectiva histórica*

Constan diversas descripciones de casos de diarrea no infecciosa desde el año 640 a.C., presumiblemente atribuidas a lo que hoy conocemos como CU. Sin embargo, hasta 1859 no fue denominada por primera vez como CU cuando el doctor Samuel Wilks reportó el caso de una paciente joven que había fallecido por un cuadro diarreico con sangre de semanas de evolución(13). Posteriormente, se descubrió que esta primera descripción inicialmente catalogada como CU en realidad correspondía a una EC. En 1875 fue cuando Wilks y Moxon probablemente reportaron el primer caso de CU, así como caracterizaron clínica y patológicamente la enfermedad diferenciándola de las colitis infecciosas(14).

La enfermedad de Crohn fue descrita por primera vez por Morgagni en 1769 en base a la autopsia de un paciente joven que falleció por un cuadro diarreico grave. Posteriormente, diversos autores como Dalziel publicaron casos consistentes en afectación inflamatoria de diferentes segmentos del tracto intestinal con una histología común: granulomas no caseificantes(15,16).

Burrill Bernard Crohn nació en Nueva York en 1884, descendiente de una familia inmigrante judío alemana. En 1911, se graduó en Medicina por la Universidad de Columbia y, posteriormente, se vinculó al Hospital Mount Sinaí(15). Inicialmente Crohn estudiaba las secreciones exocrinas del páncreas, pero se interesó por las enfermedades inflamatorias intestinales al revisar varios estudios histológicos de pacientes con ileítis intervenidos por Berg, el cirujano del Hospital Mount Sinaí. Dos cirujanos más jóvenes, Ginzburg y Oppenheimer, llevaban recopilando datos y estudiando pacientes intervenidos por Berg por obstrucciones intestinales en la región ileocecal(17). En 1932, Crohn presentó una nueva entidad denominada “ileítis terminal” en un manuscrito publicado en la revista *Journal of the American Medical Association (JAMA)*. Posteriormente, por recomendación del doctor J. Arnold Bargen de la Clínica Mayo, se cambió el término por “ileítis regional”(18). Durante toda su vida Crohn se dedicó al estudio de las

enfermedades inflamatorias intestinales hasta su fallecimiento en 1983 y recibió numerosos reconocimientos(19).

1.2 Epidemiología

La EII se consideró una enfermedad típica de los países occidentales por su incidencia creciente durante la segunda mitad del siglo XX. Sin embargo, en aquel momento la incidencia de la EII apenas se había estudiado en Latinoamérica, Asia o África. Estudios epidemiológicos de mayor calidad realizados en países recientemente industrializados de Latinoamérica, África, Europa del este o Asia, han demostrado una nueva tendencia al aumento de la incidencia en estas áreas(20). Al mismo tiempo, se ha descrito en los últimos años una tendencia a la estabilización de la incidencia de la EII en Europa y Norteamérica, con una importante carga de enfermedad ya que se estima que la prevalencia alcance el 1% en 2030 en países como Canadá(21,22). Para explicar la evolución global de la EII se han postulado cuatro estados epidemiológicos: emergencia de la EII, aceleración en la incidencia, “compounding prevalence” y equilibrio de la prevalencia(23).

La fase de emergencia hace referencia al reporte de casos esporádicos de EII, que comenzó en Europa occidental y Norteamérica a finales del siglo XVIII. En esta fase, se realizaron las principales descripciones de la CU por Samuel Wilks y de la EC por Burrill Crohn, y se prolongó hasta mediados del siglo XX en los países occidentales(13,18). Sin embargo, la fase de emergencia en países recientemente industrializados como Latinoamérica y Asia ha ocurrido durante la segunda mitad del siglo XX, y en los países menos desarrollados se está produciendo durante el siglo XXI(23).

La fase de aceleración se caracteriza por un incremento rápido de la incidencia paralelo al progreso socioeconómico de las regiones, con una prevalencia de EII todavía baja. Este fenómeno se produjo en la segunda mitad del siglo XX en los países occidentales(23). Por ejemplo, *Loftus et al* reportaron un incremento de la incidencia de CU en Minnesota desde 0,6 casos por cada 100.000 personas-año en los años 40 hasta 8,3 casos por cada 100.000 personas-año en los años 90. Latinoamérica y Asia se encuentran en esta fase actualmente con datos que remedan la evolución de la EII en los países occidentales durante el siglo XX(24).

La fase de “compounding prevalence” se define por un aumento de la prevalencia, incluso ante pequeños aumentos de la incidencia. Este fenómeno se explica por la baja mediana de edad al diagnóstico de la EII (entre los 30-35 años) y el aumento de la esperanza de vida, similar a la población general(23,25). Un estudio realizado en Estados Unidos publicado en 2017 reportó un

aumento de la prevalencia de EC y CU desde 174 y 214 casos por cada 100.000 personas en 2001 hasta 247 y 286 casos por cada 100.000 personas en 2011, respectivamente(26). Sin embargo, las cifras son heterogéneas cuando se comparan diferentes áreas geográficas(27). *Chaparro et al* publicaron en 2021 en un estudio del grupo español de trabajo en enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa (GETECCU) una incidencia en España de 16 casos por cada 100.000 personas-año para la EII, de 7,5 casos por cada 100.000 personas-año para la EC, de 8 casos por cada 100.000 personas-año para la CU y de 0,5 casos por cada 100.000 personas-año para la CI(28).

Existe la hipótesis de que la siguiente fase será la de equilibrio de la prevalencia, ante una incidencia que se mantendrá estable o incluso descenderá y una mortalidad que se incrementará debido al aumento de la edad y de la comorbilidad de los pacientes con EII(25).

1.3 Etiopatogenia y factores de riesgo

La historia familiar de primer grado de EC o CU se ha descrito como uno de los factores de riesgo más potentes para desarrollar EII. La concordancia del 50% en EC y del 15% en CU entre gemelos homocigotos, así como del 10% en EC y del 4% en CU entre gemelos dicigóticos, sugieren una base genética de la enfermedad(29). De hecho, se han identificado más de 600 asociaciones genéticas en los estudios de asociación de genoma completo (GWAS, del inglés “genome-wide association studies”) implicadas en la respuesta inmune, la autofagia, la reparación celular, el control de la inflamación y de muchas otras funciones(30). Algunos ejemplos son el dominio de oligomerización de nucleótidos 2 (NOD2) en EC(31), el complejo HLA (antígeno leucocitario humano, del inglés “human leukocyte antigen”) en CU, y el receptor de interleuquina 23 (IL-23) en EII(32). Sin embargo, estas asociaciones deben interpretarse con cautela ya que no implican necesariamente causalidad(29).

Además, una amplia variedad de factores ambientales interviene en el desarrollo de EII en pacientes genéticamente susceptibles, todo ello en el contexto de las interacciones entre la microbiota y el huésped. El tabaquismo es un factor protector para la CU mientras que es un factor de riesgo para desarrollar EC, con una menor supervivencia libre de enfermedad estenosante (Hazard ratio [HR] 1,5 intervalo de confianza del 95% [IC95%] (1,18-1,90)) y de complicaciones a nivel perianal (HR 1,5 IC95% (1,01-1,46))(33). Los anticonceptivos orales son un factor de riesgo para el desarrollo tanto de EC como de CU (Odds ratio [OR] 1,24 IC95% (1,09-1,40) y OR 1,30 IC95% (1,13-1,49), respectivamente)(34). Además, un nivel sociosanitario más bajo y unas peores condiciones higiénicas han resultado ser factores protectores, especialmente cuando acontecen durante el primer año de vida(35). De hecho, la toma de antibióticos en la

infancia es un factor de riesgo para la EC (OR 2,75 IC95% (1,72-4,38))(36), mientras que compartir cama o vivir en un entorno rural son factores protectores(34). Otros factores protectores para la EC y la CU son la lactancia materna o la infección por *Helicobacter pylori* (34,37).

La microbiota requiere una mención especial. Existen un cúmulo de razones que apoyan el papel de la microbiota en la patogenia de la EII: la importancia de la interacción entre la microbiota, la barrera intestinal y el sistema inmune intestinal; la necesidad de la microbiota para el desarrollo de inflamación en modelos experimentales; el efecto de los antibióticos en estos modelos experimentales; así como algunas firmas o patrones de microbiota y/o metabolitos asociados a la enfermedad(38). Por ejemplo, los pacientes con CU tienen menores niveles de *Bifidobacterium longum*, y los pacientes con CU o EC presentan menores niveles de *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale* o *Roseburia intestinalis* y mayores niveles de bacterias potencialmente dañinas como *Bacteroides fragilis*, en comparación con la población general(39). Sin embargo, las diferencias sustanciales entre las poblaciones bacterianas identificadas en los diversos estudios reducen su valor diagnóstico, debiéndose interpretar con cautela estos hallazgos(40). El fracaso de los probióticos en el manejo de la EII está probablemente relacionado con la corta duración de estos estudios, que además utilizan probióticos no diseñados específicamente para corregir la disbiosis subyacente de la EII(41). Por último, la dieta también juega un papel importante en la fisiopatología, al mismo tiempo que influye en la microbiota intestinal(42).

Pese al creciente conocimiento sobre la etiopatogenia de la EII, a día de hoy no se han definido por completo los mecanismos fisiopatológicos implicados. La interacción de los factores mencionados previamente en un mismo individuo es un aspecto clave en la fisiopatología de la EII. El modelo fisiopatológico de Cadwell ilustra cómo se desarrolla la EII en ratones al interaccionar cuatro factores: alteración del gen ATG16L1 que interviene en el mecanismo de autofagia, infección por un norovirus, agentes lesivos para la mucosa en la alimentación, y la microbiota(43). Además, esta interacción se debe realizar en una secuencia determinada, en la que solo aparece lesión cuando se administra el agente lesivo para la mucosa tras la infección por un subtipo específico de norovirus. Este ejemplo ilustra la complejidad que tendría la detección de todos los factores implicados en el desarrollo de la EII en humanos, así como el orden en el que participa cada uno de ellos(38).

1.4 Diagnóstico de la enfermedad inflamatoria intestinal

A día de hoy, la anamnesis y exploración física siguen siendo herramientas fundamentales para sospechar y orientar el proceso diagnóstico en un paciente con síntomas compatibles con EII. Sin

embargo, los síntomas a menudo no son específicos y pueden ser frecuentes en la población general en ausencia de EII. Por ejemplo, la diarrea crónica puede afectar hasta al 5% de la población en un momento dado(44). Existen una serie de síntomas guía o de alarma que nos deberían hacer sospechar una EII tales como la presencia diarrea nocturna o con productos patológicos, pérdida de peso, antecedentes familiares de EII, fístulas perianales complejas, patología perianal recidivante o refractaria, o febrícula(45). Si bien, estos síntomas tienen un bajo valor predictivo positivo por lo que su principal utilidad es identificar aquellos pacientes que se beneficiarían de ampliar el estudio con exploraciones complementarias(44).

Un alto índice de sospecha y una estrategia diagnóstica adecuada podría evitar retrasos en el diagnóstico, ya que se ha descrito una mediana de 2-6 meses en la CU y de 2-12 meses en la EC entre la aparición de la clínica y el diagnóstico de la enfermedad(46). La importancia radica en que el retraso en el diagnóstico se ha asociado con estenosis intestinal y necesidad de cirugía a causa de la EII en los pacientes con EC(47).

El síntoma más frecuente en la EII es la alteración del ritmo o consistencia de las deposiciones, seguido del dolor abdominal (más típico de EC y brotes graves de CU). Otros síntomas son rectorragia (más típica de la CU), síndrome rectal (urgencia, pujos y tenesmo rectal), pérdida de peso (mayor en EC), masa abdominal (EC), estreñimiento o la afectación del tracto digestivo superior (EC). Mientras la presentación de la CU es más predecible al estar limitada al colon, la de la EC es más heterogénea. Las manifestaciones extraintestinales clásicas (cutáneas, articulares, oftalmológicas) o la enfermedad perianal también pueden orientar o preceder el diagnóstico de EII(48).

En práctica clínica actual se utilizan biomarcadores séricos (proteína C reactiva) y fecales (calprotectina), útiles para orientar el diagnóstico y realizar el seguimiento de la actividad inflamatoria. La proteína C reactiva se sintetiza en el hígado aumentando su producción ante cualquier proceso inflamatorio bajo la acción de citoquinas como la IL-1 beta y el TNF alfa (factor de necrosis tumoral, del inglés “tumor necrosis factor”). Se caracteriza por ser inespecífica y por bajos valores predictivos en la EII(49,50). La calprotectina es una proteína del citoplasma de los neutrófilos, más específica que la PCR para distinguir procesos orgánicos intestinales de los funcionales, pero que no orienta a una etiología concreta ya que puede elevarse en pacientes con EII, infecciones gastrointestinales, neoplasias colorrectales o con daño por AINE(51). La calprotectina ha demostrado una Sensibilidad (S) del 88% y Especificidad (E) del 73% para detectar EII activa, por lo que es ampliamente empleada para monitorizar la actividad de la enfermedad(50).

En la actualidad la ileocolonoscopía con toma de biopsias es el método diagnóstico de referencia para la EII. Sin embargo, no es posible establecer el diagnóstico en base al estudio anatomopatológico. Se debe integrar la información clínica, endoscópica, bioquímica, microbiológica y radiológica para llegar al diagnóstico(52).

Las aftas o úlceras longitudinales de distribución discontinua, en ocasiones con aspecto de empedrado, son típicas de la EC(53). Los principales signos endoscópicos de actividad en la CU son eritema, edema, pérdida de patrón vascular, friabilidad, sangrado y ulceración, distribuidos de forma difusa extendiéndose proximalmente desde el recto. La colonoscopia permite definir tanto la extensión como la gravedad de la afectación en el caso de la CU (leve: eritema, moderada: erosiones/friabilidad, grave: úlceras/sangrado espontáneo)(54). Ninguno de los hallazgos endoscópicos es patognomónico de EII, ya que puede ser complejo establecer el diagnóstico diferencial entre EII y tuberculosis intestinal o la enfermedad de Behcet, o incluso entre la EC y la CU(53). Por último, no se debe olvidar el papel de la endoscopia en el seguimiento, el cribado del cáncer colorrectal y en el tratamiento de estenosis no complicadas, cortas (<4-5 cm) y con componente fibrótico(52).

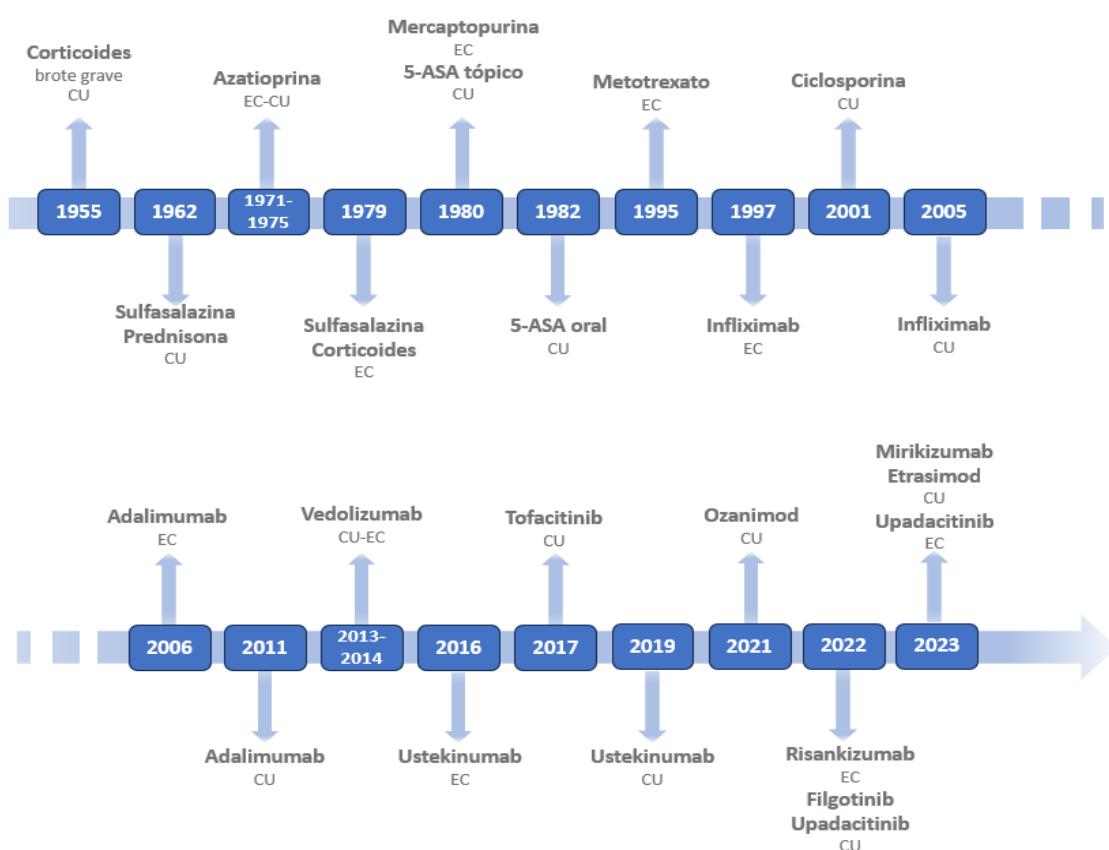
En cuanto a las técnicas de imagen, tradicionalmente se utilizaba la radiografía simple de abdomen y la radiología baritada. A día de hoy, la tomografía computarizada (TC) o la resonancia magnética (RM) permiten definir la extensión de la EC así como la detección de complicaciones locales como abscesos, fístulas, perforación, estenosis infranqueables endoscópicamente o megacolon tóxico(55).

En los últimos años, la ecografía intestinal está revolucionando el diagnóstico por imagen en los pacientes con EII. Se trata de una técnica no invasiva, bien tolerada, que no requiere preparación ni contraste, y más barata y accesible que la RM o la TC. Ha demostrado ser precisa en la detección de actividad inflamatoria (S 85% y E 91%), de la extensión de la enfermedad, de la respuesta terapéutica y la curación transmural, de la recurrencia postquirúrgica (S 94% y E 84%) y de las complicaciones en pacientes con EC. En consecuencia, es muy útil en el seguimiento de pacientes con EC, influyendo en un cambio de estrategia terapéutica hasta en un 60% de los casos. Además, es útil en el diagnóstico de la actividad inflamatoria, la extensión y la evaluación de la respuesta al tratamiento en pacientes con CU (S 90% y E 96%), para lo que se han desarrollado recientemente unos criterios cuantitativos denominados “Humanitas Ultrasound Criteria”(56).

1.5 Tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal

La aparición de los fármacos biológicos anti-TNF a finales de los años 90 del siglo XX supuso un hito en el tratamiento de la EII debido a la mejoría significativa de los resultados, especialmente en los pacientes con actividad moderada o grave(57). Ello ha contribuido, entre otros factores, a un cambio en el estado nutricional de los pacientes con EII, de tal forma que se estima una prevalencia de obesidad en los pacientes con EII de entre el 15% y el 35-40%. Es un problema de primer orden ya que la obesidad podría asociarse a una peor evolución y respuesta a los tratamientos de la EII(58). Anteriormente se disponía de corticoides sistémicos y tópicos desde los años 50, así como los salicilatos, las tiopurinas (azatioprina, mercaptopurina) o el metotrexato que aparecieron en la segunda mitad del siglo XX (*Figura 1*)(59).

Figura 1. Años de publicación de los primeros ensayos clínicos con resultados favorables o de los ensayos clínicos fase III de los principales tratamientos utilizados para la Enfermedad Inflamatoria Intestinal.



5-ASA: ácido 5-aminosalicílico (del inglés "5-aminosalicylic acid"). CU: colitis ulcerosa. EC: enfermedad de Crohn. Adaptado de(59): Gros B. Timeline [Internet]. IBD.EII. Disponible en: <https://ibd-eii.com/timeline/>

Los corticoides, aunque tienen efectos pleiotrópicos, actúan fundamentalmente inhibiendo la producción de citoquinas proinflamatorias como TNF α , IL-1 e IL-6. Estos interfirieron en la transcripción de los genes que intervienen en su producción y en la estabilidad del ácido ribonucleico (ARN) mensajero(60). Pese a la eficacia de los corticoides, se desaconseja su uso como tratamiento de mantenimiento por sus efectos secundarios agudos (insuficiencia suprarrenal, HTA, hipopotasemia, pancreatitis, efectos psicológicos o neurológicos, leucocitosis, trombocitosis o alteraciones cutáneas) o crónicos (osteoporosis, miopatía proximal, infecciones, neuropatía, catarata, glaucoma, osteonecrosis, esteatosis hepática, o hiperglucemia)(61).

Las tiopurinas se utilizan para el mantenimiento tras brotes moderados-graves debido a su lento inicio de acción. Estas son metabolizadas dando lugar a metabolitos de las tiopurinas que inhiben el ácido desoxirribonucleico (ADN), el ARN y la síntesis proteica, así como inducen la apoptosis de linfocitos T mediante la coestimulación del receptor de CD28(62). Algunos de sus efectos secundarios son: intolerancia gastrointestinal, hepatotoxicidad, mielotoxicidad, pancreatitis aguda, infecciones predominantemente virales, y tumores como el cáncer de piel no melanoma, tumores uroteliales o síndromes linfoproliferativos(61).

El metotrexato actúa promoviendo la apoptosis de células T y alterando la producción de mediadores proinflamatorios, pudiendo producir efectos secundarios como la intolerancia digestiva, la hepatotoxicidad, la toxicidad pulmonar o la teratogenicidad(60,61). La ciclosporina y el tacrolimus, inhibidores de la calcineurina, alteran la transcripción de IL-2 inhibiendo la actividad de los linfocitos T y pueden producir nefrotoxicidad, alteraciones hidroelectrolíticas, HTA, diabetes, neurotoxicidad, hipertrofia gingival, hipertriosis, intolerancia digestiva, infecciones oportunistas o neoplasias(61,62).

En 1999 se aprobó el infliximab en la Unión Europea como primer fármaco biológico para la EC activa grave y en 2005 se aprobó para el tratamiento de la CU refractaria(63,64). Tanto infliximab como adalimumab son fármacos biológicos anti-TNF que han revolucionado el tratamiento de los pacientes con EII por su efectividad y mejor perfil de efectos secundarios que los fármacos previamente conocidos. Sus principales riesgos son las infecciones no víricas oportunistas (tuberculosis, pneumocistosis, nocardiasis), las infecciones víricas oportunistas (varicela zoster, citomegalovirus, reactivación del virus de hepatitis B), el cáncer de piel tipo melanoma, las reacciones cutáneas, la insuficiencia cardíaca o las reacciones inflamatorias paradójicas como la psoriasis(61). Sin embargo, un 10-40% de los pacientes pueden no responder a la inducción con anti-TNF y, de los pacientes inicialmente respondedores, hasta un 50% pueden experimentar pérdida de respuesta secundaria con una tasa anual de entre el 5-20%(65).

Ante este escenario, se han desarrollado y aprobado en los últimos años otros tratamientos como los biológicos no anti-TNF (anti integrina $\alpha 4\beta 7$ como el vedolizumab, anti subunidad p40 de IL12/23 como el ustekinumab) y las pequeñas moléculas (inhibidores JAK como el tofacitinib). Estos han demostrado utilidad en el tratamiento de pacientes con fracaso, intolerancia o contraindicación a anti-TNF, aunque no exclusivamente(57). Además, el ustekinumab y el vedolizumab han demostrado ser particularmente seguros. En el caso de los inhibidores JAK se han descrito como efectos adversos el herpes zoster, tromboembolismo venoso, dislipemia o citopenias, y se están estudiando sus efectos sobre la aparición de neoplasias a medio-largo plazo(66).

Aunque el abanico terapéutico es cada vez más amplio, apenas existen predictores de respuesta para cada tratamiento. Los gastroenterólogos especializados en la EII nos enfrentamos a un presente y futuro inmediato complejo a la vez que alentador con la aparición de nuevos fármacos como el risankizumab, mirikizumab, upadacitinib, filgotinib, ozanimod y etrasimod(67).

2. Enfermedad hepática grasa no alcohólica

La enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA) se define como la presencia de esteatosis en más del 5% del parénquima hepático. Se define esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) como esteatosis hepática combinada con inflamación y degeneración balonizante, con o sin presencia de fibrosis. Aunque su denominación clásica en inglés ha sido “Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)”, en los últimos años se han propuesto nuevas nomenclaturas que se detallan a continuación(68).

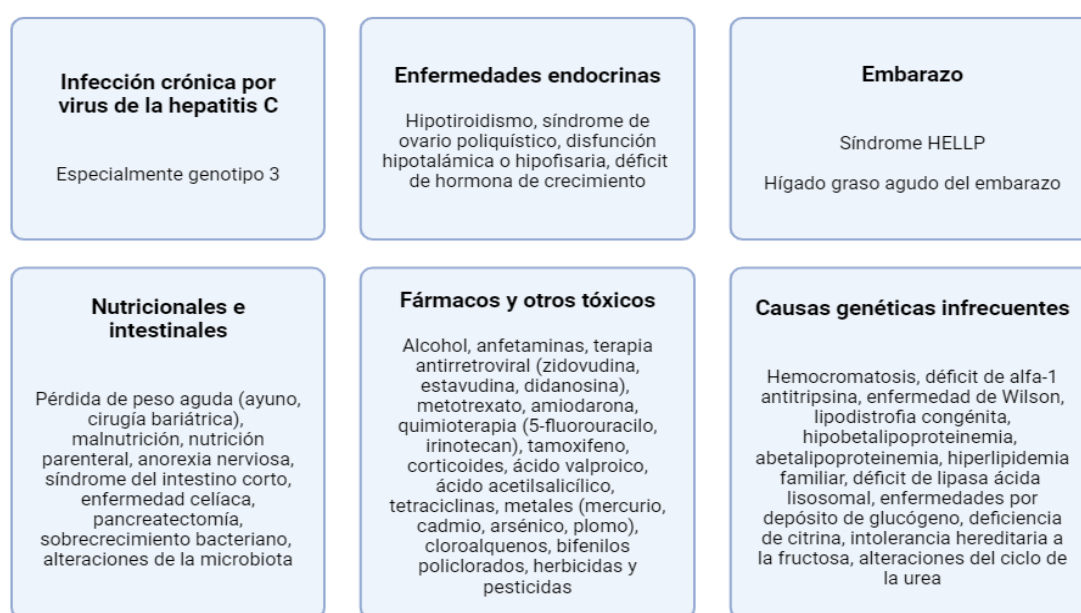
2.1 *Terminología y perspectiva histórica*

El hígado graso secundario al consumo de alcohol fue descrito por primera vez por Addison en 1836. Sin embargo, varios autores como Miller, Adler, Schaffner o Ludwig reportaron en la segunda mitad del siglo XX hallazgos histológicos que se asemejaban al daño hepático inducido por alcohol en pacientes sin historia de consumo de alcohol pero con factores de riesgo metabólicos(69,70). Fue Jurgen Ludwig el que acuñó el término de “Non-alcoholic Steatohepatitis” (NASH) en 1980, en pacientes con enfermedad hepática grasa sin evidencia de

causas secundarias (incluyendo el consumo de alcohol). El término NAFLD fue posteriormente utilizado para abarcar el espectro histológico desde esteatosis simple hasta esteatohepatitis(71).

El diagnóstico de NAFLD, por tanto, es eminentemente de exclusión en ausencia de causas secundarias de esteatosis hepática (*Figura 2*). Sin embargo, en la práctica clínica real pueden coexistir varias entidades al mismo tiempo e incluso unas pueden influir en el curso de las otras. Por otro lado, esta terminología no refleja la etiología de la enfermedad e incluye los conceptos de “alcohol” o “grasa” que podrían ser estigmatizantes(70,72).

Figura 2. Principales causas secundarias de esteatosis hepática.



HELLP: hemólisis, elevación de enzimas hepáticas y descenso de plaquetas (del inglés, “hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count”). Adaptado de(72): Liebe R, Esposito I, Bock HH, vom Dahl S, Stindt J, Baumann U, et al. Diagnosis and management of secondary causes of steatohepatitis. J Hepatol. 2021; 74 (6):1455-71. doi: 10.1016/j.jhep.2021.01.045. Esta figura ha sido creada con BioRender.com.

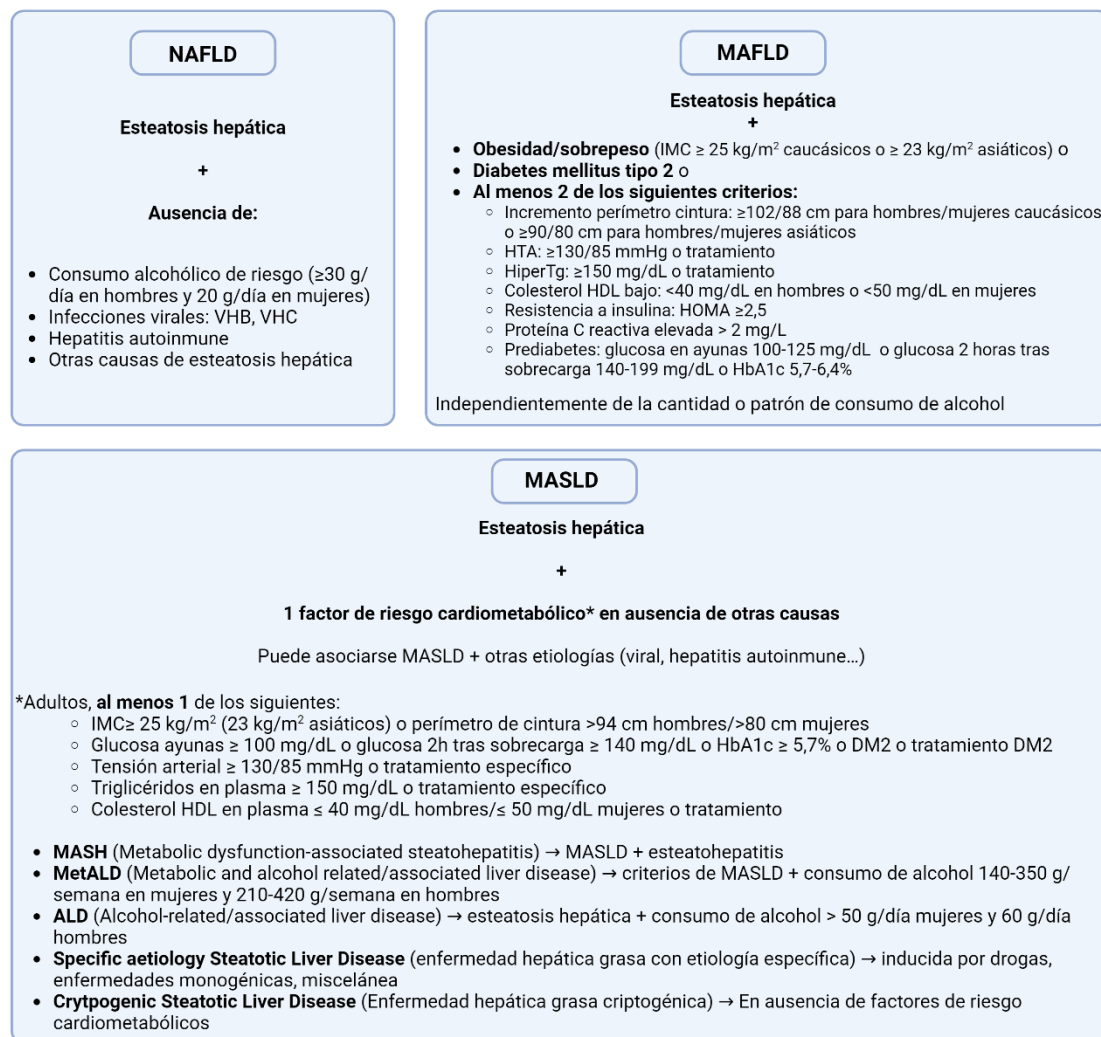
En 2020 un panel de expertos internacionales propuso el cambio de terminología a “Metabolic dysfunction associated fatty liver disease (MAFLD)”. Sin embargo, este hecho implicó no solo un mero cambio de nomenclatura sino también de criterios diagnósticos. Con el término MAFLD se abre un nuevo paradigma, ya que crea una definición inclusiva estableciendo como criterios la presencia de esteatosis hepática y una de las 3 condiciones siguientes: DM tipo 2,

sobrepeso/obesidad o 2 factores de riesgo metabólicos en caso de pacientes delgados o con normopeso (*Figura 3*). Varias razones motivaron este cambio de terminología: (1) Énfasis en la influencia de la obesidad, DM tipo 2, HTA, dislipemia y estilo de vida sedentario, (2) Incluye pacientes con otras patologías hepáticas diferentes, (3) Excluye pacientes que no cumplen los criterios metabólicos(73,74). Aunque la concordancia en el diagnóstico de pacientes es alta, hay un subgrupo significativo de pacientes que cumplen criterios para una entidad pero no para la otra(70). *Wong et al* reportaron en un estudio que incluía 277 pacientes con esteatosis hepática que el 89% de los pacientes cumplían definición para ambas, el 6% para MAFLD pero no para NAFLD, y el 5% para NAFLD pero no para MAFLD(75).

Sin embargo, este cambio de terminología a MAFLD ha sido motivo de debate y no ha sido aceptado de forma unánime por todos los expertos por los siguientes motivos: sigue utilizando la palabra “grasa” que podría ser estigmatizante, se restringe a aquellos pacientes con 2 factores de riesgo metabólicos, e incluye en el mismo término pacientes con cualquier consumo de alcohol(76). Está bien establecido que la obesidad y la diabetes tienen un efecto sinérgico perjudicial en pacientes con enfermedad hepática por alcohol. Además, se piensa que el consumo de alcohol tiene un valor patogénico añadido e implicaciones pronósticas en pacientes con NAFLD. Aunque algunos estudios han reportado efectos beneficiosos del consumo leve-moderado de alcohol en pacientes con NAFLD en términos de esteatosis hepática o resistencia a la insulina, la mayoría de estos tienen sesgos importantes y se deberían interpretar esos resultados con cautela(77).

Por tanto, la American Association for the Study of Liver (AASLD), la European Association for the Study of the Liver (EASL) y la Asociación Latinoamericana para el Estudio del Hígado (ALEH) propusieron una nueva terminología y criterios diagnósticos en junio de 2023 bajo el nombre de “Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD)”. Las principales similitudes y diferencias entre los criterios diagnósticos de NAFLD, MAFLD y MASLD se resumen en la *Figura 3*. Conceptualmente, casi todos los pacientes diagnosticados con los criterios de NAFLD estarían incluidos en los criterios de MASLD y posible MASLD. De hecho, se realizó un análisis de los pacientes con NAFLD registrados en la cohorte “LITMUS” en el que se observó que el 98% cumplían criterios de MASLD. Esto permite que gran parte de los estudios o biomarcadores disponibles hasta el momento sigan siendo útiles con la nueva terminología (en el caso de MAFLD había una menor concordancia). Además, con los nuevos criterios se incluye bajo el término “MetALD” a los pacientes con MASLD y un consumo alcohólico entre 140-350 g/semana en mujeres y 210-420 g/semana en hombres(76).

Figura 3. Criterios diagnósticos de NAFLD, MAFLD y MASLD.



DM2: diabetes mellitus tipo 2. HbA1c: hemoglobina glicosilada. HDL: lipoproteínas de alta densidad (del inglés “high density lipoprotein”). HiperTg: hipertrigliceridemia. HOMA: homeostasis model assesment. HTA: hipertensión arterial. IMC: índice de masa corporal. VHB: virus de la hepatitis B. VHC: virus de la hepatitis C. Adaptado de: (78) Fouad Y. Metabolic-associated fatty liver disease: new nomenclature and approach with hot debate. World J Hepatol. 2023; 15 (2): 123-8. doi: 10.4254/wjh.v15.i2.123. (76) Rinella, ME, Lazarus JV, Ratziú V, Francque S, Sanyal A, Kanwal F, et al. A multisociety Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclatura. Hepatology. 2023; 78 (6): 1966-86. doi: 10.1097/HEP.0000000000000520. Esta figura ha sido creada con BioRender.com.

Algunas limitaciones de los nuevos criterios de MASLD serían que algunos de los factores de riesgo metabólicos incluidos como el HDL o la presión arterial diastólica predicen de forma más

débil la resistencia a la insulina, que es el factor clave en la patogenia de MASLD. A su vez no incluye parámetros para la medición directa de la resistencia a la insulina (insulina en ayunas, HOMA) por su complejidad, variabilidad entre laboratorios, coste y difícil aplicabilidad en práctica clínica habitual. Se reservan estas determinaciones para pacientes seleccionados que cumplen criterios de posible MASLD. Por otro lado, no se han desarrollado parámetros objetivos adecuados para determinar la contribución relativa del alcohol en los pacientes con MetALD, sino que se basan en el consumo de alcohol reportado por el paciente(76).

A continuación, en esta tesis se utilizará generalmente el término EHGNA excepto en aquellos casos en los que se desee hacer hincapié en algún aspecto diferencial de los términos presentados previamente.

2.2 Epidemiología e historia natural

La prevalencia de EHGNA en la población adulta ha mostrado una tendencia ascendente en las últimas décadas, desde el 20% en los años 90 hasta aproximadamente el 25-30% en los últimos años(72,79), encontrando variaciones geográficas y étnicas debido a factores genéticos y sociodemográficos(80). La prevalencia más alta se ha reportado en Medio Oriente y en Sur América seguido por Asia, Estados Unidos y Europa. La prevalencia es más baja en África, teniendo en cuenta la escasez de datos procedentes de este continente(81).

El aumento de la prevalencia de EHGNA es paralelo aumento de obesidad y DM2, especialmente en áreas cuyo nivel socioeconómico y acceso a dietas poco saludables también ha crecido(80). Un metaanálisis reciente ha reportado una prevalencia de EHGNA en pacientes con DM2 de más del doble que la población general, rondando el 55%(82). La prevalencia de EHGNA en pacientes obesos oscila entre el 58 y el 74%(68). A su vez, en los pacientes con EHGNA se ha estimado una prevalencia de diabetes del 23%, de HTA del 39% y de obesidad del 51%(68).

Sin embargo, también se ha descrito EHGNA en el 5-20% de los individuos delgados de Europa (denominada en inglés “lean NAFLD”: $IMC < 25 \text{ Kg/m}^2$)(83). Del total de pacientes con EHGNA, aproximadamente el 19% son delgados y el 40% son no obesos ($IMC < 30 \text{ Kg/m}^2$)(84). Estos individuos son más jóvenes y tienen menor prevalencia de síndrome metabólico, pero tienen mayor resistencia a la insulina y niveles más altos de triglicéridos que la población general sin EHGNA. Se ha descrito una menor prevalencia de EHNA en pacientes no obesos en comparación con los pacientes obesos, si bien, una vez se ha desarrollado la EHNA la evolución a fibrosis hepática avanzada es similar en obesos y no obesos, por lo que es posible que la obesidad no

sea el principal determinante de esta progresión. Aunque inicialmente se pensó que el pronóstico a medio-largo plazo sería mejor en pacientes no obesos, existen datos contradictorios y se deben realizar más estudios al respecto(81).

La estimación de la prevalencia de EHNA es más compleja, pues está sesgada al no realizarse biopsia hepática habitualmente en la población general. Un metaanálisis publicado en 2016 estimó una prevalencia en Europa del 4%(80), mientras que en un estudio de base poblacional realizado en Estados Unidos se estimó un incremento de la prevalencia del 1,5% en 2010 al 2,8% en 2020 ($p<0,001$)(85). Se ha descrito que la prevalencia de EHNA comprobada por biopsia es del 19% de pacientes hispanos con EHGNA y del 10% en pacientes blancos con EHGNA(86). La prevalencia de EHNA aumenta en los pacientes con DM2 hasta el 37%(82). A su vez, la prevalencia tanto de EHGNA como de EHNA es superior en los hombres en comparación con las mujeres(86). Se ha descrito una prevalencia de fibrosis hepática avanzada en pacientes con EHGNA del 2,6%, ascendiendo hasta 7,6% en pacientes con DM2(87). Tanto en la EHGNA como en la EHNA se desarrolla fibrosis hepática progresivamente, sin embargo, ocurre a diferente velocidad ya que en el caso de la EHGNA progresa 1 estadio de fibrosis (desde el estadio basal F0) cada 14 años mientras que en el de la EHNA cada 7 años(88).

Los datos epidemiológicos previamente mencionados asocian importantes consecuencias. Hasta el 30% de las personas con EHGNA desarrollarán esteatohepatitis y hasta el 20% de estas últimas desarrollarán cirrosis hepática(89). La EHGNA ya es la causa más frecuente de trasplante hepático en Estados Unidos en pacientes de edad más avanzada y en mujeres, y es la causa que más rápidamente está aumentando a la par que descende la etiología viral. Además, la mortalidad por cirrosis hepática está aumentando y, en su mayor parte, está originada por la EHGNA en pacientes de mediana edad o edad avanzada(80). Por último, mencionar que la proporción de pacientes con carcinoma hepatocelular está aumentando exponencialmente. En un estudio publicado en 2023 la EHGNA fue el factor de riesgo más frecuente para carcinoma hepatocelular en cinco de los seis países latinoamericanos que participaban(90). Asimismo, tendencias temporales similares se han observado en países europeos(91).

2.3 Fisiopatología y factores de riesgo

La fisiopatología de la EHGNA es compleja y heterogénea, siendo los principales mecanismos implicados la resistencia a la insulina, la alteración en el metabolismo lipídico, el estrés oxidativo, la microbiota, la dieta y la respuesta inmune(92).

La resistencia a la insulina es uno de los ejes fundamentales de la fisiopatología de la EHGNA. La insulina en condiciones fisiológicas activa una cascada de señales intracelulares tras unirse a su receptor específico, favoreciendo la entrada de glucosa en las células e inhibiendo la glucogenólisis hepática, por lo que limita el ascenso de la glucemia tras la ingesta. Además, desempeña un papel esencial en el metabolismo lipídico promoviendo la esterificación y almacenamiento de los ácidos grasos, e inhibiendo la lipólisis en el tejido adiposo(93,94). Las citoquinas proinflamatorias producidas en el tejido adiposo o el hígado de pacientes obesos y el estrés del retículo endoplásmico interfieren en la señalización intracelular de la insulina, provocando resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina provoca una disregulación del tejido adiposo visceral ya que la lipasa de los adipocitos no se inhibe adecuadamente por la insulina, lo que resulta en una lipólisis incrementada de los triglicéridos de los adipocitos y un aumento de ácidos grasos libres circulantes que llegan hasta el hígado y pueden seguir estas vías: (1) los ácidos grasos pueden transportarse a la mitocondria y consumirse a través de la β -oxidación; (2) el glicerol y ácidos grasos de cadena impar procedentes de los triglicéridos pueden participar en la gluconeogénesis o (3) se pueden convertir en triglicéridos de nuevo y secretarse a la circulación en forma de partículas VLDL. En caso de que estas vías se saturen el exceso de triglicéridos se puede acumular en el citosol de los hepatocitos provocando EHGNA, fenómeno potenciado por la resistencia a la insulina que aumenta la lipogénesis hepática de novo, regulada por el "Farnesoid X receptor" (FXR)(86).

Este acúmulo de lípidos llega un momento en el que es tóxico (lipotoxicidad), lo cual a su vez interfiere en la señalización de la insulina, induce estrés oxidativo en el hígado e induce fenómenos inflamatorios y de fibrosis, jugando un papel importante en la progresión desde esteatosis simple hasta EHNA, fibrosis y carcinoma hepatocelular(93,94).

Se ha demostrado en diversos estudios la presencia de disbiosis en pacientes con EHGNA. En concreto se ha reportado un aumento de *Escherichia*, *Streptococcus* y *Prevotella*, así como una disminución de *Faecalibacterium*, *Ruminococcus* y *Coprococcus*. Asimismo, la disbiosis se ha asociado a la gravedad de la EHGNA (aumento de *Bacteroidetes* y descenso de *Firmicutes*) en pacientes con EHNA y a la fibrosis hepática (descenso de *Prevotella*, aumento de *Bacteroides* y *Ruminococcus* en pacientes con fibrosis avanzada), observando diferencias en función del IMC. La información disponible todavía es heterogénea y existen limitaciones como la escasa representación de la microbiota de todo el intestino en muestras fecales, por lo que se requiere profundizar en el estudio(95). La alteración en la permeabilidad intestinal podría favorecer la translocación bacteriana al sistema portal induciendo una respuesta proinflamatoria en el hígado. Los lipopolisacáridos de las bacterias se unirían al Toll-like receptor 4 (TLR4) expresado

en los macrófagos hepáticos, lo cual a su vez induciría la activación de células de Kupffer generando disfunción, necrosis y apoptosis de hepatocitos, así como activación de las células hepáticas estrelladas produciendo matriz extracelular y favoreciendo la fibrosis hepática(92).

También se han descrito factores genéticos como los polimorfismos en el gen *PNPLA3* ("Patatin like phospholipase domain-containing protein 3") que codifica la proteína adiponutrina, lipasa que hidroliza los triglicéridos de los adipocitos. En presencia de la variante I148M se produce acúmulo de lípidos en el hígado, lo que confiere susceptibilidad para desarrollar EHGNA(92).

Otro factor implicado es la dieta. La dieta mediterránea en ausencia de pérdida de peso significativa ha demostrado reducir la esteatosis hepática y aumentar la sensibilidad a la insulina(96). Además, altas ingestas calóricas así como el consumo de grasas saturadas, carbohidratos y fructosa también se han relacionado con el desarrollo y progresión de la EHGNA(92,97).

De estos mecanismos fisiopatológicos se deduce que los principales factores de riesgo para desarrollar EHGNA son la edad, el sexo masculino, la obesidad, la DM2 y otros componentes del síndrome metabólico. Mientras la DM2 y la obesidad se asocian fuertemente al desarrollo de EHNA (OR 18,6 IC95% (17,4-19,9) y OR 20,9 IC95% (17,9-23,2), respectivamente), otros componentes del síndrome metabólico como la HTA o la dislipemia lo hacen con menor fuerza(85). A su vez, padecer EHGNA aumenta el riesgo de padecer DM2, por lo que la relación es bidireccional(86). La EHGNA comparte factores de riesgo con el síndrome metabólico, sin embargo, se puede desarrollar EHGNA en ausencia de síndrome metabólico y viceversa. Además, comparte mecanismos fisiopatológicos con la enfermedad hepática por alcohol, aunque el desencadenante principal es diferente ya que en la EHGNA el eje fundamental de la fisiopatología es la resistencia a la insulina(77).

2.4 Diagnóstico

La utilidad de las diferentes técnicas diagnósticas disponibles en la actualidad puede variar para cada uno de los espectros de la enfermedad: esteatosis simple, EHNA o fibrosis hepática(98).

2.4.1 Esteatosis hepática

Aunque el "gold-standard" es la biopsia hepática, debido a su carácter invasivo se reserva para casos seleccionados(99). Existen cuatro grados histológicos de esteatosis: S0 hígado normal con

grasa en < 5% de los hepatocitos, S1 esteatosis en < 33% de los hepatocitos, S2 esteatosis entre el 33 y el 66% de los hepatocitos, y S3 esteatosis en > 66% de los hepatocitos(98).

Dada la alta prevalencia de la enfermedad en pacientes con factores de riesgo clásicos como la obesidad y la DM2, así como en enfermedades inmunomediadas (psoriasis, EII, hidradenitis supurativa), algunos autores han propuesto la detección proactiva de EHGNA desde Atención Primaria en estas poblaciones, aunque es una estrategia todavía bajo debate por sus implicaciones económicas y la escasez de tratamientos(100). En otros casos, al ser una enfermedad generalmente asintomática suele detectarse a partir de alteraciones del perfil hepático o de pruebas de imagen del hígado. Por tanto, dada su frecuencia, su escasa repercusión clínica en estadios precoces y la posibilidad de EHGNA en ausencia de alteración del perfil hepático, ha surgido la necesidad de desarrollar técnicas diagnósticas no invasivas y coste-efectivas para esta enfermedad(98).

La ecografía es la técnica de primera elección para el diagnóstico de esteatosis hepática ya que es una prueba sencilla, segura, barata y accesible(101). Aunque su S es del 93% cuando la esteatosis es superior al 33%, esta disminuye en caso de esteatosis leve. También puede estar limitada en caso de ventana ecográfica subóptima, como en los pacientes obesos. La gravedad de la esteatosis se clasifica de acuerdo a los siguientes grados: leve en caso de aumento de ecogenicidad hepática respecto a la corteza renal, moderada ante mayor aumento de ecogenicidad hepática junto a diferenciación parcial de las paredes de la vena porta, de las venas suprahepáticas y del diafragma, y grave cuando la visualización de las paredes de la porta/suprahepáticas así como del diafragma es muy pobre o ausente(68).

La TC es otra alternativa que no se utiliza de forma rutinaria por su mayor coste, la emisión de radiación ionizante y por no aumentar significativamente la S en caso de esteatosis leve(98). La determinación de la fracción de grasa por densidad protónica por RM (RM-PDFF, del inglés “proton density fat fraction”) es la prueba no invasiva más precisa diagnosticando y cuantificando la esteatosis (puede detectar niveles de grasa por encima del 5% con una S del 93% y E del 94%(102), y cambios $\geq 0,05\%$ tras una pérdida de peso), sin embargo, no se recomienda en primera línea por su elevado coste y menor disponibilidad(101).

El parámetro de atenuación controlada (CAPTM, del inglés “controlled attenuation parameter”), disponible en los dispositivos de elastografía de transición (ET) de nueva generación, ha demostrado capacidad para detectar esteatosis por encima del 10% y una buena correlación con la gravedad de la misma. Es sencilla, rápida, cómoda y reproducible. Un metaanálisis publicado en 2017 reportó que el punto de corte óptimo para el diagnóstico de esteatosis era 248

dB/m(103). De esta forma, se clasificaría la esteatosis en 4 grados de la siguiente forma: S0 CAPTM < 248 dB/m, S1 CAPTM 248-279 dB/m, S2 CAPTM 280-299 dB/m y S3 CAPTM ≥ 300 dB/m(68).

Los índices serológicos para estimar esteatosis hepática como el Fatty Liver Index (FLI), Hepatic Steatosis Index (HSI), Lipid Accumulation Product (LAP) o el SteatoTest no se utilizan ampliamente en práctica clínica ya que no han sido validados frente a las mismas técnicas, sus resultados pueden verse afectados por la inflamación o la fibrosis, y no aportan apenas información a las técnicas de imagen y pruebas de laboratorio rutinarias(101).

2.4.2 Esteatohepatitis

La biopsia hepática es el único método diagnóstico capaz de distinguir entre esteatosis y esteatohepatitis ya que los métodos no invasivos no han mostrado una precisión aceptable. El mejor predictor de la evolución de la EHGNA es la presencia de necroinflamación y fibrosis histológicas, aunque también pueden progresar pacientes con esteatosis simple(101). Sin embargo, dada la elevada prevalencia de EHGNA la biopsia no se puede ofrecer a todos los pacientes. Por ello, se han desarrollado varios biomarcadores con la intención de poder seleccionar a los pacientes candidatos a biopsia hepática: fragmentos de citoqueratina 18 como producto de la apoptosis de los hepatocitos; marcadores de inflamación como la IL-6, TNFα o la leptina; o marcadores de estrés oxidativo como el manolaldehído, las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico o las lipoproteínas oxidadas de baja densidad. Ninguno de ellos ha mostrado solidez suficiente para poder ser utilizado en la práctica clínica(98,101).

La histología tampoco es un método diagnóstico perfecto ya que existe variabilidad interobservador entre patólogos, diversidad de criterios para el diagnóstico de EHNA, así como un posible error de muestreo ya que la biopsia representa una parte muy pequeña del hígado(98).

2.4.3 Fibrosis hepática

La fibrosis hepática es el principal marcador pronóstico en pacientes con EHGNA. Para el despistaje de fibrosis hepática se recomiendan varios test serológicos no invasivos como el FIB-4, NAFLD fibrosis score (NFS), AST (aspartato aminotransferasa) to platelet ratio (APRI), HEPAMET score, FibroMeterTM, FibroTest[®] o Enhanced liver fibrosis (ELFTM)(101). Algunos de ellos como el FIB-4 o NFS han sido ampliamente estudiados y se pueden calcular fácilmente con parámetros

disponibles en práctica clínica diaria (FIB-4: edad, AST, alanina aminotransferasa (ALT), plaquetas/NFS: edad, IMC, glucosa alterada en ayunas/diabetes, índice AST/ALT, albúmina, plaquetas). Ambos usan 2 puntos de corte para descartar (punto de corte inferior: 1,3 para FIB-4 y -1,455 para NFS) o predecir (punto de corte superior: 2,67 para FIB-4 y 0,675 para NFS) el diagnóstico de fibrosis hepática avanzada y se caracterizan por un alto valor predictivo negativo (> 90%), por lo que permiten excluir con seguridad fibrosis hepática avanzada(98,101). Sin embargo, su valor predictivo positivo es modesto (<70%) por lo que ante valores alterados se necesitan otras pruebas confirmatorias, también necesarias en un tercio de los pacientes que presentan valores indeterminados entre los 2 puntos de corte(101,104).

La ET controlada por vibraciones es la técnica de imagen más utilizada para el diagnóstico de fibrosis hepática ya que es rápida, no invasiva y sencilla. Se requiere de una técnica depurada con al menos 10 mediciones y una ratio entre el rango intercuartílico y la mediana por debajo del 30%. En un estudio publicado por *Eddowes et al* en 2019, se establecieron los siguientes puntos de corte: F0-F1 < 8,2 kPa, F2 8,2-9,6 kPa, F3 9,7-13,5 kPa y F4 $\geq$ 13,6 kPa. Estos dinteles mostraron un área bajo la curva de 0,77 para F2, 0,80 para F3 y 0,89 para F4 frente a la biopsia hepática(105). Hay que tener en cuenta que la ET puede verse afectada por la ingesta de alimentos, la obstrucción biliar, el fallo cardíaco congestivo, la ascitis, la hepatitis activa o la obesidad. Se ha propuesto realizar la ET en pacientes con valores alterados en los índices serológicos no invasivos, considerando de bajo riesgo a los pacientes con < 8 kPa e indicando en este grupo de pacientes controles cada 2-3 años mediante índices serológicos no invasivos desde Atención Primaria. Los pacientes con riesgo intermedio o alto requerirían valoración por un especialista(104).

La RM es la técnica no invasiva más precisa para diagnosticar fibrosis avanzada, mostrando un área bajo la curva significativamente mayor que la ET para todos los estadios de fibrosis hepática (para estadio $\geq$ F3 0,93 vs. 0,84, $p=0,001$). Dado su elevado coste y baja disponibilidad no se recomienda como técnica rutinaria(101).

Por último, mencionar que también existen otras técnicas de elastografía como la elastografía en punto por onda de corte ("Point Shear Wave Elastography") o la elastografía bidimensional por ondas de corte(104).

2.5 Papel de la EHGNA en el desarrollo de enfermedad hepática crónica avanzada y en el riesgo cardiovascular

La EHGNA se ha asociado a la obesidad visceral, la dislipemia aterogénica o la resistencia a la insulina, entidades muy relacionadas con un incremento del riesgo cardiovascular. Sin embargo, la EHGNA es a su vez un factor de riesgo para el desarrollo de comorbilidades metabólicas y de eventos cardiovasculares fatales o no fatales, independientemente de las enfermedades asociadas. De hecho, la principal causa de mortalidad en pacientes con EHGNA es la enfermedad cardiovascular(86,106). En un estudio de base poblacional realizado en Minnesota entre los años 1997 y 2014, se comprobó que la mortalidad a 10 años fue mayor en los pacientes con EHGNA en comparación con los controles (10% vs. 7,6%, $p<0,0001$). La EHGNA reduce la esperanza de vida en 4 años en pacientes sin cirrosis, siendo más corta en varones que en mujeres. Además de reducir la esperanza de vida, la EHGNA se asocia a un mayor número de años bajo el efecto de las comorbilidades metabólicas(107).

Por otro lado, se ha demostrado que conforme progresan los estadios de fibrosis hepática se produce un incremento de la mortalidad por todas las causas (desde 0,32 muertes por cada 100 personas-año en estadios F0-F2 hasta 1,76 muertes por cada 100 personas-año en estadio F4) así como un aumento de la incidencia de complicaciones relacionadas con el hígado: ascitis, hemorragia variceal y encefalopatía hepática. Además, se ha reportado que la incidencia de complicaciones relacionadas con el hígado es mayor en pacientes con NASH y estadios de fibrosis F3-F4 que en pacientes con EHGNA y estadios F0-F2. El riesgo de carcinoma hepatocelular también se incrementa conforme aumenta el grado de fibrosis (0,04 eventos por cada 100 personas-año en pacientes F0-F2 y 0,14 eventos por cada 100 personas-año en pacientes F4), persistiendo incluso en ausencia de fibrosis hepática avanzada(108).

3. EHGNA en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal

3.1 Resumen de la evidencia disponible

Numerosos estudios han evaluado en las últimas décadas la prevalencia de EHGNA en pacientes con EII, reportando cifras muy variables entre el 6% y el 54%. Algunos estudios realizados entre los años 80 del siglo XX y la primera década de los años 2.000 detectaron una prevalencia de esteatosis en torno al 10%: *Whornell et al*(109) un 11% en pacientes con EC en 1984, *Broomé et*

al(110) un 4% en pacientes con CU en 1990, y *Riegler et al*(111) un 14% en pacientes con CU y un 8,9% en pacientes con EC en 1998. Sin embargo, con el paso de los años se ha observado un incremento de la prevalencia de EHGNA en pacientes con EII(112).

Algunos de los estudios han evaluado también los factores de riesgo para desarrollar EHGNA en pacientes con EII, si bien, existe poca concordancia entre sus resultados. En algunos se ha reportado asociación entre el desarrollo de EHGNA y algunos factores relacionados con la EII como el subtipo de EII(113,114), un curso complicado de la EII(115), la actividad de la enfermedad(116), la duración de la EII(117), la edad al diagnóstico(118), el tratamiento farmacológico(119) o la historia de cirugías previas(117).

La necesidad de nuevos estudios radica en que no todos los que han detectado factores relacionados con la EII han señalado los mismos y en que otros estudios no han encontrado asociación entre la EHGNA y los factores relacionados con la EII(120,121). Esto puede estar justificado por la heterogeneidad en el diseño y en las técnicas diagnósticas utilizadas. Además, la mayor parte de los estudios no son controlados y muchos de ellos tienen un escaso tamaño muestral(118).

Respecto a la fibrosis hepática, no es evaluada en la mayor parte de los estudios, especialmente en los más antiguos(122–124). La aparición de técnicas no invasivas para estimar el grado de fibrosis hepática ha facilitado que se haya implementado esta determinación en algunos estudios más recientes, no exenta de heterogeneidad en los métodos diagnósticos empleados, los puntos de corte utilizados y la forma de reportar la información(125,126).

También se han observado resultados muy diversos entre aquellos estudios que evalúan los factores asociados al desarrollo de fibrosis hepática en pacientes con EHGNA y EII: desde no encontrar asociación con ningún factor de riesgo(121,127) o solo con factores de riesgo metabólico clásicos, hasta encontrar asociación con factores relacionados con la EII como el subtipo EC(114,126), la duración de la EII(118,128), la actividad de la EII(116), los tratamientos para la EII(129) o un curso complicado de la EII(129).

A continuación, se pueden observar en la *Tabla 1* los principales estudios publicados en los últimos 10 años que han evaluado la prevalencia y los factores de riesgo de EHGNA y/o fibrosis hepática en pacientes con EII.

Tabla 1. Principales estudios publicados en los últimos 10 años que evalúan la prevalencia y los factores de riesgo de EHGNA y/o fibrosis hepática en pacientes con EII.

Autor, año	N	Diseño	Diagnóstico EHGNA/fibrosis	Prevalencia/Factores de riesgo EHGNA	Prevalencia/Factores de riesgo fibrosis
Abenavoli 2023 (130)	●52 EC ●91 CU	Transversal	●NAFLD: US	●NAFLD 23% ●Mayor duración EII, mayor edad al diagnóstico EII, patrón estenosante, colitis izquierda	No estudiado
McHenry 2023 (112)	●363 EC	Transversal	●NAFLD: RM fracción de grasa por densidad protónica $\geq 5,5\%$ ●Fibrosis: ET según práctica clínica	●NAFLD 40% Mayor prevalencia en EC quiescente que activa, medido por RM (NAFLD) y endoscopia (actividad). No relación con gravedad sintomática	Sin diferencias
Zhang 2023 (125)	Al inicio: ●NAFLD: 160.807 ●No NAFLD: 257.914	Cohortes prospectivo. Biobanco Reino Unido. Mediana seguimiento 12,4 años	●NAFLD: FLI ≥ 60 ●No NAFLD: HSI ≤ 36	●Al inicio: NAFLD 38,4% ●Riesgo de EII incidente: NAFLD: 54,7 casos por 100.000 personas-año vs. No NAFLD 41,0 casos por 100.000 personas-año Mayor grado de NAFLD se asocia a mayor riesgo de EII, EC y CU incidente	No estudiado
Chen 2023 (114)	Al inicio: ●MAFLD: 150.385 ●No MAFLD: 255.028	Cohortes prospectivo. Biobanco Reino Unido. Mediana seguimiento 12,1 años.	●MAFLD: FLI ≥ 60 ●Fibrosis avanzada: BAAT ≥ 2	Objetivo: detectar casos de EII incidente (casos/personas-año) ●MAFLD: 955/1.807.156 (EC 308, CU 647) ●No MAFLD: 1.273/3.109.082 (EC 377, CU 896) ●Pacientes con MAFLD aumento riesgo EC incidente, especialmente cólica o ileocólica ●EC con enfermedad perianal	Incidencia EII durante el seguimiento (casos/personas-año): ●MAFLD sin alto riesgo de fibrosis avanzada: 105/224.621 ●MAFLD con alto riesgo de fibrosis avanzada: 850/1.582.534 ●MAFLD con alto riesgo de fibrosis avanzada mayor riesgo de EC pero no de CU

Onwuzo 2023(131)	●NASH: 34.200 ●No NASH: 46.633.520	Revisión información clínica, cohorte multicéntrica	No acceso a datos imagen o analíticos individuales de pacientes. Diagnóstico basado en SNOMED-CT	●Mayor riesgo de NASH en pacientes con EC y CU	No estudiado
Kablawi 2023(132)	●278 EC ●127 CU	Transversal	●NAFLD: CAP $\geq$ 275 dB/m ●NASH con fibrosis: FAST score ●Fibrosis significativa: ET $\geq$ 8 kPa	●NAFLD 31,9% ●NASH con fibrosis hepática: 2,7% de los participantes con EII ●NAFLD, duración prolongada de la EII y CU se asociaron con riesgo cardiovascular intermedio-alto	●Fibrosis significativa: 8,6% ●Fibrosis significativa se asocia a riesgo cardiovascular intermedio-alto
Abomhya 2022(133)	215.049 EC	Cohortes retrospectivo o Seguimiento reingreso no electivo en los siguientes 30 días	Revisión de historial de base datos nacional de pacientes dados de alta con EC	Basal: ●NAFLD: 2,4% ●NASH: 0,42% ●NAFLD aumenta costes y duración de hospitalización ●NASH aumenta mortalidad y reingreso	Basal: ●Cirrosis 10,2%
Aggarwal 2022(134)	●NAFLD + EII: 50 (34 EC, 16 CU) ●NAFLD sin EII: 959	Transversal. Revisión historias de 1.009 pacientes con NAFLD histológica	Histología ●NAFLD: NASH-CRN ●NASH: NAFLD activity score 3 + cualquier estadio fibrosis ●Fibrosis: Kleiner staging system (avanzada: III-IV)	●NASH: NAFLD + EII 62% vs. NAFLD sin EII 56%, p=0,4	●Cualquier grado fibrosis: NAFLD + EII: 70% vs. NAFLD sin EII 63%, p=0,003 ●Fibrosis avanzada: NAFLD + EII 30% vs. NAFLD sin EII 17%, p=0,02
Rodríguez-Duque 2022(126)	●389 EC ●420 CU ●22 CI ●1.718 controles	Transversal, caso-control	●Esteatosis: CAP $>$248 dB/m ●Fibrosis avanzada: ET $\geq$ 9,7 kPa ●Histología en un subgrupo	●MAFLD: 42% EII vs. 32,8% controles (p<0,001). ●EII factor de riesgo independiente	●9,5% EII vs. 2,3% controles (p<0,001). ●EII, EC, IMC y complicaciones de la EII factores de riesgo independientes fibrosis avanzada

Trifan 2022(118)	●37 EC ●45 CU	Transversal	●NAFLD: CAP $\geq$ 248 dB/m ●Fibrosis significativa: $\geq$ 7,2 kPa	●NAFLD: 46,3% ●Mayor duración EII, edad al diagnóstico, resección intestinal, PCR	●25,7% ●EII + NAFLD: 36,9% ●EII sin NAFLD: 15,9% ●Duración EII
Veltkamp 2022(128)	●79 EC ●53 CU	Transversal	●NAFLD: US y CAP $\geq$ 248 dB/m ●Fibrosis: ET $\geq$ 7 kPa	●NAFLD: 30,3% ●Mayor duración EII	●8% ●EC y mayor duración EII
Carrillo-Palau 2021(135)	●105 EC ●46 CU	Transversal	●NAFLD: US ●Fibrosis: ET > 7,7 (>F2)	●NAFLD en EII: - Leve: 26% - Moderada 13% - Grave 2,6%	●EII: $5,0 \pm 2,0$ kPa
Ritaccio 2021(113)	●131 EC ●39 CU ●4 CI	Cohortes retrospectivo o 5 años seguimiento (n=56)	Revisión historial médico ●NAFLD: pruebas imagen y/o histología ●Fibrosis: NFS (-1,455-0,675 intermedio, >0,675 avanzada o cirrosis)	●Basal: 12,4% ●Mayor en EC que en CU ●No asociación con tto de EII	●Basal (n= 138) - Intermedio: 31%, - Avanzado o cirrosis: 4% ●5 años (n= 56) - Intermedio: 34%, - Avanzado o cirrosis: 9%. 16% empeoró NFS, 7% mejoró NFS, 77% NFS estable
Van Lingen 2021(116)	●40 EC ●42 CU-CI	Cohortes prospectivo 6-12 meses seguimiento	●Esteatosis: CAP $\geq$248 dB/m ●Fibrosis F2-F3 ET 7,3-10,5 kPa, >F3 si ET $\geq$ 10,5 kPa	●Esteatosis basal 40% ●Actividad EII incrementó esteatosis durante el seguimiento	●Fibrosis basal F2-F3 20% ●Actividad EII incrementó fibrosis hepática durante el seguimiento
Yen 2021(136)	●36 EC ●45 CU	Cohortes retrospectivo o Resultados en función del IMC	●NAFLD: CAP $\geq$248 dB/m ●Fibrosis significativa: ET > 8 kPa	●NAFLD basal 29,6% ●IMC aumentado y edad avanzada al diagnóstico EII ●Ningún paciente con bajo peso diagnosticado de NAFLD	●Fibrosis significativa basal 4,9% ●Cirrosis hepática basal 1,2%

Al-Mohanadi 2020(137)	●383 EC ●530 CU	Cohortes retrospectivo Objetivo: NAFLD durante seguimiento	●NAFLD: US ●Fibrosis: NFS	●Durante seguimiento: NAFLD 11,8% ●Anti-TNF no aumentan riesgo NAFLD	●Durante seguimiento: Fibrosis 2,2%
Hoffmann 2020(138)	●440 EC ●254 CU	Transversal y parte longitudinal retrospectiva	US	●EC 48% Actividad EII e IMC aumentado factores riesgo independientes para NAFLD en EC. Actividad EII, resección intestinal y azatioprina factores riesgo progresión NAFLD en EC. ●CU 44% IMC factor riesgo independiente NAFLD en CU. Actividad endoscópica asociada a progresión de NAFLD en CU	No estudiado
Likhitsup 2019(139)	●65 EC ●15 CU	Transversal Pacientes tto anti-TNF	●US ●Test Fibrosure	●NAFLD 54% ●Índice CDAI superior en pacientes con NAFLD	●61% NASH ●22% fibrosis ●Ninguno cirrosis
Likhitsup 2019(140)	●57 EC ●13 CU ●70 controles	Revisión retrospectiva de datos clínicos y TC	●TC: menor densidad hígado comparado con bazo >10 UH	●EII 44% vs. Controles 16% (p<0,001) ●EII factor riesgo independiente para NAFLD	No estudiado
Magri 2019(127)	●95 CU ●83 EC	Transversal	●US ●ET: F2 o mayor ≥ 7 kPa	●EII 40,4% ●No asociación con factores relacionados con EII	●16% $\geq$F2 ●No factores relacionados con EII
McHenry 2019(141)	●311 EC ●622 control interno ●622 control base poblacional	Transversal, caso-control Resultados en función del IMC	●RM ●FIB-4 >1,3	●EC 38% ●Control interno: 30% (p=0,010) ●Control base poblacional: 28% (p=0,002) ●Pacientes IMC< 25 Kg/m²: EC 20%, control interno 10%, control base poblacional 10% ●EC predictor independiente de NAFLD	●EC 11% ●Control base poblacional: 5% (p<0,001)

Silva 2019(142)	●141 EC ●165 CU	Transversal	Cuestionarios al paciente y revisión de historia clínica	Esteatosis/esteatohepatitis: ●CU 6,7% ●EC 7,8%	Fibrosis hepática: ●CU 0,6%
Spagnuolo 2019(143)	●29 EC ●60 CU	Cohortes retrospectivo Media seguimiento 4 años. Objetivo: cambios gravedad esteatosis y fibrosis según evolución peso	●Revisión historial médico. ET basal y seguimiento: ●NAFLD: CAP > 216 dB/m ●Fibrosis > 7 kPa	●Basal: Esteatosis 66% (grave 15%) ●Diferencia medias CAP tras seguimiento: bajaron peso -53±21, peso estable -2,1±18, aumentaron peso 51±36 ●Aumento peso predictor de empeoramiento de esteatosis	●Basal: 4,7 ± 1 kPa ●Diferencia medias rigidez hepática tras seguimiento: bajaron peso -0,15±1, peso estable 0,21±1, aumentaron peso 0,76±2
Adams 2018(144)	●Casos: 65 bajo peso IMC <18,5 kg/m² ●Control es: 65 normopeso IMC 20-24,9 Kg/m²	Transversal, caso-control En torno a un 80% casos y controles con EII: 47 EC, 6 CU y 12 no EII en cada grupo	●RM: grasa intrahepática ≥ 5% ●NFS (<-1,455 ausencia, >0,676 presencia fibrosis significativa), FIB-4 (<1,45 descarta, >3,25 fibrosis avanzada)	●87,6% pacientes con bajo peso vs. 21,5% pacientes con normopeso (p<0,001) ●Pacientes con IMC extremadamente bajo (<17,5 Kg/m²) incremento significativo de grasa hepática en comparación con los pacientes con bajo peso ●No asociación con factores riesgo relacionados con la EII	●NFS y FIB-4 ligeramente superiores en casos pero sin diferencias estadísticamente significativas
Principi 2018(120)	●258 EC ●207 CU ●189 control	Caso-control	US	●28% EII vs. 20% controles (p=0,04) ●No factores de riesgo relacionados con EII	No estudiado

Saroli Palumbo 2018(121)	●248 EC ●136 CU	Transversal	●Esteatosis: ≥ 248 dB/m ●Fibrosis significativa: ET ≥ 7 kPa con sonda M y $\geq 6,2$ kPa con sonda XL. Fibrosis avanzada: 8,7 y 7,2 kPa respectivamente	●NAFLD 32,8% ●No se identifican factores de riesgo relacionados con la EII	●Fibrosis hepática significativa 12,2% ●Fibrosis hepática avanzada 8,1% ●No se identifican factores de riesgo relacionados con la EII
Sartini 2018(115)	●78 NAFLD + EII ●145 NAFLD sin EII	Retrospectivo, caso-control	●US ●ET, APRI	●Se incluyen solo pacientes con diagnóstico previo de NAFLD ●Esteatosis ecográfica grave se asocia a: > 1 brote EII por año, cirugía EII y afectación extensa	●ET: NAFLD + EII $5,2\pm1,7$ kPa vs. NAFLD sin EII $6,4\pm3,5$ kPa ●APRI: NAFLD + EII $0,5\pm0,3$ vs. NAFLD sin EII $0,6\pm0,5$
Simon 2018(145)	462 EC	Transversal	●TC ●FIB-4$>1,45$	●NAFLD 52%. Riesgo incrementado en pacientes con más grasa visceral ●Variantes del gen IRGM modulan la relación entre tejido adiposo visceral y NAFLD	●Variantes del gen IRGM también incrementan el riesgo de FIB-4 conforme aumenta la grasa visceral
Bosch 2017(146)	●49 EII ●44 EII + CEP ●30 EII + CEP tras TOH	Análisis retrospectivo de autopsias, biopsias y piezas quirúrgicas	Histología	●Esteatosis al menos grado 1: EII 59% vs. EII + CEP 11% vs. EII + CEP tras TOH 3% ($p<0,001$) ●Esteatohepatitis: EII 12% vs. EII + CEP 0% vs. EII + CEP tras TOH 0% ($p=0,01$) ●CEP se asocia a menor riesgo de NAFLD	●No correlación entre estadio de fibrosis y gravedad de esteatosis
Carr 2017(147)	●60 EC + NAFLD ●24 CU + NAFLD	Cohortes retrospectivo	NFS	●Similar gravedad y tratamientos EII en pacientes con NAFLD con o sin síndrome metabólico	●La extensión y gravedad EII no predicen la gravedad de NAFLD al diagnóstico

Glassner 2017(123)	●56 EII +NAFLD ●56 EII ●56 NAFLD	Retrospectiv o	US, TC o RM	●Prevalencia NAFLD 13,3% en pacientes con EII ●Mayor duración EII en pacientes con EII + NAFLD en comparación con EII solo ●No diferencias según medicación para la EII ●NAFLD más obesos que EII + NAFLD (59% vs. 40%, p=0,03)	No estudiado
Li 2017(148)	●137 EC ●69 CU ●(274 + 138) 412 controles	Caso-control Resultados en función del IMC	Revisión pruebas imagen historia clínica	●NAFLD 10,95% EC vs. 4,01% controles (p=0,006). También diferencias si IMC < 23 Kg/m² pero no en sobrepeso/obesidad ● NAFLD 10,14% CU vs. 9,42% controles (p=0,868)	No estudiado
Sagami 2017(122)	303 EC	Cohortes retrospectiv o Resultados en función del IMC	US	●Prevalencia basal NAFLD 21,8% ●NAFLD predictor de remisión EC y de mayor supervivencia libre de cirugía ●Resultados similares con IMC< 20 Kg/m²	No estudiado
Bessisow 2016(117)	●217 EC ●104 CU	Cohortes retrospectiv o Mediana seguimiento 3,2 años	●NAFLD: HSI ≥ 36 ●Fibrosis avanzada: FIB-4 ≥ 2,67	●Incidencia 9,1/100 personas-año ●EII activa, duración EII y cirugía previa EII predictores de NAFLD	●Incidencia fibrosis hepática avanzada 2,2% ●No multivariante por escaso tamaño muestral
Ribaldone 2015(129)	35 EC con resección intestinal y biopsia hepática	Cohorte prospectiva, simple ciego (patólogo)	●Basal: histología ●Seguimiento: analítica, US y ET	●Esteatosis 23% biopsia basal ●No cambios significativos con ET tras media de 14 años de seguimiento	●Fibrosis 14% biopsia basal ●Curso intermitente comparado con curso remitente ●Toma azatioprina
Schröder 2015(124)	●170 EC ●77 CU ●12 CI	Retrospectiv o Tto con AZA, MP o MTX	US	●Esteatosis 28,2% ●Corticoides menos frecuencia alteración perfil hepático en pacientes con esteatosis	No estudiado

Thin 2014 (149)	●71 EC ●39 CU ● 55 controles	Prospectivo, observacion al	ET: ≥ 8 kPa En pacientes con alteración se repitió ET y analítica tras 6 meses	No estudiada	●ET ≥ 8 kPa: 6,4% EII ●No diferencias significativas en valores ET entre EII y controles
Sourianara yanane 2013 (119)	●76 EII + NAFLD ●141 EII sin NAFLD	Caso-control anidado	US, TC, RM	●Prevalencia NAFLD 8,2% en pacientes con EII ●Factores riesgo para NAFLD: cirugía de intestino delgado previa y uso de corticoides	●Cirrosis 15% EII + NAFLD

APRI: aspartate aminotransferase to platelet ratio index. AZA: azatioprina. BAAT score: BMI, edad (age), ALT, triglicéridos. CAP: parámetro de atenuación controlada (del inglés “controlled attenuation parameter”). CDAI: Crohn’s disease activity index. CEP: colangitis esclerosante primaria. CI: colitis indeterminada. CU: colitis ulcerosa. EC: enfermedad de Crohn. EII: enfermedad inflamatoria intestinal. EHGNA: enfermedad hepática grasa no alcohólica. ET: elastografía de transición. FAST score: fibroscan-aspartato aminotransferasa score. FLI: fatty liver index. FIB-4: fibrosis score 4. HSI: hepatic steatosis index. MAFLD: metabolic associated fatty liver disease. MP: mercaptopurina. MTX: metotrexato. NAFLD: non-alcoholic fatty liver disease. NASH-CRN: non alcoholic steatohepatitis clinical research network. NFS: NAFLD fibrosis score. PCR: proteína C reactiva. RM: resonancia magnética. SNOMED-CT: terminología clínica integral y codificada de alcance global para registrar y comunicar información de salud (del inglés systematized nomenclature of medicine-clinical terms). TOH: trasplante ortotópico de hígado. Tto: Tratamiento. UH: unidades Hounsfield. US: ultrasonidos.

3.2 Nexos de unión entre la fisiopatología de la enfermedad inflamatoria intestinal y la EHGNA

A continuación, se van a discutir los principales mecanismos a través de los cuales converge la fisiopatología de la EII y la EHGNA.

El estilo de vida y el estado nutricional son unos de los factores que contribuyen al desarrollo de EHGNA. Por un lado, se han reportado bajos niveles de actividad física entre los pacientes con EII(150) así como la asociación entre un estilo de vida no activo y el desarrollo de EHGNA en pacientes con EII(151). Por otro lado, *Liu et al* reportaron una prevalencia de malnutrición del 50% (57% en EC y 39% en CU) en un estudio transversal multicéntrico que incluía 1.013 pacientes procedentes de 43 centros de China. La malnutrición puede estar favorecida por la actividad de

la EII, la extensión de la EII, la historia de resección intestinal pero también por los hábitos dietéticos(152).

La adherencia a la dieta mediterránea es subóptima en pacientes con EII pese a haber demostrado una mejoría del curso de la enfermedad y de la calidad de vida tanto en pacientes con EC(153,154) como con CU(155). La adherencia a la dieta mediterránea está influenciada por la actividad, siendo mayor en pacientes con EC inactiva que en aquellos con actividad, y menor en aquellos pacientes con EC y antecedentes de cirugías previas(156). A su vez, una baja adherencia a la dieta mediterránea se ha asociado a la EHGNA. Por ello, es de gran importancia la educación dietética en los pacientes con EII(92,96,97).

En este contexto de bajos niveles de actividad física y adherencia a la dieta mediterránea subóptima, *Fatani et al* reportaron en una revisión sistemática de 35 estudios publicada en 2023 una prevalencia de miopenia del 42% en adultos con EII, de pre-sarcopenia del 34% y de sarcopenia del 17%. La sarcopenia se ha asociado a un mayor riesgo de EHGNA (OR 1,33 IC95% (1,20-1,48)), EHNA (OR 2,42 IC95% (1,27-3,57)) y fibrosis hepática significativa (OR 1,56 IC95% (1,34-1,78))(157). Además, la sarcopenia se ha asociado a un peor pronóstico de la EC ya que aumenta el riesgo de cirugía (OR 6,65 IC95% (2,33-18,96)), de reingreso hospitalario (OR 6,34 IC95% (2,87-14,00)) y de muerte ($p=0,003$) comparado con controles(158). La sarcopenia también se ha asociado a fracaso con anti-TNF(159) y la grasa visceral con complicaciones perioperatorias en pacientes con EC(160).

A su vez, los pacientes con EII tienen un riesgo incrementado de desarrollar factores de riesgo cardiovascular clásicos como la diabetes (OR 1,68 IC95% (1,22-2,32)), la HTA (OR 1,71 IC95% (1,39-2,09)) o la hipercolesterolemia (OR 1,62 IC95% (1,32-2,99))(161). La resistencia a la insulina destaca como eje fundamental para el aumento de la lipólisis en tejido adiposo y aumento de la lipogénesis hepática(93). El creciente aumento de la edad de los pacientes con EII(23), el sexo masculino, o la alta prevalencia de obesidad (15-35% de los pacientes con EII(162)) son otros de los factores de riesgo cardiovascular clásicos que contribuyen a la patogenia de la EHGNA.

El denominado eje intestino-hígado desempeña un papel fundamental en la interconexión entre la fisiopatología de la EHGNA y la EII a través de la circulación portal, la circulación sistémica y la vía biliar. El disbalance de la microbiota normal (disbiosis), los metabolitos bacterianos, la alteración en el metabolismo de los ácidos biliares y los fenómenos inflamatorios que se producen en el intestino forman parte de este eje(163).

La dieta tiene una influencia importante en la microbiota intestinal. La dieta rica en vegetales se ha asociado con niveles elevados de ácidos grasos de cadena corta en heces, *Prevotella* y algunos

Firmicutes degradadores de fibra. Una baja adherencia a la dieta mediterránea se ha asociado a mayores niveles de óxido de trimetilamina urinario, un factor de riesgo potencial para la enfermedad cardiovascular(164). Además, la dieta mediterránea podría tener efectos antiinflamatorios por la alta ingesta de polifenoles que pueden reducir el estrés oxidativo y modular vías de señalización suprimiendo citoquinas proinflamatorias(165). Se ha demostrado en modelos animales que la disbiosis puede aumentar la lipogénesis. A su vez, se han observado diferencias en la microbiota entre los pacientes con EHNA (más *Clostridium coccoides* y menos *Bacterioidetes*) en comparación con los pacientes con esteatosis simple, así como entre pacientes con fibrosis(163).

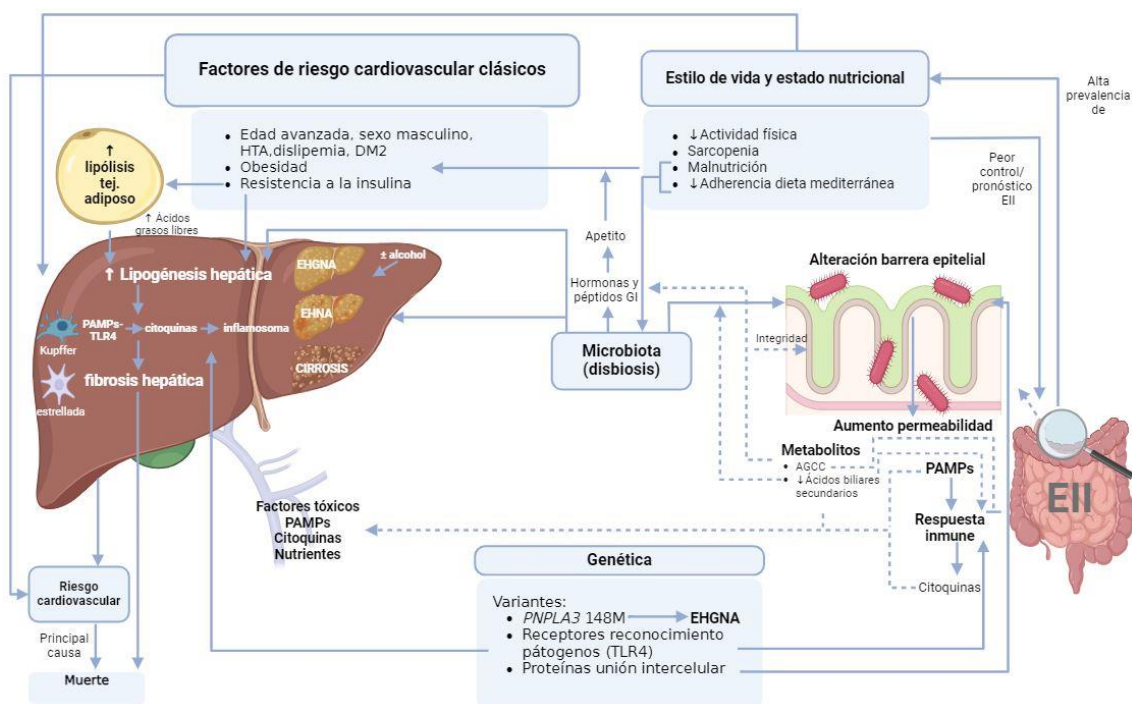
La alteración en la barrera intestinal presente en los pacientes con EII incrementa la permeabilidad de la misma exponiendo los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs, del inglés “pathogen-associated molecular patterns”) a las células del sistema inmune localizadas en la lámina propia y provocando una respuesta proinflamatoria mediada por las células T (vías Th1, Th2, Th9, Th17 y Treg). En pacientes con EHGNA la disbiosis también provoca incremento de la permeabilidad intestinal, y esta puede deberse a la dieta o a la alteración en el metabolismo. Esta permeabilidad permite el paso de PAMPs como el lipopolisacárido de las bacterias gram negativas a la circulación portal llegando hasta el hígado. Allí se une a los TLR4, que se expresan altamente en las células de Kupffer, induciendo una cascada proinflamatoria mediada por factores nucleares de transcripción como el NF-Kb y varias citoquinas como la IL-1B, IL-12, CCL2, CCL5 o el TNF, activando el inflamosoma que media tanto en el desarrollo de la EII como en la progresión de EHGNA a EHNA(166). A consecuencia de este fenómeno necroinflamatorio se produce muerte de los hepatocitos y se activan las células estrelladas promoviendo la fibrosis hepática(167).

Los metabolitos producidos por las bacterias también juegan un papel importante en la fisiopatología de NAFLD y EII. Destacan los ácidos grasos de cadena corta, los ácidos biliares y los aminoácidos de cadena ramificada. Los ácidos grasos de cadena corta ayudan al mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal, tienen efectos anti-inflamatorios y favorecen la secreción de “glucagon-like peptide-1” (GLP-1). Los ácidos biliares se producen en el hígado gracias a la oxidación del colesterol, se liberan a la bilis, y se convierten en ácidos biliares secundarios gracias a la microbiota, volviendo parte de ellos de nuevo desde el íleon al hígado a través de la circulación enterohepática. Las funciones de los ácidos biliares son la absorción de ácidos grasos y promover el metabolismo de la glucosa activando el FXR. La disbiosis puede alterar la composición de los ácidos biliares disminuyendo los ácidos biliares secundarios lo cual favorece a su vez la alteración de la barrera intestinal en pacientes con EII y el desequilibrio entre las vías

Th17 y Treg. La disbiosis también altera la señalización intestinal en pacientes con EII a través de péptidos y hormonas gastrointestinales, que controlan el metabolismo de ácidos biliares y el apetito(163,166).

Por último, mencionar la contribución de factores genéticos bien conocidos como ser portador de la variante *PNPLA3* 148m, la cual implica un mayor riesgo de EHGNA en pacientes con EII(168). Además de los polimorfismos genéticos que afectan a las proteínas de unión intercelular, los cuales alteran la barrera intestinal en los pacientes con EII, también se han implicado los polimorfismos en los receptores de reconocimiento de patógenos como el TLR4 tanto en la patogenia de la EII como de la EHGNA(169,170). En la *Figura 4* se resumen los principales nexos de unión entre la fisiopatología de la EHGNA y la EII.

Figura 4. Nexos de unión entre la fisiopatología de la EII y de la EHGNA.



AGCC: ácidos grasos de cadena corta. DM2: diabetes mellitus tipo 2. EHGNA: enfermedad hepática grasa no alcohólica. EHNA: esteatohepatitis no alcohólica. EII: enfermedad inflamatoria intestinal. GI: gastrointestinales. HTA: hipertensión arterial. PAMPs: patrones moleculares asociados a patógenos. *PNPLA 3*: Patatin like phospholipase domain-containing protein 3. Tej: Tejido. TLR: Toll like receptors. Esta figura ha sido creada con BioRender.com.

4. Inmunidad y enfermedad inflamatoria intestinal

En la fisiopatología de la EII desempeña un papel clave la “pérdida de tolerancia”, definida como la activación descontrolada del sistema inmune frente a patógenos comensales entéricos, responsable del daño tisular. En este proceso intervienen la disfunción de la barrera epitelial, la disbiosis, los defectos en la inmunidad innata y la activación de la inmunidad adaptativa(171).

4.1 Inmunidad innata

Numerosos elementos de la inmunidad innata participan en la patogenia de la EII. La inmunidad innata está formada por mecanismos defensivos intrínsecos no específicos, que no generan inmunidad a largo plazo. En ella, además de las barreras defensivas anatómicas celulares y no celulares, participan los neutrófilos, macrófagos, células dendríticas y células linfoides innatas(172,173).

La barrera epitelial, compuesta por tres capas (capa de moco superficial, capa de células epiteliales y células del sistema inmune de la submucosa), no solo es una barrera física sino también química ya que las células epiteliales son capaces de producir moco (células caliciformes), citoquinas (TNF alfa, IL-6) o péptidos antimicrobianos como las defensinas (principalmente por las células de Paneth). Los factores genéticos, la disbiosis y otros factores ambientales generan el daño de la barrera intestinal facilitando la translocación de los microorganismos a la pared intestinal. Esta barrera juega un papel clave en el inicio de la respuesta inmune innata y en la coordinación de la respuesta adaptativa, generando un estrés inflamatorio e inmunológico exagerado(174). De hecho, se han reportado alteraciones en genes que codifican proteínas de unión como la E-cadherina o defectos en la expresión de péptidos antimicrobianos en los pacientes con EII(171).

La autofagia es un mecanismo catabólico celular que ayuda a mantener la homeostasis celular mediante la degradación de orgánulos dañados y agregados proteicos vía lisosomal. Este mecanismo, clave en la patogenia de la EII, también ayuda a la degradación de patógenos, a la presentación de antígenos estimulando tanto a la inmunidad innata como a la adaptativa, así como a controlar la apoptosis inducida por la inflamación para limitar la inflamación intestinal crónica. Algunas variantes del gen ATG16L1 implicado en la autofagia también se ha relacionado con la EC(175).

Las células presentadoras de antígenos, como las células dendríticas y los macrófagos, a través de los receptores PRRs (Pattern-recognition receptors), que incluyen los TLRs y los NOD-like

receptors (NLRs), reconocen los PAMPs. En la EII, se observa una sobreexpresión de estos receptores en células dendríticas y macrófagos induciendo la liberación de citoquinas proinflamatorias como IL-1 beta, IL-6, IL-18 o TNF. Mutaciones de estos genes como el CARD15 provocan un defecto en la eliminación de bacterias y aumentan el riesgo de EC(171,173).

Por otro lado, los neutrófilos a su vez liberan sustancias citotóxicas e inflamatorias que provocan daño tisular y disfunción de la barrera epitelial, perpetuando el proceso inflamatorio. También se ha observado un aumento en el número y la activación de las células linfoides innatas tipo 1 (linfocitos natural killer (NK) y células T invariantes asociadas a mucosas) y tipo 3 en pacientes con EC, coordinando la respuesta inmune innata y humoral mediante la secreción de interferón gamma (IFN gamma), TNF, IL-17 e IL-22(171,172). De las citoquinas mencionadas, el TNF tiene un papel clave por su papel en la amplificación y mantenimiento de la respuesta inflamatoria promoviendo la transcripción de otras citoquinas proinflamatorias, activando la actividad fagocítica de los macrófagos y aumentando las moléculas de adhesión endoteliales. El TNF es la diana de fármacos biológicos utilizados en la EII como el infliximab o el adalimumab(171).

4.2 Inmunidad adaptativa

Los linfocitos T ejercen un rol fundamental en la respuesta inmune adaptativa de la EII. Los linfocitos T *naïve* CD4 se activan ante señales específicas provenientes de las células presentadoras de antígenos, y se pueden diferenciar en varias líneas de linfocitos T-helper efectores: Th1, Th2, Th9, Th17 o T reguladores. El acúmulo de linfocitos en la mucosa intestinal en los pacientes con EII está mediado por la interacción entre la integrina $\alpha 4\beta 7$ (diana del vedolizumab) de los linfocitos de los ganglios mesentéricos y la MAdCAM-1 (mucosal addressin cell-adhesion molecule 1) expresada en las células endoteliales de la pared intestinal(171).

Tradicionalmente, se había asociado la EC con un patrón de activación Th1 y un incremento de producción de IL-2, IL-12, TNF e IFN gamma; y la CU con un patrón de activación Th2 y aumento de producción de IL-4, IL-5 e IL-13. Si bien, posiblemente en la realidad estos patrones de activación no se encuentran tan compartimentalizados en cada enfermedad(172,176).

Las subpoblaciones Th17 se diferencian tras la acción de TGF beta (factor de crecimiento transformante beta, del inglés “transforming growth factor beta”) e IL-6 y requieren para su mantenimiento la IL-23, diana del ustekinumab. Estas sintetizan IL-17 (A y F), IL-21, IL-22 e IL-26. Además, expresan el factor de transcripción ROR γ t. Su función es la defensa frente a patógenos extracelulares de las mucosas (la mayoría son específicas para ciertos antígenos

microbianos) y su papel en la EII sería la activación y reclutamiento de células de la inmunidad innata y adaptativa. De hecho, se ha descrito un incremento de citoquinas de la vía Th17 en el suero y la mucosa intestinal de pacientes con EII activa, la presencia de varias alteraciones genéticas relacionadas con la vía Th17 en GWAS en pacientes con EII (STAT3 (transductor de señales y activador de la transcripción, del inglés “signal transducer and activator of transcription”), IL23R), y el desarrollo de fármacos eficaces en pacientes con EII que actúan sobre esta vía como el ustekinumab (se une a la subunidad p40 de las IL-12 e IL-23)(176).

Las subpoblaciones Th9 se activan gracias a la acción de TGF beta e IL-4, y producen IL-9. Esta vía interfiere en la expresión de proteínas de unión como ocludinas y claudinas alterando la integridad de la barrera intestinal. IL-9 también promueve la migración y activación inmune (por ejemplo de la respuesta Th2 o mastocitos) al lugar de inflamación mediante la producción de citoquinas en varias células y la resistencia de los polimorfonucleares a la apoptosis(177). Se ha descrito progresión de la CU en ratones tras la transferencia de células Th9 así como correlación entre la progresión de la CU y la secreción de IL-9 en pacientes con CU(178).

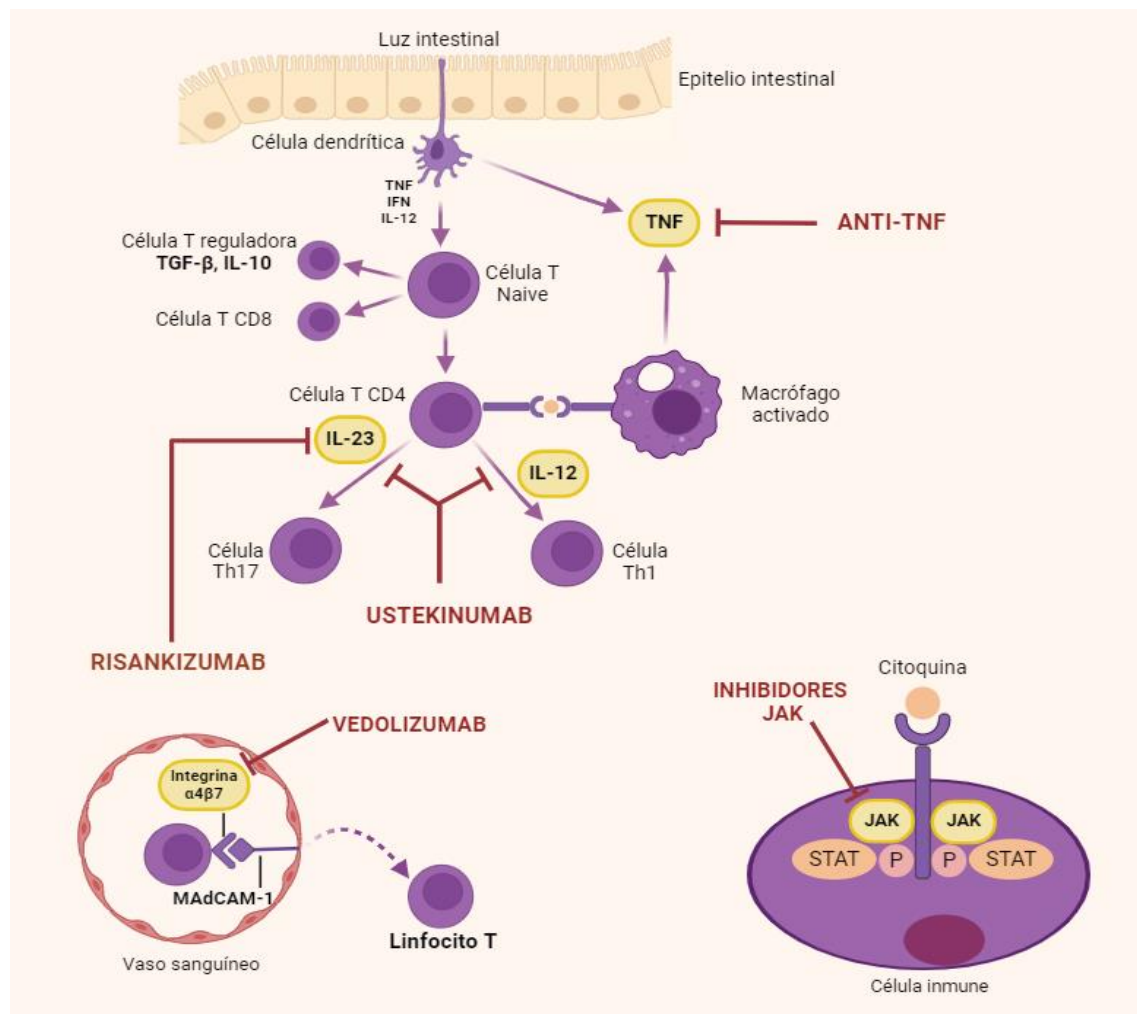
Las células T reguladoras se caracterizan por la expresión del factor de transcripción Foxp3 (Forkhead box protein), CD25, GITR (glucocorticoid induced tumor necrosis factor receptor) y CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4)(171). Mediante la secreción de TGF-beta e IL-10 ejercen un efecto supresor de las células presentadoras de antígenos y las células T efectoras, ayudando a mantener la homeostasis y a la tolerancia en un sistema con alta concentración de antígenos alimentarios y microorganismos comensales. Se han encontrado mutaciones en genes que codifican la IL-10 asociados a EII de inicio precoz y evolución agresiva que incluye enfermedad perianal de difícil tratamiento. También se han observado menores niveles de estas poblaciones en sangre periférica de pacientes con EII y el desarrollo de enterocolitis tipo EC en ratones deficientes en IL-10 tras manipulación genética(172).

Por último, no se puede olvidar la producción de inmunoglobulinas. Se ha observado un incremento del infiltrado de células plasmáticas en la mucosa de pacientes con EC y CU. Asimismo, se produce una respuesta de IgG durante la inflamación de la mucosa. Aunque los mecanismos de acción más conocidos de los fármacos biológicos actúan sobre las células T, se postula que pueden influir también en la respuesta de las células B. De hecho, las células B expresan un receptor para el TNF denominado TNFR2 que promueve su supervivencia y proliferación, por lo que la inhibición del TNF podría afectar a esta respuesta. El ustekinumab al inhibir IL-12/23 atenúa la vía Th1 y Th17, que promueven respuestas de IgG. A su vez, los plasmablastos IgG⁺ son ricos en integrina $\alpha 4\beta 7$, inhibida por el vedolizumab. Los inhibidores de

JAK pueden también influir en la activación, reclutamiento, cambio de clase y supervivencia de las células plasmáticas(179).

A continuación, se detallan en la *Figura 5* los principales puntos del sistema inmunitario sobre los que actúan los fármacos biológicos y pequeñas moléculas más utilizados en la EII.

Figura 5. Principales vías del sistema inmunitario sobre las que actúan los fármacos biológicos y pequeñas moléculas más utilizados en la EII.



IL: interleuquina. JAK: Janus kinases. MAdCAM1: molécula de adhesión celular adresina de mucosas-1. STAT: transductor de señales y activador de la transcripción. Th: linfocito T helper. TGF: factor de crecimiento transformante. TNF: factor de necrosis tumoral. Adaptado de(180): Danese S, Vuitton L, Peyrin-Biroulet L. Biologic agents for IBD: practical insights. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2015; 12 (9): 537-45. doi: 10.1038/nrgastro.2015.135. Esta figura ha sido creada con BioRender.com.

4.3 Influencia de los tratamientos para la enfermedad inflamatoria intestinal en la respuesta inmune a infecciones y vacunas

Los pacientes con EII tienen una prevalencia de infecciones relevantes del 3%, que asciende al 5% en pacientes inmunodeprimidos. Estas parecen estar relacionadas con la inmunosupresión y se ha descrito una mortalidad relacionada con la infección del 2,8%(181). Los pacientes tratados con inmunosupresores, sobre todo en combinación, tienen un riesgo particular de infecciones oportunistas. Por ejemplo, hay que descartar la infección por *Legionella pneumophila* en caso de neumonía. Otros ejemplos son el aumento del riesgo de infecciones más graves por *Salmonella* y *Listeria monocytogenes* en pacientes con anti-TNF, o por *Nocardia* en pacientes bajo tratamiento corticoideo. Otros factores predictores son la obesidad, la edad, la comorbilidad, la EII activa o la malnutrición(182).

Es importante tener en cuenta que no todos los fármacos utilizados en pacientes con EII producen el mismo grado de inmunosupresión. Existen fármacos que no producen inmunosupresión (salicilatos), inmunosupresores selectivos en el tracto gastrointestinal (vedolizumab), inmunosupresores de bajo grado (azatioprina a dosis inferiores a 3-4 mg/kg/día, mercaptopurina a dosis inferiores a 1,5 mg/kg/día, metotrexato a dosis inferiores a 20 mg/semana, budesonida hasta 6 mg/día, corticoides sistémicos a dosis inferiores a 20 mg/día durante menos de 2 semanas) e inmunosupresores de alto grado (ciclosporina, tacrolimus, anti-TNF, ustekinumab, inhibidores JAK, así como los anteriores a dosis superiores a las descritas previamente)(182,183).

En este contexto, la comprobación del estado serológico frente a algunas infecciones y la prevención de algunas de ellas mediante la vacunación es un aspecto importante, sin embargo, hay bajas tasas de inmunización en pacientes con EII. Algunos motivos serían la preocupación por eventuales efectos adversos, los costes de vacunas no financiadas, la falta de concienciación o el desconocimiento de los protocolos vacunales(182,184).

Se recomienda realizar cribado de tuberculosis (riesgo incrementado sobre todo con anti-TNF e inhibidores JAK) e infecciones víricas como la hepatitis A, B y C, el virus de la inmunodeficiencia humana, el virus de Epstein Barr, el virus de herpes simple, el virus de la varicela zoster, el citomegalovirus, el sarampión, la rubéola, la parotiditis y el virus del papiloma humano (citología anual en inmunodeprimidas). En caso de existir vacunas se recomienda su administración en pacientes no inmunizados y, si existe tratamiento, ofrecérselo a los infectados. Además, se recomienda vacunación anual de la gripe así como vacunación de neumococo y meningococo(182,183).

La principal preocupación respecto a las vacunas basadas en patógenos vivos atenuados (triple vírica, fiebre amarilla, rotavirus) es la capacidad de desarrollar la infección en pacientes inmunodeprimidos, por lo que estarían contraindicadas en este grupo de pacientes. En cambio, las vacunas inactivadas (hepatitis A y B, neumococo, meningococo, difteria, tétanos, tos ferina acelular) sí se pueden administrar en pacientes inmunodeprimidos pero se recomienda la vacunación antes de comenzar el tratamiento inmunosupresor por una eventual respuesta subóptima debido a este tratamiento(183).

La pandemia por SARS-CoV-2 ha supuesto una oportunidad para profundizar en la respuesta frente a infecciones y vacunas en pacientes con EII bajo tratamiento inmunosupresor. Las guías de la european Crohn's and colitis organisation (ECCO) recomiendan manejar la infección por SARS-CoV-2 en pacientes con EII de forma similar a la población general, debido al riesgo de reactivación de la EII al discontinuar el tratamiento de mantenimiento(182). Sin embargo, se han descrito tasas de seroprevalencia de la infección por SARS-CoV-2 inferiores en pacientes tratados con anti-TNF(185) y niveles de anticuerpos más bajos tras la vacunación en pacientes con anti-TNF o tofacitinib(186,187).

La ausencia de asociación sólida entre los tratamientos u otros factores relacionados con la EII y una mayor prevalencia o gravedad de la infección por SARS-CoV-2(182), sugiere que los hallazgos de la respuesta humoral deben interpretarse con cautela. Muy posiblemente la respuesta celular a la infección o la vacuna, menos estudiada y comprendida hasta el momento, juega un papel determinante en la protección frente a la infección en los pacientes con EII bajo tratamiento inmunosupresor.

Bibliografía introducción

1. Sánchez-Valle J, Tejero H, Fernández JM, Juan D, Urda-García B, Capella-Gutiérrez S, et al. Interpreting molecular similarity between patients as a determinant of disease comorbidity relationships. *Nat Commun*. 2020;11(1):2854.
2. Johnston MC, Crilly M, Black C, Prescott GJ, Mercer SW. Defining and measuring multimorbidity: a systematic review of systematic reviews. *Eur J Public Health*. 2019;29(1):182-9.
3. The Lancet. Making more of multimorbidity: an emerging priority. *Lancet*. 2018;391(10131):1637.
4. Kingston A, Robinson L, Booth H, Knapp M, Jagger C. Projections of multi-morbidity in the older population in England to 2035: estimates from the Population Ageing and Care Simulation (PACSim) model. *Age Ageing*. 2018;47(3):374-80.
5. Pearson-Stuttard J, Ezzati M, Gregg EW. Multimorbidity—a defining challenge for health systems. *Lancet Public Health*. 2019;4(12):e599-600.
6. Eyowas FA, Schneider M, Balcha SA, Pati S, Getahun FA. Multimorbidity and health-related quality of life among patients attending chronic outpatient medical care in Bahir Dar, Northwest Ethiopia: The application of partial proportional odds model. *PLOS Glob Public Health*. 2022;2(11):e0001176.
7. Hernández B, Reilly RB, Kenny RA. Investigation of multimorbidity and prevalent disease combinations in older Irish adults using network analysis and association rules. *Sci Rep*. 2019;9(1):14567.
8. Carrasco-Ribelles LA, Roso-Llorach A, Cabrera-Bean M, Costa-Garrido A, Zabaleta-Del-Olmo E, Toran-Monserrat P, et al. Dynamics of multimorbidity and frailty, and their contribution to mortality, nursing home and home care need: A primary care cohort of 1 456 052 ageing people. *EClinicalMedicine*. 2022;52:101610.
9. Barnett K, Mercer SW, Norbury M, Watt G, Wyke S, Guthrie B. Epidemiology of multimorbidity and implications for health care, research, and medical education: a cross-sectional study. *Lancet*. 2012;380(9836):37-43.
10. Argollo M, Gilardi D, Peyrin-Biroulet C, Chabot JF, Peyrin-Biroulet L, Danese S. Comorbidities in inflammatory bowel disease: a call for action. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2019;4(8):643-54.
11. Mosli MH, Alsahafi M, Alsanea MN, Alhasani F, Ahmed M, Saadah O. Multimorbidity among inflammatory bowel disease patients in a tertiary care center: a retrospective study. *BMC Gastroenterol*. 2022;22(1):487.
12. Le Berre C, Danese S, Peyrin-Biroulet L. Can we change the natural course of inflammatory bowel disease? *Therap Adv Gastroenterol*. 2023;16:17562848231163118.
13. Kirsner JB. Historical origins of current IBD concepts. *World J Gastroenterol*. 2001;7(2):175-84.

14. Poggioli G, Salice M, Renzi N, Campieri M. History of Ulcerative Colitis. En: Poggioli G, editor. *Ulcerative Colitis* [Internet]. Milano: Springer Milan; 2019 [citado 29 de enero de 2024]. p. 1-16. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-88-470-3977-3_1
15. Oliveros-Wilches R, Prieto-Ortíz R, Reyes-Meneses JC, Paramo D, Rengifo-Pardo A, Cepeda-Vásquez R, et al. Historia y gastroenterología. *Enfermedad de Crohn*. *Rev Colomb Gastroenterol*. 2022;37(1):114-6.
16. Fein HD. The History of Crohn's Disease. En: Korelitz BI, editor. *Inflammatory Bowel Disease: Experience and Controversy* [Internet]. Dordrecht: Springer Netherlands; 1982 [citado 2 de marzo de 2024]. p. 1-3. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-94-009-7439-5_1
17. Álvarez JP. De cuando la ileitis regional se convirtió en la enfermedad de Crohn. *Rev Med Clin Condes*. 2019;30(4):326-9.
18. Crohn BB, Ginzburg L, Oppenheimer GD. Regional ileitis; a pathologic and clinical entity. *Am J Med*. 1952;13(5):583-90.
19. Haubich WS. Crohn of Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1999;116(5):1034.
20. Ananthakrishnan AN, Kaplan GG, Ng SC. Changing Global Epidemiology of Inflammatory Bowel Diseases: Sustaining Health Care Delivery Into the 21st Century. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020;18(6):1252-60.
21. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Tang W, Benchimol EI, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet*. 2017;390(10114):2769-78.
22. Coward S, Clement F, Benchimol EI, Bernstein CN, Avina-Zubieta JA, Bitton A, et al. Past and Future Burden of Inflammatory Bowel Diseases Based on Modeling of Population-Based Data. *Gastroenterology*. 2019;156(5):1345-1353.e4.
23. Kaplan GG, Windsor JW. The four epidemiological stages in the global evolution of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021;18(1):56-66.
24. Kotze PG, Underwood FE, Damião AOMC, Ferraz JGP, Saad-Hossne R, Toro M, et al. Progression of Inflammatory Bowel Diseases Throughout Latin America and the Caribbean: A Systematic Review. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020;18(2):304-12.
25. Loftus EV. The increasing burden of inflammatory bowel disease. *Med J Aust*. 2021;214(8):361-2.
26. Shivashankar R, Tremaine WJ, Harmsen WS, Loftus EV. Incidence and Prevalence of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis in Olmsted County, Minnesota From 1970 Through 2010. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2017;15(6):857-63.
27. Alatab S, Sepanlou SG, Ikuta K, Vahedi H, Bisignano C, Safiri S, et al. The global, regional, and national burden of inflammatory bowel disease in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5(1):17-30.

28. Chaparro M, Garre A, Núñez Ortiz A, Diz-Lois Palomares M, Rodríguez C, Riestra S, et al. Incidence, Clinical Characteristics and Management of Inflammatory Bowel Disease in Spain: Large-Scale Epidemiological Study. *J Clin Med*. 2021;10(13):2885.
29. El Hadad J, Schreiner P, Vavricka SR, Greuter T. The Genetics of Inflammatory Bowel Disease. *Mol Diagn Ther*. 2024;28(1):27-35.
30. Fachal L, on behalf of the International IBD Genetics Consortium. OP08 Multi-ancestry genome-wide association study of inflammatory bowel disease identifies 125 novel loci and directly implicates new genes in disease susceptibility. *J Crohns Colitis*. 2024;18(Supplement_1):i14-5.
31. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 2001;411(6837):599-603.
32. Sewell GW, Kaser A. Interleukin-23 in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease and Implications for Therapeutic Intervention. *J Crohns Colitis*. 2022;16(Supplement_2):ii3-19.
33. Nunes T, Etchevers MJ, Domènech E, García-Sánchez V, Ber Y, Peñalva M, et al. Smoking does influence disease behaviour and impacts the need for therapy in Crohn's disease in the biologic era. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;38(7):752-60.
34. Singh N, Bernstein CN. Environmental risk factors for inflammatory bowel disease. *United European Gastroenterol J*. 2022;10(10):1047-53.
35. Bernstein CN, Burchill C, Targownik LE, Singh H, Roos LL. Events Within the First Year of Life, but Not the Neonatal Period, Affect Risk for Later Development of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. 2019;156(8):2190-2197.e10.
36. Ungaro R, Bernstein CN, Gearry R, Hviid A, Kolho KL, Kronman MP, et al. Antibiotics associated with increased risk of new-onset Crohn's disease but not ulcerative colitis: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2014;109(11):1728-38.
37. Piovani D, Danese S, Peyrin-Biroulet L, Nikolopoulos GK, Lytras T, Bonovas S. Environmental Risk Factors for Inflammatory Bowel Diseases: An Umbrella Review of Meta-analyses. *Gastroenterology*. 2019;157(3):647-659.e4.
38. Gomollón F. Fisiopatología. En: Gomollón F, Hinojosa J, Gassull MÀ, editores. *Enfermedad Inflamatoria Intestinal*. 4.^a ed. Madrid: ERGON; 2019. p. 65-72.
39. Qiu P, Ishimoto T, Fu L, Zhang J, Zhang Z, Liu Y. The Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Disease. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12:733992.
40. Ning L, Zhou YL, Sun H, Zhang Y, Shen C, Wang Z, et al. Microbiome and metabolome features in inflammatory bowel disease via multi-omics integration analyses across cohorts. *Nat Commun*. 2023;14(1):7135.
41. McIlroy J, Ianiro G, Mukhopadhyay I, Hansen R, Hold GL. Review article: the gut microbiome in inflammatory bowel disease—avenues for microbial management. *Aliment Pharmacol Ther*. 2018;47(1):26-42.

42. de Castro MM, Pascoal LB, Steigleder KM, Siqueira BP, Corona LP, Ayrizono M de LS, et al. Role of diet and nutrition in inflammatory bowel disease. *World J Exp Med.* 2021;11(1):1-16.
43. Cadwell K, Patel KK, Maloney NS, Liu TC, Ng ACY, Storer CE, et al. Virus-Plus-Susceptibility Gene Interaction Determines Crohn's Disease Gene Atg16L1 Phenotypes in Intestine. *Cell.* 2010;141(7):1135-45.
44. Schiller LR, Pardi DS, Sellin JH. Chronic Diarrhea: Diagnosis and Management. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2017;15(2):182-193.e3.
45. Cantoro L, Monterubbianesi R, Falasco G, Camastra C, Pantanella P, Allocca M, et al. The Earlier You Find, the Better You Treat: Red Flags for Early Diagnosis of Inflammatory Bowel Disease. *Diagnostics.* 2023;13(20):3183.
46. Cross E, Saunders B, Farmer AD, Prior JA. Diagnostic delay in adult inflammatory bowel disease: A systematic review. *Indian J Gastroenterol.* 2023;42(1):40-52.
47. Zaharie R, Tantau A, Zaharie F, Tantau M, Gheorghe L, Gheorghe C, et al. Diagnostic Delay in Romanian Patients with Inflammatory Bowel Disease: Risk Factors and Impact on the Disease Course and Need for Surgery. *J Crohns Colitis.* 2016;10(3):306-14.
48. Arroyo Villarino M. Síntomas. En: Gomollón F, Hinojosa J, Gassull MÀ, editores. *Enfermedad inflamatoria intestinal.* 4.ª ed. Madrid: ERGON; 2019. p. 99-110.
49. Chen P, Zhou G, Lin J, Li L, Zeng Z, Chen M, et al. Serum Biomarkers for Inflammatory Bowel Disease. *Front Med.* 2020;7:123.
50. Benítez Cantero JM, García Sánchez V. Biomarcadores en la enfermedad inflamatoria intestinal. En: Gomollón F, Hinojosa J, Gassull MÀ, editores. *Enfermedad inflamatoria intestinal.* 4.ª ed. Madrid: ERGON; 2019. p. 111-9.
51. D'Amico F, Rubin DT, Kotze PG, Magro F, Siegmund B, Kobayashi T, et al. International consensus on methodological issues in standardization of fecal calprotectin measurement in inflammatory bowel diseases. *United European Gastroenterol J.* 2021;9(4):451-60.
52. Castro Alvarino J. Diagnóstico endoscópico en enfermedad inflamatoria intestinal. En: Gomollón F, Hinojosa J, Gassull MÀ, editores. *Enfermedad inflamatoria intestinal.* 4.ª ed. Madrid: ERGON; 2019. p. 121-39.
53. Lee JM, Lee KM. Endoscopic Diagnosis and Differentiation of Inflammatory Bowel Disease. *Clin Endosc.* 2016;49(4):370-5.
54. Khanna R, Ma C, Jairath V, Vande Casteele N, Zou G, Feagan BG. Endoscopic Assessment of Inflammatory Bowel Disease Activity in Clinical Trials. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2022;20(4):727-736.e2.
55. Cicero G, Mazziotti S. Crohn's disease at radiological imaging: focus on techniques and intestinal tract. *Intest Res.* 2021;19(4):365-78.
56. Allocca M, Furfaro F, Fiorino G, Peyrin-Biroulet L, Danese S. Point-of-Care Ultrasound in Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis.* 2021;15(1):143-51.

57. Kapizioni C, Desoki R, Lam D, Balendran K, Al-Sulais E, Subramanian S, et al. Biologic Therapy for Inflammatory Bowel Disease: Real-World Comparative Effectiveness and Impact of Drug Sequencing in 13 222 Patients within the UK IBD BioResource. *J Crohns Colitis*. 2023;jjad203.
58. Domènech E, Ciudin A, Balibrea JM, Coll EE, Cañete F, Flores L, et al. Recomendaciones sobre el manejo de la obesidad grave en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal del Grupo Español de Trabajo en Enfermedad Inflamatoria Intestinal (GETECCU), Sociedad Española de Obesidad (SEEDO), Asociación Española de Cirugía (AEC) y Sociedad Española de Endoscopia Digestiva (SEED). *Gastroenterol Hepatol*. 2024;S0210570523005022.
59. Gros B. Timeline [Internet]. IBD.EII. [citado 6 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://ibd-eii.com/timeline/>
60. Meneghini M, Bestard O, Grinyo JM. Immunosuppressive drugs modes of action. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2021;54-55:101757.
61. Gomollón F, Hinojosa J, Gassull MÀ. *Enfermedad inflamatoria intestinal*. 4.^a ed. Madrid: ERGON; 2019.
62. Hooper KM, Barlow PG, Stevens C, Henderson P. Inflammatory Bowel Disease Drugs: A Focus on Autophagy. *J Crohns Colitis*. 2017;11(1):118-27.
63. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Nota Informativa de la Agencia Española del Medicamento sobre el riesgo de infección tuberculosa asociada a infliximab (Remicade®). Madrid: Ministerio de Sanidad; 2000 [citado 29 de enero de 2024]. Disponible en: https://www.aemps.gob.es/informa/notasinformativas/medicamentosusohumano-3/seguridad-1/2000/ni_infliximab-remicade/
64. Díez M, Sánchez E, García López S, Teresa Arroyo M, Gomollón F. Tratamiento con infliximab en la colitis ulcerosa: experiencia inicial en dos centros de referencia. *Gastroenterol Hepatol*. 2007;30(8):449-53.
65. Marsal J, Barreiro-de Acosta M, Blumenstein I, Cappello M, Bazin T, Sebastian S. Management of Non-response and Loss of Response to Anti-tumor Necrosis Factor Therapy in Inflammatory Bowel Disease. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:897936.
66. Agrawal M, Kim ES, Colombel JF. JAK Inhibitors Safety in Ulcerative Colitis: Practical Implications. *J Crohns Colitis*. 2020;14(Supplement_2):S755-60.
67. Gisbert JP, Chaparro M. Predictors of Primary Response to Biologic Treatment [Anti-TNF, Vedolizumab, and Ustekinumab] in Patients With Inflammatory Bowel Disease: From Basic Science to Clinical Practice. *J Crohns Colitis*. 2020;14(5):694-709.
68. Calleja JL, Turnes J, editores. EHGNA. *Enfermedad del hígado graso no alcohólico: un estudio integral* [Internet]. Madrid: Libroacadémico; 2021 [citado 4 de febrero de 2024]. 199 p. Disponible en: <https://aeeh.es/wp-content/uploads/2022/02/EHGNA-pdf.pdf>
69. Ayonrinde OT. Historical narrative from fatty liver in the nineteenth century to contemporary NAFLD – Reconciling the present with the past. *JHEP Rep*. 2021;3(3):100261.

70. Wai-Sun Wong V, Kanwal F. On the Proposed Definition of Metabolic-Associated Fatty Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2021;19(5):865-70.
71. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc*. 1980;55(7):434-8.
72. Liebe R, Esposito I, Bock HH, vom Dahl S, Stindt J, Baumann U, et al. Diagnosis and management of secondary causes of steatohepatitis. *J Hepatol*. 2021;74(6):1455-71.
73. Eslam M, Sanyal AJ, George J, International Consensus Panel. MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2020;158(7):1999-2014.e1.
74. 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):202-9.
75. Wong VWS, Wong GLH, Woo J, Abrigo JM, Chan CKM, Shu SST, et al. Impact of the New Definition of Metabolic Associated Fatty Liver Disease on the Epidemiology of the Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2021;19(10):2161-2171.e5.
76. Rinella ME, Lazarus JV, Ratziu V, Francque SM, Sanyal AJ, Kanwal F, et al. A multisociety Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. *J Hepatol*. 2023;79(6):1542-56.
77. Odriozola A, Santos-Laso A, Del Barrio M, Cabezas J, Iruzubieta P, Arias-Loste MT, et al. Fatty Liver Disease, Metabolism and Alcohol Interplay: A Comprehensive Review. *Int J Mol Sci*. 2023;24(9):7791.
78. Fouad Y. Metabolic-associated fatty liver disease: New nomenclature and approach with hot debate. *World J Hepatol*. 2023;15(2):123-8.
79. Younossi ZM, Stepanova M, Younossi Y, Golabi P, Mishra A, Rafiq N, et al. Epidemiology of chronic liver diseases in the USA in the past three decades. *Gut*. 2020;69(3):564-8.
80. Wong VWS, Ekstedt M, Wong GLH, Hagström H. Changing epidemiology, global trends and implications for outcomes of NAFLD. *J Hepatol*. 2023;79(3):842-52.
81. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;15(1):11-20.
82. Younossi ZM, Golabi P, Avila L de, Paik JM, Srishord M, Fukui N, et al. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol*. 2019;71(4):793-801.
83. Eslam M, Chen F, George J. NAFLD in Lean Asians. *Clin Liver Dis (Hoboken)*. 2021;16(6):240-3.
84. 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):739-52.

85. Hamid O, Eltelbany A, Mohammed A, Alsabbagh Alchirazi K, Trakroo S, Asaad I. The epidemiology of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) in the United States between 2010-2020: a population-based study. *Ann Hepatol.* 2022;27(5):100727.
86. Duell PB, Welty FK, Miller M, Chait A, Hammond G, Ahmad Z, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Cardiovascular Risk: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2022;42(6):e168-85.
87. Nabi O, Lacombe K, Boursier J, Mathurin P, Zins M, Serfaty L. Prevalence and Risk Factors of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Advanced Fibrosis in General Population: the French Nationwide NASH-CO Study. *Gastroenterology.* 2020;159(2):791-793.e2.
88. 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):643-654.e1-9; quiz e39-40.
89. Drew L. Fighting the fatty liver. *Nature.* 2017;550(7675):S102-3.
90. Farah M, Anugwom C, Ferrer JD, Baca EL, Mattos AZ, Possebon JPP, et al. Changing epidemiology of hepatocellular carcinoma in South America: A report from the South American liver research network. *Ann Hepatol.* 2023;28(2):100876.
91. Vitale A, Svegliati-Baroni G, Ortolani A, Cucco M, Riva GVD, Giannini EG, et al. Epidemiological trends and trajectories of MAFLD-associated hepatocellular carcinoma 2002–2033: the ITA.LI.CA database. *Gut.* 2023;72(1):141-52.
92. Grander C, Grabherr F, Tilg H. Non-alcoholic fatty liver disease: pathophysiological concepts and treatment options. *Cardiovasc Res.* 2023;119(9):1787-98.
93. Chen Z, Yu R, Xiong Y, Du F, Zhu S. A vicious circle between insulin resistance and inflammation in nonalcoholic fatty liver disease. *Lipids Health Dis.* 2017;16(1):203.
94. Fujii H, Kawada N. The Role of Insulin Resistance and Diabetes in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 2020;21(11):3863.
95. Del Barrio M, Lavín L, Santos-Laso Á, Arias-Loste MT, Odriozola A, Rodriguez-Duque JC, et al. Faecal Microbiota Transplantation, Paving the Way to Treat Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 2023;24(7):6123.
96. Younossi ZM, Corey KE, Lim JK. AGA Clinical Practice Update on Lifestyle Modification Using Diet and Exercise to Achieve Weight Loss in the Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Expert Review. *Gastroenterology.* 2021;160(3):912-8.
97. Pafili K, Roden M. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) from pathogenesis to treatment concepts in humans. *Mol Metab.* 2021;50:101122.
98. Iruzubieta P, González M, Cabezas J, Arias-Loste MT, Crespo J. Diagnosis and Characterization of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. En: Rodrigo L, editor. *Liver Research and Clinical Management* [Internet]. IntechOpen; 2018 [citado 12 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://www.intechopen.com/chapters/58896>
99. Zhang JZ, Cai JJ, Yu Y, She ZG, Li H. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: An Update on the Diagnosis. *Gene Expr.* 2019;19(3):187-98.

100. Arias-Loste MT, Crespo J, Iruzubieta P. Letter to the Editor: Updated guidance on NAFLD screening. *Hepatology*. 2023;78(5):E89-E90.
101. Berzigotti A, Tsochatzis E, Boursier J, Castera L, Cazzagon N, Friedrich-Rust M, et al. EASL Clinical Practice Guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis – 2021 update. *J Hepatol*. 2021;75(3):659-89.
102. Gu J, Liu S, Du S, Zhang Q, Xiao J, Dong Q, et al. Diagnostic value of MRI-PDFF for hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *Eur Radiol*. 2019;29(7):3564-73.
103. Karlas T, Petroff D, Sasso M, Fan JG, Mi YQ, Lédíngheñ V de, et al. Individual patient data meta-analysis of controlled attenuation parameter (CAP) technology for assessing steatosis. *J Hepatol*. 2017;66(5):1022-30.
104. Sanyal AJ, Castera L, Wong VWS. Noninvasive Assessment of Liver Fibrosis in NAFLD. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2023;21(8):2026-39.
105. Eddowes PJ, Sasso M, Allison M, Tsochatzis E, Anstee QM, Sheridan D, et al. Accuracy of FibroScan Controlled Attenuation Parameter and Liver Stiffness Measurement in Assessing Steatosis and Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2019;156(6):1717-30.
106. Mantovani A, Csermely A, Petracca G, Beatrice G, Corey KE, Simon TG, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of fatal and non-fatal cardiovascular events: an updated systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2021;6(11):903-13.
107. Allen AM, Therneau TM, Larson JJ, Coward A, Somers VK, Kamath PS. Nonalcoholic fatty liver disease incidence and impact on metabolic burden and death: A 20 year-community study. *Hepatology*. 2018;67(5):1726-36.
108. Sanyal AJ, Van Natta ML, Clark J, Neuschwander-Tetri BA, Diehl A, Dasarathy S, et al. Prospective Study of Outcomes in Adults with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *N Engl J Med*. 2021;385(17):1559-69.
109. Whorwell PJ, Hawkins R, Dewbury K, Wright R. Ultrasound survey of gallstones and other hepatobiliary disorders in patients with Crohn's disease. *Dig Dis Sci*. 1984;29(10):930-3.
110. Broome U, Glaumann H, Hultcrantz R. Liver histology and follow up of 68 patients with ulcerative colitis and normal liver function tests. *Gut*. 1990;31(4):468-72.
111. Riegler G, D'Inca R, Sturniolo GC, Corrao G, Vecchio Blanco C, di Leo V, et al. Hepatobiliary Alterations in Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Multicenter Study. *Scand J Gastroenterol*. 1998;33(1):93-8.
112. McHenry S, Glover M, Ahmed A, Alayo Q, Zulfikar M, Ludwig DR, et al. NAFLD Is Associated With Quiescent Rather Than Active Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2023;izad129.
113. Ritaccio G, Stoleru G, Abutaleb A, Cross RK, Shetty K, Sakiani S, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Is Common in IBD Patients However Progression to Hepatic Fibrosis by Noninvasive Markers Is Rare. *Dig Dis Sci*. 2021;66(9):3186-91.

114. Chen J, Dan L, Tu X, Sun Y, Deng M, Chen X, et al. Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease and liver function markers are associated with Crohn's disease but not Ulcerative Colitis: a prospective cohort study. *Hepatol Int.* 2023;17(1):202-14.
115. Sartini A, Gitto S, Bianchini M, Verga MC, Di Girolamo M, Bertani A, et al. Non-alcoholic fatty liver disease phenotypes in patients with inflammatory bowel disease. *Cell Death Dis.* 2018;9(2):87.
116. van Lingen E, Tushuizen ME, Steenhuis MEJ, van Deynen T, Martens J, Morales DDI, et al. Disease activity in inflammatory bowel disease patients is associated with increased liver fat content and liver fibrosis during follow-up. *Int J Colorectal Dis.* 2022;37(2):349-56.
117. Bessissow T, Le NH, Rollet K, Afif W, Bitton A, Sebastiani G. Incidence and Predictors of Nonalcoholic Fatty Liver Disease by Serum Biomarkers in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2016;22(8):1937-44.
118. Trifan A, Stafie R, Rotaru A, Stratina E, Zenovia S, Nastasa R, et al. Screening for Liver Steatosis and Fibrosis in Patients with Inflammatory Bowel Disease Using Vibration Controlled Transient Elastography with Controlled Attenuation Parameter. *J Clin Med.* 2022;11(19):5959.
119. Sourianarayanan A, Garg G, Smith TH, Butt MI, McCullough AJ, Shen B. Risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis.* 2013;7(8):e279-85.
120. Principi M, Iannone A, Losurdo G, Mangia M, Shahini E, Albano F, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Inflammatory Bowel Disease: Prevalence and Risk Factors. *Inflamm Bowel Dis.* 2018;24(7):1589-96.
121. Saroli Palumbo C, Restellini S, Chao CY, Aruljothy A, Lemieux C, Wild G, et al. Screening for Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Inflammatory Bowel Diseases: A Cohort Study Using Transient Elastography. *Inflamm Bowel Dis.* 2019;25(1):124-33.
122. Sagami S, Ueno Y, Tanaka S, Fujita A, Hayashi R, Oka S, et al. Significance of non-alcoholic fatty liver disease in Crohn's disease: A retrospective cohort study. *Hepatol Res.* 2017;47(9):872-81.
123. Glassner K, Malaty HM, Abraham BP. Epidemiology and Risk Factors of Nonalcoholic Fatty Liver Disease Among Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2017;23(6):998-1003.
124. Schröder T, Schmidt KJ, Olsen V, Möller S, Mackenroth T, Sina C, et al. Liver steatosis is a risk factor for hepatotoxicity in patients with inflammatory bowel disease under immunosuppressive treatment. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2015;27(6):698-704.
125. Zhang Q, Liu S, Wu J, Zhu S, Wu Y, Wu S, et al. Non-alcoholic fatty liver degree and long-term risk of incident inflammatory bowel disease: A large-scale prospective cohort study. *Chin Med J (Engl).* 2023. En prensa.
126. Rodríguez-Duque JC, Calleja JL, Iruzubieta P, Hernández-Conde M, Rivas-Rivas C, Vera MI, et al. Increased risk of MAFLD and Liver Fibrosis in Inflammatory Bowel Disease Independent of Classic Metabolic Risk Factors. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2023;21(2):406-414.e7.

127. Magrì S, Paduano D, Chicco F, Cingolani A, Farris C, Delogu G, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease: Beyond the natural history. *World J Gastroenterol.* 2019;25(37):5676-86.
128. Veltkamp C, Lan S, Korompoki E, Weiss KH, Schmidt H, Seitz HK. Hepatic Steatosis and Fibrosis in Chronic Inflammatory Bowel Disease. *J Clin Med.* 2022;11(9):2623.
129. Ribaldone DG, Garavagno M, Pellicano R, Bresso F, Fagoonee S, David E, et al. Prevalence and prognostic value of hepatic histological alterations in patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol.* 2015;50(12):1463-8.
130. Abenavoli L, Spagnuolo R, Scarlata GGM, Scarpellini E, Boccuto L, Lizza F. Ultrasound Prevalence and Clinical Features of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients with Inflammatory Bowel Diseases: A Real-Life Cross-Sectional Study. *Medicina.* 2023;59(11):1935.
131. Onwuzo S, Boustany A, Saleh M, Gupta R, Onwuzo C, Mascarenhas Monteiro J, et al. Increased Risk of Non-Alcoholic Steatohepatitis in Patients With Inflammatory Bowel Disease: A Population-Based Study. *Cureus.* 2023;15(3):e35854.
132. Kablawi D, Aljohani F, Palumbo CS, Restellini S, Bitton A, Wild G, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Increases Cardiovascular Risk in Inflammatory Bowel Diseases. *Crohns Colitis* 360. 2023;5(1):otad004.
133. Abomhya A, Mahmoodurrahman M, Ayaz S, Hamad H, Khan F. Burden and Predictors of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in a Retrospective Cohort of Patients With Crohn's Disease. *Gastroenterol Res.* 2022;15(2):82-90.
134. Aggarwal M, Garg R, Parthasarthy G, Nowacki AS, Padival R, McCullough A, et al. Crohn's Disease Is Associated with Liver Fibrosis in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis Sci.* 2023;68(3):1006-15.
135. Carrillo-Palau M, Hernández-Camba A, Hernández Alvarez-Buylla N, Ramos L, Alonso-Abreu I, Hernández-Pérez A, et al. Insulin Resistance Is Not Increased in Inflammatory Bowel Disease Patients but Is Related to Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *J Clin Med.* 2021;10(14):3062.
136. Yen HH, Su PY, Huang SP, Wu L, Hsu TC, Zeng YH, et al. Evaluation of non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease using controlled attenuation parameter technology: A Taiwanese retrospective cohort study. *PLoS One.* 2021;16(5):e0252286.
137. Al-Mohannadi DM, Chandra DP, Varughese DB, Hamid DA, Badi DA, Kaabi DSA, et al. Non-alcoholic Fatty Liver Disease among patients with Inflammatory Bowel Disease in Qatar: Prevalence and Risk Factors. *Open J Gastroenterol Hepatol.* 2020;3:40.
138. Hoffmann P, Jung V, Behnisch R, Gauss A. Prevalence and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel diseases: A cross-sectional and longitudinal analysis. *World J Gastroenterol.* 2020;26(46):7367-81.
139. Likhitsup A, Dundulis J, Ansari S, Patibandla S, Hutton C, Kennedy K, et al. High prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease receiving anti-tumor necrosis factor therapy. *Ann Gastroenterol.* 2019;32(5):463-8.

140. Likhitsup A, Dundulis J, Ansari S, El-Halawany H, Michelson R, Hutton C, et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease on computed tomography in patients with inflammatory bowel disease visiting an emergency department. *Ann Gastroenterol*. 2019;32(3):283-6.
141. McHenry S, Sharma Y, Tirath A, Tsai R, Mintz A, Fraum TJ, et al. Crohn's Disease Is Associated With an Increased Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Cross-Sectional Study Using Magnetic Resonance Proton Density Fat Fraction Mapping. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019;17(13):2816-8.
142. Silva J, Brito BS, Silva INDN, Nóbrega VG, Silva MCSMD, Gomes HDDN, et al. Frequency of Hepatobiliary Manifestations and Concomitant Liver Disease in Inflammatory Bowel Disease Patients. *Biomed Res Int*. 2019;2019:7604939.
143. Spagnuolo R, Montalcini T, De Bonis D, Ferro Y, Cosco C, Mazza E, et al. Weight Gain and Liver Steatosis in Patients with Inflammatory Bowel Diseases. *Nutrients*. 2019;11(2):303.
144. Adams LC, Lübke F, Bressem K, Wagner M, Hamm B, Makowski MR. Non-alcoholic fatty liver disease in underweight patients with inflammatory bowel disease: A case-control study. Strnad P, editor. *PLoS One*. 2018;13(11):e0206450.
145. Simon TG, Van Der Sloot KWJ, Chin SB, Joshi AD, Lochhead P, Ananthakrishnan AN, et al. *IRGM* Gene Variants Modify the Relationship Between Visceral Adipose Tissue and NAFLD in Patients With Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2018;24(10):2247-57.
146. Bosch DE, Yeh MM. Primary sclerosing cholangitis is protective against nonalcoholic fatty liver disease in inflammatory bowel disease. *Hum Pathol*. 2017;69:55-62.
147. Carr RM, Patel A, Bownik H, Oranu A, Kerner C, Praestgaard A, et al. Intestinal Inflammation Does Not Predict Nonalcoholic Fatty Liver Disease Severity in Inflammatory Bowel Disease Patients. *Dig Dis Sci*. 2017;62(5):1354-61.
148. Li D, Lu C, Yu C. High incidence of non-alcoholic fatty liver disease in patients with Crohn's disease but not ulcerative colitis. *Int J Clin Exp Pathol*. 2017;10(10):10633-9.
149. Thin LWY, Lawrance IC, Spilsbury K, Kava J, Olynyk JK. Detection of liver injury in IBD using transient elastography. *J Crohns Colitis*. 2014;8(7):671-7.
150. Gravina AG, Pellegrino R, Durante T, Palladino G, D'Onofrio R, Mammone S, et al. Inflammatory bowel diseases patients suffer from significant low levels and barriers to physical activity: The "BE-FIT-IBD" study. *World J Gastroenterol*. 2023;29(41):5668-82.
151. García-Mateo S, Martínez-Domínguez SJ, Gargallo-Puyuelo CJ, Arroyo Villarino MT, Laredo De La Torre V, Gallego B, et al. Lifestyle Can Exert a Significant Impact on the Development of Metabolic Complications and Quality Life in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Nutrients*. 2023;15(18):3983.
152. Liu J, Ge X, Ouyang C, Wang D, Zhang X, Liang J, et al. Prevalence of Malnutrition, Its Risk Factors, and the Use of Nutrition Support in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2022;28(Supplement_2):S59-66.
153. Jaber M, Altamimi M, Altamimi A, Cavaliere S, De Filippis F. Mediterranean diet diminishes the effects of Crohn's disease and improves its parameters: A systematic review. *Nutr Health*. 2022;02601060221102281.

154. Papada E, Amerikanou C, Forbes A, Kaliora AC. Adherence to Mediterranean diet in Crohn's disease. *Eur J Nutr.* 2020;59(3):1115-21.
155. Celik K, Guveli H, Erzin Y, Kenge EB, Ozlu T. The Effect of Adherence to Mediterranean Diet on Disease Activity in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Turk J Gastroenterol.* 2023;34(7):714-9.
156. Fiorindi C, Dinu M, Gavazzi E, Scaringi S, Ficari F, Nannoni A, et al. Adherence to mediterranean diet in patients with inflammatory bowel disease. *Clin Nutr ESPEN.* 2021;46:416-23.
157. Cai C, Song X, Chen Y, Chen X, Yu C. Relationship between relative skeletal muscle mass and nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Hepatol Int.* 2020;14(1):115-26.
158. Liu S, Ding X, Maggiore G, Pietrobattista A, Satapathy SK, Tian Z, et al. Sarcopenia is associated with poor clinical outcomes in patients with inflammatory bowel disease: a prospective cohort study. *Ann Transl Med.* 2022;10(6):367.
159. Ding NS, Malietzis G, Lung PFC, Penez L, Yip WM, Gabe S, et al. The body composition profile is associated with response to anti-TNF therapy in Crohn's disease and may offer an alternative dosing paradigm. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017;46(9):883-91.
160. Ding Z, Wu XR, Remer EM, Lian L, Stocchi L, Li Y, et al. Association between high visceral fat area and postoperative complications in patients with Crohn's disease following primary surgery. *Colorectal Dis.* 2016;18(2):163-72.
161. Agrawal T, Acquah I, Dey AK, Glassner K, Abraham B, Blankstein R, et al. Prevalence of cardiovascular risk factors in a nationally representative adult population with inflammatory bowel disease without atherosclerotic cardiovascular disease. *Am J Prev Cardiol.* 2021;6:100171.
162. Johnson AM, Harmsen WS, Aniwan S, Tremaine WJ, Abu Dayyeh BK, Loftus EV. Prevalence and Impact of Obesity on Disease-specific Outcomes in a Population-based Cohort of Patients with Ulcerative Colitis. *J Crohns Colitis.* 2021;15(11):1816-23.
163. Song Q, Zhang X. The Role of Gut–Liver Axis in Gut Microbiome Dysbiosis Associated NAFLD and NAFLD-HCC. *Biomedicines.* 2022;10(3):524.
164. De Filippis F, Pellegrini N, Vannini L, Jeffery IB, La Stora A, Laghi L, et al. High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome. *Gut.* 2016;65(11):1812-21.
165. Godny L, Dotan I. Is the Mediterranean Diet in Inflammatory Bowel Diseases Ready for Prime Time? *J Can Assoc Gastroenterol.* 2023;7(1):97-103.
166. Abenavoli L, Giubilei L, Procopio AC, Spagnuolo R, Luzzza F, Boccuto L, et al. Gut Microbiota in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Patients with Inflammatory Bowel Diseases: A Complex Interplay. *Nutrients.* 2022;14(24):5323.
167. Ospino Rodriguez M, Licona Vera E, Raad Sarabia M, Betancur Vásquez C, Gómez Álvarez L. Esteatohepatitis no alcohólica: De la fisiopatología al diagnóstico. *Arch Med.* 2022;18(8):2.

168. Mancina RM, Spagnuolo R, Milano M, Brogneri S, Morrone A, Cosco C, et al. PNPLA3 148M Carriers with Inflammatory Bowel Diseases Have Higher Susceptibility to Hepatic Steatosis and Higher Liver Enzymes. *Inflamm Bowel Dis*. 2016;22(1):134-40.
169. Cheng Y, Zhu Y, Huang X, Zhang W, Han Z, Liu S. Association between TLR2 and TLR4 Gene Polymorphisms and the Susceptibility to Inflammatory Bowel Disease: A Meta-Analysis. *PLoS One*. 2015;10(5):e0126803.
170. Kiziltas S, Ata P, Colak Y, Mesçi B, Senates E, Enc F, et al. TLR4 gene polymorphism in patients with nonalcoholic fatty liver disease in comparison to healthy controls. *Metab Syndr Relat Disord*. 2014;12(3):165-70.
171. Ahluwalia B, Moraes L, Magnusson MK, Öhman L. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease and mechanisms of biological therapies. *Scand J Gastroenterol*. 2018;53(4):379-89.
172. Menchén Viso L. Inmunología y modelos experimentales. En: Gomollón F, Hinojosa J, Gassull MÀ, editores. *Enfermedad Inflamatoria Intestinal*. 4.ª ed. Madrid: ERGON; 2019. p. 53-64.
173. Choy MC, Visvanathan K, De Cruz P. An Overview of the Innate and Adaptive Immune System in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2017;23(1):2-13.
174. Neurath MF. Targeting immune cell circuits and trafficking in inflammatory bowel disease. *Nat Immunol*. 2019;20(8):970-9.
175. Chen SL, Li CM, Li W, Liu QS, Hu SY, Zhao MY, et al. How autophagy, a potential therapeutic target, regulates intestinal inflammation. *Front Immunol*. 2023;14:1087677.
176. Zhao J, Lu Q, Liu Y, Shi Z, Hu L, Zeng Z, et al. Th17 Cells in Inflammatory Bowel Disease: Cytokines, Plasticity, and Therapies. *J Immunol Res*. 2021;2021:8816041.
177. Vyas SP, Goswami R. A Decade of Th9 Cells: Role of Th9 Cells in Inflammatory Bowel Disease. *Front Immunol*. 2018;9:1139.
178. Nalleweg N, Chiriac MT, Podstawa E, Lehmann C, Rau TT, Atreya R, et al. IL-9 and its receptor are predominantly involved in the pathogenesis of UC. *Gut*. 2015;64(5):743-55.
179. Castro-Dopico T, Colombel JF, Mehandru S. Targeting B cells for inflammatory bowel disease treatment: back to the future. *Curr Opin Pharmacol*. 2020;55:90-8.
180. Danese S, Vuitton L, Peyrin-Biroulet L. Biologic agents for IBD: practical insights. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015;12(9):537-45.
181. Zabana Y, Rodríguez L, Lobatón T, Gordillo J, Montserrat A, Mena R, et al. Relevant Infections in Inflammatory Bowel Disease, and Their Relationship With Immunosuppressive Therapy and Their Effects on Disease Mortality. *J Crohns Colitis*. 2019;13(7):828-37.
182. Kucharzik T, Ellul P, Greuter T, Rahier JF, Verstockt B, Abreu C, et al. ECCO Guidelines on the Prevention, Diagnosis, and Management of Infections in Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis*. 2021;15(6):879-913.

183. Ferreiro-Iglesias R, Piqueras M, Ricart E, Sempere L, Roca M, Martín De Carpi J, et al. Recomendaciones del Grupo Español de Trabajo en Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa sobre la importancia, el cribado y la vacunación en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. *Gastroenterol Hepatol*. 2022;45(10):805-18.
184. Macaluso FS, Liguori G, Galli M. Vaccinations in patients with inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis*. 2021;53(12):1539-45.
185. Chanchlani N, Lin S, Chee D, Hamilton B, Nice R, Arkir Z, et al. Adalimumab and Infliximab Impair SARS-CoV-2 Antibody Responses: Results from a Therapeutic Drug Monitoring Study in 11 422 Biologic-Treated Patients. *J Crohns Colitis*. 2022;16(3):389-97.
186. Liu Z, Alexander JL, Le K, Zhou X, Ibraheim H, Anandabaskaran S, et al. Neutralising antibody responses against SARS-CoV-2 Omicron BA.4/5 and wild-type virus in patients with inflammatory bowel disease following three doses of COVID-19 vaccine (VIP): a prospective, multicentre, cohort study. *EClinicalMedicine*. 2023;64:102249.
187. Kennedy NA, Lin S, Goodhand JR, Chanchlani N, Hamilton B, Bewshea C, et al. Infliximab is associated with attenuated immunogenicity to BNT162b2 and ChAdOx1 nCoV-19 SARS-CoV-2 vaccines in patients with IBD. *Gut*. 2021;70(10):1884-93.

Hipótesis

Capítulo 1. Prevalencia y factores de riesgo para enfermedad hepática grasa no alcohólica en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal

La prevalencia de enfermedad hepática grasa no alcohólica y de fibrosis hepática significativa en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal podría ser superior a la de la población general como consecuencia de la carga inflamatoria sistémica en estos pacientes, tal y como ha sido descrito en otras enfermedades inmunomediadas. Además, existirían factores de riesgo relacionados con la enfermedad inflamatoria intestinal, independientes de los factores de riesgo metabólicos clásicos, para el desarrollo tanto de enfermedad hepática grasa no alcohólica como de fibrosis hepática significativa.

Capítulo 2. Prevalencia y factores de riesgo para enfermedad hepática grasa no alcohólica en pacientes delgados con enfermedad inflamatoria intestinal

Las diferencias observadas en la prevalencia de enfermedad hepática grasa no alcohólica y de fibrosis hepática significativa entre casos con enfermedad inflamatoria intestinal y controles sin enfermedad inflamatoria intestinal se verían incrementadas en los pacientes delgados. La enfermedad inflamatoria intestinal tendría un papel preponderante en la patogenia de la enfermedad hepática grasa no alcohólica de estos pacientes mientras que los factores de riesgo cardiovascular clásicos quedarían relegados a un segundo plano. Por tanto, la enfermedad inflamatoria intestinal podría ser un factor de riesgo independiente para el desarrollo de enfermedad hepática grasa no alcohólica en individuos delgados, en ausencia de factores de riesgo cardiovascular clásicos.

Capítulo 3. Seroprevalencia de la infección por SARS-CoV-2 y respuesta inmunológica a la vacuna frente a SARS-CoV-2 en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal

La seroprevalencia de la infección por SARS-CoV-2 podría ser superior a la de la población general ya que los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal son enfermos crónicos, a menudo inmunodeprimidos, lo que les conferiría un riesgo incrementado de contraer infecciones, así como de un curso más grave.

Los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal tratados con fármacos biológicos podrían tener una respuesta humoral a la vacuna frente a SARS-CoV-2 más débil, sin embargo, podría existir una respuesta celular potente que confiriera una protección similar a la de la población general.

Capítulo 4. Papel de la fibrosis hepática en la progresión a carcinoma hepatocelular en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal y enfermedad hepática grasa no alcohólica

Los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal y enfermedad hepática grasa no alcohólica que desarrollan fibrosis hepática significativa o avanzada tendrían un riesgo mayor de carcinoma hepatocelular que aquellos con estadios de fibrosis hepática F0-F1. La enfermedad inflamatoria intestinal podría contribuir a una progresión de la fibrosis hepática más rápida que en los pacientes sin enfermedad inflamatoria intestinal, así como al desarrollo de carcinoma hepatocelular. Existiría un nexo de unión entre la fisiopatología de la enfermedad inflamatoria intestinal y la progresión de la fibrosis hepática y el desarrollo de carcinoma hepatocelular.

Objetivos

Capítulo 1: Prevalencia y factores de riesgo para enfermedad hepática grasa no alcohólica en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal

Los estudios que han evaluado la prevalencia de EHGNA en pacientes con EII han sido heterogéneos en su diseño, en el perfil de pacientes incluidos, en las técnicas diagnósticas utilizadas y en sus resultados. La mayor parte de ellos carecían de grupo control así como de evaluación de fibrosis hepática, el marcador pronóstico a largo plazo en pacientes con enfermedad hepática(1).

De hecho, la prevalencia de EHGNA ha oscilado entre el 6%(2,3) y más del 45%(4–7) en los diferentes estudios, y la de fibrosis hepática significativa entre el 2%(8) y el 37%(9). Existe concordancia en la literatura sobre la asociación entre los factores de riesgo cardiovascular clásicos y la EHGNA en pacientes con EII. Sin embargo, el papel de los factores relacionados con la EII no ha sido bien aclarado ya que la actividad de la EII(10), la duración de la EII(10), el subtipo de EII(11,12) o la historia de cirugías previas(10) se han asociado con EHGNA y/o fibrosis hepática en algunos estudios pero no ha sido confirmado en otros(13).

Por tanto, los objetivos del primer capítulo de la tesis son evaluar la prevalencia y factores de riesgo para el desarrollo de EHGNA y fibrosis hepática significativa en pacientes con EII. Específicamente, el objetivo de este capítulo es identificar aquellos factores de riesgo relacionados con la EII con la intención de establecer un perfil de paciente con EII de riesgo sobre el que optimizar la prevención, el diagnóstico precoz y el tratamiento.

Capítulo 2. Prevalencia y factores de riesgo para enfermedad hepática grasa no alcohólica en pacientes delgados con enfermedad inflamatoria intestinal

La obesidad es un factor de riesgo bien establecido para el desarrollo de EHGNA, al igual que otros factores de riesgo metabólicos clásicos(14). La EHGNA a su vez es un factor de riesgo independiente para enfermedad cardiovascular aterosclerótica en ausencia de otra patología asociada(15). Sin embargo, cada vez hay más evidencia de que no todos los pacientes con EHGNA tienen sobrepeso u obesidad, y de que no todos los pacientes con sobrepeso u obesidad desarrollan EHGNA(16). De hecho, hasta un 20% de los pacientes con EHGNA son delgados y hasta un 40% no presentan obesidad(17,18). Además, los pacientes delgados con EHGNA tienen

peor pronóstico a largo plazo que los pacientes delgados sin EHGNA, lo que sugiere que el IMC no refleja adecuadamente el riesgo metabólico de estos individuos(18).

Hasta el momento, no se habían desarrollado estudios cuyo objetivo principal fuera estudiar la EHGNA en pacientes delgados con EII. *Saroli Palumbo et al* comunicaron en 2018 una mayor prevalencia de EHGNA y fibrosis hepática en pacientes con EII y sobrepeso/obesidad en comparación con pacientes delgados con EII, sin embargo, no incluyó grupo control compuesto por pacientes delgados sin EII(19). En 2019, *McHenry et al* reportaron una prevalencia de EHGNA del 20% en pacientes delgados con EC y del 10% en controles delgados sin EII, sin embargo, no estudiaron los factores relacionados con la misma ni la fibrosis hepática significativa(20).

Por tanto, los objetivos del segundo capítulo de la tesis son estudiar la prevalencia de EHGNA y fibrosis hepática significativa en pacientes delgados con EII, así como evaluar si la EII es un factor de riesgo para el desarrollo de EHGNA y/o fibrosis hepática en pacientes delgados. Además, evaluar si existen diferencias en los parámetros metabólicos entre los pacientes con EII y EHGNA en función del IMC.

Capítulo 3. Seroprevalencia de la infección por SARS-CoV-2 y respuesta inmunológica a la vacuna frente a SARS-CoV-2 en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal

Desde el inicio de la pandemia por COVID-19 se sugirió que los pacientes bajo tratamiento inmunosupresor podrían ser más susceptibles a la infección e incluso podrían desarrollar cuadros más graves(21,22). Además, existían dudas sobre el desarrollo de anticuerpos neutralizantes tras superar la infección en pacientes con enfermedades crónicas como la EII, y sobre la influencia de los diferentes tratamientos. De hecho, se publicaron datos controvertidos respecto a los niveles de anticuerpos en pacientes que recibían recibido fármacos biológicos(23,24).

Con el desarrollo de las vacunas frente a la infección por SARS-CoV-2 surgieron dudas sobre una posible respuesta vacunal subóptima en pacientes bajo tratamiento biológico. De hecho, las guías de práctica clínica recomiendan en líneas generales actualizar la pauta vacunal de los pacientes con EII con anterioridad al inicio del tratamiento con biológicos(25). Se han publicado varios estudios sobre la respuesta inmune humoral a la vacuna, que no necesariamente se corresponde por completo con la respuesta celular, sobre la que existe una evidencia mucho más limitada(26).

Los objetivos del tercer capítulo de esta tesis son determinar la seroprevalencia y factores de riesgo para la infección por SARS-CoV-2 en pacientes con EII, así como determinar la respuesta humoral y celular a la vacuna frente a SARS-CoV-2 en pacientes con EII y evaluar las diferencias en función del tratamiento biológico que reciben.

Capítulo 4. Papel de la fibrosis hepática en la progresión a carcinoma hepatocelular en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal y enfermedad hepática grasa no alcohólica

El objetivo del cuarto capítulo de esta tesis es presentar una revisión sistemática sobre la prevalencia y factores de riesgo de fibrosis hepática en pacientes con EHGNA y EII. En este capítulo también se discute sobre el papel de la fibrosis hepática en el desarrollo de carcinoma hepatocelular así como los mecanismos fisiopatológicos implicados en este proceso ya sean genéticos, metabólicos, inmunológicos o microbiológicos.

Este artículo resume la evidencia más reciente disponible sobre la fibrosis hepática en los pacientes con EHGNA y EII, y resalta la escasez de estudios clínicos en el momento actual sobre la incidencia y factores de riesgo de carcinoma hepatocelular en pacientes con EHGNA y EII. Esto contrasta con la realidad del momento, en la que la EHGNA es una causa creciente de carcinoma hepatocelular incluso en pacientes sin cirrosis, especialmente en países occidentales(27). Por tanto, con este trabajo se señala la necesidad de realizar estudios en el futuro que evalúen prospectivamente el desarrollo de carcinoma hepatocelular en pacientes con EII así como sus factores de riesgo, con el fin de guiar las estrategias de diagnóstico precoz.

Bibliografía Objetivos

1. 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):389-397.e10.
2. Barendregt J, De Jong M, Haans JJ, Van Hoek B, Hardwick J, Veenendaal R, et al. Liver test abnormalities predict complicated disease behaviour in patients with newly diagnosed Crohn's disease. *Int J Colorectal Dis*. 2017;32(4):459-67.
3. Silva J, Brito BS, Silva INDN, Nóbrega VG, Silva MCSMD, Gomes HDDN, et al. Frequency of Hepatobiliary Manifestations and Concomitant Liver Disease in Inflammatory Bowel Disease Patients. *BioMed Res Int*. 2019;2019:1-7.

4. Likhitsup A, Dundulis J, Ansari S, Patibandla S, Hutton C, Kennedy K, et al. High prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease receiving anti-tumor necrosis factor therapy. *Ann Gastroenterol*. 2019; 32(5):463-8.
5. Simon TG, Van Der Sloot KWJ, Chin SB, Joshi AD, Lochhead P, Ananthakrishnan AN, et al. *IRGM* Gene Variants Modify the Relationship Between Visceral Adipose Tissue and NAFLD in Patients With Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2018;24(10):2247-57.
6. Morsy KH, Hasanain AFA. Hepatobiliary disorders among naïve patients with ulcerative colitis in Upper Egypt. *Arab J Gastroenterol*. 2012;13(2):71-6.
7. Mancina RM, Spagnuolo R, Milano M, Brogneri S, Morrone A, Cosco C, et al. PNPLA3 148M Carriers with Inflammatory Bowel Diseases Have Higher Susceptibility to Hepatic Steatosis and Higher Liver Enzymes: *Inflamm Bowel Dis*. 2016;22(1):134-40.
8. Yen HH, Su PY, Huang SP, Wu L, Hsu TC, Zeng YH, et al. Evaluation of non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease using controlled attenuation parameter technology: A Taiwanese retrospective cohort study. *PLoS One*. 2021;16(5):e0252286.
9. Trifan A, Stafie R, Rotaru A, Stratina E, Zenovia S, Nastasa R, et al. Screening for Liver Steatosis and Fibrosis in Patients with Inflammatory Bowel Disease Using Vibration Controlled Transient Elastography with Controlled Attenuation Parameter. *J Clin Med*. 2022;11(19):5959.
10. Bessissow T, Le NH, Rollet K, Afif W, Bitton A, Sebastiani G. Incidence and Predictors of Nonalcoholic Fatty Liver Disease by Serum Biomarkers in Patients with Inflammatory Bowel Disease: *Inflamm Bowel Dis*. 2016;22(8):1937-44.
11. Chen J, Dan L, Tu X, Sun Y, Deng M, Chen X, et al. Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease and liver function markers are associated with Crohn's disease but not Ulcerative Colitis: a prospective cohort study. *Hepatol Int*. 2023;17(1):202-14.
12. Rodriguez-Duque JC, Calleja JL, Iruzubieta P, Hernández-Conde M, Rivas-Rivas C, Vera MI, et al. Increased risk of MAFLD and Liver Fibrosis in Inflammatory Bowel Disease Independent of Classic Metabolic Risk Factors. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2023;21(2):406-414.e7.
13. Carr RM, Patel A, Bownik H, Oranu A, Kerner C, Praestgaard A, et al. Intestinal Inflammation Does Not Predict Nonalcoholic Fatty Liver Disease Severity in Inflammatory Bowel Disease Patients. *Dig Dis Sci*. 2017;62(5):1354-61.

14. Duell PB, Welty FK, Miller M, Chait A, Hammond G, Ahmad Z, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Cardiovascular Risk: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2022;42(6):e168-85.
15. Mantovani A, Csermely A, Petracca G, Beatrice G, Corey KE, Simon TG, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of fatal and non-fatal cardiovascular events: an updated systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2021;6(11):903-13.
16. Eslam M, El-Serag HB, Francque S, Sarin SK, Wei L, Bugianesi E, et al. Metabolic (dysfunction)-associated fatty liver disease in individuals of normal weight. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2022;19(10):638-51.
17. Ren TY, Fan JG. What are the clinical settings and outcomes of lean NAFLD? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2021;18(5):289-90.
18. Xu R, Pan J, Zhou W, Ji G, Dang Y. Recent advances in lean NAFLD. *Biomed Pharmacother.* 2022;153:113331.
19. Saroli Palumbo C, Restellini S, Chao CY, Aruljothy A, Lemieux C, Wild G, et al. Screening for Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Inflammatory Bowel Diseases: A Cohort Study Using Transient Elastography. *Inflamm Bowel Dis.* 2019;25(1):124-33.
20. McHenry S, Sharma Y, Tirath A, Tsai R, Mintz A, Fraum TJ, et al. Crohn's Disease Is Associated With an Increased Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Cross-Sectional Study Using Magnetic Resonance Proton Density Fat Fraction Mapping. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2019;17(13):2816-8.
21. Sultan K, Durbin L, Bhardwaj R, Mackey J, Becher N, Abureesh M, et al. Corticosteroid and Biologic Use Not Associated With Adverse Outcomes for Inflammatory Bowel Disease Patients Hospitalized With COVID-19. *Gastroenterology Res.* 2021;14(6):324-33.
22. Wetwittayakhleng P, Albader F, Golovics PA, Hahn GD, Bessissow T, Bitton A, et al. Clinical Outcomes of COVID-19 and Impact on Disease Course in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Can J Gastroenterol Hepatol.* 2021;2021:7591141.
23. Kennedy NA, Goodhand JR, Bewshea C, Nice R, Chee D, Lin S, et al. Anti-SARS-CoV-2 antibody responses are attenuated in patients with IBD treated with infliximab. *Gut.* 2021;70(5):865-75.

24. Berte' R, Mazza S, Stefanucci MR, Noviello D, Costa S, Ciafardini C, et al. Seroprevalence of SARS-CoV2 in IBD Patients Treated with Biologic Therapy. *J Crohns Colitis*. 2021;15(5):864-8.
25. Ferreiro-Iglesias R, Piqueras M, Ricart E, Sempere L, Roca M, Martín De Carpi J, et al. Recomendaciones del Grupo Español de Trabajo en Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa sobre la importancia, el cribado y la vacunación en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. *Gastroenterol Hepatol*. 2022;45(10):805-18.
26. Jørgensen KK, Høivik ML, Chopra A, Benth JŠ, Ricanek P, Moum PB, et al. Humoral immune response to SARS-CoV-2 vaccination in patients with inflammatory bowel disease on immunosuppressive medication: association to serum drug levels and disease type. *Scand J Gastroenterol*. 2023;58(8):874-82.
27. Llovet JM, Kelley RK, Villanueva A, Singal AG, Pikarsky E, Roayaie S, et al. Hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Dis Primers*. 2021;7(1):1-28.

Aportaciones del doctorando

Samuel Jesús Martínez Domínguez ha estado implicado en diversos proyectos de investigación en el campo de las comorbilidades en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. Esta participación ha sido constante desde su incorporación en el año 2019 al servicio de Aparato Digestivo del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa y al grupo de investigación traslacional en patología digestiva (GIIS-027) del Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón (IIS Aragón).

El doctorando ha trabajado como miembro del equipo investigador de varios proyectos financiados en convocatoria competitiva en esta línea de investigación: Enfermedad hepática grasa no alcohólica en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. Estudio experimental del papel de la microbiota intestinal (PI21/01907, Instituto de Salud Carlos III), COVID-19 y enfermedad inflamatoria intestinal (DGACOVID-02, Gobierno de Aragón), Riesgo cardiovascular y papel de las lipoproteínas en su caracterización en los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal con y sin enfermedad metabólica asociada a enfermedad hepática grasa (GETECCU 2020, Grupo Español de Trabajo en Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa), y Prevalencia y factores de riesgo de enfermedad grasa hepática no alcohólica en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal y validación del score HEPAmet en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (GETECCU 2019, Grupo Español de Trabajo en Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa). Estos proyectos han derivado en varias publicaciones en revistas internacionales con factor de impacto, entre las que se incluyen las cuatro seleccionadas para esta tesis por compendio de publicaciones.

Estos proyectos han sido liderados por el Profesor Fernando Gomollón García, Profesor Titular de la Universidad de Zaragoza, Investigador Principal del Grupo de investigación traslacional en patología digestiva (GIIS-027) del IIS Aragón y director de esta tesis doctoral; así como por la Doctora Carla Jerusalén Gargallo Puyuelo, perteneciente al Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza y al IIS Aragón, y co-directora de esta tesis doctoral.

En 2023 el doctorando realizó una estancia internacional de investigación en el servicio de Aparato Digestivo del Hospital San Raffaele en Milán (Italia), tutelado por el profesor Silvio Danese. La estancia en este prestigioso centro a nivel internacional en el campo de la enfermedad inflamatoria intestinal permitió al doctorando ampliar sus conocimientos en el ámbito clínico e investigador así como realizar una publicación en colaboración con el equipo.

El doctorando ha participado de forma esencial en el diseño, desarrollo, análisis y publicación de los cuatro artículos científicos que conforman esta tesis doctoral, y que han sido aceptados en revistas científicas internacionales de reconocido prestigio durante el año 2023.

Su papel en las cuatro publicaciones ha sido el siguiente:

1. Martínez-Domínguez, S.J.; García-Mateo, S.; Gargallo-Puyuelo, C.J.; Gallego Llera, B.; Refaie, E.; Callau, P.; Mendi, C.; Baptista, P.M.; Hernández Ainsa, M.; Arroyo-Villarino, M.T.; López de la Cruz, J.; Martínez-García, J.; Alfambra, E.; Simón Marco, M.A.; Ampuero, J.; Gomollón, F. Crohn's Disease is an independent risk factor for liver fibrosis in patients with inflammatory bowel disease and non-alcoholic fatty liver disease. Eur J Intern Med. 2024; 120: 99-106. doi: 10.1016/j.ejim.2023.10.019. PMID: 37872034

Primer autor y autor de correspondencia.

Esta publicación versa sobre un estudio de casos-controles unicéntrico que incluyó 911 participantes, 741 casos con EII y 170 controles sin EII. El doctorando fue esencial en el diseño y desarrollo del estudio, ya que participó activamente en el reclutamiento de los participantes, en la revisión de historias clínicas, así como en la realización de entrevista clínica, mediciones antropométricas, ecografía hepática y elastografía de transición a cada paciente. El trabajo de campo se realizó en un momento complejo desde el punto de vista sanitario, social y económico, entre otros, debido a la pandemia por COVID-19. Además, el doctorando fue el principal responsable en la comunicación de los resultados preliminares en congresos nacionales (25ª Reunión anual de la Asociación Española de Gastroenterología en 2022) e internacionales (17º Congreso de la European Crohn's and Colitis Organisation en 2022, 30º United European Gastroenterology Week en 2022). Finalmente, el doctorando contribuyó significativamente al análisis estadístico, lideró la redacción de la primera versión del manuscrito como primer autor y se encargó de los trámites necesarios para su publicación como autor de correspondencia.

2. Martínez-Domínguez, S.J.; García-Mateo, S.; Gargallo-Puyuelo, C.J.; Gallego-Llera, B.; Callau, P.; Mendi, C.; Arroyo-Villarino, M.T.; Simón-Marco, M.A.; Ampuero, J.; Gomollón, F. Inflammatory Bowel Disease is an independent risk factor for metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease in lean individuals. *Inflamm Bowel Dis*. 2023. Online ahead of print. doi: 10.1093/ibd/izad175. PMID: 37607330.

Primer autor y autor de correspondencia.

Este estudio se focalizó en un análisis pormenorizado de los 300 casos y 80 controles delgados incluidos en el estudio de casos-controles previamente descrito, así como en la comparación de los resultados obtenidos en función del índice de masa corporal. Este trabajo se realizó a propuesta del doctorando ya que, durante el proceso de revisión de literatura para el artículo anterior, el doctorando detectó que se trataba un aspecto de creciente interés en Hepatología que no había sido explorado en detalle hasta el momento en los pacientes con EII. El doctorando participó activamente en el reclutamiento de los participantes, en la revisión de historias clínicas, así como en la realización de entrevista clínica, mediciones antropométricas, ecografía hepática y elastografía de transición a cada paciente. También fue el principal responsable de su comunicación en el 31º Congreso Internacional de la United European Gastroenterology Week en 2023. Finalmente, el doctorando contribuyó significativamente al análisis estadístico, lideró la redacción de la primera versión del manuscrito como primer autor y se encargó de los trámites necesarios para su publicación como autor de correspondencia.

3. Martínez-Domínguez, S.J.; García-Mateo, S.; Sainz-Arnal, P.; Martínez-García, J.; Gallego Llera, B.; Lozano Limones, M.J.; Hidalgo, S.; Gargallo-Puyuelo, C.J.; Latre Santos, M.; Nocito Colon, M.M.L.; Martínez-Lostao, L.; Refaie, E.; Arroyo-Villarino, M.T.; del Río-Nechaevsky, M.; Ramirez-Labrada, A.; Pardo, J.; Gomollón, F.; Baptista, P.M. Unravelling the cellular response to the SARS-COV-2 vaccine in inflammatory bowel disease patients on biologic drugs. *Sci Rep*. 2023, 13(1), 23061. doi: 10.1038/s41598-023-50537-y. PMID: 38155275

Primer autor y autor de correspondencia.

Este estudio surgió en el contexto epidemiológico mundial originado por la pandemia COVID-19. A consecuencia de las restricciones sanitarias en los primeros meses de 2020, el comienzo del estudio casos-contrroles correspondiente a las dos publicaciones anteriores tuvo que ser postpuesto, por lo que tanto el doctorando como el equipo investigador aprovecharon esta oportunidad para planificar un estudio de seroprevalencia de la infección por SARS-CoV-2 que se llevaría a cabo de forma paralela en 754 pacientes no vacunados con EII. Asimismo, ante la aparición de vacunas frente a la infección se estudió la respuesta inmunológica humoral y celular en 52 pacientes con EII. El doctorando participó en el reclutamiento y la entrevista clínica de los pacientes, así como lideró el análisis estadístico, la redacción de la primera versión del manuscrito como primer autor y el envío para publicación como autor de correspondencia. Además, el doctorando fue el responsable de su presentación en congresos nacionales (II Congreso Nacional Multidisciplinar COVID19 de las Sociedades Científicas de España en 2021, 24ª Reunión anual de la Asociación Española de Gastroenterología en 2021, 25ª Reunión anual de la Asociación Española de Gastroenterología en 2022) e internacionales (16º Congreso de la European Crohn's and Colitis Organisation en 2021).

4. Martínez-Domínguez, S.J.; García-Mateo, S.; Laredo, V.; Gargallo-Puyuelo, C.J.; Gallego Llera, B.; López de la Cruz, J.; Gomollón, F. Liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease and progression to hepatocellular carcinoma in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review. *Cancers*. 2023; 15(13), 3367. doi: 10.3390/cancers15133367. PMID: 37444477

Primer autor y autor de correspondencia.

Se trata de una revisión sistemática en la que el doctorando coordinó la estrategia de búsqueda, las búsquedas en las bases de datos e importación en gestor de referencias bibliográficas, el cribado de las referencias de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión, y la extracción de los datos. Además, se encargó de redactar la primera versión del manuscrito, así como del proceso de publicación en la revista como autor de correspondencia.

Capítulo 1: Prevalencia y factores de riesgo para enfermedad hepática grasa no alcohólica en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal

Crohn's Disease is an independent risk factor for liver fibrosis in patients with inflammatory bowel disease and non-alcoholic fatty liver disease. Eur J Intern Med. 2024; 120:99-106.

1.1 Métodos

Estudio transversal, de casos-controles, realizado en la unidad de EII del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza entre octubre de 2020 y octubre de 2021. Se incluyeron casos consecutivos de la unidad de EII con un diagnóstico establecido de CU, EC o CI. Los controles fueron casos consecutivos sin EII, que consultaron por un motivo no relacionado con sobrepeso/obesidad o intolerancia a la glucosa/diabetes a su médico de Atención Primaria, remitidos desde dos centros de salud de la misma área geográfica durante el mismo período de tiempo. Casos y controles fueron apareados por sexo y edad. Se excluyeron aquellos pacientes que reportaron un consumo significativo de alcohol (definido como >30 gramos/día en varones y >20 gramos/día en mujeres), uso de corticoides sistémicos en los 3 meses previos a la inclusión, uso actual o previo de metotrexato, embarazo, y la presencia de otras causas de enfermedad hepática crónica diferentes de la EHGNA (autoinmune, viral, colangitis esclerosante primaria o genética).

A cada participante se le realizó una evaluación clínica, revisión de historia clínica, mediciones antropométricas y evaluación de la presencia de esteatosis hepática y/o fibrosis hepática. Además, se realizó tanto a los casos como a los controles una analítica de sangre en ayunas en los 30 días posteriores al reclutamiento.

Se definió EHGNA como la presencia de cualquier grado de esteatosis hepática en ecografía hepática y/o un CAPTM > 248 dB/m. La esteatosis hepática ecográfica se clasificó en 3 grados: leve en caso de ligero incremento de la ecogenicidad del parénquima hepático en comparación con la del riñón, moderada en caso de mayor hiperecogenicidad del parénquima hepático y leve alteración en la distinción de grandes vasos y/o el diafragma, y grave en caso de marcada hiperecogenicidad hepática con ausencia o pobre distinción de grandes vasos y/o el diafragma. El punto de corte del CAPTM se escogió siguiendo las recomendaciones de la asociación española para el estudio del hígado (AEEH) y se clasificó la gravedad de la esteatosis hepática detectada por CAPTM en 3 grupos: S1 (248-279 dB/m), S2 (280-299 dB/m) y S3 (≥300 dB/m). La fibrosis hepática fue evaluada mediante ET (Fibroscan®) considerando fibrosis significativa en caso de elasticidad hepática ≥ 8 kPa (F2 o superior), ya que se ha demostrado que valores de elasticidad

hepática por debajo de esta cifra descartan adecuadamente enfermedad hepática avanzada. Sólo se consideraron válidos los valores de la ET obtenidos a partir de al menos 10 mediciones, con una ratio entre el rango intercuartílico y la mediana $\leq 30\%$.

Se calculó la prevalencia de EHGNA y fibrosis hepática significativa en casos y en controles. Se realizó un análisis univariante sobre los factores asociados al desarrollo de EHGNA y fibrosis hepática en los pacientes con EII. Además, se realizó un análisis multivariante ajustando por factores de confusión previamente seleccionados durante el diseño del estudio: edad, sexo, IMC, hipertensión arterial, DM2, resistencia a la insulina, dislipemia y uso previo de corticoides sistémicos.

1.2 Resultados

Se incluyeron en el estudio 741 casos con EII y 170 controles sin EII, sin diferencias en términos de edad y sexo ya que habían sido apareados. Tampoco se observaron diferencias entre los grupos en la prevalencia de DM2 o de obesidad. La mediana y rango de edad en los casos y controles fue 49 (18-86) años y 47 (18-80) años, y el porcentaje de mujeres fue del 51% y del 52%, respectivamente.

La prevalencia de EHGNA fue similar en casos y controles (45% vs. 40%, $p=0,255$) y, aunque la prevalencia de fibrosis hepática significativa fue numéricamente superior en los casos respecto a los controles (10% vs. 2,9%), no alcanzó la significación estadística ($p=0,062$) (*Figura 6*). La prevalencia de EHGNA tuvo una tendencia a incrementarse con el aumento de la edad de los pacientes con EII (desde el 22% en pacientes menores de 30 años hasta el 64% en pacientes de entre 70-80 años). Aunque la prevalencia de EHGNA no difirió significativamente entre CU y EC (45% vs. 44%, $p=0,870$), se observó una mayor prevalencia de fibrosis hepática significativa en pacientes con EC y EHGNA en comparación con los pacientes con CU y EHGNA (16% vs. 6%, $p=0,002$). No se observaron diferencias en la prevalencia de EHGNA y fibrosis hepática significativa en función de la actividad de la enfermedad.

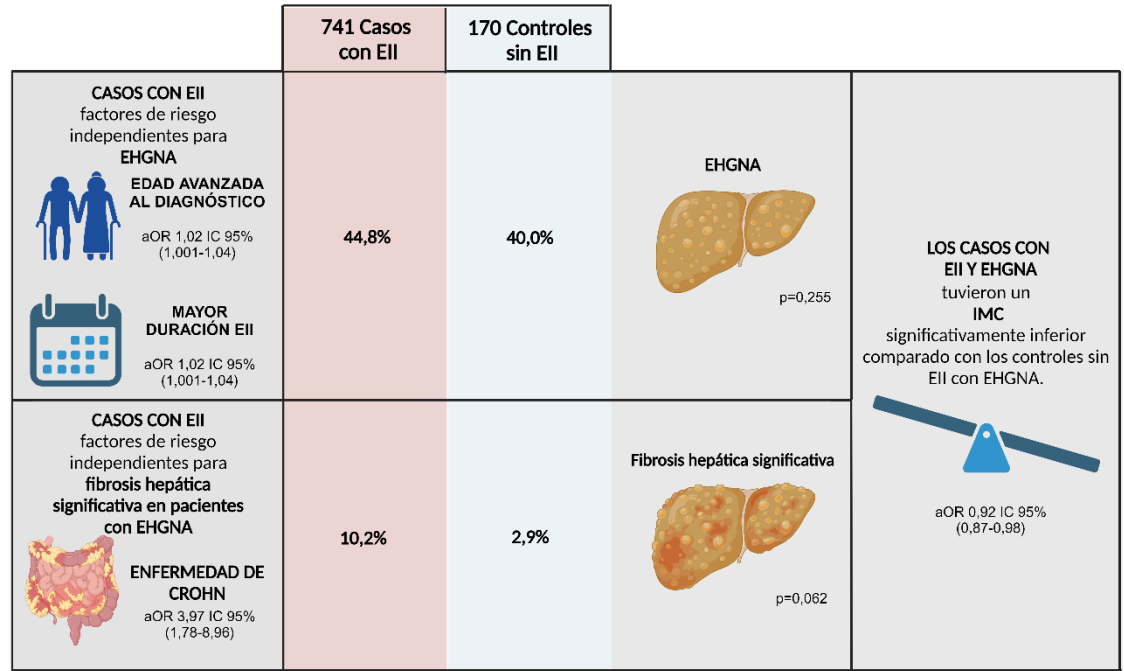
Los factores de riesgo cardiovascular clásicos (sexo masculino, edad avanzada, DM2, enfermedad cardiovascular, HTA, obesidad) se asociaron con la EHGNA en los pacientes con EII. En el análisis multivariante se confirmó que una mayor edad al diagnóstico de la EII (odds ratio ajustada [aOR] 1,02 IC95% (1,001-1,04)) y una mayor duración de la EII (aOR 1,02 IC95% (1,001-1,04)) eran factores de riesgo independientes para el desarrollo de EHGNA.

La HTA, la DM2, la resistencia a la insulina, un mayor IMC, la EC y la coexistencia de manifestaciones extraintestinales se asociaron al desarrollo de fibrosis hepática en pacientes con EII y EHGNA en el análisis univariante. En el análisis multivariante se confirmó que el diagnóstico de EC era un factor de riesgo independiente para el desarrollo de fibrosis hepática significativa en los pacientes con EII y EHGNA (aOR 3,97 IC95% (1,78-8,96)).

Por último, destacar que al comparar los pacientes con EHGNA en función de la presencia o no de EII, detectamos que la prevalencia de sobrepeso/obesidad es significativamente mayor en los controles sin EII (90% vs. 77%, $p=0,017$). Tras ajustar por factores de confusión, se confirmó que la EHGNA se desarrollaba con niveles más bajos de IMC en los casos con EII en comparación con los controles sin EII (aOR 0,92 IC95% (0,87-0,98)).

La siguiente figura resume los principales resultados descritos en el capítulo 1.

Figura 6. Prevalencia y factores asociados a EHGNA y fibrosis hepática significativa en casos y controles.



EHGNA: enfermedad hepática grasa no alcohólica. EII: enfermedad inflamatoria intestinal. IC: intervalo de confianza. IMC: índice de masa corporal. aOR: odds ratio ajustada. Esta figura ha sido creada con BioRender.com.

Este artículo ha sido publicado en *European Journal of Internal Medicine*, volumen 120 (2024).
Martínez-Domínguez SJ, García-Mateo S, Gargallo-Puyuelo CJ, Gallego Llera B, Refaie E, Callau P,
Mendi C, Baptista PM, Hernández Ainsa M, Arroyo-Villarino MT, López de la Cruz J, Martínez-
García J, Alfambra E, Simón Marco MA, Ampuero J, Gomollón F. Crohn's disease is an
independent risk factor for liver fibrosis in patients with inflammatory bowel disease and non-
alcoholic fatty liver disease. Páginas 99-106. © 2023 European Federation of Internal Medicine.
Publicado por Elsevier B.V. Todos los derechos reservados.

This article was published in *European Journal of Internal Medicine*, volume 120 (2024).
Martínez-Domínguez SJ, García-Mateo S, Gargallo-Puyuelo CJ, Gallego Llera B, Refaie E, Callau P,
Mendi C, Baptista PM, Hernández Ainsa M, Arroyo-Villarino MT, López de la Cruz J, Martínez-
García J, Alfambra E, Simón Marco MA, Ampuero J, Gomollón F. Crohn's disease is an
independent risk factor for liver fibrosis in patients with inflammatory bowel disease and non-
alcoholic fatty liver disease. Pages 99-106. © 2023 European Federation of Internal Medicine.
Published by Elsevier B.V. All rights reserved.



Original article

Crohn's disease is an independent risk factor for liver fibrosis in patients with inflammatory bowel disease and non-alcoholic fatty liver disease

Samuel J. Martínez-Domínguez^{a,b,c,#,*}, Sandra García-Mateo^{a,b,c,#}, Carla J. Gargallo-Puyuelo^{a,b,c}, Beatriz Gallego Llera^b, Engy Refaie^d, Pilar Callau^e, Carolina Mendi^f, Pedro M. Baptista^{b,g,h,i}, María Hernández Ainsa^{a,b}, María Teresa Arroyo-Villarino^{a,b,c}, Julia López de la Cruz^{a,b}, Javier Martínez-García^{b,c}, Erika Alfambra^b, Miguel Ángel Simón Marco^{a,b,c}, Javier Ampuero^{i,j,k,l}, Fernando Gomollón^{a,b,c,l}

^a Department of Gastroenterology, Lozano Blesa University Hospital, Zaragoza 50009, Spain

^b Aragón Health Research Institute (IIS Aragón), Zaragoza 50009, Spain

^c School of Medicine, University of Zaragoza, Zaragoza 50009, Spain

^d Scuola di Specializzazione in Chirurgia Generale, Università degli Studi di Pavia Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italy

^e Primary care center "Delicias Sur", Zaragoza 50009, Spain

^f Primary care center "Universitas", Zaragoza 50017, Spain

^g Biomedical Engineering Department Universidad Carlos III de Madrid, Madrid, Spain

^h Fundación ARAID (Fundación Agencia Aragonesa para la Investigación y el Desarrollo), Zaragoza 50018, Spain

ⁱ Unit for the Clinical Management of Digestive Diseases, Virgen del Rocío University Hospital, Spain

^j Department of Medicine, University of Sevilla, Spain

^k Institute of Biomedicine of Sevilla, Spain

^l CIBER Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Madrid 28029, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:

NAFLD

Liver fibrosis

Inflammatory bowel disease

ABSTRACT

Background and aims: Controversial data have been reported regarding the prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) in Inflammatory Bowel Disease (IBD) population and IBD-related risk factors. The aim of the study was to assess the prevalence and risk factors associated with NAFLD and liver fibrosis in IBD participants compared with non-IBD controls.

Methods: Cross-sectional, case-control study including 741 IBD cases and 170 non-IBD controls, matched by sex and age. All participants underwent liver ultrasound, transient elastography and laboratory tests. A logistic regression multivariable analysis was performed adjusting for classic metabolic risk factors and history of systemic steroid use.

Results: The prevalence of NAFLD and significant liver fibrosis was 45 % and 10 % in IBD group, and 40 % and 2.9 % in non-IBD group ($p = 0.255$ and 0.062 , respectively). Longer IBD duration (aOR 1.02 95 % CI (1.001–1.04)) and older age at IBD diagnosis (aOR 1.02 95 % CI (1.001–1.04)) were independent risk factors for NAFLD in IBD group. Crohn's Disease was an independent risk factor for significant liver fibrosis in participants with IBD and NAFLD (aOR 3.97 95 % CI (1.78–8.96)). NAFLD occurred at lower BMI levels in IBD group with NAFLD compared to non-IBD group with NAFLD (aOR 0.92 95 % CI (0.87–0.98)).

Abbreviations: ALP, Alkaline phosphatase; ALT, Alanine aminotransferase; AST, Aspartate aminotransferase; BAI, Body adiposity index; BMI, Body mass index; CAPTM, Controlled attenuation parameter; CD, Crohn's disease; CKD, Chronic kidney disease; CUN-BAE, Clínica universidad de navarra-body adiposity estimator; CV, Cardiovascular; DM, Diabetes mellitus; GGT, Gamma-glutamyl transferase; HbA1c, glycosylated haemoglobin; HBV, Hepatitis B virus; HCV, Hepatitis C virus; HDL, High density lipoproteins; HOMA, Homeostasis model assessment-insulin resistance; IBD, Inflammatory bowel disease; INR, International normalized ratio; MAFLD, Metabolic associated fatty liver disease; MASLD, Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease; NAFLD, Non-alcoholic fatty liver disease; LDL, Low density lipoproteins; SD, Standard deviation; TE, Transient elastography; UC, Ulcerative colitis; US, Ultrasound.

* Corresponding author at: Department of Gastroenterology, Lozano Blesa University Hospital, Avenue San Juan Bosco, no 15, Zaragoza 50009, Spain.

E-mail address: sjmartinezdo@salud.aragon.es (S.J. Martínez-Domínguez).

Dual first authorship due to equal contribution

<https://doi.org/10.1016/j.ejim.2023.10.019>

Received 2 August 2023; Received in revised form 9 October 2023; Accepted 13 October 2023

Available online 21 October 2023

0953-6205/© 2023 European Federation of Internal Medicine. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

Conclusions: Although we found no differences in the prevalence of NAFLD and liver fibrosis between IBD group and non-IBD group, our findings suggest that liver fibrosis progression should be closely monitored in patients with concomitant CD and NAFLD, more in particular in those with long standing active disease.

1. Introduction

Inflammatory Bowel Diseases (IBD) are chronic inflammatory pathologies that mainly affect gastrointestinal tract, including Crohn's Disease (CD), Ulcerative Colitis (UC) and Indeterminate Colitis (IC). The incidence of IBD is progressively increasing at the same time that new therapeutic targets are emerging in recent decades [1,2]. Lifestyle and the improved control of inflammatory activity have probably contributed to a new trend in the nutritional status of IBD patients [3].

Nowadays, overweight and obesity are the most frequent nutritional disorders in patients with IBD, being both well-established risk factors for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) [4,5]. NAFLD is already the most common liver disease worldwide and is becoming a leading cause of liver-related mortality through progression from steatosis to Non Alcoholic Steatohepatitis (NASH), liver cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma [6].

NAFLD represents 40 % of liver extraintestinal manifestations in IBD population and it is supposed to reflect liver involvement of metabolic syndrome [7], so it is associated with an increased cardiovascular risk [8]. To highlight the importance of metabolic disorders on its pathophysiology, a panel of international experts proposed in 2020 changing the term from Non Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) to Metabolic Associated Fatty Liver Disease (MAFLD) [9,10]. This change of terminology involved a modification of diagnostic criteria, based on the presence of liver steatosis associated with overweight/obesity, type 2 Diabetes Mellitus (DM) or other metabolic risk abnormalities in case of lean/normal weight [9,10]. More recently, in the new nomenclature for liver diseases announced in June 2023, NAFLD was replaced by the new term Metabolic disorder Associated Steatotic Liver Disease (MASLD)(5). Because the current study was performed before the introduction of the new nomenclature, with definitions based on NAFLD, we use in the following the term NAFLD.

In addition, intestinal inflammatory activity and its treatment have been proposed as potential causative agents of NAFLD [11]. However, controversial data regarding its prevalence in IBD population (between 6 % and 54 %) and IBD-related risk factors have been reported [12,13], mostly coming from uncontrolled studies that did not assess liver fibrosis, the determinant long-term prognostic marker of patients [14].

The gold standard for the diagnosis of steatosis and liver fibrosis is liver biopsy, considering NAFLD in case of steatosis in >5 % of hepatocytes in absence of other known causes of liver disease. However, non-invasive tests are usually used in clinical practice and most studies assessing the prevalence of NAFLD in IBD used a single non-invasive test. Despite ultrasonography (US) is the first line tool for diagnosis of steatosis, it can only detect steatosis above 12.5–20 %, so its combined use with the Controlled Attenuation Parameter (CAP™) can be helpful [15]. In addition, Transient Elastography (TE) shows good accuracy for the prediction of liver related events compared with liver biopsy [16].

Although current evidence strongly suggests that NAFLD is an important comorbidity in patients with IBD, it is necessary to discern if this could be explained exclusively by the increased prevalence of obesity and other risk factors or if IBD is an independent cause for NAFLD development. The most relevant clinical concern at present is the absence of well-established IBD-related factors to guide screening and prevention strategies.

Therefore, the primary aim of our study was to assess the prevalence and potential risk factors associated with NAFLD and liver fibrosis in patients with IBD compared with non-IBD controls, assessed by ultrasound and TE.

2. Materials and methods

2.1. Study design and recruitment

This is a cross-sectional, case-control study carried out in the IBD outpatient unit of Lozano Blesa University Hospital of Zaragoza (Spain) between October 2020 and October 2021.

Cases were consecutive outpatients from our reference IBD unit with established diagnosis of Crohn's Disease (CD), Ulcerative Colitis (UC) or Indeterminate Colitis (IC). Controls were outpatients without IBD matched by sex and age, recruited in two primary care centres belonging to the same health area. Controls specifically referred to the general practitioner in the study period because of overweight/obesity or glucose intolerance/diabetes were excluded. Exclusion criteria for both cases and controls were significant self-reported alcohol consumption (>20 g/day for women and >30 g/day for men), current or previous treatment with Methotrexate, use of systemic steroids in the last 3 months, pregnancy and previous diagnosis of chronic liver disease different from NAFLD such as viral, immune mediated, primary sclerosing cholangitis (PSC) or genetic (Alpha-1-Antitrypsin deficiency, storage diseases, hemochromatosis, Wilson).

All cases and all controls were interviewed, their medical records were reviewed, anthropometric measurements were taken and liver steatosis and fibrosis were assessed. In addition, current clinical status of cases was evaluated using validated questionnaires, and all cases and controls underwent a fasting blood draw in the first 30 days after enrolment.

We collected the following demographic variables: age, gender, self-reported alcohol consumption, smoking habit, drugs consumption and comorbidities (Chronic Kidney Disease (CKD), cardiovascular disease (CV), cerebrovascular disease, arterial hypertension, type 2 Diabetes Mellitus and current lipid-lowering treatment). Anthropometric variables measured were weight, height, folds (bicipital, tricipital, subscapular and suprailiac) and perimeters (arm, waist and hip). From these measurements Body Mass Index (BMI), fatty and muscular area of the arm, waist-hip index and body fat percentage were calculated. Blood laboratory tests included fasting glucose, glycosylated haemoglobin, fasting insulin, creatinine, albumin, cholesterol (total, HDL and LDL), triglycerides, liver profile, blood count, coagulation, C Reactive Protein, anti-HCV, HBsAg and Anti-HBc. Finally, we collected the following IBD related variables: date of diagnosis, type of IBD, location, pattern (CD), perianal disease, extraintestinal disease, previous surgeries and current and previous IBD treatment.

2.2. Definitions and diagnostic criteria

Diagnosis of CD and UC was established according to the European Crohn's and Colitis organisation (ECCO) criteria [17,18]. Localization or extension of IBD was defined using Montreal Classification for CD (ileal [L1], colonic [L2], ileocolonic [L3], isolated upper disease [L4]) or UC (proctitis, left-sided, pancolitis), respectively. Clinical remission was considered in case of partial Mayo score ≤1 or Harvey-Bradshaw Index ≤4 points.

Each patient underwent a liver US and a TE the same day by two trained gastroenterologists, after at least 4 h of fasting. For abdominal B-mode US a low frequency convex probe was used, and for TE a FibroScan® 430 Mini (Echosens) was used.

Ultrasonographic diagnosis of steatosis was graded as follows: mild if there was a slight increase of liver echogenicity (compared with kidney parenchyma) and normal visualization of portal vein wall and

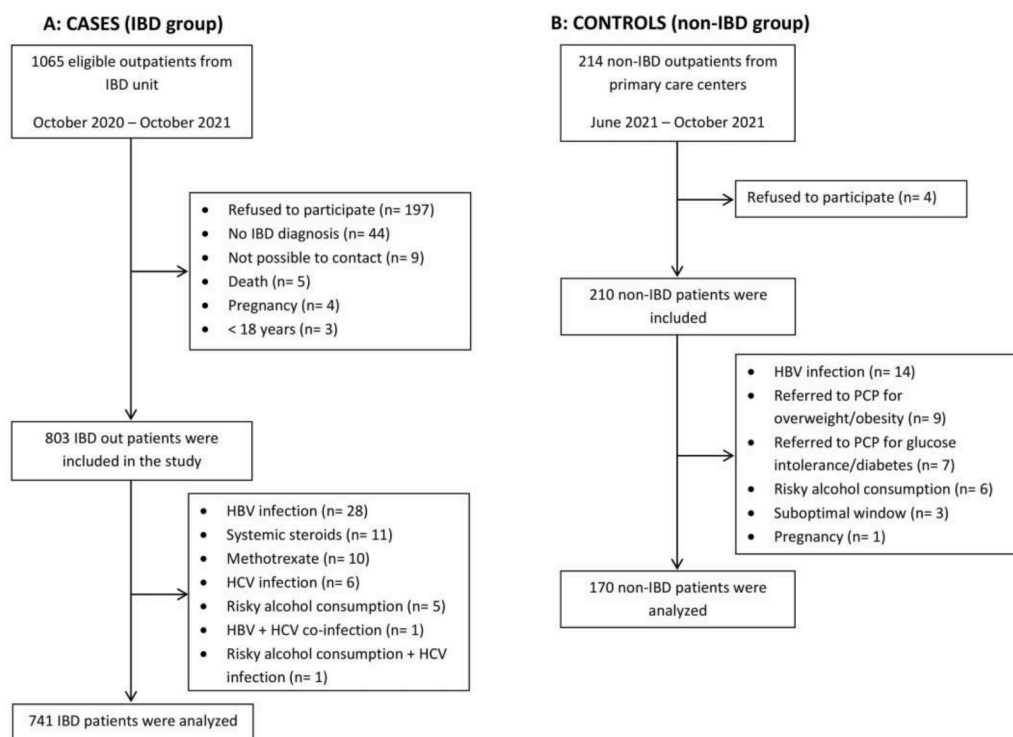


Fig. 1. Flowchart of participant selection (A: cases, B: controls). HBV: Hepatitis B Virus. HCV: Hepatitis C Virus. IBD: Inflammatory Bowel Disease. PCP: Primary Care Practitioner.

diaphragm, moderate when there was a higher increase of liver echogenicity with slight impaired of portal vein wall and diaphragm, and severe in case of marked increase of liver echogenicity with absence or poor visualization of portal vein wall, diaphragm or posterior right liver lobe [19]. TE informed of liver stiffness (kPa) and liver steatosis by Controlled Attenuation Parameter (CAP™, dB/m)[20]. Only participants with 10 valid measurements and interquartile range/median liver stiffness ratio $\leq 30\%$ were considered suitable. Steatosis was graded based on CAP™ as follows: S0 (<248 dB/m), S1 (248–279 dB/m), S2 (280–299 dB/m) and S3 (≥ 300 dB/m) [21]. Liver stiffness was classified using the following cut-offs: F0-F1 (<8 kPa), F2 (8–9.6 kPa), F3 (9.7–13.5 kPa) and F4 (≥ 13.6 kPa) [22].

NAFLD was defined as any grade of US steatosis or CAP™ >248 dB/m. Significant liver fibrosis was considered in case of liver stiffness ≥ 8 kPa (F2 or higher)(20).

2.3. Study endpoints

The primary outcomes of the study were [1] To compare the prevalence of NAFLD between IBD group and non-IBD group, [2] To assess the prevalence of significant liver fibrosis in IBD group and non-IBD group.

The secondary outcomes of the study were to identify factors associated with NAFLD and liver fibrosis, more in particular IBD-related factors.

2.4. Statistical analysis

Statistical analysis was performed using Jamovi version 2.3.21. Normality was assessed using Kolmogorov–Smirnov test, where $p \geq 0.05$ means normality. Clinical and demographic characteristics were presented as absolute and relative frequencies for qualitative variables. Quantitative variables were presented as mean and Standard Deviation (SD) or mean and range in case of non-normal distribution. The relationship between categorical variables was assessed using Chi Square

test or Fisher's test, as appropriate. *T*-student test or Mann–Whitney U test were used in case of quantitative variables, as appropriate. To uncover the causal effect of IBD on NAFLD, a logistic regression multivariable analysis was performed, presented as crude and adjusted Odds Ratio (aOR) and a 95 % Confidence Interval (95 % CI). Based on the previous knowledge, we included the following pre-selected confounding factors: age, sex, BMI, arterial hypertension, type 2 DM, insulin resistance, dyslipidemia and previous systemic steroids use in the previous 5 years. For all tests, a p -value < 0.05 was considered statistically significant.

The sample size was estimated considering the expected number of outpatients with IBD seen in our unit during 1 year. Cases and controls were matched by sex and age in a 4:1 ratio.

2.5. Ethical statement

The study protocol conformed to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki (6th revision, 2008) as reflected in a priori approval by the Ethics Committee of Aragón (code PI19/451). All included patients provided written informed consent.

3. Results

3.1. Baseline characteristics of participants

Initially, 1065 outpatients from our IBD unit and 214 non-IBD outpatients from primary care centres were eligible to participate in the study. After application of the inclusion and exclusion criteria, 803 IBD cases and 210 non-IBD controls were included in the study. Patients with clearly recognized significant alcohol consumption were not invited to participate in the study. Subsequently, patients with a previously unnoticed risky alcohol consumption identified during the study interview were excluded (Fig. 1). In addition, non-IBD controls referred to primary care practitioner for overweight/obesity or glucose intolerance/diabetes were excluded (reasons for referral to primary care of non-IBD controls

Table 1
Baseline characteristics of IBD group and non-IBD group.

Characteristics	IBD group (n = 741)	Non-IBD group (n = 170)	p value*
Clinical characteristics			
Female sex, n (%)	374 (50.5)	88 (51.8)	0.761
Age, median (range)	49 (18–86)	47 (18–80)	0.335
Smoking habit			
Active smokers, n (%)	144 (19.4)	33 (19.4)	
Previous smokers, n (%)	341 (46.0)	55 (32.4)	
Passive smokers, n (%)	25 (3.4)	12 (7.1)	
Never smokers, n (%)	231 (31.2)	70 (41.2)	
Illegal drug consumption, n (%)	5 (0.7)	1 (0.6)	1.000
Comorbidities			
Chronic Kidney Disease, n (%)	28 (3.8)	8 (4.7)	0.484
Cardiovascular Disease, n (%)	30 (4.0)	1 (0.6)	0.019
Cerebrovascular Disease, n (%)	10 (1.3)	4 (2.4)	0.310
Treated arterial hypertension, n (%)	118 (15.9)	30 (17.6)	0.583
Systolic blood pressure (mmHg), mean±SD	135.0 ± 19.1	133.0 ± 15.0	0.467
Diastolic blood pressure (mmHg), mean±SD	79.7 ± 10.7	81.6 ± 9.6	0.036
Type 2 DM, n (%)	47 (6.3)	12 (7.1)	0.732
Hypercholesterolemia drugs, n (%)	130 (17.5)	26 (15.3)	0.483
Triglyceride lowering drugs, n (%)	57 (7.7)	4 (2.4)	0.010
Liver assessment			
NAFLD, n (%)	332 (44.8)	68 (40.0)	0.255
Ultrasound steatosis, n (%)	266 (35.9)	58 (34.1)	0.662
Steatosis grade by ultrasound, n (%)			0.051
Mild	118 (15.9)	15 (8.8)	
Moderate	95 (12.8)	31 (18.2)	
Severe	52 (7.0)	12 (7.1)	
CAP™ (dB/m), median (range)	230 (100–400)	231 (100–400)	0.451
Steatosis based on CAP™, n (%)	299 (40.4)	68 (40.0)	0.933
Steatosis grade by CAP™, n (%)			0.642
S0	442 (59.6)	102 (60.0)	
S1	94 (12.7)	22 (12.9)	
S2	74 (10.0)	12 (7.1)	
S3	131 (17.7)	34 (20.0)	
FIB-4, mean±SD	1.02 ± 0.59	1.00 ± 0.52	0.835
NAFLD fibrosis score, mean±SD	−2.20 ± 1.32	−1.95 ± 1.41	0.120
HEPAmet, mean±SD	0.05 ± 0.08	0.05 ± 0.08	0.262
Liver fibrosis assessment in patients with NAFLD (n = 400)			
Significant liver fibrosis based on TE, n (%)	34 (10.2)	2 (2.9)	0.062
Liver stiffness (kPa), median (range)	5.1 (2.4–44.2)	5.2 (2.8–8.8)	0.651
Fibrosis stage by TE, n (%)			0.324
F0-F1	298 (89.8)	66 (97.1)	
F2	18 (5.4)	2 (2.9)	
F3	12 (3.6)	0 (0.0)	
F4	4 (1.2)	0 (0.0)	
Anthropometric measures			
Body Mass Index			
BMI (kg/m ²), median (range)	25.3 (15.4–43.0)	25.6 (16.7–40.2)	0.462
Obesity, n (%)	133 (17.9)	37 (21.8)	0.249
Overweight/obesity, n (%)	389 (52.5)	91 (53.5)	0.808
Fold measurement			
Bicipital fold (mm), median (range)	9 (2–35)	9 (2–24)	0.282
Tricipital fold (mm), median (range)	15 (2–47)	16 (4–37)	0.440
Subscapular fold (mm), median (range)	18 (2–55)	17 (5–40)	0.751
Suprailiac fold (mm), median (range)	25 (2–75)	18 (2–47)	<0.001
Perimeter measurement			
Arm perimeter (cm), median (range)	28.5 (15–43)	29 (20.5–39.0)	0.791
Waist perimeter (cm), mean±SD	92.4 ± 14.1	91.3 ± 14.0	0.352

Table 1 (continued)

Characteristics	IBD group (n = 741)	Non-IBD group (n = 170)	p value*
Hip perimeter (cm), median (range)	101 (67–144)	102 (62–137)	0.325
Arm muscle perimeter (cm), mean±SD	23.4 ± 3.6	23.6 ± 3.2	0.601
Arm muscle area (cm ²), median (range)	43.6 (8.4–106.0)	44.2 (21.4–77.6)	0.884
Arm fat area (cm ²), median (range)	18.8 (2.4–77.9)	19.8 (4.7–61.4)	0.465
Waist-hip ratio, mean±SD	0.90 ± 0.09	0.88 ± 0.09	0.015
Body fat percentage (%), mean ±SD CUN-BAE	31.4 ± 8.1	31.8 ± 8.9	0.579
Body fat percentage (%), median (range) BAI	28.4 (15.1–53.4)	29 (11.3–51.2)	0.077
Analytical characteristics			
Glycemic control and insulin resistance			
Fasting glucose levels (mg/dL), median (range)	95 (65–431)	97 (67–200)	0.057
HbA1c (%), median (range)	5.4 (4.1–12.8)	5.5 (4.0–8.9)	0.027
Fasting insulin levels (μU/ml), median (range)	6.9 (2–130)	8.0 (1.1–89.2)	0.088
HOMA-IR, median (range)	1.67 (0.19–45.90)	1.89 (0.28–25.30)	0.079
Creatinine (mg/dL), median (range)	0.8 (0.3–4.1)	0.8 (0.5–1.3)	0.895
GFR (ml/min), median±SD	110 ± 38.2	119 ± 35.2	0.014
Serum albumin (g/dL), median (range)	4.0 (0.9–5.1)	4.0 (3.4–4.8)	0.648
Lipid profile			
Total cholesterol (mg/dL), mean ±SD	190 ± 38	196 ± 36	0.063
LDL (mg/dL), mean±SD	109 ± 33.5	116 ± 32.8	0.017
HDL (mg/dL), median (range)	56 (21–133)	55.5 (29–104)	0.488
Low HLD-cholesterol (<40 mg/dL), n (%)	66 (8.9)	17 (10.1)	0.636
Triglycerides (mg/dL), median (range)	96 (29–3087)	97 (37–375)	0.528
Hypertriglyceridemia (>150 mg/dL), n (%)	144 (19.5)	33 (19.5)	0.991
Liver profile			
Total bilirubin (mg/dL), median (range)	0.5 (0.1–3.7)	0.5 (0.1–1.9)	0.603
AST (U/L), median (range)	20 (1–143)	20 (10–55)	0.955
ALT (U/L), median (range)	17 (4–132)	18 (5–224)	0.054
GGT (U/L), median (range)	19 (5–1372)	19 (5–188)	0.959
ALP (U/L), median (range)	69 (17–241)	69.5 (31–155)	0.762
Platelet count (10 ³ /mm ³), median (range)	255 (47–522)	233 (136–391)	<0.001
INR, median (range)	0.97 (0.76–2.60)	0.94 (0.80–2.50)	<0.001
C-reactive protein (mg/L), median (range)	2.35 (0.02–219.00)	1.50 (0.00–149.00)	<0.001

ALP: Alkaline phosphatase. ALT: Alanine aminotransferase. AST: Aspartate aminotransferase. BAI: Body adiposity index. BMI: Body mass index. CAP™: Control attenuation parameter. CUN-BAE: clínica universidad de navarra-body adiposity estimator. dB: decibel. FIB-4: Fibrosis-4 Index. GFR: Glomerular filtration rate. GGT: Gamma-glutamyl transferase. HbA1c: glycosylated haemoglobin. HDL: High density lipoproteins. HOMA: Homeostasis model assessment-insulin resistance. IBD: Inflammatory bowel disease. INR: International normalized ratio. kPa: kilopascal. NAFLD: Non-alcoholic fatty liver disease. LDL: Low density lipoproteins. SD: Standard deviation. TE: Transient elastography. Type 2 DM: Type 2 diabetes mellitus. *For the qualitative variables Chi-square test or Fisher's test were used, and for quantitative variables t-student or Mann–Whitney U test, as appropriate (p values in bold indicate statistical significance: p < 0.05).

are detailed in **Supplementary Table 1**). After the clinical and laboratory evaluation 62 cases and 40 controls were excluded, so 741 IBD cases and 170 non-IBD controls were finally analysed.

Due to the study design, IBD group and non-IBD group did not differ in terms of age and sex. In addition, the distribution of type 2 DM and BMI was homogeneous between both groups (**Table 1**). Participants

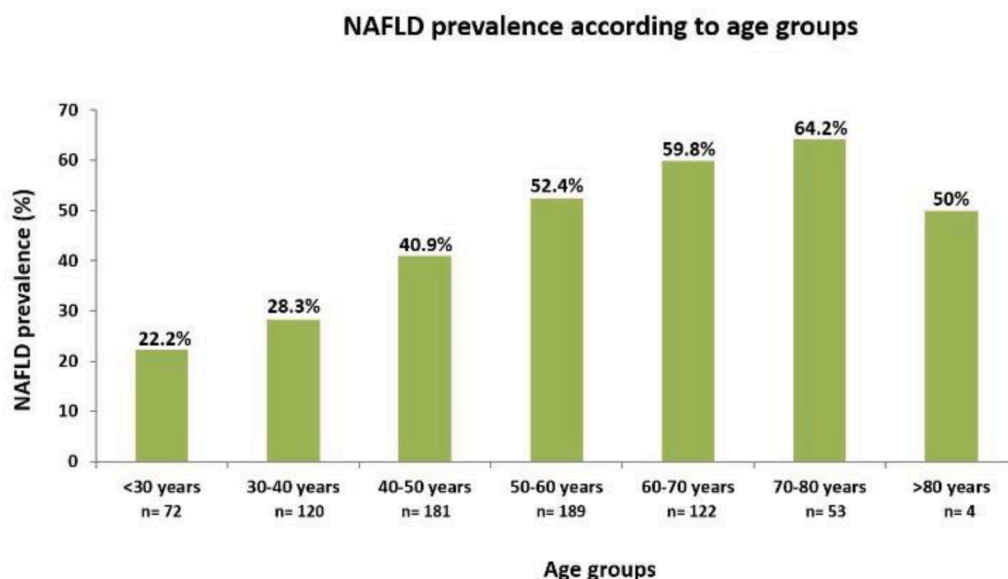


Fig. 2. NAFLD prevalence in IBD group according to age groups. NAFLD: Non-Alcoholic Fatty Liver Disease.

came from Europe, Africa and South America. Prevalence of prior smoking habit and cardiovascular (CV) disease were significantly higher in IBD group compared with non-IBD group (smoking: 46 % vs. 32 %, $p = 0.002$; CV disease: 4 % vs. 0.6 %, $p = 0.019$). No differences in the prevalence of CKD or other comorbidities were observed between IBD group and non-IBD group.

Median age at diagnosis of IBD was 35 (1–77) years and median IBD duration was 11 (0–46) years. The most common type of IBD was UC (53 %) followed by CD (46 %) and IC (1 %). Most of them achieved clinical remission (90 % for UC and 95 % for CD) and 39 % were under biologic therapy at inclusion (*Supplementary Table 2*).

3.2. Prevalence of NAFLD and significant liver fibrosis

The prevalence of NAFLD was similar in IBD group and non-IBD group (45 % vs. 40 %, $p = 0.255$). Although the prevalence of significant liver fibrosis was numerically higher in IBD group compared with non-IBD group (10% vs. 3 %), this finding did not reach statistical significance ($p = 0.062$) (*Table 1*). There were no significant differences between fibrosis and CAP stages of both IBD group and non-IBD group. A trend towards increasing NAFLD prevalence with increasing age was observed in the IBD group (*Fig. 2*).

When IBD group was analysed according to the presence of IBD activity, we found no differences in the prevalence of NAFLD (47 % vs. 45 %, $p = 0.780$) and significant liver fibrosis (15% vs. 10 %, $p = 0.502$) (*Supplementary Table 3*).

The prevalence of NAFLD did not differ when UC and CD were compared (45 % vs. 44 %, $p = 0.870$). However, a higher prevalence of significant liver fibrosis was found in patients with CD and NAFLD compared with patients with UC and NAFLD (16 % vs. 6 %, $p = 0.002$). Patients with UC had older age and higher levels of total cholesterol and LDL (*Table 2*).

3.3. Risk factors for NAFLD and significant liver fibrosis in IBD group

Male sex, older age, type 2 DM, cardiovascular disease, arterial hypertension and obesity were associated with NAFLD in IBD group. In addition, IBD group with NAFLD had an increased waist to hip ratio, worse glycemic and lipid control, increased insulin resistance and higher risk of liver fibrosis compared with IBD group without NAFLD. Regarding IBD features, older age at diagnosis and longer duration of IBD were associated with NAFLD in IBD group in the univariable

analysis (*Supplementary Table 4*).

Multivariable analysis confirmed that older age at IBD diagnosis (aOR 1.02 95 % CI (1.001–1.04)) and longer IBD duration (aOR 1.02 95 % CI (1.001–1.04)) were independent risk factors for NAFLD in participants with IBD (*Table 3*).

Regarding liver fibrosis in IBD group with NAFLD, arterial hypertension, type 2 DM, insulin resistance (HOMA), higher BMI, diagnosis of CD, disease activity in patients with UC and the coexistence of extra-intestinal manifestations were associated with higher risk of significant liver fibrosis in univariable analysis (*Supplementary Table 5*). Multivariable analysis (*Table 3*) confirmed that diagnosis of CD was an independent risk factor for the development of significant liver fibrosis in participants with IBD and NAFLD (aOR 3.97 95 % CI (1.78–8.96)).

3.4. Characteristics of patients with NAFLD according to IBD diagnosis

When characteristics of IBD group and non-IBD group with NAFLD were compared, a higher prevalence of overweight/obesity was found in non-IBD group (90 % vs. 77 %, $p = 0.017$).

Univariable analysis showed significantly higher levels of BMI and LDL in non-IBD group with NAFLD (*Supplementary Table 6*). Treatment with triglyceride lowering drugs was more frequent in IBD group. After adjustment for age, sex, arterial hypertension, diabetes, dyslipidaemia and previous systemic steroids use, multivariable analysis confirmed that NAFLD occurred at lower BMI levels in IBD group with NAFLD compared to non-IBD group with NAFLD (crude OR 0.92 95 % CI (0.87–0.98); adjusted OR 0.92 95 % CI (0.87–0.98)).

4. Discussion

This study assessed the prevalence of NAFLD and significant liver fibrosis in one of the largest IBD cohorts published to date. Controversial data on the prevalence of NAFLD in IBD population have been previously published, ranging from less than 10 % [23] to around 50 % [24], being a minority of them controlled studies. Recently, Rodríguez-Duque et al. [25] reported a significantly increased prevalence of NAFLD and liver fibrosis in IBD participants (42.0 % and 9.5 %, respectively) compared with non-IBD controls coming from a population-based cohort.

Although we found no differences in the prevalence of NAFLD and liver fibrosis between IBD group and non-IBD group coming from the same geographic area, our findings confirmed that NAFLD frequently

Table 2
Baseline characteristics of IBD group, detailed by IBD type.

Characteristics	Ulcerative colitis (n = 396)	Crohn's disease (n = 336)	p value*
Clinical characteristics			
Female sex, n (%)	191 (48.2)	176 (52.4)	0.263
Age, mean±SD	50.8 ± 13.4	47.1 ± 14.2	<0.001
Smoking habit			
Active smokers, n (%)	39 (9.8)	104 (31.0)	<0.001
Previous smokers, n (%)	204 (51.5)	134 (39.9)	
Passive smokers, n (%)	16 (4.0)	8 (2.4)	
Never smokers, n (%)	137 (34.6)	90 (26.8)	
Illegal drug consumption, n (%)	3 (0.8)	2 (0.6)	1.000
Comorbidities			
Chronic Kidney Disease, n (%)	15 (3.8)	12 (3.6)	0.852
Cardiovascular Disease, n (%)	18 (4.5)	10 (3.0)	0.270
Cerebrovascular Disease, n (%)	1 (0.3)	9 (2.7)	0.007
Arterial hypertension, n (%)	66 (16.7)	50 (14.9)	0.510
Systolic blood pressure (mmHg), mean ± SD	137.0 ± 19.2	134.0 ± 18.7	0.011
Diastolic blood pressure (mmHg), mean±SD	80.5 ± 10.7	78.8 ± 10.6	0.032
Type 2 DM, n (%)	27 (6.8)	18 (5.4)	0.412
Hypercholesterolemia drugs, n (%)	78 (19.7)	50 (14.9)	0.087
Triglyceride lowering drugs, n (%)	25 (6.3)	31 (9.2)	0.140
Liver assessment			
NAFLD, n (%)	178 (44.9)	149 (44.3)	0.870
Steatosis grade by CAP™, n (%)			0.177
S0	242 (61.1)	196 (58.3)	
S1	49 (12.4)	43 (12.8)	
S2	45 (11.4)	28 (8.3)	
S3	60 (15.2)	69 (20.5)	
FIB-4, mean±SD	1.06±0.54	0.98±0.64	0.075
NAFLD fibrosis score, mean±SD	−2.12±1.23	−2.30±1.39	0.069
HEPAmet, mean±SD	0.04 ± 0.07	0.05 ± 0.09	0.264
Liver fibrosis assessment in patients with NAFLD (n = 327)			
Significant liver fibrosis based on TE, n (%)	10 (5.6)	24 (16.1)	0.002
Liver stiffness (kPa), median (range)	4.4 (2.0–20.0)	4.7 (1.9–44.2)	0.098
Fibrosis stage by TE, n (%)			0.010
F0-F1	168 (94.4)	125 (83.9)	
F2	5 (2.8)	13 (8.7)	
F3	3 (1.7)	9 (6.0)	
F4	2 (1.1)	2 (1.3)	
Anthropometric measures			
Body Mass Index			
BMI (Kg/m ²), median (range)	25.4 (15.4–43.0)	25.1 (16.2–40.7)	0.343
Obesity, n (%)	72 (18.2)	60 (17.9)	0.909
Overweight/obesity, n (%)	216 (54.5)	171 (50.9)	0.324
Fold measurement			
Bicipital fold (mm), median (range)	9 (2–34)	9 (2–35)	0.824
Tricipital fold (mm), median (range)	15 (2–47)	15 (2–43)	0.554
Subscapular fold (mm), median (range)	18 (5–55)	18 (2–52)	0.450
Suprailiac fold (mm), median (range)	25 (6–75)	25 (2–70)	0.569
Perimeter measurement			
Arm perimeter (cm), mean±SD	28.9 ± 3.6	28.6 ± 3.7	0.238
Waist perimeter (cm), mean±SD	92.9 ± 14.0	92.1 ± 14.2	0.449
Hip perimeter (cm), median (range)	101.0 (67.0–144.0)	101.0 (75.5–134.0)	0.696
Arm muscle perimeter (cm), mean±SD	23.7 ± 3.6	23.4 ± 3.7	0.229
Arm muscle area (cm ²), mean ±SD	45.9 ± 13.8	44.6 ± 14.2	0.150
Arm fat area (cm ²), mean±SD	21.6 ± 11.9	21.5 ± 11.6	0.868
Waist-hip ratio, mean±SD	0.91 ± 0.09	0.90 ± 0.09	0.469

Table 2 (continued)

Characteristics	Ulcerative colitis (n = 396)	Crohn's disease (n = 336)	p value*
Body fat percentage (%), mean ±SD CUN-BAE	31.5 ± 7.8	31.3 ± 8.5	0.707
Body fat percentage (%), median (range) BAI	28.3 (15.1–53.4)	28.3 (16.3–50.3)	0.896
Analytical characteristics			
Glycemic control and insulin resistance			
Fasting glucose levels (mg/dL), median (range)	95 (65–431)	93(68–176)	0.083
HbA1c (%), median (range)	5.5 (4.1–12.8)	5.4 (4.2–9.6)	0.015
HOMA-IR, median (range)	1.8 (0.2–24.4)	1.5 (0.4–45.9)	0.386
Creatinine (mg/dL), median (range)	0.8 (0.3–4.1)	0.8 (0.4–1.7)	0.682
Lipid profile			
Total cholesterol (mg/dL), mean ±SD	194.0 ± 36.2	184.0 ± 39.3	<0.001
LDL (mg/dL), mean ± SD	116.0 ± 32.0	102.0 ± 33.6	<0.001
HDL (mg/dL), median (range)	56 (28–107)	55.5 (21.0–133.0)	0.413
Triglycerides (mg/dL), median (range)	90 (30–442)	102 (29–3087)	<0.001
Liver profile			
Total bilirubin (mg/dL), median (range)	0.49 (0.10–3.66)	0.46 (0.09–3.14)	0.035
AST (UI/L), median (range)	20 (8–143)	20 (1–137)	0.073
ALT (UI/L), median (range)	17 (5–132)	16.5 (4.0–131.0)	0.036
GGT (UI/L), median (range)	19 (5–253)	18 (6–1372)	0.480
ALP (UI/L), median (range)	68 (17–241)	70 (26–217)	0.371
Platelet count (10 ³ /mm ³), median (range)	251 (85–464)	266 (47–522)	0.010
INR, median (range)	0.97 (0.78–1.28)	0.96 (0.76–2.60)	0.134
C-reactive protein (mg/L), median (range)	2.10 (0.02–159.00)	2.71 (0.03–219.00)	0.003

ALP: Alkaline phosphatase. ALT: Alanine aminotransferase. AST: Aspartate aminotransferase. BAI: Body adiposity index. BMI: Body mass index. CAP™: Control attenuation parameter. CUN-BAE: Clínica universidad de navarra-body adiposity estimator. dB: decibel. GGT: Gamma-glutamyl transferase. HbA1c: glycosylated haemoglobin. HDL: High density lipoproteins. HOMA: Homeostasis model assessment-insulin resistance. IBD: Inflammatory bowel disease. INR: International normalized ratio. kPa: kilopascal. NAFLD: Non-alcoholic fatty liver disease. LDL: Low density lipoproteins. SD: Standard deviation. TE: Transient elastography. Type 2 DM: Type 2 diabetes mellitus. *For the qualitative variables Chi-square test or Fisher's test was used, and for quantitative variables *t*-student or Mann–Whitney U test, as appropriate (*p* values in bold indicate statistical significance: *p* < 0.05).

Table 3
IBD related factors for NAFLD and significant liver fibrosis.

IBD related factors	Crude OR (95 % CI)	Adjusted OR (95 % CI)
NAFLD		
Age at IBD diagnosis	1.03 (1.02–1.04)	1.02 (1.001–1.04)
IBD duration	1.03 (1.01–1.04)	1.02 (1.001–1.04)
Significant liver fibrosis in patients with NAFLD		
Crohn's disease	3.32 (1.53–7.19)	3.97 (1.78–8.96)
Ulcerative colitis	0.32 (0.15–0.70)	0.28 (0.12–0.62)
Extraintestinal manifestations	2.32 (1.06–5.05)	2.10 (0.92–4.80)

BMI: Body mass index. DM: Diabetes mellitus. IBD: Inflammatory bowel disease. NAFLD: Non-alcoholic fatty liver disease. Logistic regression multivariable analysis included: age, sex, BMI, arterial hypertension, type 2 DM, dyslipidemia and previous steroid use.

coexists with IBD (NAFLD: 45 %, Significant liver fibrosis: 10 %). The absence of differences in the prevalence of NAFLD between IBD group and non-IBD group could be explained by the high prevalence of NAFLD found in controls from our area compared to other studies carried out in general population (around 25–30 %) [26].

Our results were consistent with the pathogenesis of NAFLD and risk factors well-established to date [27]. We found an association between older age and higher BMI, classic metabolic risk factors, and NAFLD in IBD group. Interestingly, we noticed significantly lower BMI levels in IBD group with NAFLD compared to non-IBD group with NAFLD, after adjusting for confounding factors (aOR 0.92 95 % CI (0.87–0.98)). This could be explained by a closer follow-up in patients with IBD and hence potentially better correction of comorbidities compared to the general population. This finding suggests that IBD might play a role in addition to classical risk factors in the development of NAFLD. At the same time, higher BMI levels were associated with NAFLD within IBD group, as well as other studies described in the general population.

Several studies reported the association between NAFLD and IBD-related factors such as type of IBD, disease activity, complicated course, previous surgery or age at diagnosis [13,24,25,28–34]. Nevertheless, they did not agree on the same factors and other studies failed to find an association between NAFLD and IBD-related factors [35–38]. This could be explained, at least in part, by the heterogeneity of study designs and diagnostic methods for liver disease (US, Computed Tomography, Magnetic Resonance Imaging, serum biomarkers).

Considering the possible underdiagnosis of US in case of mild steatosis, all participants underwent simultaneously both US and TE including CAP™. It allowed a more exhaustive evaluation using two non-invasive tests widely available in real clinical practice. We identified that longer IBD duration and older age at IBD diagnosis were independent risk factors for NAFLD in IBD group. This finding again suggests that IBD could contribute to the development of NAFLD; however, it should be interpreted with caution because, despite being statistically significant, the magnitude of the effect is modest. We did not find association between NAFLD and IBD activity, and it could be partially explained by the small sample size of IBD participants with disease activity. Our findings were consistent with *Sourianarayanan et al.*, who reported that older age at diagnosis was associated with an increased risk of NAFLD(11); and with *Sagami et al.* and *Glassner et al.*, who identified longer IBD duration as a risk factor to develop NAFLD (32,33). Nevertheless, these studies did not assess either the prevalence of liver fibrosis or its potential risk factors.

Little evidence has been published on significant liver fibrosis in IBD population with NAFLD(25,29), probably because liver biopsy was necessary before the development of non-invasive diagnostic tests. We measured liver stiffness through TE, which can be influenced by some factors (inflammation, oedema, altered liver blood flow), but TE has shown good accuracy for the prediction of liver related events compared with liver biopsy [16]. Most studies failed to identify IBD-related risk factors [35,37,39], however, we found that Crohn's Disease but not Ulcerative Colitis was an independent risk factor for significant liver fibrosis in IBD group with NAFLD (aOR 3.97 95 % CI (1.78–8.96)). These findings suggest that fibrosis progression should be closely monitored in patients with concomitant CD and NAFLD, more in particular in those with long standing active disease.

Finally, we acknowledge the following limitations of our study. First, the absence of a subgroup of participants diagnosed by liver histology. Second, the small sample size of cases with IBD activity. Third, the absence of a prospective follow-up of participants. Fourth, the high prevalence of NAFLD found in non-IBD group from our area compared to other studies carried out in general population could influence the absence of differences in the prevalence of NAFLD between IBD group and non-IBD group. However, the main strengths of the study were its large sample size, the presence of a control group belonging to the same health area (sharing similar geographic and environmental conditions) and the evaluation of liver disease thorough both US and TE, two widely available diagnostic methods in daily clinical practice.

Funding

This work was supported by “Diputación General de Aragón” [code:

DGACOV-02].

CRediT authorship contribution statement

Samuel J. Martínez-Domínguez: Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Funding acquisition, Data curation, Writing – original draft. **Sandra García-Mateo:** Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Funding acquisition, Data curation, Writing – original draft. **Carla J. Gargallo-Puyuelo:** Conceptualization, Methodology, Funding acquisition, Writing – review & editing. **Beatriz Gallego Llera:** Data curation, Writing – review & editing. **Engy Refaie:** Data curation, Writing – review & editing. **Pilar Callau:** Data curation, Writing – review & editing. **Carolina Mendi:** Data curation, Writing – review & editing. **Pedro M. Baptista:** Data curation, Writing – review & editing. **María Hernández Ainsa:** Data curation, Writing – review & editing. **María Teresa Arroyo-Villarino:** Writing – review & editing. **Julia López de la Cruz:** Data curation, Writing – review & editing. **Javier Martínez-García:** Data curation, Writing – review & editing. **Erika Alfambra:** Data curation, Writing – review & editing. **Miguel Ángel Simón Marco:** Conceptualization, Methodology, Writing – review & editing. **Javier Ampuero:** Conceptualization, Methodology, Writing – review & editing. **Fernando Gomollón:** Conceptualization, Methodology, Funding acquisition, Supervision, Writing – review & editing.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding this project.

Data availability

The data underlying this article will be shared on reasonable request to the corresponding author.

Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.ejim.2023.10.019](https://doi.org/10.1016/j.ejim.2023.10.019).

References

- [1] Kaplan GG, Windsor JW. The four epidemiological stages in the global evolution of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2021;18(1):56–66.
- [2] Chaparro M, Garre A, Núñez Ortiz A, Diz-Lois Palomares M, Rodríguez C, Riestra S, et al. Incidence, clinical characteristics and management of inflammatory bowel disease in Spain: large-scale epidemiological study. *J Clin Med* 2021;10(13):2885.
- [3] Roncoroni L, Gori R, Elli L, Tontini GE, Doneda L, Norsa L, et al. Nutrition in patients with inflammatory bowel diseases: a narrative review. *Nutrients* 2022;14(4):751.
- [4] Bischoff SC, Escher J, Hébuterne X, Kłęk S, Krznaric Z, Schneider S, et al. ESPEN guideline: clinical nutrition in inflammatory bowel disease. *Nutr Hosp* 2022 [cited 2023 Feb 1]; Available from: <https://www.nutricionhospitalaria.org/articles/03857/show>.
- [5] Rinella ME, Lazarus JV, Ratzliff V, Francque SM, Sanyal AJ, Kanwal F, et al. A multi-society Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. *Hepatol Baltim Md* 2023. Online ahead of print.
- [6] Karlsen TH, Sheron N, Zelber-Sagi S, Carrieri P, Dusheiko G, Bugianesi E, et al. The EASL–Lancet liver commission: protecting the next generation of Europeans against liver disease complications and premature mortality. *Lancet* 2022;399(10319):61–116.
- [7] Tilg H, Effenberger M. From NAFLD to MAFLD: when pathophysiology succeeds. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2020;17(7):387–8.
- [8] Gibiino G, Sartini A, Gitto S, Binda C, Sbrancia M, Coluccio C, et al. The other side of malnutrition in inflammatory bowel disease (IBD): non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrients* 2021;13(8):2772.
- [9] Eslam M, Sanyal AJ, George J, Sanyal A, Neuschwander-Tetri B, Tiribelli C, et al. MAFLD: a consensus-driven proposed nomenclature for metabolic associated fatty liver disease. *Gastroenterology* 2020;158(7):1999–2014. e1.
- [10] 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):202–9.

- [11] Sourianarayanan A, Garg G, Smith TH, Butt MI, McCullough AJ, Shen B. Risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 2013;7(8):e279–85.
- [12] Barendregt J, de Jong M, Haans JJ, van Hoek B, Hardwick J, Veenendaal R, et al. Liver test abnormalities predict complicated disease behaviour in patients with newly diagnosed Crohn's disease. *Int J Colorectal Dis* 2017;32(4):459–67.
- [13] Likhitsup A. High prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease receiving anti-tumor necrosis factor therapy. *Ann Gastroenterol* 2019 [cited 2023 Feb 1]; Available from: <http://www.annalsgastro.gr/files/journals/1/earlyview/2019/ev-07-2019-09-AG4642-0405.pdf>.
- [14] Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, Adams LA, Björnsson ES, Charatcharoenwithaya 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.
- [15] European Association for the Study of the Liver. Electronic address: easloffice@easloffice.eu, clinical practice guideline panel, Chair, EASL governing board representative, panel members: EASL clinical practice guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis - 2021 update. *J Hepatol* 2021;75(3):659–89.
- [16] Boursier J, Hagström H, Ekstedt M, Moreau C, Bonacci M, Cure S, et al. Non-invasive tests accurately stratify patients with NAFLD based on their risk of liver-related events. *J Hepatol* 2022;76(5):1013–20.
- [17] Magro F, Gionchetti P, Eliakim R, Ardizzone S, Armuzzi A, Barreiro-de Acosta M, et al. Third European evidence-based consensus on diagnosis and management of ulcerative colitis. Part 1: definitions, diagnosis, extra-intestinal manifestations, pregnancy, cancer surveillance, surgery, and ileo-anal pouch disorders. *J Crohns Colitis* 2017;11(6):649–70.
- [18] Gomollón F, Dignass A, Annese V, Tilg H, Van Assche G, Lindsay JO, et al. 3rd European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease 2016. Part 1: diagnosis and medical management. *J Crohns Colitis* 2017;11(1):3–25.
- [19] Ferraioli G, Soares Monteiro LB. Ultrasound-based techniques for the diagnosis of liver steatosis. *World J Gastroenterol* 2019;25(40):6053–62.
- [20] Aller R, Fernández-Rodríguez C, Lo Iacono O, Bañares R, Abad J, Carrión JA, et al. Documento de consenso. Manejo de la enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA). Guía de práctica clínica. *Gastroenterol Hepatol* 2018;41(5):328–49.
- [21] Asociación Española para el Estudio del Hígado, José Luis Calleja, Juan Turnes. EHGNA. Enfermedad de hígado graso no alcohólico: un estudio integral. Madrid: Libroacadémico, S.L.; 2021. p. 200. Available from: <https://fundaciongaspacasal.org/ehgna-enfermedad-de-higado-graso-no-alcoholico-un-estudio-integral/>.
- [22] Eddowes PJ, Sasso M, Allison M, Tsochatzis E, Anstee QM, Sheridan D, et al. Accuracy of FibroScan controlled attenuation parameter and liver stiffness measurement in assessing steatosis and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2019;156(6):1717–30.
- [23] Silva J, Brito BS, Silva INdN, Nóbrega VG, da Silva MCSM, Gomes HDdN, et al. Frequency of hepatobiliary manifestations and concomitant liver disease in inflammatory bowel disease patients. *BioMed Res Int* 2019;2019:1–7.
- [24] Hoffmann P, Jung V, Behnisch R, Gauss A. Prevalence and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel diseases: a cross-sectional and longitudinal analysis. *World J Gastroenterol* 2020;26(46):7367–81.
- [25] Rodríguez-Duque JC, Calleja JL, Iruzubieta P, Hernández-Conde M, Rivas-Rivas C, Vera MI, et al. Increased risk of MAFLD and liver fibrosis in inflammatory bowel disease independent of classic metabolic risk factors. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2023;21(2):406–14. e7.
- [26] Rinella ME, Neuschwander-Tetri BA, Siddiqui MS, Abdelmalek MF, Caldwell S, Barb D, et al. AASLD practice guidance on the clinical assessment and management of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2023;77(5):1797.
- [27] Powell EE, Wong VWS, Rinella M. Non-alcoholic fatty liver disease. *Lancet* 2021;397(10290):2212–24.
- [28] van Lingen E, Tushuizen ME, Steenhuis MEJ, van Deynen T, Martens J, Morales DDI, et al. Disease activity in inflammatory bowel disease patients is associated with increased liver fat content and liver fibrosis during follow-up. *Int J Colorectal Dis* 2022;37(2):349–56.
- [29] McHenry S, Sharma Y, Tirath A, Tsai R, Mintz A, Fraum TJ, et al. Crohn's disease is associated with an increased prevalence of nonalcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study using magnetic resonance proton density fat fraction mapping. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2019;17(13):2816–8.
- [30] Yen HH, Su PY, Huang SP, Wu L, Hsu TC, Zeng YH, et al. Evaluation of non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease using controlled attenuation parameter technology: a Taiwanese retrospective cohort study. *Chuang W.L. PLOS One* 2021;16(5):e0252286.
- [31] Sartini A, Gitto S, Bianchini M, Verga MC, Di Girolamo M, Bertani A, et al. Non-alcoholic fatty liver disease phenotypes in patients with inflammatory bowel disease. *Cell Death Dis* 2018;9(2):87.
- [32] Glassner K, Malaty HM, Abraham BP. Epidemiology and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease among patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2017;23(6):998–1003.
- [33] Sagami S, Ueno Y, Tanaka S, Fujita A, Hayashi R, Oka S, et al. Significance of non-alcoholic fatty liver disease in Crohn's disease: a retrospective cohort study: NAFLD significance in Crohn's disease. *Hepatol Res* 2017;47(9):872–81.
- [34] Bessissow T, Le NH, Rollet K, Afif W, Bitton A, Sebastiani G. Incidence and predictors of nonalcoholic fatty liver disease by serum biomarkers in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2016;22(8):1937–44.
- [35] Magri S, Paduano D, Chicco F, Cingolani A, Farris C, Delogu G, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease: beyond the natural history. *World J Gastroenterol* 2019;25(37):5676–86.
- [36] Principi M, Iannone A, Losurdo G, Mangia M, Shahini E, Albano F, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in inflammatory bowel disease: prevalence and risk factors. *Inflamm Bowel Dis* 2018;24(7):1589–96.
- [37] Saroli Palumbo C, Restellini S, Chao CY, Aruljothy A, Lemieux C, Wild G, et al. Screening for nonalcoholic fatty liver disease in inflammatory bowel diseases: a cohort study using transient elastography. *Inflamm Bowel Dis* 2019;25(1):124–33.
- [38] Carr RM, Patel A, Bownik H, Oranu A, Kerner C, Praestgaard A, et al. Intestinal inflammation does not predict nonalcoholic fatty liver disease severity in inflammatory bowel disease patients. *Dig Dis Sci* 2017;62(5):1354–61.
- [39] Ribaldone DG, Garavagno M, Pellicano R, Bresso F, Fagoonee S, David E, et al. Prevalence and prognostic value of hepatic histological alterations in patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2015;50(12):1463–8.

Capítulo 2. Prevalencia y factores de riesgo para enfermedad hepática grasa no alcohólica en pacientes delgados con enfermedad inflamatoria intestinal

Inflammatory Bowel Disease is an independent risk factor for metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease in lean individuals. *Inflamm Bowel Dis.* 2023 Aug 22: izad175.

2.1 Métodos

Estudio transversal, de casos-controles, realizado en la unidad de EII del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza entre octubre de 2020 y octubre de 2021. Los casos fueron pacientes consecutivos de la unidad de EII con un diagnóstico establecido de CU, EC o CI. Los controles fueron pacientes consecutivos sin EII, que consultaron por un motivo no relacionado con sobrepeso/obesidad o intolerancia a la glucosa/diabetes a su médico de Atención Primaria, remitidos desde dos centros de salud de la misma área geográfica durante el mismo período de tiempo. Se excluyó a aquellos pacientes con antecedente de uso de corticoides sistémicos o metotrexato en los 2 años previos a la inclusión en el estudio, de consumo significativo de alcohol (definido como > 30 gramos al día en varones y > 20 gramos al día en mujeres), de embarazo, y ante la presencia de otras causas de enfermedad hepática crónica diferentes de la EHGNA (autoinmune, viral, colangitis esclerosante primaria o genética).

El trabajo de campo fue común al realizado en el artículo presentado en el capítulo 1, de tal forma que a cada participante se le realizó una evaluación clínica, mediciones antropométricas, revisión de historia clínica, y evaluación de la presencia de esteatosis hepática y/o fibrosis hepática. Además, se realizó tanto a los casos como a los controles una analítica de sangre en ayunas dentro de los 30 días posteriores al reclutamiento.

Las técnicas diagnósticas y definiciones empleadas para el diagnóstico de EHGNA y fibrosis hepática fueron las mismas que se han descrito en el capítulo 1. Se diagnosticó EHGNA en presencia de cualquier grado de esteatosis hepática en ecografía hepática y/o un CAPTM > 248 dB/m. La fibrosis hepática fue evaluada mediante ET (Fibroscan®) considerando fibrosis significativa en caso de elasticidad hepática ≥ 8 kPa (F2 o superior).

Este artículo se focalizó específicamente en analizar la prevalencia y factores asociados al desarrollo de EHGNA y fibrosis hepática en los pacientes delgados con EII. Además, también se compararon los resultados obtenidos en pacientes delgados y pacientes con sobrepeso u obesidad. Este análisis pormenorizado se justificó principalmente en 3 razones: el creciente y reciente interés en la investigación sobre el desarrollo de EHGNA en pacientes sin factores de riesgo cardiovascular clásicos, la escasez de estudios que evaluaran específicamente este tema

en pacientes con EII, y el hallazgo de que los pacientes con EII desarrollan la EHGNA con un IMC significativamente inferior al de la población general sin EII, tal y como se ha presentado en el capítulo 1.

En este artículo se clasificó a los pacientes en los siguientes grupos en función del IMC: bajo peso ($< 18,5 \text{ kg/m}^2$), normopeso ($18,5\text{-}24,9 \text{ kg/m}^2$), sobrepeso ($25,0\text{-}29,9 \text{ kg/m}^2$) y obesidad ($\geq 30 \text{ kg/m}^2$). Para población no asiática, definimos individuos delgados como $\text{IMC} < 25 \text{ kg/m}^2$.

Se calculó la prevalencia de EHGNA y fibrosis hepática significativa en casos y en controles en función del IMC. Se realizó un análisis univariante sobre los factores asociados al desarrollo de EHGNA y fibrosis hepática en los pacientes delgados con EII. Además, se realizó un análisis multivariante ajustando por factores de confusión previamente seleccionados durante el diseño del estudio: edad, sexo, IMC, índice cintura-cadera, HTA, DM2, resistencia a la insulina, tabaquismo, dislipemia y uso previo de corticoides sistémicos.

2.2 Resultados

Se incluyeron 300 casos con EII delgados, 346 casos con EII con sobrepeso u obesidad, 80 controles sin EII delgados y 106 controles sin EII con sobrepeso u obesidad (*Figura 7*). No hubo diferencias en sexo, edad y factores de riesgo cardiovascular clásicos entre los casos con EII delgados y los controles sin EII delgados. Los participantes provenían de Europa, África y América.

La prevalencia de EHGNA en pacientes con sobrepeso u obesidad (67% en casos con EII y 71% en controles sin EII) fue mayor que en los pacientes delgados (21% en casos con EII y 10% en controles sin EII). La prevalencia de EHGNA fue significativamente mayor en casos con EII delgados en comparación con controles sin EII delgados (21% vs. 10%, $p=0,022$) así como en los casos con EII con normopeso en comparación con controles sin EII con normopeso (22% vs. 11%, $p=0,037$). Sin embargo, no se observaron diferencias entre casos y controles en pacientes con sobrepeso/obesidad (67% vs. 71%, $p=0,442$) o cuando se analizó todos los pacientes independientemente de su IMC (46% vs. 45%, $p=0,801$).

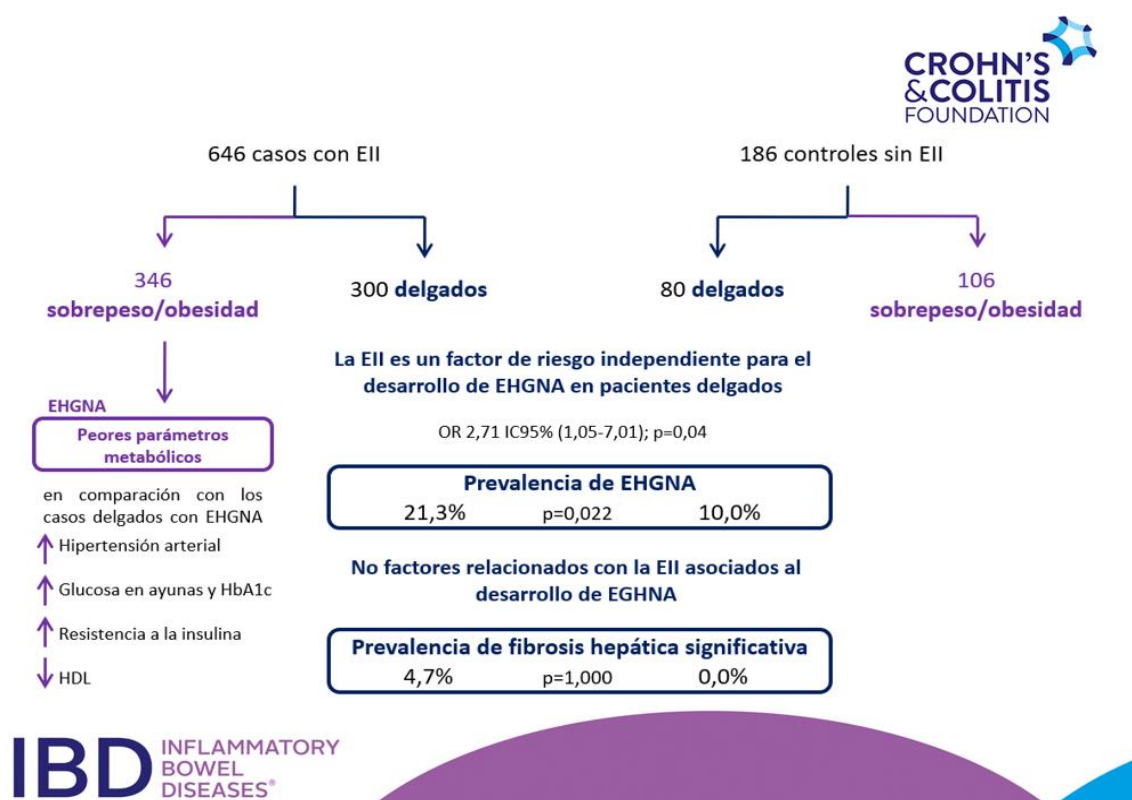
No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la prevalencia de fibrosis hepática significativa en casos delgados con EII y controles delgados sin EII (4,7% vs. 0,0%, $p=1,000$). Tampoco se observaron diferencias en los grupos de sobrepeso/obesidad ni de normopeso.

En el análisis multivariante se confirmó la que la EII fue un factor de riesgo independiente para el desarrollo de EHGNA en pacientes delgados (aOR 2,71 IC95% (1,05-7,01), $p=0,04$). Aunque el antecedente de resección intestinal previa se asoció a la EHGNA en el análisis univariante, no se encontró asociación entre ningún factor relacionado con la EII y la EHGNA en el análisis multivariante.

Cuando se analizaron los casos con EII y EHGNA en función del IMC, aquellos con sobrepeso/obesidad presentaron peores parámetros metabólicos que los delgados (mayor prevalencia de hipertensión arterial, menores niveles de colesterol HDL, y mayores niveles de HOMA (Homeostatic Model Assessment of insulin resistance), glucosa en ayunas y hemoglobina glicosilada).

La siguiente figura resume los principales resultados descritos en el capítulo 2.

Figura 7. Prevalencia y factores asociados a EHGNA y fibrosis hepática significativa en casos y controles en función del índice de masa corporal



EGHNA: enfermedad hepática grasa no alcohólica. EII: enfermedad inflamatoria intestinal. HbA1c: hemoglobina glicosilada. HDL: high density lipoprotein (lipoproteínas de alta densidad). OR: odds ratio.

Inflammatory Bowel Disease Is an Independent Risk Factor for Metabolic Dysfunction–Associated Steatotic Liver Disease in Lean Individuals

Samuel J. Martínez-Domínguez, MD,^{*,†,‡,a} Sandra García-Mateo, MD,^{*,†,‡,a}
Carla J. Gargallo-Puyuelo, PhD,^{*,†,‡} Beatriz Gallego-Llera, PhD,[†] Pilar Callau, MD,[§]
Carolina Mendi, MD,[¶] María Teresa Arroyo-Villarino, PhD,^{*,†,‡} Miguel Ángel Simón-Marco, PhD,^{*,†,‡}
Javier Ampuero, PhD,^{||,*,†,‡,‡} and Fernando Gomollón, PhD^{*,†,‡,‡}

From the *Department of Gastroenterology, Lozano Blesa University Hospital, Zaragoza, Spain;

[†]Digestive Pathology Translational Research Group, Aragón Health Research Institute, Zaragoza, Spain

[‡]Department of Medicine, School of Medicine, University of Zaragoza, Zaragoza, Spain

[§]Primary care center Delicias Sur, Zaragoza, Spain

[¶]Primary care center Universitat, Zaragoza, Spain

^{||}Department of Digestive Diseases, Virgen del Rocío University Hospital, Sevilla, Spain

^{**}Department of Medicine, University of Sevilla, Sevilla, Spain

^{††}Clinical and Translational Research Group in Liver and Digestive Diseases, Biomedicine Institute of Sevilla, Sevilla, Spain

^{‡‡}Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas, Madrid, Spain.

^aJoint first authors.

Address correspondence to: Samuel J. Martínez-Domínguez, MD, Department of Gastroenterology and Hepatology, Lozano Blesa University Hospital, Avenue San Juan Bosco, nº 15, 50009 Zaragoza, Spain (samuelmartinez94@hotmail.com).

Background: Despite classical association between metabolic dysfunction–associated steatotic liver disease (MASLD) and obesity, there is increasing evidence on the development of MASLD in lean individuals. The aim of the study was to assess the prevalence and risk factors of MASLD and significant liver fibrosis in lean participants with inflammatory bowel disease (IBD).

Methods: This was a cross-sectional, case-control study including 300 lean cases with IBD and 80 lean controls without IBD, matched by sex and age. All participants underwent a liver ultrasound, transient elastography, and laboratory tests.

Results: The lean IBD group showed a significantly higher prevalence of MASLD compared with lean non-IBD group (21.3% vs 10%; $P = .022$), but no differences were observed in the prevalence of significant liver fibrosis (4.7% vs 0.0%; $P = 1.000$). No differences were found between the prevalence of MASLD in IBD and non-IBD participants who were overweight/obese (66.8% vs 70.8%; $P = .442$). In addition, the prevalence of MASLD was significantly higher in the overweight/obese IBD group compared with the lean IBD group ($P < .001$). IBD was an independent risk factor for MASLD in lean participants (odds ratio [OR], 2.71; 95% confidence interval [CI], 1.05–7.01; $P = .04$), after adjusting for classic metabolic risk factors and prior history of systemic steroid use. Nevertheless, no association between IBD related factors and MASLD was identified in lean IBD participants. When the overweight/obese and lean IBD groups with MASLD were compared, the overweight/obese IBD group with MASLD showed higher levels of the homeostatic model assessment of insulin resistance (OR, 1.49; 95% CI, 1.11–1.98; $P = .007$) and history of smoking (OR, 4.66; 95% CI, 1.17–18.49; $P = .029$).

Conclusions: MASLD prevalence was higher in the lean IBD group compared with lean non-IBD group, independent of classic metabolic risk factors.

Key Words: lean MASLD, liver fibrosis, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, ulcerative colitis

Introduction

The prevalence of metabolic dysfunction–associated steatotic liver disease (MASLD) is increasing significantly over time, affecting up to a third of the world's population.¹ Thus, MASLD has become a leading cause of liver disease and transplantation.² It comprises a wide histological spectrum, commonly nonalcoholic fatty liver (liver steatosis affecting $\geq 5\%$ hepatocytes with no evidence of inflammation), and less frequently, it progresses to nonalcoholic steatohepatitis (liver steatosis accompanied by inflammation and hepatocyte injury) and liver fibrosis.³ The development of fibrosis

stages F3 or F4 has been associated with an increased risk of decompensate cirrhosis, hepatocellular carcinoma, and death.⁴ In fact, MASLD was recently identified as the fastest growing cause of hepatocellular carcinoma in liver transplant candidates.⁵

Although the pathogenesis of MASLD is not fully understood, many pathophysiological links with metabolic syndrome have been reported. Indeed, the liver is considered a key determinant of metabolic abnormalities.⁶ MASLD is associated with visceral adiposity, insulin resistance, and atherogenic dyslipidemia, conditions closely related to increased

Received for publication: June 3, 2023. Editorial Decision: July 26, 2023

© 2023 Crohn's & Colitis Foundation. Published by Oxford University Press on behalf of Crohn's & Colitis Foundation.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Key Messages

- What is already known? Obesity is a well-established risk factor for metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD), but not all patients with MASLD in the general population are overweight/obese.
- What is new here? Inflammatory bowel disease (IBD) itself was a risk factor for MASLD in lean individuals, independent of classic metabolic risk factors and prior history of systemic steroid use. No association between IBD-related factors and MASLD was identified in the lean IBD group.
- How can this study help patient care? These findings suggest that MASLD should also be suspected in lean patients with IBD, and lifestyle measures could be prescribed to treat or prevent this entity.

cardiovascular risk. However, MASLD is a well-recognized independent risk factor for atherosclerotic cardiovascular disease, regardless of associated diseases.⁶⁻⁸

Despite classical association between MASLD and obesity, there is cumulative evidence that not all overweight/obese individuals develop MASLD and that not all patients with MASLD are necessarily obese.⁹ The term “lean MASLD” is used when it develops in underweight or normal-weight individuals based on body mass index (BMI). It was first reported in Asia, and its prevalence is around a quarter of individuals with MASLD.¹⁰ Noteworthy, lean patients with MASLD have worse long-term outcomes than lean patients without MASLD, suggesting that BMI does not adequately represent metabolic risk of these individuals.¹¹

Although inflammatory bowel diseases (IBDs) are chronic inflammatory entities mainly involving the gastrointestinal tract, liver extraintestinal manifestations often coexist. Several factors such as lifestyle, increasing age, and the development of new therapeutic targets have probably changed the nutritional status of IBD patients, and currently being overweight and obese comprises the most frequent nutritional disorders.^{12,13}

Previous studies reported a prevalence of MASLD in IBD population higher than 40%, noting that MASLD is a major problem in patients with IBD.¹⁴ In addition, IBD-related risk factors have been independently associated with MASLD and liver fibrosis, the determinant long-term prognostic marker of liver disease. Nevertheless, to the best of our knowledge, the evidence regarding MASLD and liver fibrosis in lean population with IBD is scarce.

Therefore, the primary aim of this study was to assess the prevalence and risk factors for MASLD and significant liver fibrosis in lean individuals with IBD.

Methods

Study Design

Cross-sectional, case-control study performed between October 2020 and October 2021 in the IBD outpatient unit of Lozano Blesa University Hospital (Zaragoza, Spain). This study focused in particular on lean participants from a larger cohort of IBD patients and healthy control subjects without IBD.

Consecutive outpatients from our IBD unit with an established diagnosis of ulcerative colitis (UC), Crohn's disease

(CD), or indeterminate colitis were enrolled in the cases group. Control subjects were consecutive outpatients without IBD recruited in 2 primary care centers belonging to the same health area. Cases and controls were matched by sex and age. The following exclusion criteria were applied for both cases and controls: significant alcohol consumption (>20 g/d for women and >30 g/d for men), current or previous treatment with methotrexate and/or systemic steroids in the last 2 years, pregnancy, refusal to participate, or previous diagnosis of chronic liver disease different from nonalcoholic fatty liver disease such as viral, genetic (Wilson, alpha-1 antitrypsin deficiency, hemochromatosis, or storage diseases), and immune mediated. All participants included in the study signed the informed written consent.

All participants were interviewed, their medical records were reviewed, anthropometric measurements and a fasting blood sample were taken, and liver steatosis and fibrosis were assessed by noninvasive methods.

We collected the following demographic variables through clinical interview and medical record review: age, sex, smoking habit, alcohol consumption, and comorbidities (arterial hypertension, type 2 diabetes mellitus [DM], lipid-lowering treatment, chronic kidney disease, cardiovascular disease, and cerebrovascular disease). In addition, we collected IBD-related features: date of diagnosis, type of IBD, location, pattern (CD), perianal disease, extraintestinal disease, previous surgeries, and current and previous treatment. After the clinical interview, we measured the following anthropometric variables: weight, height, and perimeters (arm, waist, and hip). From these measurements, body mass index (BMI), waist-to-hip index, and body fat percentage were calculated. Finally, a fasting blood sample was drawn to determine fasting glucose, glycosylated hemoglobin, fasting insulin, albumin, creatinine, cholesterol (total, low-density lipoprotein, and high-density lipoprotein), triglycerides, liver profile, C-reactive protein, blood count, coagulation, hepatitis C virus antibody, hepatitis B surface antigen, and anti-hepatitis B core antigen.

Diagnostic Criteria and Definitions

Patients were classified according to BMI status in the following groups: underweight (<18.5 kg/m²), normal weight (18.5-24.9 kg/m²), overweight (25.0-29.9 kg/m²), and obese (≥30 kg/m²). For non-Asian participants, lean individuals were defined as BMI <25 kg/m².

IBD diagnosis was established according to the European Crohn's and Colitis Organisation criteria.^{14,15} Clinical remission was defined as partial Mayo score ≤1 (UC) or Harvey-Bradshaw Index ≤4 points (CD). Localization and extension of IBD were defined using the Montreal classification for CD (ileal, colonic, ileocolonic, isolated upper disease) or UC (proctitis, left sided, pancolitis).

After ≥4 hours of fasting, both cases and controls underwent liver ultrasound (US) and transient elastography (TE) by 2 trained gastroenterologists. For abdominal B-mode US, a low-frequency convex probe was used, and for TE, a FibroScan 430 Mini (Echosens) was used. Ultrasonographic diagnosis of steatosis was graded as follows: mild in case of a slight increase of liver echogenicity (compared with right kidney parenchyma) and normal visualization of portal vein wall and diaphragm, moderate when there was a higher increase of liver echogenicity with slight impaired of portal vein wall and diaphragm, and severe in case of marked increase of liver

echogenicity with absence or poor visualization of portal vein wall, diaphragm, or posterior right liver lobe.¹⁶

MASLD diagnosis was established in case of any grade of US steatosis or controlled attenuation parameter >248 dB/m. Significant liver fibrosis was considered in case of liver stiffness ≥ 8 kPa, as this cutoff has demonstrated to accurately rule out advanced liver fibrosis.^{17,18} TE values were only considered valid in participants with at least 10 measurements and interquartile range/median liver stiffness ratio $\leq 30\%$.

Study Endpoints

The primary outcomes of the study were (1) to compare the prevalence of MASLD between the lean IBD group and lean non-IBD group and (2) to assess the prevalence of significant liver fibrosis in the lean IBD group and lean non-IBD group.

The secondary outcomes of the study were (1) to identify risk factors associated with MASLD in lean individuals, especially IBD-related risk factors; and (2) to compare MASLD prevalence, significant liver fibrosis prevalence, and metabolic profile between the lean IBD group and overweight/obese IBD group.

Statistical Analysis and Ethical Statement

Qualitative variables were presented as absolute and relative frequencies. For quantitative variables, normality was assessed using Kolmogorov-Smirnov test, in which $P \geq .05$ means normality. Quantitative variables were presented as mean $\pm$ SD if they followed normal distribution, and in case of non-normal distribution, median and range were used. The relationship between categorical variables was assessed using the chi-square test or Fisher test, as appropriate. The Student *t* test or Mann-Whitney *U* test was used for quantitative variables, as appropriate. In addition, a logistic regression multivariable analysis was performed, and data presented as adjusted odds ratio (OR) and a 95% confidence interval (CI). Multivariable analysis included variables found to be significant in univariable analysis and biologically relevant variables such as age, sex, BMI, waist-to-hip ratio, arterial hypertension, type 2 DM, insulin resistance, smoking habit, lipid-lowering drugs, and previous steroid use. A *P* value $< .05$ was considered as statistically significant. Jamovi version 2.3.21 (<https://www.jamovi.org/>) was used to carry out the statistical analysis.

The sample size was estimated according to the expected number of IBD patients seen in our outpatient unit during 1 year. The case-control ratio was 3:1, and they were matched by age and sex.

The study was performed in agreement with the Helsinki declaration and was approved by Aragón Ethics Committee (code PI19/451).

Results

Baseline Characteristics of Participants

A total of 1065 outpatients were visited in our IBD unit during 1 year, and among them 803 agreed to participate in the study. After applying the inclusion and exclusion criteria, 300 lean IBD and 346 overweight/obese IBD participants were analyzed. Regarding control subjects, 210 coming from primary care centers of the same health area were included. After checking inclusion and exclusion criteria, 80 lean non-IBD and 106 overweight/obese non-IBD participants were analyzed (Figure 1).

Due to the study design, no differences in age and sex were found between the IBD and non-IBD groups. In addition, the presence of type 2 DM, arterial hypertension, active smoking habit, and cardiovascular and cerebrovascular disease was homogeneous between both groups (Table 1). Participants came from Europe, Africa, and South America. Despite a similar BMI (median 22.5 [range, 15.4-25.0] kg/m² vs 22.4 [range, 16.7-24.8] kg/m²; $P = .788$) and body fat percentage (median 27.7% [range, 6.4%-39.8%] vs 26.7% [range, 7.8%-38.8%]; $P = .413$) in the lean IBD group and lean non-IBD group, and the lean IBD group showed a significantly higher waist-to-hip ratio (0.86 ± 0.08 vs 0.84 ± 0.08 ; $P = .038$) and a significantly higher prevalence of MASLD (21.3% vs 10.0%; $P = .022$). Regarding laboratory tests, the lean non-IBD group had worse lipid profile and lower use of lipid-lowering drugs. No differences in glycemic control, insulin resistance, and liver profile were found.

The study included 157 (52.3%) patients with UC, 137 (45.7%) with CD, and 6 (2.0%) with indeterminate colitis. The median age at IBD diagnosis was 31.5 (range, 9.0-71.0) years and the median IBD duration was 12.0 (range, 0.0-46.0) years. Although patients receiving systemic steroids currently or in the previous 2 years were excluded, 82 (27.4%) had previously received them in the last 5 years and 196 (65.6%) had received them since diagnosis. No patient received methotrexate. IBD-related features are summarized in Table 2.

Higher Prevalence of MASLD in the Lean IBD Group Compared With the Lean Non-IBD Group

When MASLD prevalence was analyzed according to BMI status (Figure 2), we noticed higher prevalence in overweight/obese participants (66.8% in the IBD group and 70.8% in the non-IBD group) compared with lean participants (21.3% in the IBD group and 10.0% in the non-IBD group). MASLD prevalence in the IBD and non-IBD groups was similar when all participants (45.7% in the IBD group vs 44.6% in the non-IBD group; $P = .801$) and overweight/obese participants (66.8% in the IBD group vs 70.8% in the non-IBD group; $P = .442$) were analyzed. Nevertheless, a significantly higher prevalence of MASLD was found in the lean IBD group (21.3% in the IBD group vs 10.0% in the non-IBD group; $P = .022$) and normal weight IBD group (21.5% in the IBD group vs 10.8% in the non-IBD group; $P = .037$) compared with their respective control subjects. While MASLD prevalence was significantly higher in the overweight/obese IBD group compared with the lean IBD group (66.8% vs 21.3%; $P < .001$), no statistically significant differences were found between the IBD group with normal and low BMI (21.5% vs 16.7%; $P = 1.000$).

We observed no statistically significant differences between the prevalence of significant liver fibrosis in the lean IBD group and the lean non-IBD group (4.7% in cases vs 0.0% in controls; $P = 1.000$) (Figure 3). Moreover, no differences were observed when significant liver fibrosis was analyzed in the overweight/obese and normal-weight groups.

Although univariable analysis showed significantly lower total cholesterol, low-density lipoprotein, and high-density lipoprotein levels in the lean IBD group with disease activity compared with those in remission, these findings were not confirmed in multivariable analysis. In addition, the analysis according to IBD activity found no

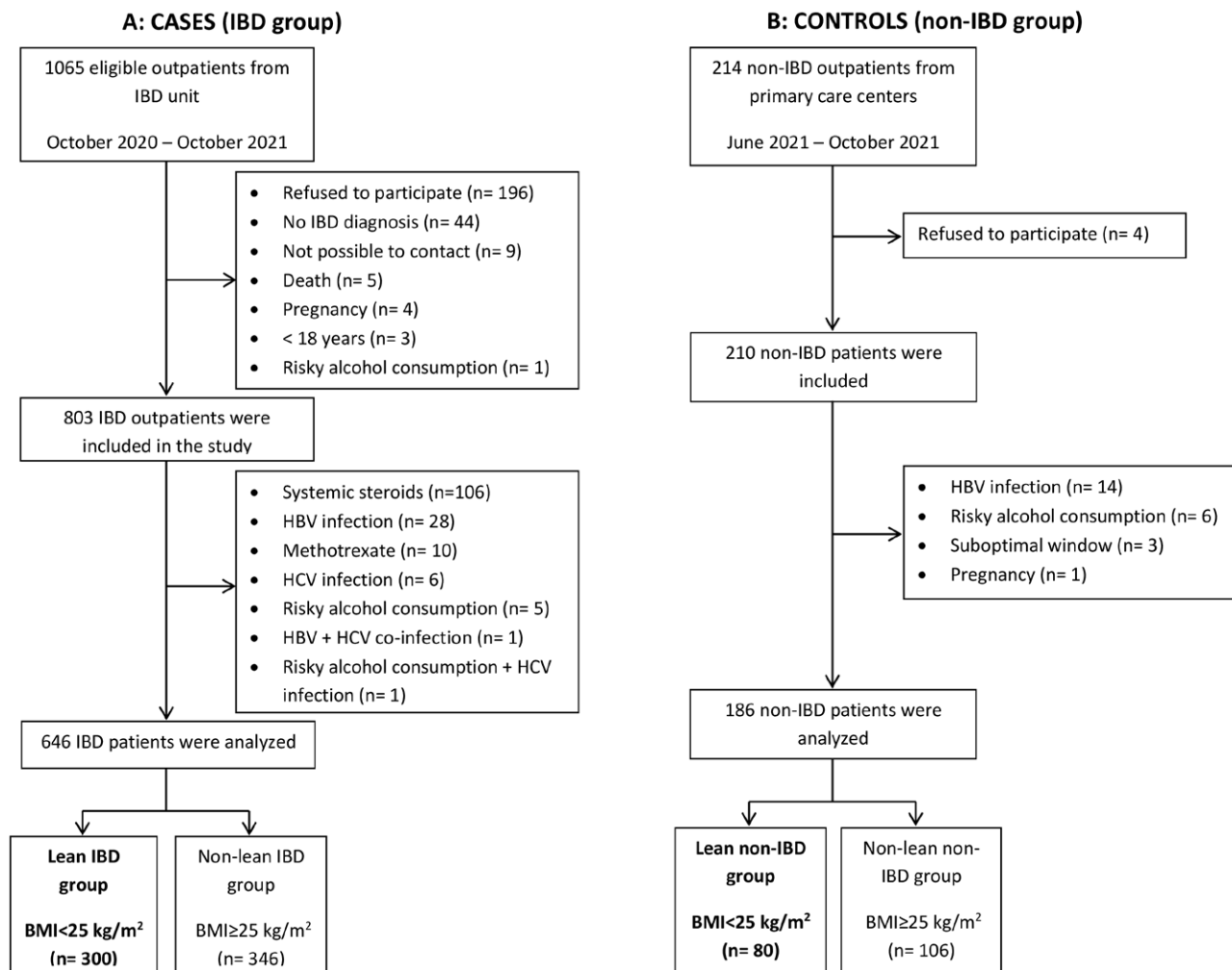


Figure 1. Flowchart of participant selection: (A) cases, (B) controls. BMI, body mass index; HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; IBD, inflammatory bowel disease.

significant differences in the prevalence of significant liver fibrosis. However, liver stiffness levels were significantly higher in lean patients with IBD activity compared with those in remission (OR, 1.27; 95% CI, 1.06-1.52; $P = .011$) (Supplementary Table 1).

IBD Is an Independent Risk Factor for MASLD in Lean Participants

When all lean participants (IBD and non-IBD) were analyzed, MASLD patients showed an increased BMI and anthropometric measures, poorer glycemic and lipid control, and increased insulin resistance in univariable analysis (Supplementary Table 2). Multivariable analysis confirmed that IBD was an independent risk factor for MASLD in lean participants (OR, 2.71; 95% CI, 1.05-7.01; $P = .04$) after adjusting for age, sex, arterial hypertension, type 2 DM, insulin resistance, hyperlipidemia, BMI, waist-to-hip ratio, smoking habit, and previous steroid use (Figure 4).

No Association Between IBD-Related Factors and MASLD in Lean IBD Participants

Univariable analysis identified male sex and older age as risk factors for MASLD in lean IBD participants. Moreover, the lean IBD group with MASLD had higher levels of liver

stiffness (kPa), increased BMI levels, increased waist-hip ratio, worse glycemic control, increased insulin resistance, and poor lipid profile outcomes compared with the lean IBD group without MASLD (Supplementary Table 3). Nevertheless, these findings were not confirmed when multivariable analysis was performed (Figure 5). Although prior bowel resection was associated with MASLD on univariable analysis, no association was found between IBD related factors and MASLD on multivariable analysis.

Comparison of Lean IBD Group and Overweight/Obese IBD Group With MASLD

The overweight/obese IBD group with MASLD showed significantly higher liver stiffness levels compared with the lean IBD group with MASLD (median 5.3 [range, 2.4-44.2] kPa vs 4.7 [range, 2.7-11.3] kPa; $P = .007$). In addition, arterial hypertension, prior smoking habit, poor glycemic control, and insulin resistance were more prevalent in the overweight/obese IBD group with MASLD. Noteworthy, no statistically differences were found in lipid profile except for lower high-density lipoprotein level in the overweight/obese IBD group with MASLD (median 49 [range, 25-101] mg/dL vs 57 [range, 34-133] mg/dL, $P = .002$). Regarding IBD-related features, the overweight/obese IBD group with MASLD had

Table 1. Baseline characteristics of the lean IBD group and lean non-IBD group.

Characteristic	Lean IBD group (n = 300)	Lean non-IBD group (n = 80)	P value ^a
Clinical			
Female	176 (58.7)	46 (57.5)	.851
Age, y	46.8 ± 13.1	44.1 ± 15.5	.118
Active smokers	63 (21.0)	15 (18.8)	.658
Previous smokers	121 (40.3)	22 (27.5)	.035 ^b
Passive smokers	33 (11.0)	10 (12.5)	.707
Illegal drug consumption	1 (0.3)	0 (0.0)	1.000
Chronic kidney disease	23 (7.7)	15 (18.8)	.003 ^b
Cardiovascular disease	6 (2.0)	0 (0.0)	.350
Cerebrovascular disease	2 (0.7)	2 (2.5)	.196
Arterial hypertension	26 (8.7)	8 (10.0)	.710
Type 2 DM	12 (4.0)	3 (3.8)	1.000
Hypercholesterolemia drugs	35 (11.7)	3 (3.8)	.036 ^b
Triglyceride-lowering drugs	10 (3.3)	2 (2.5)	1.000
Lean MASLD	64 (21.3)	8 (10.0)	.022 ^b
Significant liver fibrosis in patients with lean MASLD (n = 72)	3 (4.7)	0 (0.0)	1.000
Anthropometric measures			
BMI, kg/m ²	22.5 (15.4-25.0)	22.4 (16.7-24.8)	.788
Waist-hip ratio, mean ± SD	0.86 ± 0.08	0.84 ± 0.08	.038 ^b
Body fat percentage (CUN-BAE), %	27.7 (6.4-39.8)	26.7 (7.8-38.8)	.413
Body fat percentage (BAI), %	26.2 ± 3.7	26.6 ± 4.1	.418
Laboratory tests			
Fasting glucose levels, mg/dL	92.0 (67.0-299.0)	93.0 (76.0-146.0)	.364
HbA1c, %	5.4 (4.4-12.8)	5.4 (4.2-8.9)	.143
Creatinine, mg/dL	0.80 (0.37-4.10)	0.82 (0.58-1.27)	.463
Serum albumin, g/dL	4.05 (0.98-5.00)	4.04 (3.46-4.80)	.389
Total cholesterol, mg/dL	190.0 ± 40.3	197.0 ± 36.1	.169
LDL, mg/dL	107.0 ± 33.9	115.0 ± 34.3	.089
HDL, mg/dL	64.1 ± 17.7	63.5 ± 14.0	.780
Triglycerides, mg/dL	80 (29-3087)	81 (37-313)	.962
Total bilirubin, mg/dL	0.48 (0.13-2.80)	0.45 (0.13-1.88)	.211
AST, UI/L	20 (10-139)	19 (10-36)	.619
ALT, UI/L	15 (5-131)	16 (5-55)	.687
GGT, UI/L	16 (6-343)	15 (5-97)	.760
ALP, UI/L	67 (28-241)	64 (31-155)	.985
C-reactive protein, mg/L	1.75 (0.02-219.00)	0.87 (0.00-23.20)	<.001 ^b
Fasting insulin levels, μU/mL	5.06 (2.00-65.00)	6.23 (2.00-46.90)	.269
HOMA-IR	1.13 (0.19-24.4)	1.44 (0.39-10.5)	.223

Values are n (%), mean ± SD, or median (range). Lean refers to a BMI <25 kg/m².

Abbreviations: ALP, alkaline phosphatase; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase. BAI, Body Adiposity Index; BMI, body mass index; CUN-BAE, Clínica Universidad de Navarra-Body Adiposity Estimator; DM, diabetes mellitus; GGT, gamma-glutamyl transferase; HbA1c, glycosylated hemoglobin; HDL, high-density lipoprotein; HOMA-IR, homeostatic model assessment of insulin resistance; IBD, inflammatory bowel disease; LDL, low-density lipoprotein; MASLD, metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease.

^aFor the qualitative variables, chi-square test or Fisher's test was used, and for quantitative variables Student *t* test or Mann-Whitney *U* test was used, as appropriate.

^bStatistical significance: *P* < .05.

older age at IBD diagnosis and lower prevalence of bowel resection compared with the lean IBD group with MASLD (Supplementary Table 4). In multivariable analysis, higher levels of the homeostatic model assessment of insulin resistance (OR, 1.49; 95% CI, 1.11-1.98; *P* = .007) and prior history of smoking (OR, 4.66; 95% CI, 1.17-18.49; *P* = .029) remained statistically significant. However, no IBD-related factors were statistically significant.

Comparison of the Lean IBD Group With MASLD and the Lean Non-IBD Group With MASLD

We found no statistically significant differences between the lean IBD group with MASLD and the lean non-IBD group with MASLD in relation to anthropometric measures: BMI (22.8 ± 1.9 kg/m² vs 23.6 ± 1.4 kg/m²; *P* = .259), body fat percentage (26.6 ± 6.9% vs 29.8 ± 6.0%; *P* = .217), and waist-to-hip ratio (0.90 ± 0.07 vs 0.89 ± 0.09; *P* = .719). In addition,

Table 2. IBD-related features of lean cases.

Characteristic	Lean IBD group (n = 300)
Age at diagnosis, y	31.5 (9.0-71.0)
IBD duration, y	12.0 (0.0-46.0)
Type of IBD	
UC	157 (52.3)
CD	137 (45.7)
IC	6 (2.0)
Extent of UC (n = 157)	
Proctitis	41 (26.1)
Left-sided colitis	53 (33.8)
Extensive colitis	63 (40.1)
Extent of CD (n = 137)	
Ileocolonic (L3)	64 (46.7)
Terminal ileum (L1)	47 (34.3)
Colonic (L2)	15 (10.9)
Ileocolonic (L3) + L4	4 (2.9)
Isolated upper disease (L4)	4 (2.9)
Terminal ileum (L1) + L4	2 (1.5)
Colonic (L2) + L4	1 (0.7)
CD behavior (n = 137)	
Inflammatory	87 (63.5)
Stricturing	35 (25.5)
Penetrating	14 (10.2)
Stricturing + penetrating	1 (0.7)
Previous surgery	
Bowel resection	47 (15.7)
Perianal	13 (4.3)
Extraintestinal manifestations	
Arthropathy	37 (12.3)
Arthropathy + skin	15 (5)
Skin	9 (3.0)
Ocular	2 (0.7)
Arthropathy + skin + ocular	1 (0.3)
Perianal disease	40 (13.3)
IBDQ-9	51 (27-59)
Clinical severity	
Partial Mayo score (n = 157)	
Remission	151 (96.2)
Active disease	6 (3.8)
Harvey-Bradshaw index (n = 137)	
Remission	130 (94.9)
Active disease	7 (5.1)
Current treatment^a	
Only 5-ASA	107 (35.7)
Anti-TNF	65 (21.7)
No treatment	50 (16.7)
Only Thiopurines	29 (9.7)
Ustekinumab	17 (5.7)
Biologic therapy + thiopurines	15 (4.9)
Vedolizumab	8 (2.7)
Tofacitinib	3 (1.0)
Other	6 (2.0)

Table 2. Continued

Characteristic	Lean IBD group (n = 300)
Previous treatment^a	
Systemic steroids since diagnosis	196 (65.6)
Systemic steroids last 5 y	82 (27.4)
Other biologic agent	62 (20.7)

Values are median (range) or n (%).

Abbreviations: 5-ASA, 5-aminosalicylic acid; CD, Crohn's disease; IBD, inflammatory bowel disease; IBDQ-9, 9-item IBD, Inflammatory Bowel Disease Questionnaire; IC, indeterminate colitis; TNF, tumor necrosis factor; UC, ulcerative colitis.

^aNo patient received systemic steroids or methotrexate at inclusion or in the previous 2 years.

no differences were observed in lipid profile or insulin resistance ([Supplementary Table 5](#)).

Discussion

We present a detailed analysis of lean participants belonging to one of the largest IBD population cohorts to date assessing MASLD and liver fibrosis. To our knowledge, the evidence regarding MASLD and liver fibrosis in lean individuals with IBD is scarce. Adams et al¹⁹ published in 2018 a retrospective case-control study including 165 patients who previously underwent magnetic resonance imaging, most of them having an IBD diagnosis (around 80%). They concluded that underweight patients had a higher risk of MASLD compared with matched control subjects with normal weight.¹⁹ Moreover, Saroli Palumbo et al²⁰ reported in 2018 an increased prevalence of MASLD and liver fibrosis in obese and overweight patients with IBD compared with lean patients with IBD. Both studies lacked a control group composed of lean participants without IBD. Subsequently, McHenry et al²¹ reported in 2019 a prevalence of MASLD of 20% in lean patients with CD and 10% in healthy lean control subjects, similar to our data. However, they did not assess associated risk factors and liver fibrosis in the lean population.²¹

High BMI has been recognized as an independent dose-dependent risk factor for MASLD. Consistently, our findings showed an increasing prevalence of MASLD with higher BMI levels for both the IBD and non-IBD groups. In addition, we found a MASLD prevalence of 10% in the lean non-IBD group from the general population, similar to the 5% to 10% reported by previous studies.²²⁻²⁴ Nevertheless, our key finding was the significantly higher prevalence of MASLD in the lean IBD group compared with the lean non-IBD group. Thus, we described that IBD is an independent risk factor for MASLD in lean individuals, after adjusting for classic metabolic risk factors and prior history of systemic steroid use.

Steroid treatment has been associated with weight gain and, consequently, with the development of liver steatosis. However, additional mechanisms have been described such as lipogenesis, gluconeogenesis, insulin resistance, and release of free fatty acids with subsequent uptake by the liver.²⁵ Therefore, all patients with current or previous use of systemic steroid in the last 2 years were excluded from the analysis. Similarly, patients receiving methotrexate in the last 2 years were excluded due to its possible role in the development of MASLD.²⁶

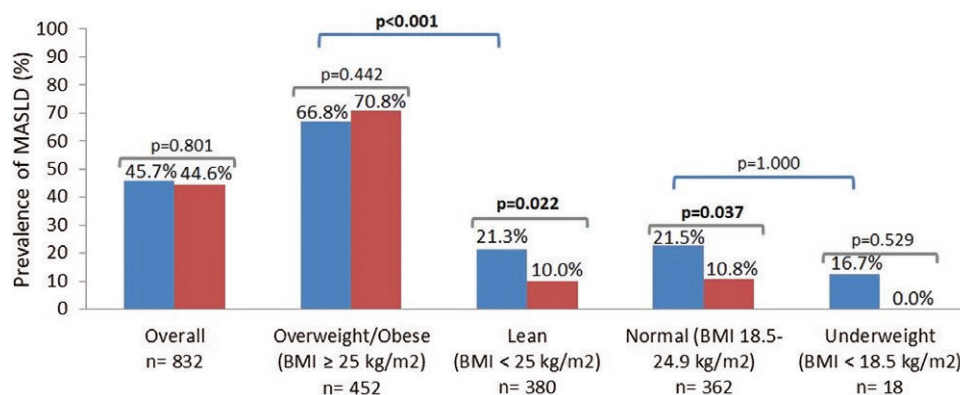


Figure 2. Prevalence of metabolic dysfunction–associated steatotic liver disease (MASLD) in cases and controls according to body mass index (BMI) status. Blue bars: cases (inflammatory bowel disease). Red bars: controls (non-inflammatory bowel disease). *P* values in bold indicate statistical significance ($P < .05$).

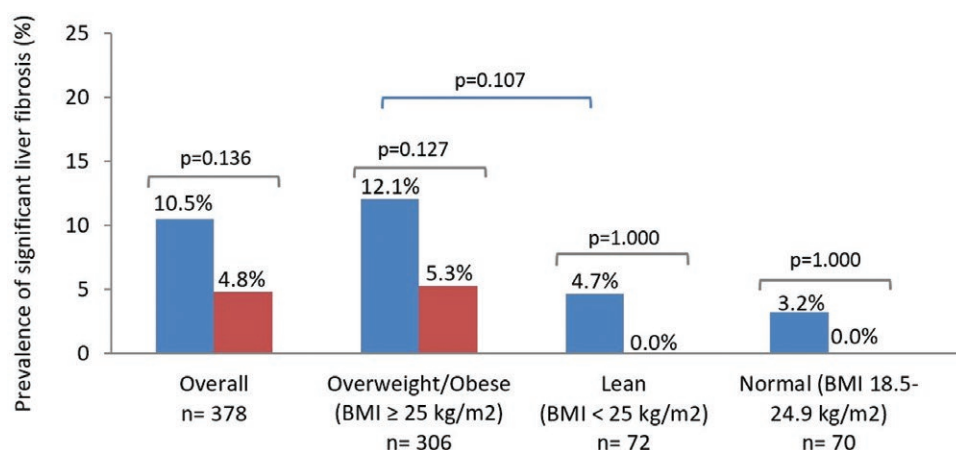


Figure 3. Prevalence of significant liver fibrosis in participants with metabolic dysfunction–associated steatotic liver disease according to body mass index (BMI) status. Blue bars: cases (inflammatory bowel disease). Red bars: controls (non-IBD).

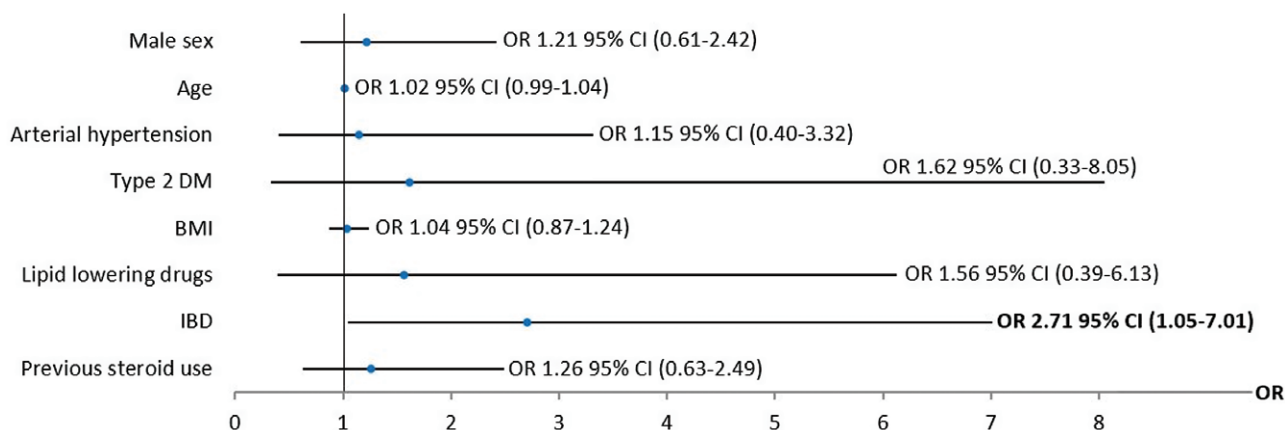


Figure 4. Logistic regression analysis of metabolic dysfunction–associated steatotic liver disease risk factors in lean participants. Data are presented as odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI). Data were adjusted by sex, age, body mass index (BMI), waist-to-hip ratio, arterial hypertension, type 2 diabetes mellitus (DM), insulin resistance, smoking habit, lipid-lowering drugs use, and previous steroid use. IBD, inflammatory bowel disease.

Beyond the epidemiological data, lean MASLD is a clinically relevant condition due to its close association with the components of metabolic syndrome compared with lean healthy population, leading to an increased all-cause and cardiovascular-related mortality.^{27,28} In addition, several IBD

related risk factors for MASLD have been described such as longer IBD duration, disease activity, or older age at diagnosis of IBD.²⁹⁻³¹ However, we found no association between IBD-related factors and MASLD development in lean IBD participants. In addition, we found no statistical differences

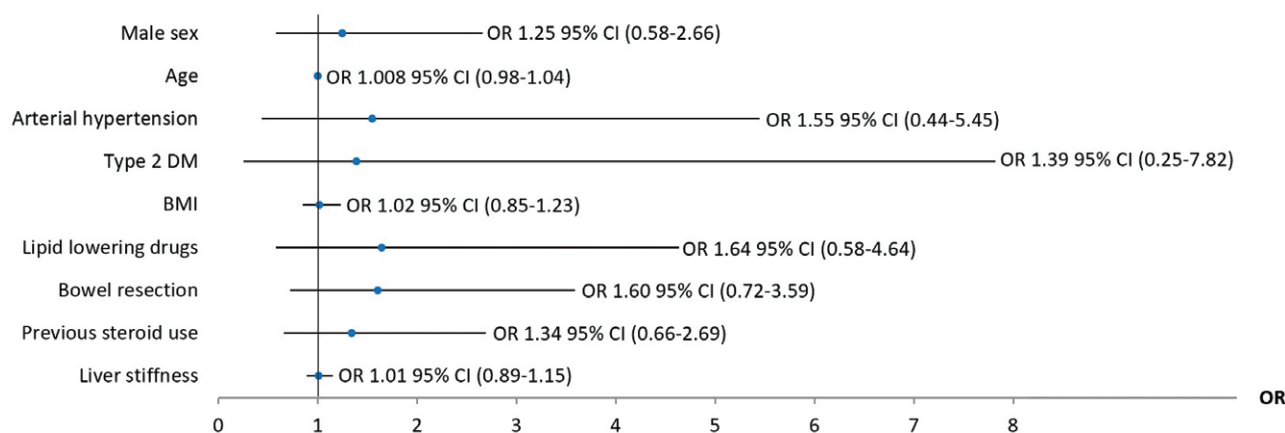


Figure 5. Logistic regression analysis of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease risk factors in the lean inflammatory bowel disease (IBD) group. Data are presented as odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI). Data were adjusted by sex, age, body mass index (BMI), waist-to-hip ratio, arterial hypertension, type 2 diabetes mellitus (DM), insulin resistance, smoking habit, lipid-lowering drugs use, and previous steroid use.

when lean IBD participants with and without activity at inclusion were compared, probably due to insufficient statistical power related to the small proportion of patients with activity.

Noteworthy, the lean IBD group with MASLD had numerically lower BMI and body fat percentage compared with the lean non-IBD group with MASLD. On the one hand, this finding suggests that IBD could play a role in the development of MASLD at lower BMI. On the other hand, BMI probably does not fully reflect the risk of MASLD and metabolic disorders, so attention should be paid to other indicators such as waist-to-hip ratio, which was increased in the lean IBD group with MASLD compared with the lean non-IBD group. At the same time, participants in the lean IBD group with MASLD were more likely to have higher BMI levels and higher waist-to-hip ratio compared with those without MASLD, as in the general population.

We noticed an increased prevalence of arterial hypertension, poor glycemic control, and insulin resistance in the overweight/obese IBD group with MASLD compared with the lean IBD group with MASLD. These findings are biologically plausible, as obesity is a major driver of insulin resistance,³² and consistent with current evidence.³³ Furthermore, we found no significant difference in serum cholesterol levels, as previously reported in general population based studies.³⁴ Surprisingly, MASLD is associated with higher prevalence of metabolic syndrome, worse glycemic control, increased insulin resistance, and poor lipid profile outcomes in lean IBD participants, even in the absence of overweight or obesity. This highlights the importance of detecting and closely monitoring this group of patients.

Regarding significant liver fibrosis, the strongest predictor of specific mortality in MASLD,³⁵ we found a numerically higher prevalence for the lean IBD group compared with the lean non-IBD group (4.7% vs 0%; $P = 1.000$). It is probable that we did not find statistically significant differences due to the small sample size of patients with significant liver fibrosis. This finding is similar to that of Rodríguez-Duque et al,³⁶ who reported a 4-fold higher prevalence of advanced liver fibrosis in nonobese IBD patients with MASLD compared with nonobese patients without IBD. However, MASLD itself in the absence of liver cirrhosis plays an important role, as it has

been described as a risk factor for atherosclerotic cardiovascular disease.

Our findings are consistent with the cumulative evidence in recent years on this topic. Thus, data coming from other immune-mediated conditions, such as psoriasis or hidradenitis suppurativa, also suggest that chronic inflammation could play a role in MASLD development.³⁷⁻³⁹ In parallel, the increased risk of MASLD in IBD participants independent of classic metabolic risk factors, such as obesity, supports this hypothesis. Therefore, our findings suggest that MASLD should also be suspected in lean patients with IBD, especially those with altered liver profile, and lifestyle measures could be prescribed to treat or prevent this entity. Future studies should be carried out to identify factors associated with MASLD development in IBD population to guide screening strategies, which should not be based only on BMI.

Finally, we acknowledge the following weaknesses of the study: (1) the lack of follow-up over time, inherent to the study design, (2) the small sample size of patients with significant liver fibrosis, (3) the lack of liver biopsies for histological confirmation of MASLD and detection of NASH, and (4) the absence of information on the cumulative dose of steroids received. Nevertheless, the main strengths of the study were its large sample size, the use of both US and TE to assess liver disease, and the presence of a comparable control group belonging to the same health area.

Supplementary data

Supplementary data is available at *Inflammatory Bowel Diseases* online.

Author Contribution

S.J.M.-D.: conceptualization, acquisition of data, analysis and interpretation of data, drafting the article. S.G.M.: conceptualization, acquisition of data, analysis and interpretation of data, drafting the article. C.J.G.-P.: conceptualization, funding acquisition, revision of the article. B.G.L.: acquisition of data, revision of the article. P.C.: acquisition of data, revision of the article. C.M.: acquisition of data, revision of the article. M.T.A.-V.: acquisition of data, revision of the article. M.A.S.M.: conceptualization, revision of the article. J.A.: conceptualization,

revision of the article. F.G.: conceptualization, coordination, funding acquisition, revision of the article. All authors approved the submitted version of the manuscript.

Funding

This project has received funding from Diputación General de Aragón (code: DGACOV-02).

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Riazi K, Azhari H, Charette JH, et al. The prevalence and incidence of NAFLD worldwide: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2022;7(9):851-861.
- Burra P, Becchetti C, Germani G. NAFLD and liver transplantation: disease burden, current management and future challenges. *JHEP Rep*. 2020;2(6):100192.
- Lazarus JV, Mark HE, Anstee QM, et al.; NAFLD Consensus Consortium. Advancing the global public health agenda for NAFLD: a consensus statement. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2022;19(1):60-78.
- Sanyal AJ, Van Natta ML, Clark J, et al.; NASH Clinical Research Network (CRN). Prospective study of outcomes in adults with non-alcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2021;385(17):1559-1569.
- Younossi Z, Stepanova M, Ong JP, et al.; Global Nonalcoholic Steatohepatitis Council. Nonalcoholic steatohepatitis is the fastest growing cause of hepatocellular carcinoma in liver transplant candidates. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019;17(4):748-755.e3.
- Duell PB, Welty FK, Miller M, et al.; American Heart Association Council on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology; Council on Hypertension; Council on the Kidney in Cardiovascular Disease; Council on Lifestyle and Cardiometabolic Health; and Council on Peripheral Vascular Disease. Nonalcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk: a scientific statement from the American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2022;42(6):e168-e185.
- Allen AM, Therneau TM, Larson JJ, Coward A, Somers VK, Kamath PS. Nonalcoholic fatty liver disease incidence and impact on metabolic burden and death: A 20 year-community study. *Hepatology*. 2018;67(5):1726-1736.
- Mantovani A, Csermely A, Petracca G, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of fatal and non-fatal cardiovascular events: an updated systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2021;6(11):903-913.
- Eslam M, El-Serag HB, Francque S, et al. Metabolic (dysfunction)-associated fatty liver disease in individuals of normal weight. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2022;19(10):638-651.
- Ren TY, Fan JG. What are the clinical settings and outcomes of lean NAFLD? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021;18(5):289-290.
- Xu R, Pan J, Zhou W, Ji G, Dang Y. Recent advances in lean NAFLD. *Biomed Pharmacother*. 2022;153(2022):113331.
- Bischoff SC, Payer P, Escher J, et al. ESPEN guideline on clinical nutrition in inflammatory bowel disease. *Clin Nutr*. 2023;42(3):352-379.
- Roncoroni L, Gori R, Elli L, et al. Nutrition in patients with inflammatory bowel diseases: a narrative review. *Nutrients*. 2022;14(4):751.
- Magro F, Gionchetti P, Eliakim R, et al.; European Crohn's and Colitis Organisation [ECCO]. Third European evidence-based consensus on diagnosis and management of ulcerative colitis. part 1: definitions, diagnosis, extra-intestinal manifestations, pregnancy, cancer surveillance, surgery, and ileo-anal pouch disorders. *J Crohns Colitis*. 2017;11(6):649-670.
- Gomollón F, Dignass A, Annese V, et al.; ECCO. 3rd European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease 2016: part 1: diagnosis and medical management. *J Crohns Colitis*. 2017;11(1):3-25.
- Ferraioli G, Soares Monteiro LB. Ultrasound-based techniques for the diagnosis of liver steatosis. *World J Gastroenterol*. 2019;25(40):6053-6062.
- Aller R, Fernández-Rodríguez C, Lo Iacono O, et al. Documento de consenso. Manejo de la enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA). Guía de práctica clínica. *Gastroenterol Hepatol*. 2018;41(5):328-349.
- Mózes FE, Lee JA, Selvaraj EA, et al.; LITMUS Investigators. Diagnostic accuracy of non-invasive tests for advanced fibrosis in patients with NAFLD: an individual patient data meta-analysis. *Gut*. 2022;71(5):1006-1019.
- Adams LC, Lübke F, Bressan K, Wagner M, Hamm B, Makowski MR. Non-alcoholic fatty liver disease in underweight patients with inflammatory bowel disease: a case-control study. *PLoS One*. 2018;13(11):e0206450.
- Saroli Palumbo C, Restellini S, Chao CY, et al. Screening for non-alcoholic fatty liver disease in inflammatory bowel diseases: a cohort study using transient elastography. *Inflamm Bowel Dis*. 2019;25(1):124-133.
- McHenry S, Sharma Y, Tirath A, et al. Crohn's disease is associated with an increased prevalence of nonalcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study using magnetic resonance proton density fat fraction mapping. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019;17(13):2816-2818.
- Ye Q, Zou B, Yeo YH, 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.
- Shi Y, Wang Q, Sun Y, et al. The prevalence of lean/nonobese non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Gastroenterol*. 2020;54(4):378-387.
- Wong RJ, Liu B, Bhuket T. Significant burden of nonalcoholic fatty liver disease with advanced fibrosis in the US: a cross-sectional analysis of 2011-2014 National Health and Nutrition Examination Survey. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017;46(10):974-980.
- Rahimi L, Rajpal A, Ismail-Beigi F. Glucocorticoid-induced fatty liver disease. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2020;13:1133-1145.
- Shetty A, Cho W, Alazawi W, Syn W-K. Methotrexate hepatotoxicity and the impact of nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Med Sci*. 2017;354(2):172-181.
- Golabi P, Paik J, Fukui N, Locklear CT, de Avilla L, Younossi ZM. Patients with lean nonalcoholic fatty liver disease are metabolically abnormal and have a higher risk for mortality. *Clin Diabetes*. 2019;37(1):65-72.
- Zou B, Yeo YH, Nguyen VH, Cheung R, Ingelsson E, Nguyen MH. Prevalence, characteristics and mortality outcomes of obese, nonobese and lean NAFLD in the United States, 1999-2016. *J Intern Med*. 2020;288(1):139-151.
- van Lingen E, Tushuizen ME, Steenhuis MEJ, et al. Disease activity in inflammatory bowel disease patients is associated with increased liver fat content and liver fibrosis during follow-up. *Int J Colorectal Dis*. 2022;37(2):349-356.
- Yen HH, Su PY, Huang SP, et al. Evaluation of non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease using controlled attenuation parameter technology: a Taiwanese retrospective cohort study. *PLoS One*. 2021;16(5):e0252286.
- Glassner K, Malaty HM, Abraham BP. Epidemiology and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease among patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2017;23(6):998-1003.
- Johnson AMF, Olefsky JM. The origins and drivers of insulin resistance. *Cell*. 2013;152(4):673-684.

33. Maier S, Wieland A, Cree-Green M, et al. Lean NAFLD: an underrecognized and challenging disorder in medicine. *Rev Endocr Metab Disord.* 2021;22(2):351-366.
34. Younes R, Govaere O, Petta S, et al. Caucasian lean subjects with non-alcoholic fatty liver disease share long-term prognosis of non-lean: time for reappraisal of BMI-driven approach? *Gut.* 2022;71(2):382-390.
35. Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, 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.
36. Rodríguez-Duque JC, Calleja JL, Iruzubieta P, et al. Increased risk of MAFLD and liver fibrosis in inflammatory bowel disease independent of classic metabolic risk factors. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2023;21(2):406-414.e7.
37. Roberts KK, Cochet AE, Lamb PB, et al. The prevalence of NAFLD and NASH among patients with psoriasis in a tertiary care dermatology and rheumatology clinic. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;41(3):293-300.
38. Durán-Vian C, Arias-Loste M, Hernández JL, et al. High prevalence of non-alcoholic fatty liver disease among hidradenitis suppurativa patients independent of classic metabolic risk factors. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2019;33(11):2131-2136.
39. Barbarroja N, Ruiz-Ponce M, Cuesta-López L, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in inflammatory arthritis: relationship with cardiovascular risk. *Front Immunol.* 2022;13(2022):997270.

Capítulo 3. Seroprevalencia de la infección por SARS-CoV-2 y respuesta inmunológica a la vacuna frente a SARS-CoV-2 en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal.

Unravelling the cellular response to the SARS-COV-2 vaccine in inflammatory bowel disease patients on biologic drugs. Sci Rep. 2023 Dec 27, 13(1): 23061.

3.1 Métodos

Estudio observacional unicéntrico realizado en la unidad de EII del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa entre octubre de 2020 y octubre de 2021. El estudio se compone de dos fases diferenciadas:

Fase 1 de seroprevalencia de la infección por SARS-CoV-2 en pacientes con EII

Se realizó entre octubre de 2020 y abril de 2021 en pacientes con EII que no habían sido vacunados frente a SARS-CoV-2. Se extrajo una muestra de sangra periférica a cada paciente, salvando varias alícuotas por paciente. Se realizó una técnica de ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas, del inglés “enzyme-linked immunosorbent assay”) para cuantificar los niveles de IgG e IgA frente al antígeno nativo inactivado de SARS-CoV-2 (Grifols®). Se utilizaron los valores de referencia recomendados por el fabricante para la IgG y la IgA (<0,9 U/ml negativo, 0,9-1,1 U/ml indeterminado, >1,1 U/ml positivo). En caso de positividad o valor indeterminado en el test anterior para la IgG o la IgA, se realizó otro test de confirmación para determinar IgG contra la proteína “spike” del SARS-CoV-2 (Euroimmun®), con los siguientes valores de referencia: <0,8 U/ml negativo, 0,8-1,1 U/ml indeterminado y >1,1 positivo. Se consideró que habían seroconvertido aquellos pacientes con un valor positivo para la IgA y/o IgG. En caso de discrepancia entre ambos test de IgG se interpretaron los resultados de la siguiente forma: los pacientes con IgG contra la proteína “spike” positiva se consideró que habían seroconvertido, y los pacientes con IgG contra antígeno nativo inactivado positiva e IgG contra la proteína “spike” negativa o indeterminada se excluyeron.

Fase 2 de respuesta inmune a la vacuna frente a SARS-CoV-2 en pacientes con EII

Se realizó entre mayo de 2021 y octubre de 2021 en un subgrupo de pacientes con EII previamente incluidos en la fase 1 y que tenían historia de infección por SARS-CoV-2 confirmada. En esta fase se diferenciaron 2 grupos: Grupo A que incluyó pacientes con EII que no habían

recibido ninguna dosis de vacuna frente a SARS-CoV-2 al comienzo de la fase 2 y Grupo B compuesto por pacientes que habían recibido la vacuna frente a SARS-CoV-2 al inicio de la fase 2. En el grupo A se realizaron dos extracciones sanguíneas: una antes de haber recibido alguna dosis de la vacuna y otra en las 12 ($\pm$ 2 semanas) tras finalizar el régimen vacunal. En el grupo B se realizó una única extracción 12 ($\pm$ 2 semanas) tras completar el régimen vacunal. En cada grupo se incluyó una muestra representativa de pacientes sin tratamiento (ningún tratamiento para EII o solo 5-ASA) y de cada tratamiento biológico (infliximab, adalimumab, vedolizumab y ustekinumab). Los pacientes recibieron, siguiendo las recomendaciones de las autoridades sanitarias, vacunas basadas en RNA modificado contra la proteína de superficie de SARS-CoV-2 (Moderna y Pfizer/BioNTech) o basadas en vectores no replicantes que portan el antígeno de SARS-CoV-2 (Oxford-AstraZeneca).

Sobre cada muestra de sangre se analizó la respuesta inmune humoral utilizando la técnica ELISA (Grifols®) previamente descrita en la fase de seroprevalencia. Además, se analizó la respuesta inmune celular mediante citometría de flujo (se determinaron las poblaciones celulares linfocitarias, monocitarias y de células NK).

3.2 Resultados

Fase 1 de seroprevalencia de la infección por SARS-CoV-2 en pacientes con EII

Se incluyeron 754 pacientes con una mediana y rango de edad de 50 (18-86) años, de los cuales el 50% eran varones. El 52% tenían CU, el 46% EC y el 1% CI. Los tratamientos que recibían en el momento de la inclusión fueron en un 34% 5-ASA, 21% anti-TNF, 14% ningún tratamiento, 11% biológicos no anti-TNF, 10% inmunosupresores, 6,1% terapia combinada de inmunosupresores y biológicos, 1,3% corticoides sistémicos, 0,8% tofacitinib y 1,8% otros.

Se obtuvo una seroprevalencia del 9,5% y se identificó la obesidad (aOR 2,28 IC95% (1,32-3,94), $p=0,003$) como factor de riesgo para la seroconversión. En relación a los tratamientos para la EII, los fármacos anti-TNF se asociaron a unas menores tasas de seroconversión (3,7% vs. 13%, $p<0,001$; aOR 0,25 IC95% (0,10-0,61), $p=0,002$), sin encontrar diferencias significativas para otros tratamientos ni otros factores relacionados con la EII. Tampoco se encontró asociación entre los tratamientos para la EII y la hospitalización por la infección por SARS-CoV-2.

Fase 2 de respuesta inmune a la vacuna frente a SARS-CoV-2 en pacientes con EII

Se incluyeron 47 participantes con EII e historia de infección confirmada por SARS-CoV-2. El grupo A incluyó 23 pacientes que no habían sido vacunados y el grupo B 24 pacientes que habían finalizado la pauta vacunal. Respecto a la respuesta humoral, se observó un aumento estadísticamente significativo de los niveles de IgG tras la vacunación independientemente del tratamiento biológico empleado, sin embargo, los pacientes que recibían anti-TNF presentaron niveles de IgG post-vacunal estadísticamente inferiores a los de los pacientes que no recibían tratamiento ($5,3 \pm 2,5$ vs. $7,9 \pm 2,6$ U/ml, $p=0,042$).

Tras la vacunación se observó un aumento de los porcentajes de subpoblaciones linfocitarias que expresaban LAG-3 y TIM-3 ($46,2 \pm 27,6$ vs. $16,4 \pm 13,4\%$, $p<0,001$ y $6,6 \pm 14,3$ vs. $-1,0 \pm 1,1\%$, $p=0,010$). En cuanto a las poblaciones monocitarias, se observó un descenso del porcentaje de TIM-3 ($66,0 \pm 16,7$ vs. $84,8 \pm 9,4\%$, $p<0,001$) y aumento de LAG-3 y PD-1 ($96,4 \pm 3,9$ vs. $81,5 \pm 18,3\%$, $p<0,001$ y $93,8 \pm 2,3$ vs. $87,2 \pm 5,4\%$, $p<0,001$; respectivamente) tras la vacunación. Respecto a las células NK, tras la vacunación se produjo un incremento de NKG2A ($74,8 \pm 17,7$ vs. $55,3 \pm 23,3\%$, $p<0,001$) y NKG2D ($96,6 \pm 2,3$ vs. $88,9 \pm 13,9\%$, $p<0,001$) mientras que descendió el porcentaje de TIM-3 ($9,8 \pm 11,8$ vs. $27,1 \pm 21,5\%$, $p<0,001$). No se observaron diferencias sustanciales en la respuesta celular en función del tratamiento biológico recibido. Tampoco se observaron diferencias en la respuesta celular en función del subtipo de EII ni del sexo.



OPEN Unravelling the cellular response to the SARS-CoV-2 vaccine in inflammatory bowel disease patients on biologic drugs

Samuel J. Martínez-Domínguez^{1,2,3,13}✉, Sandra García-Mateo^{1,2,3,13}, Pilar Sainz-Arnal², Javier Martínez-García^{2,3}, Beatriz Gallego-Llera², María Jesús Lozano-Limones², Sandra Hidalgo^{2,3}, Carla J. Gargallo-Puyuelo^{1,2,3}, Marta Latre-Santos¹, María Mercedes Lourdes Nocito-Colon⁴, Luis Martínez-Lostao^{2,3,4,5}, Engy Refaie⁶, María Teresa Arroyo-Villarino^{1,2,3}, Marcela del Río-Nechaevsky^{7,8,9}, Ariel Ramirez-Labrada^{2,3,10}, Julián Pardo^{2,3,10}, Fernando Gomollón^{1,2,3,11} & Pedro M. Baptista^{2,8,11,12}

Suboptimal vaccine response is a significant concern in patients with Inflammatory Bowel Disease (IBD) receiving biologic drugs. This single-center observational study involved 754 patients with IBD. In Phase I (October 2020–April 2021), 754 IBD participants who had not previously received the SARS-CoV-2 vaccine, underwent blood extraction to assess the seroprevalence of SARS-CoV-2 infection and IBD-related factors. Phase II (May 2021–October 2021) included a subgroup of 52 IBD participants with confirmed previous SARS-CoV-2 infection, who were studied for humoral and cellular response to the SARS-CoV-2 vaccine. In Phase I, treatment with anti-TNF was associated with lower rates of seroconversion (aOR 0.25 95% CI [0.10–0.61]). In Phase II, a significant increase in post-vaccination IgG levels was observed regardless of biologic treatment. However, patients treated with anti-TNF exhibited significantly lower IgG levels compared to those without IBD therapy (5.32 ± 2.47 vs. 7.99 ± 2.59 U/ml, $p = 0.042$). Following vaccination, a lymphocyte, monocyte, and NK cell activation pattern was observed, with no significant differences between patients receiving biologic drugs and those without IBD treatment. Despite lower seroprevalence and humoral response to the SARS-CoV-2 vaccine in patients treated with anti-TNF, the cellular response to the vaccine did not differ significantly from that patients without IBD therapy.

Inflammatory Bowel Diseases (IBD), which comprise Ulcerative Colitis (UC), Crohn's Disease (CD) and Indeterminate Colitis (IC), are chronic entities characterized by relapses of intestinal inflammation and periods of remission¹. Immunosuppressive drugs (thiopurines, methotrexate), steroids and, more recently, biologic agents are frequently used to induce and/or maintain remission. Although the experience with biologic agents in patients with IBD is increasing, especially with anti-TNF drugs, multiple concerns have arisen about the risk of infections and responses to vaccines².

Coronavirus disease-19 (COVID-19), caused by Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2), was first reported on December 2019 in Wuhan (China). Due to its rapid spread worldwide, the World Health Organization (WHO) declared a pandemic state on March 2020³. Since the beginning of the pandemic,

¹Digestive Diseases Department, University Hospital "Lozano Blesa", Av. San Juan Bosco, nº 15. PC: 50009, Zaragoza, Spain. ²Aragón Health Research Institute (IIS Aragón), Zaragoza, Spain. ³University of Zaragoza, Zaragoza, Spain. ⁴Immunology Department, University Hospital "Lozano Blesa", Zaragoza, Spain. ⁵Institute of Nanoscience and Material of Aragón (INMA), Zaragoza, Spain. ⁶Scuola di Specializzazione in Chirurgia Generale, Università Degli Studi di Pavia Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italy. ⁷CIBER Enfermedades Raras (CIBERER), Madrid, Spain. ⁸Biomedical Engineering Department, Universidad Carlos III de Madrid, Madrid, Spain. ⁹IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain. ¹⁰CIBER Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC), Madrid, Spain. ¹¹CIBER Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD), Madrid, Spain. ¹²Fundación ARAID, Zaragoza, Spain. ¹³These authors contributed equally: Samuel J. Martínez-Domínguez and Sandra García-Mateo. ✉email: samuelmartinez94@hotmail.com

seroprevalence studies have been carried out in the general population. However, it is of great interest to verify if these results are reproducible in high-risk populations such as IBD patients⁴. Whereas some studies did not report an increased risk of COVID-19 in patients with IBD^{5–8}, other studies found an association between severe COVID-19 infection and IBD activity or some treatments^{9–11}. Lower production of antibodies against SARS-CoV-2 has been found in patients receiving biologic agents¹², which other studies could not confirm¹³.

Vaccine response in patients with IBD has been a topic of great interest for several decades. National and international scientific societies periodically publish guidelines on infection prevention and recommend vaccination at diagnosis of IBD, preferably, before immunosuppressant or biologic therapy. For vaccines based on attenuated viruses the main concern is adverse effects, so the immunosuppressant or biologic drug must be stopped several weeks before vaccination. It cannot be resumed until four weeks post-vaccination^{14,15}. On the other hand, inactivated virus-based vaccines, non-replicating vector vaccines and modified RNA vaccines are safe in patients receiving immunosuppressant or biologic drugs and the main consideration is a possible lower vaccine response. Current guidelines recommend modifying the dosage of Influenza and Hepatitis B vaccines to optimize the vaccine response in patients under immunosuppressive or non-selective biologic treatment^{14,15}.

Most studies assessed the humoral response to vaccines^{16,17}; however, fewer studies evaluated the cellular response to vaccination in the IBD population under biologic therapy¹⁸. Therefore, the lessons from the immune response to SARS-CoV-2 vaccines are an excellent opportunity to understand better the vaccine response in patients treated with biologic agents.

Hence, this study aimed to assess the effect of IBD-related features on the seroprevalence of SARS-CoV-2 infection and to assess the humoral and cellular response to the SARS-CoV-2 vaccine in patients with IBD.

Results

Phase 1: Seroprevalence of SARS-CoV-2 infection

Characteristics of the sample

Of 1032 eligible outpatients from the IBD unit, 754 were analyzed (reasons for patient exclusion are shown in Fig. 1). 380 patients were men (50.4%), and the median age was 50 (18–86) years. 148 (19.6%) were active smokers, 350 (46.4%) were previous smokers, and 6 (0.8%) consumed illegal drugs. Main comorbidities were arterial hypertension (131 [17.7%]), hypercholesterolemia (140 [18.8%]), obesity (133 [17.6%]), chronic kidney disease (69 [9.4%]) and diabetes mellitus type 2 (50 [6.8%]).

The median age at diagnosis of IBD was 35 (1–77) years and 395 (52.3%) had UC, 350 (46.4%) CD and 9 (1.2%) IC. Most patients had extensive UC (155 [39.2%]) whereas 143 (36.2%) had left-sided UC and 97 (24.6%) proctitis. CD affected ileum-colon [L3] in 172 (49.1%) cases, ileum [L1] in 132 (37.7%), colon [L2] in 42 (12%) and upper gastrointestinal tract [L4] in 4 (1.1%) patients, presenting in most cases inflammatory pattern (193 (55.1%)). Most patients were in clinical remission with a partial Mayo score of 0 (0–6) and Harvey Bradshaw Index of 0 (0–12) points. Current treatment for IBD was: 5-ASA (255 [33.8%]), anti-TNF (161 [21.4%]), no treatment (106 [14.1%]), non-anti-TNF biologic drugs (82 [10.9%]), immunosuppressant (74 [9.8%]), immunosuppressant + anti-TNF (39 [5.2%]), steroids (10 [1.3%]), immunosuppressant + non-anti-TNF biologic drug (7 [0.9%]), tofacitinib (6 [0.8%]) and other (14 [1.8%]).

At enrolment, 67 (8.9%) had a history of confirmed SARS-CoV-2 infection, 37 (4.9%) had a history of probable SARS-CoV-2 infection and 649 (86.2%) had no history of known infection. Of all patients, most of them

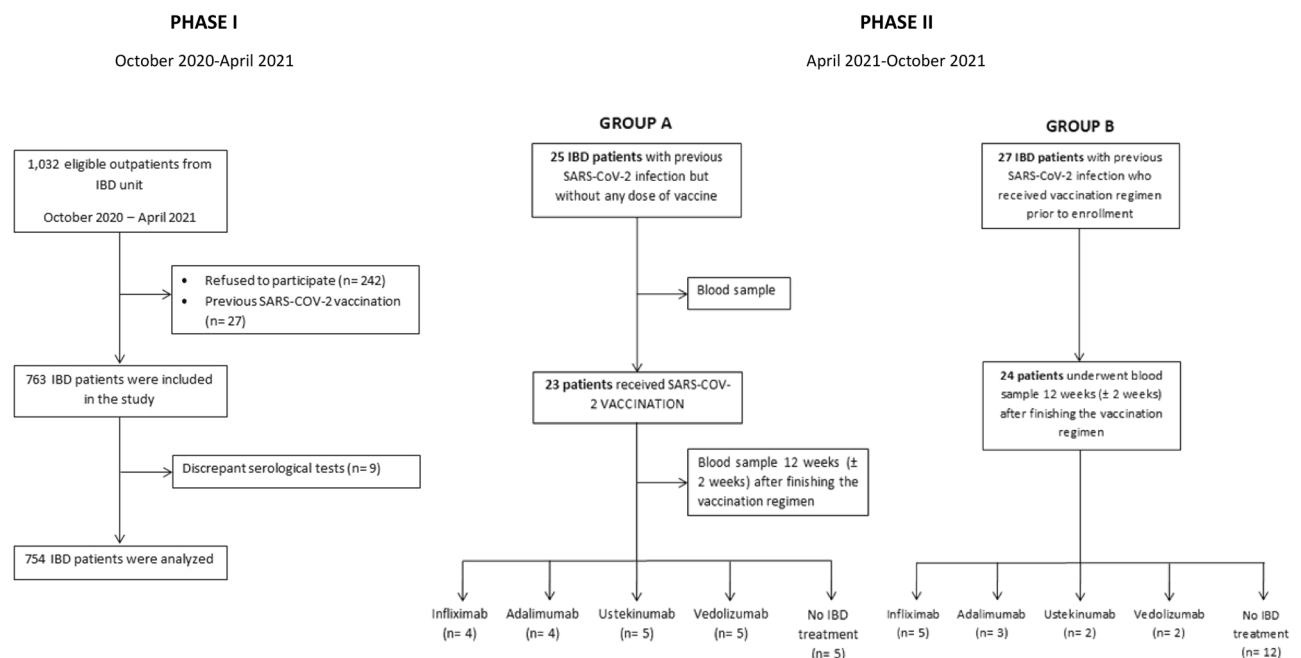


Figure 1. Flow chart of patient selection. IBD inflammatory bowel disease.

remained asymptomatic (660 [87.8%]) whereas 92 patients (12.2%) developed symptoms compatible with SARS-CoV-2 infection. Among patients with a history of confirmed/suspected SARS-CoV-2 infection, 12 (11.5%) were asymptomatic and the most common symptoms were fever (52 [50%]), asthenia (38 [36.5%]), anosmia/ageusia (27 [25.9%]) and cough (22 [21.2%]). Eight patients required hospitalization (1.1% of the total and 7.7% of patients with confirmed/suspected SARS-CoV-2 infection).

Seroprevalence and potential risk factors associated with seroconversion and severity of the infection

The first test measuring anti-inactivated native antigen IgG was negative in 686 (91%) cases, positive in 61 (8.1%) and indeterminate in 7 (0.9%). IgA test was negative in 721 (95.6%) cases, positive in 19 (2.5%) and indeterminate in 14 (1.9%). The second test assessing anti-spike IgG levels was positive in 53 (63.1%), negative in 22 (26.2%) and indeterminate in 9 (10.7%). After solving discrepancies between the different tests, 72 (9.5%) patients were considered seroconverted and 682 (90.5%) had a negative serology.

Among patients with confirmed/suspected infection, higher seroconversion rates were detected for hospitalized patients compared to outpatients (87.5% vs 36.5%, $p = 0.007$). However, no differences were observed between symptomatic and asymptomatic patients (33.3% vs 41.3%; $p = 0.758$).

Obesity was identified as a risk factor for seroconversion (univariable: 16.5% vs 8.1%, $p = 0.005$; multivariable: aOR 2.28 95%CI (1.32–3.94), $p = 0.003$) as well as an increased waist perimeter (univariable: 13.4% vs. 7.1%, $p = 0.005$; multivariable: aOR 2.03 95%CI (1.22–3.40), $p = 0.007$). Treatment with anti-TNF was associated with lower rates of seroconversion (3.7% vs. 13.0%, $p < 0.001$), findings confirmed in multivariable analysis (Table 1). No differences in the proportion of confirmed and suspected SARS-CoV-2 infection were detected between patients treated with biologic drugs and those without IBD treatment (Supplementary Fig. 1).

Other treatments showed no association with seroconversion rates (Table 1). No differences were observed by age, sex, legal or illegal drug consumption, presence of metabolic syndrome or other comorbidities. Age at diagnosis of IBD, type of IBD, presence of perianal disease or extraintestinal manifestations, surgery for IBD or activity were not associated with seroconversion.

No association between the risk of hospitalization and demographic variables, comorbidities, IBD-related factors or IBD therapy (Table 1) was found.

Phase II: Immune response against SARS-CoV-2 vaccine

Characteristics of the sample

Of 754 IBD patients who participated in Phase I, 52 IBD participants with previously confirmed SARS-CoV-2 infection were recruited for Phase II. Group A was compounded by 25 patients not vaccinated against SARS-CoV-2 who underwent a blood extraction at enrolment and after vaccination (23 participants were finally vaccinated). Group B included 24 patients who underwent one blood extraction after SARS-CoV-2 vaccination. A representative sample of patients under each biologic drug and control patients without any IBD treatment were included in both groups (Fig. 1).

The mean age of participants included in Group B was significantly higher (51.8 ± 13.2 years vs. 42.0 ± 14.1 years; $p = 0.015$) because public health policies started vaccination in decreasing order of age. In both groups, more than half of the participants were female and over 75% had CD. The baseline characteristics of participants included in Phase 2 are detailed in Table 2.

Humoral response

When IgG levels were compared before and after vaccination in Group A, a statistically significant increase was observed after immunisation, regardless of the biologic drug received (Supplementary Table 1). However, post-vaccination IgG levels in patients treated with anti-TNF were significantly lower compared with those without IBD treatment (Supplementary Table 2). No differences were observed for patients treated with ustekinumab and vedolizumab (Fig. 2).

Only 9 patients had a documented PCR ($n = 3$) or antigen test ($n = 6$) positive for SARS-CoV-2 in their medical records from vaccination to November 2023. We found no statistically significant differences in post-vaccination

Treatment	Seroconversion p-value*	Hospitalization p-value*
Anti-TNF	< 0.001 **aOR0.25 95%CI (0.10–0.61), $p = 0.002$	0.316
Non-anti-TNF biologic drug	0.350	1.000
Immunosuppressant + anti-TNF	0.067	0.421
Immunosuppressant + non-anti-TNF biologic drug	0.602	1.000
Immunosuppressant	0.561	1.000
Steroids	0.627	0.201

Table 1. Association between IBD therapy, seroconversion and hospitalization. Treatments were compared using patients receiving no treatment and/or 5-ASA alone as the reference group. ASA 5-aminosalicylic acid, TNF tumor necrosis factor. *Univariable analysis. **Multivariable analysis. Significant values are in bold.

Characteristics	Group A (n = 25)	Group B (n = 24)	p-value
Female, n (%)	15 (60.0)	13 (54.2)	0.680
Age (years), mean $\pm$ SD	42.0 $\pm$ 14.1	51.8 $\pm$ 13.2	0.015
Type of IBD, n (%)			
UC	4 (16.0)	6 (25.0)	0.496
CD	21 (84.0)	18 (75.0)	0.496
Extent of UC, n (%) (n = 10)			
Proctitis	0 (0.0)	1 (16.7)	1.000
Left-sided colitis	2 (50.0)	3 (50.0)	1.000
Extensive colitis	2 (50.0)	2 (33.3)	1.000
Extent of CD, n (%) (n = 39)			
Ileocolonic [L3]	8 (38.1)	10 (55.6)	0.276
Terminal ileum [L1]	10 (47.6)	5 (27.8)	0.204
Colonic [L2]	1 (4.8)	1 (5.6)	1.000
Ileocolonic [L3] + Upper disease [L4]	2 (9.5)	1 (5.6)	1.000
Terminal ileum [L1] + Upper disease [L4]	0 (0.0)	1 (5.6)	0.462
CD behaviour, n (%) (n = 39)			
Inflammatory	11 (52.4)	12 (66.7)	0.366
Strictureing	9 (42.9)	3 (16.7)	0.096
Penetrating	1 (4.8)	2 (11.1)	0.586
Strictureing + Penetrating	0 (0.0)	1 (5.6)	0.462

Table 2. Characteristics of the participants included in Phase II. p-values in bold format indicate statistical significance ($p < 0.05$). CD Crohn's disease, IBD inflammatory bowel disease, UC ulcerative colitis. *The Chi-square test or Fisher's test was used for the qualitative variables, and quantitative variables t-student or Mann-Whitney U test, as appropriate.

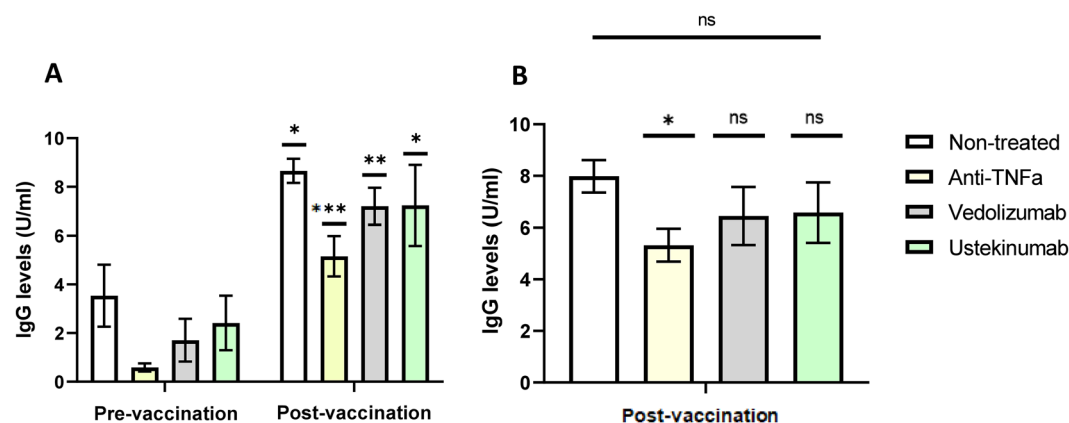


Figure 2. Humoral response to SARS-CoV-2 vaccine. (A) Comparison between pre and post-vaccination IgG levels in patients of Group A. (B) Comparison of post-vaccination IgG levels (vaccinated patients of Group A and B), detailed by treatment (patients with each biologic drug were compared with those without IBD treatment). ANOVA test was used. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ ns: non-significant.

IgG levels when patients with/without a history of reinfection after vaccination were compared (7.51 ± 2.34 vs. 6.47 ± 2.97 U/ml, $p = 0.333$).

Cellular response

After vaccination (vaccinated patients of Group A and B), the percentages of lymphocytes with LAG-3 and TIM-3 expression significantly increased compared with non-vaccinated patients (46.2 ± 27.6 vs. $16.4 \pm 13.4\%$, $p < 0.001$ and 6.63 ± 14.3 vs. $-1.04 \pm 1.09\%$, $p = 0.010$, respectively) (Fig. 3 and Supplementary Table 3). Regarding monocytes (Fig. 4 and Supplementary Table 4), response to vaccination significantly decreased the percentage of TIM-3 (66.0 ± 16.7 vs. $84.8 \pm 9.4\%$, $p < 0.001$) and significantly increased the percentage of LAG-3 and PD-1 (96.4 ± 3.9 vs. 81.5 ± 18.3 , $p < 0.001$ and 93.8 ± 2.3 vs. $87.2 \pm 5.4\%$, $p < 0.001$, respectively). Regarding NK cells (Fig. 5 and Supplementary Table 5), activation after vaccination mainly increased the percentage of NKG2A

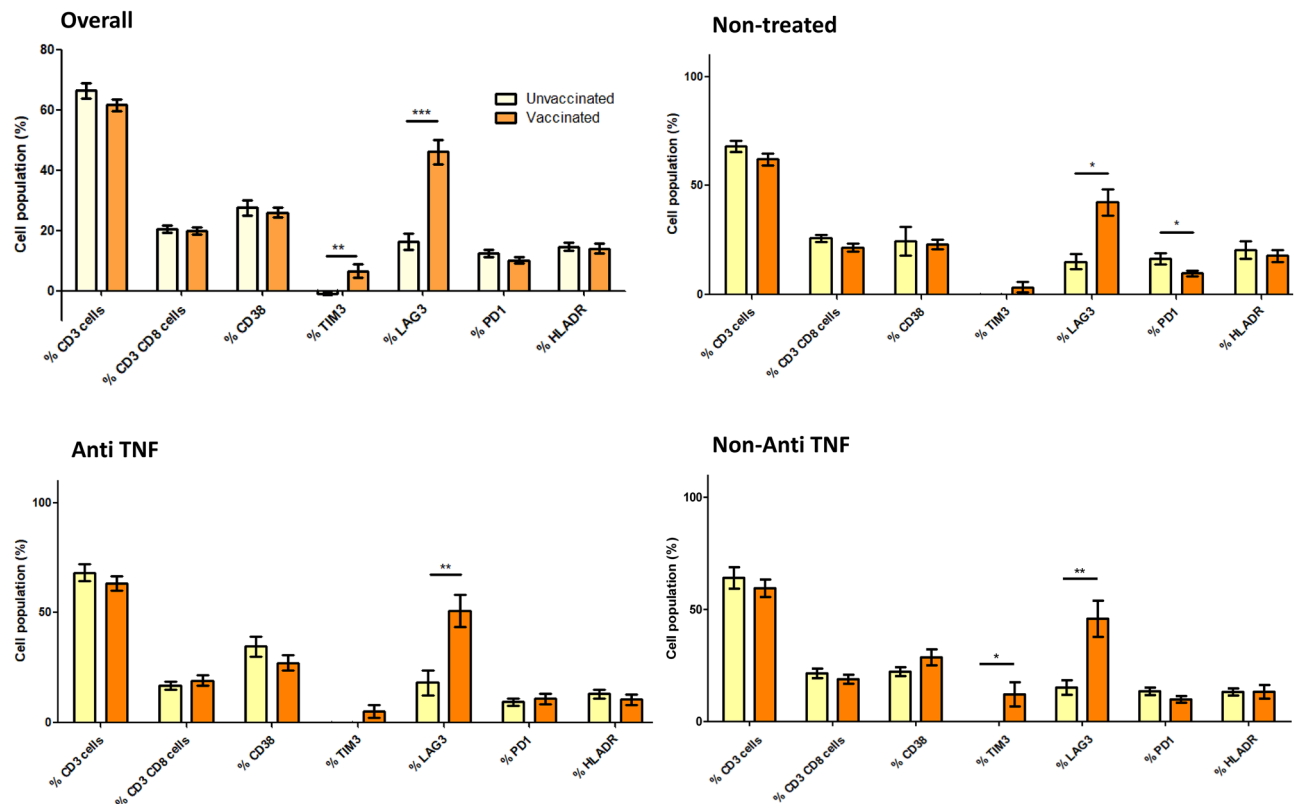


Figure 3. Cell populations in vaccinated and non-vaccinated patients: Lymphocytes. Unvaccinated: non-vaccinated patients of Group A. Vaccinated: vaccinated patients of Group A and Group B. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$.

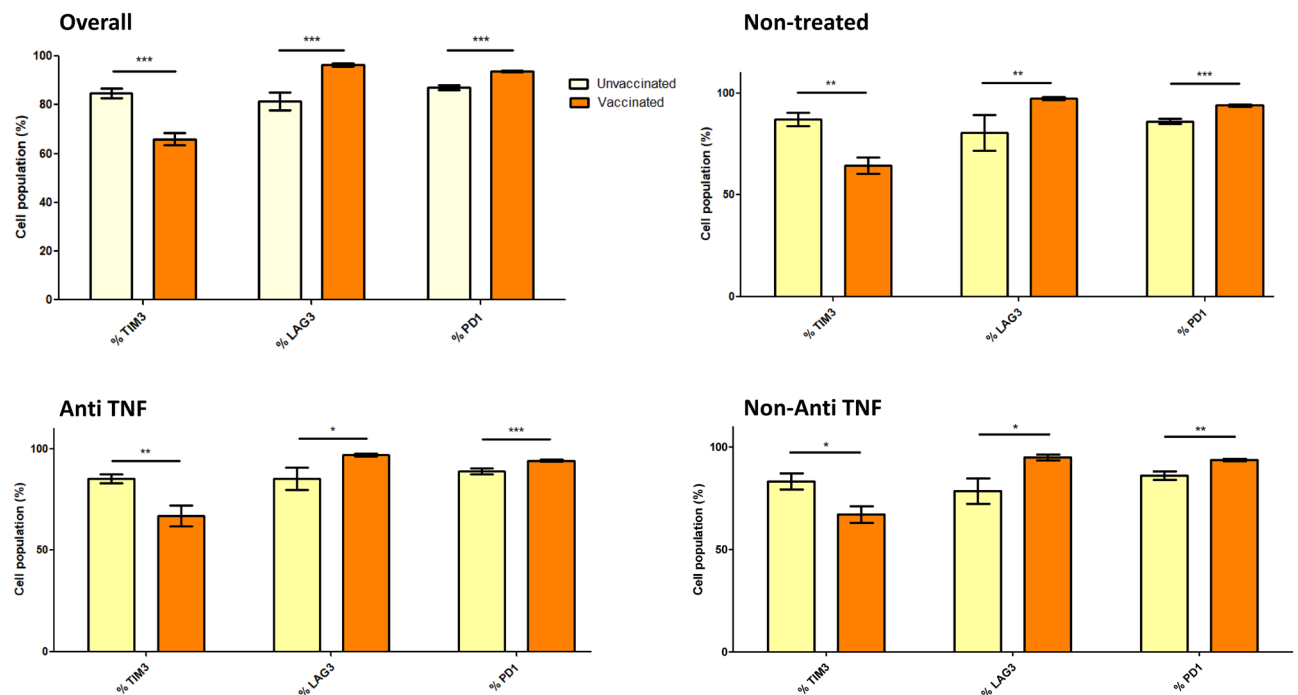


Figure 4. Cell populations in vaccinated and non-vaccinated patients: Monocytes. Unvaccinated: non-vaccinated patients of Group A. Vaccinated: vaccinated patients of Group A and Group B. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$.

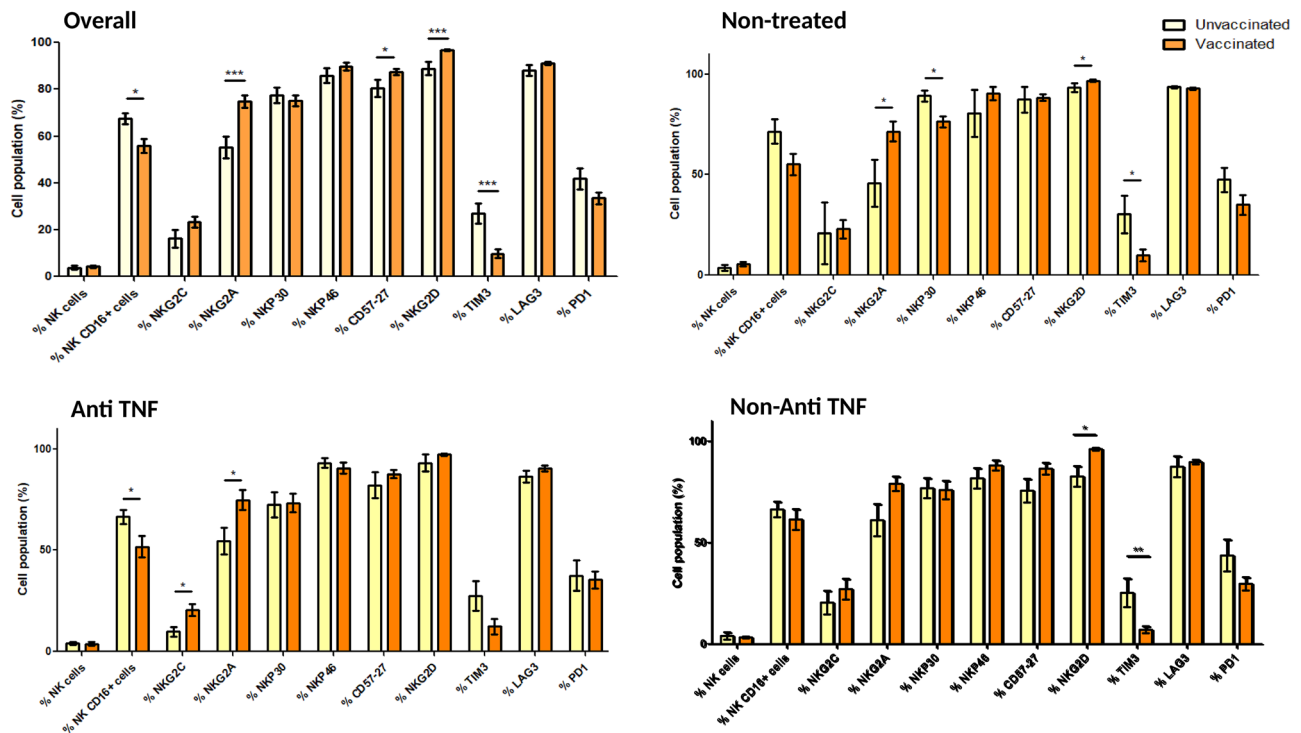


Figure 5. Cell populations in vaccinated and non-vaccinated patients: Natural Killer (NK). Unvaccinated: non-vaccinated patients of Group A. Vaccinated: vaccinated patients of Group A and Group B. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$.

(74.8 ± 17.7 vs. $55.3 \pm 23.3\%$, $p < 0.001$) and NKG2D (96.6 ± 2.3 vs. $88.9 \pm 13.9\%$, $p < 0.001$) and decreased the percentage of TIM-3 (9.8 ± 11.8 vs. $27.1 \pm 21.5\%$, $p < 0.001$).

Opposite trends were observed between patients treated with anti-TNF and patients treated with vedolizumab. Detailed data of lymphocyte, monocyte and natural killer populations for vedolizumab and ustekinumab are showed in Supplementary Fig. 2. LAG-3 expression in the lymphocyte population was an excellent example of these differences. Patients treated with vedolizumab had a lower expression of this population than those receiving anti-TNF (Fig. 3 and Supplementary Table 3). Regarding monocyte populations, except for a decreasing tendency in the TIM-3 population with vedolizumab, no differences were observed between treated and untreated patients after vaccination (Fig. 4 and Supplementary Table 4). Finally, NK cell populations NKP30, CD57-27, TIM-3, and PD-1 showed different trends in patients treated with anti-TNF and vedolizumab (Fig. 5 and Supplementary Table 5).

When patients with CD and UC were compared, a higher increase of TIM-3 and LAG-3 lymphocytes, a more significant decrease of TIM-3 and PD-1 NK cells and a higher increase of NKG2A NK cells were observed (Supplementary Fig. 3). No conclusive differences were observed in the analysis stratified by gender (Supplementary Figs. 4–6).

Discussion

Screening and prevention of infections in patients potentially receiving biologic drugs is an essential strategy, which is generally recommended before starting the treatment, due to a possible suboptimal vaccine response. SARS-CoV-2 infection is an excellent opportunity to learn about the immune response in patients treated with biologic drugs since it is a recently emerged disease with an available vaccine.

We found a significantly lower seroprevalence of SARS-CoV-2 infection and significantly lower post-vaccination IgG levels in patients treated with anti-TNF. Although conflicting data on the humoral response were published¹³ several studies reported an impaired humoral response to the SARS-CoV-2 vaccine in patients treated with anti-TNF drugs^{12,19–22}. Thus, the hypothesis of possible suboptimal protection after SARS-CoV-2 vaccination in IBD patients treated with anti-TNF became more robust.

Nevertheless, the vaccine also induces a complex cellular response, which has been less studied in patients with IBD. Then, we studied several markers of activation or down-regulation of lymphocytes, monocytes and NK cells by flow cytometry. We chose specific markers based on two main reasons: 1. They were the main markers involved in the regulation of T and NK cell activation during viral infection; 2. A more detailed analysis using more markers was previously performed (Uranga et al.³⁵) and these markers were the ones that showed more changes in these cell populations.

We identified an increased expression of LAG-3 and TIM-3 in lymphocytes of IBD patients after vaccination. LAG-3 is a transmembrane protein not expressed on naive T cells, but activation after antigen stimulation can promote its expression. The primary function of LAG-3 after binding to its ligand is the downregulation of

immune response after activation. It reduces granzyme production in effector T cells and induces differentiation of regulatory T cells^{23,24}. Similarly, TIM-3 also regulates effector T cell function²⁵. The expression of co-inhibitory receptors usually results from cell activation to avoid an uncontrolled response²⁶. When the different biologic drugs were compared, some differences in cell population trends were observed, although most did not reach statistical significance. HLA-DR, associated with T-cell activation, was decreased in patients treated with anti-TNF and vedolizumab. However, its role in regulating the antiviral immune response is still controversial²⁷. For LAG-3, which is directly associated with a reduced immune response to viral infections, we observed a trend toward higher expression in patients treated with anti-TNF, in contrast to patients treated with vedolizumab.

Regarding monocytes, we found a significant increase in the proportion of PD-1 and LAG-3 after vaccination. PD-1 expression increases in monocytes as an activation marker and it has an inhibitory function to balance responses to clear pathogens and tumors and maintain tolerance. However, PD-1 expression showed a significant increase in anti-TNF-treated patients which could promote a decrease in the restoration of immune functions²⁸. Lower TIM-3 expression in monocytes could promote immune stimulation through cytokine production and cytotoxicity of T cells²⁹. TIM-3 expression tended to decrease in vedolizumab-treated patients. However, no other differences were found between other biologics and patients without IBD treatment³⁰.

When we analyzed NK populations, an increased expression of NKG2A and NKG2D and a lower expression of TIM-3 were observed after vaccination. NKG2A are inhibitory receptors and NKG2D are activating receptors that recognise HLA-E and stress ligands (MIC and ULBP families) in infected target cells during antiviral responses^{31,32}. Some studies reported that the spike 1 protein of SARS-CoV-2 induced overexpression of NKG2A and correlated with disease severity³³. NKG2C transduces activation signals after recognizing non-classical HLA-E. In our study, patients treated with vedolizumab tended to have a higher expression of NKG2A, which could be associated with homeostatic control of the antiviral response as it is considered an immune checkpoint³⁴. An opposite trend was observed in anti-TNF-treated patients, with lower expression of the NKG2C population that could promote lower expansion of memory NK cells providing a less efficient antiviral response.

Therefore, the activation patterns of the different cellular populations seemed interestingly similar when analyzed according to IBD therapy (Figs. 3, 4 and 5 and Supplementary Fig. 2). In summary, we observed similar trends in patients treated with vedolizumab and ustekinumab. However, they did not reach statistical significance occasionally, probably due to the smaller sample size of these subgroups. Despite the lower humoral response in patients who received anti-TNF drugs, our key finding was that these drugs did not significantly influence the cellular response compared with patients who did not receive IBD treatment.

Our findings in Phase II were plausible considering that most studies performed to date, and the Phase I of our study, found a similar severity and risk of infection in patients treated with anti-TNF compared with those without treatment^{5–8}. It could be explained by the absence of relevant differences in cellular response, despite the lower serological response.

Finally, we acknowledge the following limitations of the study: 1. the small sample size of Phase II, despite post-vaccination patients were grouped, the pre-vaccination groups remained very small; 2. the small proportion of hospitalized patients could have influenced severity analysis in Phase I, and mortality could not be evaluated; 3. The analysis of cytokine production could have provided additional information on the functional activation of T/NK cells. However, the study main strength was the complete evaluation of the seroprevalence, potential IBD-related risk factors and humoral and cellular response to the vaccine. Other strengths were the internal control measuring levels of anti-TNF to ensure therapeutic adherence and the homogeneity of the sample and the diagnostic tests, because patients were recruited from the same healthcare area and samples were analyzed in the same equipment.

In conclusion, despite a lower seroprevalence and humoral response to the SARS-CoV-2 vaccine in patients treated with anti-TNF, cellular response to the vaccine did not significantly differ in patients treated with biologic drugs compared with patients who did not receive IBD therapy.

Methods

Study design and recruitment

This single-center observational study recruited consecutive outpatients treated in the IBD unit of the Lozano Blesa University Hospital of Zaragoza (Spain) between October 2020 and October 2021.

Patients older than 18 years with an established diagnosis of Crohn's Disease (CD), Ulcerative Colitis (UC) or Indeterminate Colitis (IC) were included in the study, after signing informed consent.

To facilitate the monitoring and comprehension of the study, it was divided into 2 phases. Initially, Phase I to estimate the seroprevalence of SARS-CoV-2 infection in patients with IBD. Phase II to assess the humoral and cellular response to the SARS-CoV-2 vaccine in IBD patients under biologic therapy (Fig. 6).

Phase I: Seroprevalence

Between October 2020 and April 2021, 754 patients with IBD who had not previously been vaccinated against SARS-CoV-2 were included. All patients underwent a blood extraction saving several aliquots of each sample.

First, the ELISA method was used to measure IgG and IgA levels against inactivated native antigen of SARS-CoV-2 (Grifols®). Reference values recommended by the manufacturer were used for IgG and IgA (<0.9 U/ml negative, 0.9–1.1 U/ml indeterminate, >1.1 U/ml positive). In any case with a positive or indeterminate level of IgG and/or IgA, a confirmatory anti-spike protein IgG (Euroimmun®) test was performed, considering negative test in case of levels <0.8 U/ml, positive if levels were >1.1 U/ml and indeterminate between 0.8 and 1.1 U/ml.

Patients with a positive IgA and/or IgG test were considered seroconverted. Discrepant results between both IgG tests were interpreted as follows: in the case of IgG anti-spike positive the patient was considered to have

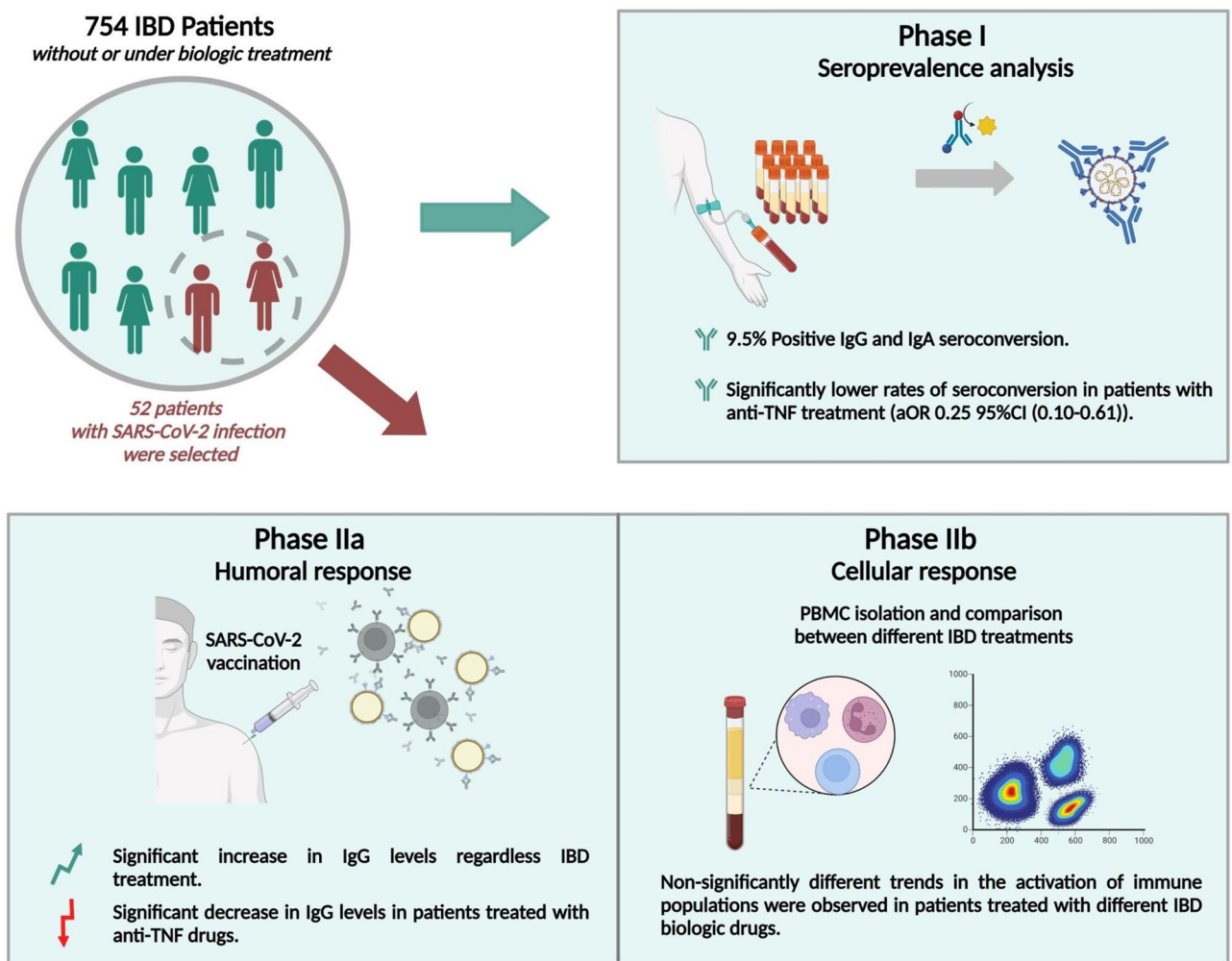


Figure 6. Study design: Phase I to assess SARS-CoV-2 seroprevalence and Phase II to assess humoral and cellular response to SARS-CoV-2 vaccine. *IBD* inflammatory bowel disease. *TNF* tumor necrosis factor.

seroconverted; cases with anti-inactivated native antigen IgG positive and anti-spike IgG negative or indeterminate were excluded.

Phase II: Humoral and cellular response to the SARS-CoV-2 vaccine

Between May 2021 and October 2021, the humoral and cellular response was determined in a subgroup of 52 patients with history of confirmed SARS-CoV-2 infection and IBD under biologic treatment (anti-TNF (infliximab or adalimumab), ustekinumab or vedolizumab) or without IBD treatment.

Participants were divided into two groups: Group A included patients with previous SARS-CoV-2 infection who had not received any dose of the SARS-CoV-2 vaccine at the beginning of Phase 2. Group B included patients with previous SARS-CoV-2 infection who had received the first dose of the SARS-CoV-2 vaccine at the beginning of Phase II.

Group A underwent a blood draw before receiving any dose of the SARS-CoV-2 vaccine and 12 weeks (± 2 weeks) after finishing the SARS-CoV-2 vaccination regimen. Group B underwent only one blood draw 12 weeks (± 2 weeks) after finishing the SARS-CoV-2 vaccination regimen. Due to the rapid implementation of the vaccination program in our area, we were unable to obtain pre-vaccination blood samples in group B because these patients had already received the vaccine at the time of recruitment.

Participants received, following national and local health authority guidelines, modified RNA based vaccines targeting the surface protein of SARS-CoV-2 (Moderna and Pfizer/BioNTech) or non-replicating vector vaccines which carry a SARS-CoV-2 antigen as transgene (Oxford-AstraZeneca).

The ELISA method described above was used again to measure IgG levels against inactivated native antigen (Grifols®) to analyse the humoral response.

For the analysis of the cellular response, peripheral blood was collected into sodium heparin tubes and treated with “Red Blood Cell Lysis Buffer” (Roche) for ten minutes at room temperature to remove the erythrocytes. Subsequently, the number of cells and viability were assessed and ten million of cells per patient were cryopreserved in a media composed of inactivated Fetal Bovine Serum (FBS) and Dimethyl Sulfoxide (DMSO). After collecting all samples from all participants, samples from each patient were thawed separately and incubated with

DNase I (Roche) for 10 min at 37 °C to avoid aggregate formation. Finally, Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs) were counted and aliquoted for staining with fluorochrome-labeled antibodies and flow cytometry analysis (Gallios from Beckman Coulter). PBMCs were stained with specific antibodies using 3 different panels³⁵. Panel 1 (T regulatory cells): CD3, CD8, CD45, CD38, CD8, HLADR, TIM3, PD1. Panel 2 (activating/inhibitory NK cell receptors): CD3, CD56, CD16, CD57, NKG2A, NKG2C, NKG2D, NKp30, NKp46. Panel 3 (activated/exhausted NK cells and Monocytes): CD3, CD56, CD16, CD14, TIM3, LAG3, PD1, HLA-DR.

To get a general view of T cell responses during infection we performed the analysis in the general T cell population. This was mainly based in previous studies in which significant changes were observed during SARS-CoV-2 infection correlating with disease severity when using similar selection strategies without requirement to analyze specific virus T cell responses. Indeed, although antigen specific T cell responses were analyzed in the previous studies, they did not correlate with disease severity³⁵.

Detailed information on the antibodies used can be found in Supplementary Table 6. Flow cytometry gating strategy is detailed in Supplementary Fig. 7.

Additionally, a representative sample of patients under biologic treatment underwent drug-level analysis (Grifols®) to confirm treatment adherence.

Variables

Medical records were reviewed to identify demographic variables, comorbidities, general blood tests (one month before or after the first consultation) and IBD-related features and its specific treatment. Localization or extension of IBD was defined using Montreal Classification for CD (ileal [L1], colonic [L2], ileocolonic [L3], isolated upper disease [L4] or UC (proctitis, left-sided, pancolitis), respectively.

During the clinical history, IBD activity was assessed using validated questionnaires (partial Mayo score for UC and Harvey Bradshaw Index for CD). Clinical remission was considered in case of partial Mayo score ≤ 1 or Harvey-Bradshaw Index ≤ 4 points. Patients were classified by SARS-CoV-2 infection status according to the following definitions: confirmed SARS-CoV-2 infection in case of a positive SARS-CoV-2 PCR (Polymerase Chain Reaction) analysis taken by nasopharyngeal swab, and suspected SARS-CoV-2 infection if the participant had fever ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) with one or more respiratory tract symptoms without an alternative diagnosis in the absence of a PCR analysis.

Statistical analysis and ethical declarations

Statistical analysis was performed using Jamovi version 2.3.21. Graphpad Prism was used to perform the graphs. Qualitative variables were presented as absolute and relative frequencies (n [%]). Normality was assessed using the Kolmogorov–Smirnov test where $p > 0.05$ means normality. Quantitative variables were presented as mean and standard deviation or median and range depending on normality. The Chi-square or Fisher exact test was used to study the association between qualitative variables, as appropriate. In the case of quantitative variables, Student's t-Test, Analysis of Variance test (ANOVA), Mann–Whitney U Test or Wilcoxon test were used, as appropriate. A multivariable logistic regression analysis was also performed. Patients receiving no treatment and 5-Aminosalicylic Acid (5-ASA) were used as a reference group when an association between different treatments for IBD and seroconversion or severity was analyzed. A p-value < 0.05 was considered statistically significant.

There was no predefined sample size for Phase I, so all patients who attended our outpatient IBD unit during these months were invited to participate. For Phase II the sample size was limited, especially in Group A including patients recruited before vaccination, due to the start of the vaccination campaign and the low prevalence of confirmed SARS-CoV-2 infection (patients frequently had a history of suspected infection without microbiological confirmation).

This study was approved by the Ethics Committee of Clinical Research of Aragón (CEICA, Code PI20/478) and was carried out following the Declaration of Helsinki. All participants included in the study signed informed consent. Every data was confidential and subject to anonymization. Data are available on reasonable request from the authors. All authors had access to the study data and had reviewed and approved the final manuscript.

Data availability

Data available on reasonable request from the corresponding author (Samuel J. Martínez-Domínguez).

Received: 9 September 2023; Accepted: 21 December 2023

Published online: 27 December 2023

References

- Kaplan, G. G. & Windsor, J. W. The four epidemiological stages in the global evolution of inflammatory bowel disease. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **18**, 56–66 (2021).
- Reich, J., Wasan, S. & Farrae, F. A. Vaccinating patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterol. Hepatol.* **12**, 540–546 (2016).
- Coronavirus disease (COVID-19)—World Health Organization <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019> (2023).
- Monteleone, G. & Ardizzone, S. Are patients with inflammatory bowel disease at increased risk for covid-19 infection?. *J. Crohns Colitis* **14**, 1334–1336 (2020).
- Sultan, K. *et al.* Corticosteroid and biologic use not associated with adverse outcomes for inflammatory bowel disease patients hospitalized with COVID-19. *Gastroenterol. Res.* **14**, 324–333 (2021).
- Di Ruscio, M. *et al.* A seroprevalence study of anti-SARS-CoV-2 antibodies in patients with inflammatory bowel disease during the second wave of the COVID-19 pandemic in Italy. *Medicina* **57**, 1048 (2021).
- Mossa, M. *et al.* SARS-CoV-2 IgG seroprevalence in IBD patients treated with biologics: First vs. second pandemic wave in a prospective study. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **26**, 3787–3796 (2022).

8. Scucchi, L. *et al.* Low prevalence of SARS-CoV-2 infection in inflammatory bowel disease. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **2021**(25), 2418–2424 (2021).
9. Wetwittayakhang, P. *et al.* Clinical outcomes of COVID-19 and impact on disease course in patients with inflammatory bowel disease. *Can. J. Gastroenterol. Hepatol.* **2021**, 7591141. <https://doi.org/10.1155/2021/7591141> (2021).
10. Alrashed, F., Battat, R., Abdullah, I., Charabaty, A. & Shehab, M. Impact of medical therapies for inflammatory bowel disease on the severity of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *BMJ Open Gastroenterol.* **8**, e000774. <https://doi.org/10.1136/bmjgast-2021-000774> (2021).
11. Bamias, G. *et al.* The natural history of COVID-19 in patients with inflammatory bowel disease: A nationwide study by the Hellenic Society for the study of IBD. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **33**, e810–e817. <https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000002267> (2021).
12. Kennedy, N. A. *et al.* Anti-SARS-CoV-2 antibody responses are attenuated in patients with IBD treated with infliximab. *Gut* **70**, 865–875 (2021).
13. Berte, R. *et al.* Seroprevalence of SARS-CoV2 in IBD patients treated with biologic therapy. *J. Crohns Colitis* **15**, 864–868 (2021).
14. Kucharzik, T. *et al.* ECCO guidelines on the prevention, diagnosis, and management of infections in inflammatory bowel disease. *J. Crohns Colitis* **15**, 879–913 (2021).
15. Ferreira-Iglesias, R. *et al.* Recomendaciones del Grupo Español de Trabajo en Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa sobre la importancia, el cribado y la vacunación en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. *Gastroenterol. Hepatol.* **45**, 805–818 (2022).
16. Jørgensen, K. K. *et al.* Humoral immune response to SARS-CoV-2 vaccination in patients with inflammatory bowel disease on immunosuppressive medication: Association to serum drug levels and disease type. *Scand. J. Gastroenterol.* **58**, 874–882 (2023).
17. Esposito, S. *et al.* Risks of SARS-CoV-2 infection and immune response to COVID-19 vaccines in patients with inflammatory bowel disease: Current evidence. *Front. Immunol.* **13**, 933774. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.933774> (2022).
18. Cerna, K. *et al.* Cellular and humoral immune responses to SARS-CoV-2 vaccination in inflammatory bowel disease patients. *J. Crohns Colitis* **8**, 1347–1353 (2022).
19. Bordalo Ferreira, F. *et al.* Anti-tumor necrosis factor therapy is associated with attenuated humoral response to SARS-CoV-2 vaccines in patients with inflammatory bowel disease. *Vaccine* **41**, 3862–3871 (2023).
20. Liu, Z. *et al.* Neutralising antibody potency against SARS-CoV-2 wild-type and omicron BA.1 and BA.4/5 variants in patients with inflammatory bowel disease treated with infliximab and vedolizumab after three doses of COVID-19 vaccine (CLARITY IBD): An analysis of a prospective multicentre cohort study. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* **8**, 145–156 (2023).
21. Ghavami, S. B. *et al.* Serological response to SARS-CoV-2 is attenuated in patients with inflammatory bowel disease and can affect immunization. *JGH Open* **6**, 266–269 (2022).
22. Chanchlani, N. *et al.* Adalimumab and infliximab impair SARS-CoV-2 antibody responses: Results from a therapeutic drug monitoring study in 11,422 biologic-treated patients. *J. Crohns Colitis* **16**, 389–397 (2022).
23. Maruhashi, T., Sugiura, D., Okazaki, I. & Okazaki, T. LAG-3: From molecular functions to clinical applications. *J. Immunother. Cancer* **8**, e001014. <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-001014> (2020).
24. Rodríguez-Guilarte, L., Ramírez, M. A., Andrade, C. A. & Kalergis, A. M. LAG-3 contribution to T cell downmodulation during acute respiratory viral infections. *Viruses* **15**, 147 (2023).
25. Anderson, A. C., Joller, N. & Kuchroo, V. K. Lag-3, Tim-3, and TIGIT co-inhibitory receptors with specialized functions in immune regulation. *Immunity* **44**, 989–1004 (2016).
26. Herrmann, M. *et al.* Analysis of co-inhibitory receptor expression in COVID-19 infection compared to acute plasmodium falciparum malaria: LAG-3 and TIM-3 correlate with T cell activation and course of disease. *Front. Immunol.* **11**, 1870. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01870> (2020).
27. Tippalagama, R. *et al.* HLA-DR marks recently divided antigen-specific effector CD4 T cells in active tuberculosis patients. *J. Immunol.* **207**, 523–533 (2021).
28. Zasada, M. *et al.* Analysis of PD-1 expression in the monocyte subsets from non-septic and septic preterm neonates. *PLoS ONE* **12**, e0186819. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186819> (2017).
29. Wang, S. *et al.* Fecal bacteria from ulcerative colitis patients downregulate Tim-3-mediated inhibitory effects on monocytes in vitro. *Microb. Pathog.* **128**, 147–152 (2019).
30. Zhang, Y. *et al.* Tim-3 regulates pro- and anti-inflammatory cytokine expression in human CD14+ monocytes. *J. Leukoc. Biol.* **91**, 189–196 (2012).
31. Kumar, S. Natural killer cell cytotoxicity and its regulation by inhibitory receptors. *Immunology* **154**, 383–393 (2018).
32. Scott-Algara, D., Mancini-Bourguin, M., Fontaine, H., Pol, S. & Michel, M.-L. Changes to the natural killer cell repertoire after therapeutic hepatitis B DNA vaccination. *PLoS ONE* **5**, e8761. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008761> (2010).
33. Wang, X., Xiong, H. & Ning, Z. Implications of NKG2A in immunity and immune-mediated diseases. *Front. Immunol.* **13**, 960852. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.960852> (2022).
34. Della Chiesa, M., Sivori, S., Carlomagno, S., Moretta, L. & Moretta, A. Activating KIRs and NKG2C in viral infections: Toward NK cell memory? *Front. Immunol.* **6**, 573. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00573> (2015).
35. Uranga-Murillo, I. *et al.* Integrated analysis of circulating immune cellular and soluble mediators reveals specific COVID19 signatures at hospital admission with utility for prediction of clinical outcomes. *Theranostics* **12**, 290–306 (2022).

Author contributions

S.J.M.D.: Conceptualization, Data Curation, Formal Analysis, Methodology, Writing-original draft. S.G.M.: Conceptualization, Data Curation, Formal Analysis, Writing-original draft. P.S.A.: Conceptualization, Methodology, Writing-review & editing. J.M.G.: Data curation, Formal analysis, Writing-review & editing. B.G.L.: Data curation, Writing-review & editing. M.J.L.L.: Data curation, Writing-review & editing. S.H.: Data curation, Writing-review & editing. C.J.G.P.: Data curation, Writing-review & editing. M.L.S.: Data curation, Writing-review & editing. M.M.L.N.C.: Data curation, Writing-review & editing. L.M.L.: Data curation, Writing-review & editing. E.R.: Data curation, Writing-review & editing. MTAV: Data curation, Writing-review & editing. M.R.N.: Supervision, Writing-review & editing. A.R.L.: Supervision, Writing-review & editing. J.P.: Supervision, Writing-review & editing. F.G.: Conceptualization, Funding acquisition, Supervision, Writing-review & editing. P.M.B.: Conceptualization, Funding acquisition, Methodology, Resources, Supervision, Writing-review & editing.

Competing interests

This project has been funded by Diputación General de Aragón (DGACOV-02). Work in the JP laboratory is funded by FEDER (Fondo Europeo de Desarrollo Regional, Gobierno de Aragón (Group B29_17R), CIBER-INFEC (CB21/13/00087), Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (MCNU), Agencia Estatal de

Investigación (PID2020-113963RBI00), Fundación Inocente Inocente, AECC (Asociación Española Contra el Cáncer), ASPANOA and Carrera de la Mujer de Monzón.

Additional information

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50537-y>.

Correspondence and requests for materials should be addressed to S.J.M.-D.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2024

Capítulo 4. Papel de la fibrosis hepática en la progresión a carcinoma hepatocelular en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal y enfermedad hepática grasa no alcohólica.

Liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease and progression to hepatocellular carcinoma in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review. *Cancers*. 2023 Jun 27; 15(13): 3367.

4.1 Métodos

Se trata de una revisión sistemática que resume la evidencia actual sobre la prevalencia y factores de riesgo de fibrosis hepática en pacientes con EHGNA y EII, así como el papel de la fibrosis hepática en el desarrollo de carcinoma hepatocelular. Para ello se elaboró una estrategia de búsqueda aplicada en cuatro bases de datos (PubMed, Web of Science, Scopus y Embase) en marzo de 2023, sin restricción temporal ni de lenguaje. Se seleccionaron estudios observacionales en los que se hubiera evaluado la prevalencia y/o factores de riesgo de fibrosis hepática en pacientes con EHGNA y EII. Se excluyeron aquellos estudios que carecían de datos originales, las comunicaciones a congresos, estudios en animales o in vitro, estudios en los que los datos de pacientes con EII y de controles sin EII no se hubieran presentado por separado, estudios que sólo incluían pacientes sin EII, y aquellos focalizados en el daño hepático por fármacos para la EII catalogados como hepatotóxicos. Se calculó la prevalencia de EHGNA y de fibrosis hepática en pacientes con y sin EII. Además, se registraron los factores de riesgo para EHGNA y fibrosis hepática identificados en cada uno de los estudios. Se evaluó la calidad de los estudios mediante la escala de Newcastle-Ottawa.

4.2 Resultados

Se identificaron un total de 4.695 registros en las bases de datos de los que, tras un cribado de referencias duplicadas, de los títulos y los resúmenes, se evaluaron un total de 88 artículos a texto completo. Finalmente, 23 estudios fueron incluidos en la revisión sistemática (10 [43,5%] transversales, 10 [43,5%] estudios de cohortes y 3 [13%] casos-contrroles). Todos los estudios estaban publicados entre 2015 y 2023, y solo 6 de ellos (26,1%) tuvieron un grupo control compuesto por pacientes sin EII. Se habían realizado 11 (47,8%) en Norteamérica, 10 (43,5%) en Europa y 2 (8,7%) en Asia.

El diagnóstico de EHGNA se estableció mediante ET en 6 estudios, ecografía en 5 estudios, revisión retrospectiva de historias clínicas en 3 estudios, biopsia hepática en 3 estudios,

combinación de ecografía y ET en 2 estudios, test de laboratorio en 2 estudios, tomografía computarizada en 1 estudio y resonancia magnética en 1 estudio. Para la determinación de la fibrosis hepática 10 estudios utilizaron ET, 7 estudios solo test serológicos no invasivos, 2 revisión retrospectiva de historias clínicas, 2 biopsia hepática, 1 combinación de test de laboratorio y ET, y 1 combinación de ET y biopsia hepática. En la evaluación de la fibrosis hepática no sólo fueron heterogéneas las técnicas diagnósticas sino los puntos de corte establecidos para su diagnóstico en los estudios que emplearon ET: 5 (41,7%) estudios 7 kPa, 2 (16,7%) 7,2 kPa, 1 (8,3%) 7,3 kPa, 1 (8,3%) 7,7 kPa, 2 (16,7%) ≥ 8 kPa y 1 (8,3%) estudio no especificaba el punto de corte.

Se incluyeron un total de 629.781 participantes, de los cuales 220.128 (35%) padecían EII y 409.653 (65%) no padecían EII al reclutamiento. La EC fue el tipo de EII más frecuente alcanzando el 99% de los pacientes con EII. El rango de edad osciló entre 33 y 57 años y el 56% de los participantes fueron mujeres. Entre todos los estudios tan solo el 0,02% de los participantes con EII había recibido metotrexato. La evaluación de la calidad de los artículos fue satisfactoria (escala de Newcastle-Ottawa ≥ 7 puntos) en 14 (61%) estudios.

Se diagnosticó EHGNA en 2.162 participantes con EII y en 924 participantes sin EII, con una prevalencia del 34% y del 31% respectivamente. Tres estudios reportaron la presencia de esteatohepatitis, obteniendo una prevalencia del 5,9%. La evaluación de la fibrosis hepática se reportó heterogéneamente en los diferentes estudios. Tres estudios demostraron una prevalencia de fibrosis hepática significativamente más alta en pacientes con EHGNA y EII en comparación con los pacientes con EHGNA sin EII. La prevalencia de fibrosis hepática avanzada fue del 12% y la de cirrosis hepática osciló entre el 0 y el 10%.

La mayoría de estudios encontraron asociación entre los factores de riesgo metabólicos clásicos (edad, sexo masculino, obesidad, DM2, HTA, dislipemia) y el desarrollo de EHGNA. En relación a los factores relacionados con la EII, algunos estudios encontraron asociación entre el desarrollo de EHGNA y un curso complicado de la EII, la actividad inflamatoria, la duración de la enfermedad o el subtipo de EC. Sin embargo, no se observó una concordancia sustancial entre los hallazgos de los diferentes estudios. Se identificaron varios factores de riesgo para el desarrollo de fibrosis hepática en pacientes con EHGNA y EII como el síndrome metabólico, el peso corporal, así como algunos factores relacionados con la EII como la duración, la actividad, el subtipo de EII, el curso o los fármacos utilizados para el tratamiento de la enfermedad. Del mismo modo que para la EHGNA, los hallazgos no fueron consistentes entre los diferentes estudios.

Ante la ausencia de estudios que aborden específicamente el desarrollo de carcinoma hepatocelular en pacientes con EHGNA y EII, se discutieron los principales mecanismos

fisiopatológicos que podrían contribuir al mismo: los genéticos, la microbiota, los cambios metabólicos o la respuesta inmune.

Finalmente, concluimos que la EHGNA es una enfermedad frecuente en los pacientes con EII y que esta puede favorecer el desarrollo de carcinoma hepatocelular mediante la progresión de la fibrosis hepática, aunque no exclusivamente a través de este mecanismo. La EC demostró tener un papel clave en el desarrollo de fibrosis hepática en pacientes con EHGNA, especialmente en asociación con otros factores de riesgo añadidos. Estos hallazgos resaltaron la importancia de implementar estrategias de prevención, tratamiento y seguimiento ya que la fibrosis hepática es el marcador pronóstico más determinante a largo plazo de los pacientes con EHGNA. A su vez, estas estrategias podrían representar un cambio en el manejo global de los pacientes con EII.

Systematic Review

Liver Fibrosis in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Progression to Hepatocellular Carcinoma in Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review

Samuel J. Martínez-Domínguez ^{1,2,3,*} , Sandra García-Mateo ^{1,2,3,†}, Viviana Laredo ^{1,2,3},
Carla J. Gargallo-Puyuelo ^{1,2,3}, Beatriz Gallego Llera ², Julia López de la Cruz ^{1,2,3} and Fernando Gomollón ^{1,2,3,4} 

¹ Department of Gastroenterology, Lozano Blesa University Hospital, 50009 Zaragoza, Spain

² Aragón Health Research Institute (IIS Aragón), 50009 Zaragoza, Spain

³ School of Medicine, University of Zaragoza, 50009 Zaragoza, Spain

⁴ CIBER for Liver and Digestive Diseases (CIBERehd), 28029 Madrid, Spain

* Correspondence: sjmartinezdo@salud.aragon.es; Tel.: +34-976-765-700

† These authors contributed equally to this work.

Simple Summary: Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) is a prevalent extraintestinal manifestation in patients with Inflammatory Bowel Disease (IBD). Liver fibrosis is the determinant long-term prognostic marker in patients with NAFLD because it is associated with progression to liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. In fact, NAFLD is already the most common liver disease worldwide and is becoming a leading cause of liver-related mortality. In this article, we systematically reviewed the available evidence regarding the prevalence and risk factors of liver fibrosis in patients with NAFLD and IBD, and we discussed the role and pathways of progression from liver fibrosis to hepatocellular carcinoma.



Citation: Martínez-Domínguez, S.J.; García-Mateo, S.; Laredo, V.; Gargallo-Puyuelo, C.J.; Gallego Llera, B.; López de la Cruz, J.; Gomollón, F. Liver Fibrosis in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Progression to Hepatocellular Carcinoma in Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review. *Cancers* **2023**, *15*, 3367. <https://doi.org/10.3390/cancers15133367>

Academic Editors: Livia Biancone and David Laharie

Received: 6 June 2023

Accepted: 19 June 2023

Published: 27 June 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: The aim of the systematic review is to assess the prevalence and risk factors of liver fibrosis in patients with Inflammatory Bowel Disease (IBD) and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and to discuss the role of liver fibrosis in the progression to hepatocellular carcinoma (HCC). We performed a structured search in PubMed, Web of Science, Embase, and Scopus up to 3 March 2023 to identify observational studies reporting liver fibrosis in patients with NAFLD and IBD. Quality of studies was assessed using the Newcastle-Ottawa Scale (NOS) score. A total of 23 studies met our inclusion criteria, including 629,781 patients. A total of 10 cross-sectional, 3 case-control, and 10 cohort studies were included. Fourteen studies had a NOS score ≥ 7 points. NAFLD was diagnosed in 2162/6332 (34.1%) IBD participants. However, NAFLD diagnosis was established in 924/2962 (31.2%) healthy individuals without IBD. Advanced liver fibrosis was found in 116 (11.6%) of 992 IBD patients with NAFLD. Most studies found an association between NAFLD and classic cardiovascular risk factors such as older age, male sex, higher BMI, diabetes, hypertension and dyslipidemia. In addition, metabolic syndrome features were also associated with an increased risk of significant and advanced liver fibrosis. Although no strong association between NAFLD and IBD therapy was reported, some studies associated NAFLD with IBD diagnosis, Crohn's Disease, a complicated course of IBD, disease activity, and IBD duration. Advanced liver fibrosis was also associated with Crohn's disease in several studies. In conclusion, NAFLD and advanced liver fibrosis are prevalent and clinically relevant extraintestinal manifestations, so its diagnosis and potential progression to HCC should be carefully considered in daily clinical practice.

Keywords: liver fibrosis; cirrhosis; NAFLD; hepatocellular carcinoma; inflammatory bowel disease; ulcerative colitis; Crohn's disease

1. Introduction

Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) is defined as the presence of more than 5% of steatotic hepatocytes in patients without significant alcohol intake [1]. Recently, some authors adopted a new term named Metabolic Associated Fatty Liver Disease (MAFLD), based on the concomitant presence of liver steatosis and metabolic risk factors [2]. The disease encompasses a broad histological spectrum, from steatosis without evidence of inflammation (Non-Alcoholic Fatty Liver: NAFL) to steatosis with necro-inflammatory injury (Non-Alcoholic Steatohepatitis: NASH), which can progress to liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC) [3]. In patients with inflammatory bowel disease (IBD), a chronic condition characterized by an exaggerated immune response mainly involving the gastrointestinal tract, NAFLD is a common extra-intestinal manifestation [4]. In fact, a retrospective study including patients with IBD reported that NAFLD was the most common cause of abnormal liver test after histological evaluation (32.7%) [5].

The worldwide burden of NAFLD is increasing with a global prevalence of approximately 25% and it is becoming a leading cause of chronic liver disease and liver transplantation in the United States [3,6]. The prevalence can rise to 55% in patients with type 2 diabetes mellitus and to 75% in obese population [7,8]; however, it should be noted that up to 40.8% of patients with NAFLD are not obese [9]. The prevalence of NAFLD in IBD population range from 2.4% to 52%, probably due to methodological differences [10–13]. In a systematic review conducted in 2014, the overall prevalence of fatty liver in IBD was 23% [4], while a meta-analysis including 19 studies found a prevalence of 27.5% with higher prevalence in studies published after 2015 [14], and in another one the prevalence rose to 30.7% [15]. In a recently published case-control study including 831 IBD patients, the prevalence of MAFLD was significantly higher in IBD than in general population (42% vs. 32.7%; $p < 0.001$) and the presence of IBD was a risk factor for developing MAFLD [16].

Obese patients have an increased risk of developing NAFLD in the general population but also in IBD [1,13,14]. Nevertheless, studies in non-obese populations suggest that Body Mass Index (BMI) is not the only risk factor for NAFLD, so other metabolic conditions should also be taken into account [9]. In a meta-analysis including IBD patients, type 2 diabetes, hypertension, obesity, and insulin resistance were associated with an increased risk of NAFLD [14]. However, another study comparing IBD patients with NAFLD and non-IBD patients with NAFLD reported that IBD patients had less metabolic risk conditions, suggesting that IBD-related factors could also influence the risk of developing NAFLD [17]. In fact, NAFLD was an independent risk factor for atherosclerotic cardiovascular disease, regardless of classic metabolic risk factors [18–20].

Beyond cardiovascular risk, NAFLD is a clinically relevant condition due to the potential progression to NASH, advanced fibrosis, cirrhosis, and HCC [1]. About 10–20% of patients with NAFLD will develop cirrhosis, and the rate of disease progression in NASH is 0.09 per year with an annual incidence of HCC of 0.21 per 1000 person-year, being higher in patients with cirrhosis (10.6 per 1000 person-year) [21]. Comparing with non-inflammatory NAFLD, patients with NASH have a tenfold increased risk of developing HCC [22]. Although advanced fibrosis increases the risk of HCC, approximately 20% of patients with NAFLD HCC are not cirrhotic, suggesting the implication of different carcinogenesis pathways in this population [3,21]. In fact, the risk of HCC among non-cirrhotic liver disease is significantly higher in NASH compared to other causes [23]. In the IBD population, the prevalence of NAFLD with advanced fibrosis ranges from 8.1 to 13.6%, but the incidence and prevalence of HCC is not well established [11,12,15]. In a case-control study, the prevalence of advanced fibrosis in MAFLD was higher in those also affected by IBD (9.5% vs. 2.31%; $p < 0.001$) and IBD was an independent risk factor for advanced fibrosis [16]. The potential development of HCC at early fibrosis stages makes the diagnosis difficult and, currently, there are no screening programs in this population, so the neoplasm is usually diagnosed at advanced stages [24].

Due to the higher risk of NAFLD in IBD and the complex interaction between the two diseases, the aim of this systematic review is to assess the prevalence and risk factors of

liver fibrosis in patients with IBD and NAFLD and to discuss the role of liver fibrosis in the progression to HCC.

2. Materials and Methods

This systematic review was conducted according to the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) 2020 guidelines [25]. Institutional review board approval was not required due to the study design.

2.1. Data Sources and Search Strategy

We performed a comprehensive literature search in PubMed, Web of Science, Scopus and Embase up to 3 March 2023. Only human studies were included but no language or time restrictions were applied. Database searches were performed independently by three authors (S.J.M.D., S.G.M. and C.J.G.P) using the following terms: inflammatory bowel disease OR IBD OR ulcerative colitis OR UC OR Crohn's disease OR CD. The Boolean operator "AND" was used to combine these terms with: NAFLD OR non alcoholic fatty liver disease OR NAFL OR non alcoholic fatty liver OR steatosis OR NASH OR steatohepatitis OR hepatosteatorosis OR MAFLD OR metabolic associated fatty liver disease OR liver fibrosis OR liver cirrhosis. All references were imported into an EndNote 20.5 reference manager software file. Duplicate references were electronically removed and subsequently reviewed manually. Titles and abstracts were independently assessed by three authors (S.J.M.D., S.G.M. and V.L.). Later, full-text articles were reviewed for inclusion by three authors (S.J.M.D., S.G.M. and B.G.L.), and any disparities were discussed and resolved by consensus (F.G). Finally, references from eligible studies were also reviewed to identify potential studies missed by the electronic search.

2.2. Selection Criteria

The following inclusion criteria were applied: (1) studies including patients with established diagnosis of IBD; (2) studies assessing prevalence and/or risk factors of liver fibrosis in patients with NAFLD or MAFLD; and (3) observational studies, with or without control group.

Studies were excluded in case of: (1) absence of original data (reviews, systematic reviews, meta-analyses, letters, editorials, guidelines); (2) conference communications; (3) non-human studies; (4) studies involving only non-IBD patients or when IBD population data could not be identified; (5) absence of data regarding liver fibrosis in participants with NAFLD or MAFLD; and (6) studies focusing on patients with IBD receiving hepatotoxic drugs.

2.3. Data Extraction and Analyses

Each included study was critically reviewed by three authors (S.J.M.D., S.G.M., and V.L.) and disparities were resolved by consensus among all authors. The following data was extracted from the selected studies: first author, year of publication, study location, study design, sample size, age, gender, Body Mass Index (BMI), IBD type, IBD therapy, prevalence of NAFLD and liver fibrosis, and risk factors for NAFLD and liver fibrosis.

NAFLD was defined as the presence of liver steatosis after exclusion of significant alcohol consumption and secondary causes of fat accumulation in the liver [26]. MAFLD was used based on the presence of liver steatosis plus one of the three following conditions: overweight/obesity, type 2 diabetes mellitus, or at least two metabolic risk abnormalities in case of lean/normal weight patients. Metabolic risk abnormalities were: waist circumference ≥ 102 cm in men and 88 cm in women, blood pressure $\geq 130/85$ mmHg or specific drug treatment, plasma triglycerides ≥ 150 mg/dL or specific drug treatment, plasma HDL-cholesterol < 40 mg/dL for men and < 50 mg/dL for women or specific drug treatment, prediabetes, homeostasis model assessment of insulin resistance score ≥ 2.5 and C-reactive protein > 2 mg/L [27,28].

The prevalence of NAFLD and liver fibrosis was calculated, including all studies with available information. Absolute frequencies were estimated when only relative frequencies were reported. Data from longitudinal studies were obtained from the beginning or end of follow-up depending on the study design and the available information (detailed information of each article in Supplementary Table S1), as any of the studies applied interventions to modify the natural history of liver disease. Abomhya 2022 was excluded in the numerical calculation of NAFLD prevalence as it reported a much lower prevalence than the rest of the studies and, given its large sample size compared to the other studies, this distorted the overall result.

2.4. Risk of Bias Assessment

Quality of observational eligible studies was assessed using the Newcastle-Ottawa Scale (NOS) by three authors (S.J.M.D., S.G.M. and J.L.C.). Disagreements were solved through discussion among all authors. Studies were considered to have low risk of bias if they achieved at least 7 stars. NOS for cohort and case-control studies is compound by 8 items: 4 items for the selection of exposed/non-exposed group or cases/controls groups, 1 item for the comparability of the groups, and 3 items for outcome evaluation/ascertainment of exposure. A maximum of 1 star can be assigned to each item except for comparability, which can be assigned 2 stars (maximum total score 9 stars) [29]. NOS scale adapted for cross-sectional studies have 7 items, categorized into three groups: 4 items for the selection of the groups, 1 item for comparability of the different outcome groups, and 2 items for the assessment of the outcome. A maximum of 1 star can be assigned to each item except for ascertainment of the exposure (selection), comparability, and assessment of the outcome (outcome section), with the maximum total score 10 stars [30].

3. Results

3.1. Study Characteristics

The flow diagram of study retrieval for the systematic review is detailed in Figure 1. A total of 4695 records were identified from databases (PubMed 1025, Embase 2108, Scopus 10, and Web of Science 1552). After electronically removing duplicate records, 3399 records were reviewed by title and abstract excluding 3311 of them. Eighty-eight full-texts were reviewed, excluding 65 additional reports being the most frequent reasons: lack of liver fibrosis assessment in IBD population with NAFLD ($n = 27$), conference abstracts ($n = 18$), and studies focused on patients receiving hepatotoxic drugs ($n = 13$). Finally, 23 studies were included in the systematic review [10–12,16,31–49].

All the included studies were observational, including 10 (43.5%) cross-sectional studies [11,12,32,34,36,38–40,46,48], 10 (43.5%) cohort studies [10,31,33,35,37,42,43,45,47,49], and 3 (13%) case-control studies [16,41,44] (Table S1). All studies were published between 2015 and 2023. Eleven (47.8%) were conducted in North America [10–12,32–35,38,39,41,42], ten (43.5%) in Europe [16,36,37,40,43–48] and two (8.7%) in Asia [31,49]. Only six (26.1%) studies had a control group composed by patients without IBD [16,32,36,37,41,44]. Five (21.7%) studies included only IBD patients with CD [10–12,41,43], but no studies enrolled only patients suffering from UC.

Regarding the diagnostic method for NAFLD, 3 performed a retrospective review of database records [10,35,42], 2 combined liver US and TE [48,49], 5 used US [31,36,39,40,44], 6 used TE [12,16,38,45–47], 2 used laboratory tests alone [33,37], 3 liver histology [32,34,43], 1 computed tomography [11], and 1 Magnetic Resonance [41]. Regarding the diagnostic method for liver fibrosis, two performed a retrospective review of database records [10,35], 10 used TE [12,16,36,38,40,45–49], seven used laboratory tests alone [11,31,33,37,39,41,42], two used liver histology [32,34], one used a combination of TE and laboratory tests [44], and one used a combination of TE and histology [43]. Therefore, NAFLD and liver fibrosis were assessed by non-invasive methods in 20 (86.9%) and 21 (91.3%) studies, respectively. Studies using TE for liver fibrosis assessment defined significant liver fibrosis as liver stiffness above 7 kPa in five (41.7%) studies [12,40,43,45,48], 7.2 kPa [16,46] in two (16.7%)

studies, 7.3 kPa [47] in one (8.3%) study, 7.7 kPa in one (8.3%) study [36], ≥ 8 kPa [38,49] in two (16.7%) studies, and no specified in one (8.3%) study [44].

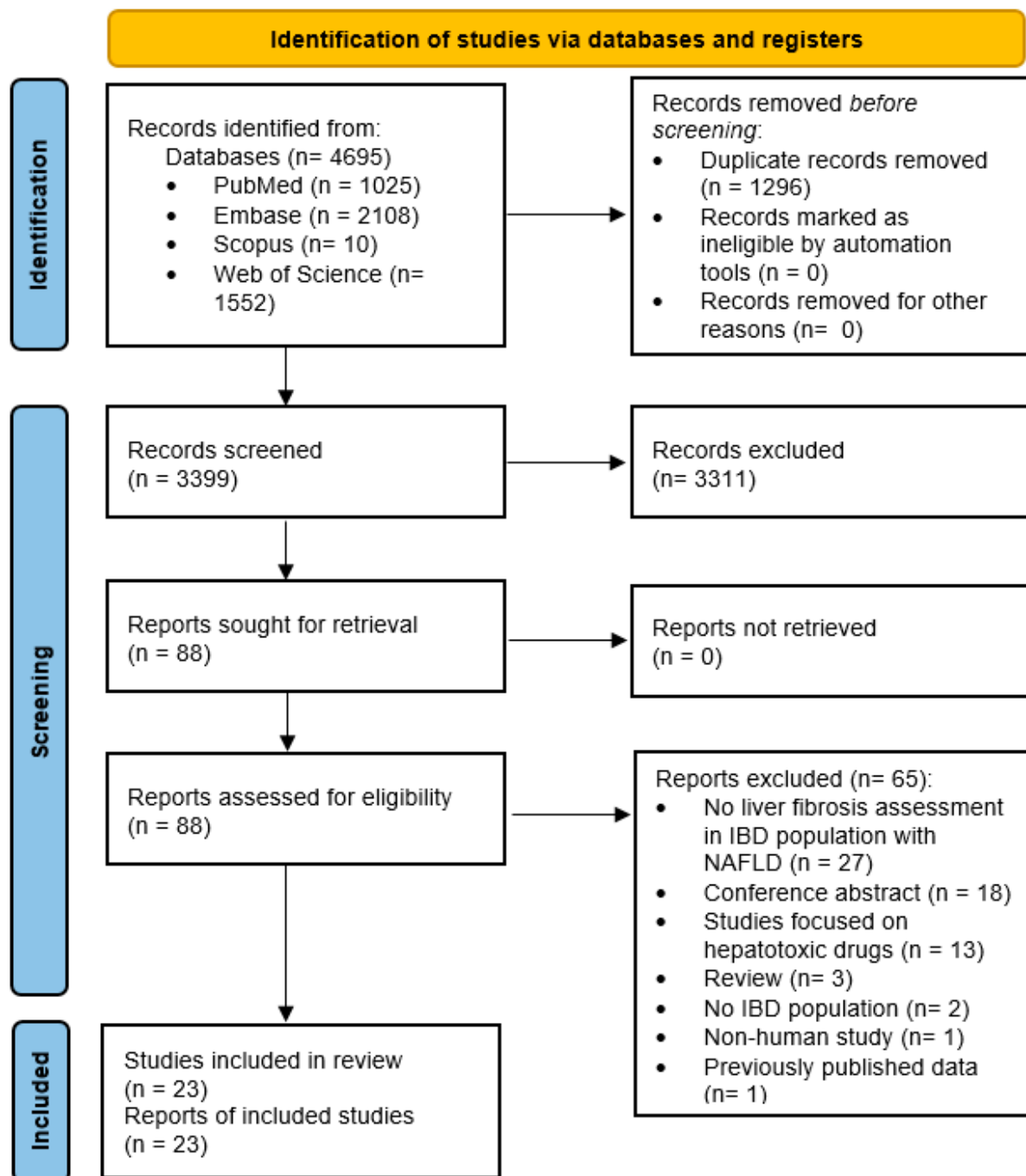


Figure 1. Flow diagram of the search process. IBD: Inflammatory Bowel Disease. NAFLD: Non-Alcoholic Fatty Liver Disease.

3.2. Participants' Characteristics

A total of 629,781 participants were included, 220,128 (35%) with IBD and 409,653 (65%) without IBD at enrolment. CD was the most frequent IBD type with 218,162 (99.1%) participants, followed by UC with 1907 (0.9%) patients. Sample size ranged from 35 (0.01%) patients [43] to 405,413 (64.4%) patients [37]. The median/mean age ranged from 33 to 57 years, and 278,484 (44.2%) were males and 351,297 (55.8%) females. Population included by most studies had a mean BMI ≥ 25 kg/m², except participants included by

Bessisow 2016, Veltkamp 2022, and Yen 2021 [33,48,49]. Detailed BMI levels reported by Chen (2023), Magri (2019), and Palumbo (2018) for non-NAFLD population were lower [12,37,40]. Thiopurines use was reported in 12 studies with 544 participants (0.2% of IBD population) [12,16,33,36,39,40,42–46,48], and Methotrexate use in 7 studies including 54 participants (0.02% of IBD population) [12,16,33,36,39,45,48]. Six studies did not report detailed information about ongoing IBD therapy [10,11,32,35,37,41].

3.3. Risk of Bias Assessment

NOS scores for risk of bias assessment are shown in Tables S2–S4. Overall, fourteen (60.9%) studies had a NOS score ≥ 7 points [10–12,16,32,34,36–40,45,46,48] and the lowest score was 4 points [49]. Regarding cross-sectional studies, all of them had a NOS score ≥ 8 points. Only four (40%) studies achieved 2 stars for comparability [32,34,36,46] because most of them lacked a control group including comparable healthy controls. The patients included by Arggarwal (2022) and Bosch (2017) [32,34] came from a selected group who underwent liver biopsy, so the sample was not considered representative of IBD population. Only three (30%) cohort studies showed a NOS score ≥ 7 points [10,37,45] and, again, comparability and selection of the non-exposed cohort were the lowest-scoring items. Finally, Rodriguez-Duque (2022) was the only case-control study that achieved NOS ≥ 7 points [16].

3.4. Prevalence of NAFLD and Liver Fibrosis

NAFLD was diagnosed in 2162 (34.1%) patients of a total of 6332 IBD participants included in 18 studies [11,12,16,31,33,34,36,38–43,45–49]. NAFLD diagnosis was established in 924 (31.2%) of 2962 non-IBD participants from the control groups of two studies [16,41]. The prevalence of NASH was 36 (5.9%) of 608 IBD patients included in three studies [34,38,39].

Data on liver fibrosis were reported heterogeneously in the different studies. Advanced liver fibrosis was found in 116 (11.6%) of 992 IBD patients with NAFLD included in six studies [11,12,16,32,33,42]. Three studies [16,32,41] demonstrated a significantly higher prevalence of liver fibrosis in IBD patients with NAFLD compared with NAFLD individuals without IBD. Aggarwal 2022 reported that 30% of patients with NAFLD and IBD and 17% of patients with NAFLD without IBD had advanced liver fibrosis [32]. On the other hand, Bessisow 2016 showed a 2.2% of advanced liver fibrosis in patients who developed NAFLD after a median follow-up of 3.2 years [33]. Chen 2023 conducted also a cohort study demonstrating an increased incidence of IBD in patients with NAFLD at high risk of advanced disease compared with non-NAFLD patients [37]. Cirrhosis ranged from 0% to 8–10.2% [10,34,39], and a greater proportion of cirrhosis was found in patients with IBD and concomitant primary sclerosing cholangitis. Finally, some studies did not specify between significant and advanced liver fibrosis [31,39] and other studies reported the mean values of liver stiffness or laboratory tests but not the prevalence [35,36,44,45].

3.5. Risk Factors for NAFLD and Liver Fibrosis in IBD Population

Most studies found an association between NAFLD and classic cardiovascular risk factors such as older age, male sex, higher BMI, type 2 diabetes, arterial hypertension, and dyslipidemia. In fact, Spagnuolo (2019) demonstrated that weight gain is a predictor of steatosis worsening [45]. Regarding IBD related risk factors, some studies associated NAFLD with the diagnosis of IBD [16], complicated course of IBD [16,46], disease activity [33,39], longer IBD duration [33,46,48], shorter IBD duration [49], or CD [34,37,41]. No strong association between NAFLD and IBD therapy was reported. In addition, Abomhya 2022 reported an increase in hospitalization costs and length during follow-up in discharged patients with CD and NAFLD [10]. Recently, Kablawi (2023) noticed that NAFLD, longer IBD duration, and UC were associated with intermediate-high cardiovascular risk [38].

In parallel, metabolic syndrome features were also associated with an increased risk of significant liver fibrosis [12,36,40,46] and advanced liver fibrosis [16]. In fact, Spagnuolo

2019 reported a significant lower liver stiffness in patients who lost weight after a mean follow-up of 4 years [45]. Regarding IBD related risk factors, several studies associated CD with significant liver fibrosis [12,41] and advanced liver fibrosis [32]. Particularly, Ribaldone (2015) found an association between intermittent CD course and significant liver fibrosis [43], whereas Carr (2017) found no influence of IBD extent or severity [35], Rodriguez-Duque (2022) found association between complicated course of IBD and advanced liver fibrosis [16], Trifan (2022) and Veltkamp (2022) reported an association between IBD duration and significant liver fibrosis [46,48], and Van Lingen (2021) observed an increased prevalence of significant liver fibrosis after 6–12 months of follow-up in patients with IBD activity [47]. Although Ritaccio (2021) found no effect of medication exposure [42], methotrexate [12] and thiopurines [43] use was associated with increased liver fibrosis in other studies. Kablawi (2023) found an association between significant LF and intermediate-high cardiovascular risk [38].

4. Discussion

This systematic review reported the prevalence and risk factors associated with NAFLD and liver fibrosis in patients with IBD. In the last few months, several articles focused on NAFLD and IBD [10,16,32,37,38,46,48], a topic of increasing interest due to its prognostic implications. We found that NAFLD is highly prevalent in IBD population (34.1%), consistent with data published by other systematic reviews (30–32%) [15,50]. Although we observed that NAFLD was also very prevalent in the general population (31.2%), it was less frequent compared to IBD population. Previous reviews reported a prevalence of NAFLD about 25% in general population, being significantly lower than the prevalence in IBD population. This finding was recently reported by Rodriguez-Duque (2022) in one of the largest cohorts of IBD population assessing MAFLD and liver fibrosis in patients with IBD [16]. We found higher prevalence of NAFLD in the general population compared to previous studies, and it could be explained because most studies lacked a control group composed of healthy non-IBD individuals, so only two had available data to estimate the prevalence in non-IBD population. Most studies identified that participants with classical metabolic syndrome features had increased risk of NAFLD development. The higher prevalence of NAFLD in patients with IBD compared to general population suggests that IBD itself could play a role in NAFLD development. This point was confirmed by multiple studies revealing an association between IBD, CD or IBD-related factors and the risk of NAFLD [16,33,34,37,39,41,46,48].

Due to the heterogeneous report of liver fibrosis status, we estimated a prevalence of advanced liver fibrosis of 11.6% including information from six studies [11,12,16,32,33,42]. This is consistent with data reported by a previous meta-analysis (13.6%) [15]. Apart from the classic cardiovascular risk factors, CD was associated with significant and advanced liver fibrosis. This finding supports the importance of considering the presence of both NAFLD and liver fibrosis in patients with IBD, especially in patients with CD. On the one hand, the increased cardiovascular risk can seriously affect the prognosis of the patient with IBD, who is increasingly older and has more comorbidity. On the other hand, the potential progression to cirrhosis or CHC may be also decisive for the long-term evolution of the patient.

Unfortunately, we did not find studies reporting the prevalence and/or risk factors of HCC specifically performed in the IBD population. However, a recent study assessed the effect of immune checkpoint in patients with pre-existing IBD, finding that approximately 40% patients experienced relapse of IBD with a rate of discontinuation of 35% [51]. Conversely, the beneficial chemopreventive effect of statins against HCC has been described, a widely used drug by patients with NAFLD given the frequent coexistence of metabolic syndrome [52].

Many studies have investigated the elements involved in fibrosis progression [1]. In this way, the presence of NASH increases the risk of fibrosis progression and liver mortality [53], as well as type 2 diabetes, that has been identified as one of the most

important predictors of fibrosis and a risk factor for HCC [9,54]. In IBD population, older age and obesity are independent risk factors for liver fibrosis (aOR 1.38 and 1.14, respectively) [12]. In a study including 1009 patients with a diagnosis of NAFLD based on liver biopsy, Crohn's disease but not ulcerative colitis was an independent risk factor for advanced liver fibrosis (aOR 4.09 and 0.29, respectively).

Genetic factors can also influence the risk of disease progression, fibrosis and HCC. The polymorphism p.I148M of the PNPLA3 gene has been linked to an increased risk of NAFLD, NASH, HCC, and liver-related mortality [55]. It is one of the most important factors related with negative outcomes in NAFLD patients [24]. In some studies, this variant has been associated with fibrosis progression and NASH, especially in homozygous [56–59]. It has also been related to an increased risk of HCC and mortality, with the highest risk in patients with both alleles affected [60–62]. In IBD patients, this genetic variant has been associated with an increased risk of fatty liver (OR 2.9) [63]. There is also a link between TM6SF2 and MBOAT7 variants and the risk of advanced fibrosis and HCC [55].

The development of HCC in non-cirrhotic patients with NASH suggest that other pathogenic ways independent of fibrosis can lead to carcinogenesis, so some studies have investigated the role of the microbiota, metabolic changes, and immune and fibrotic cells [64]. There is growing evidence suggesting that dysbiosis and gut permeability, which is increased in patients with IBD, allows pathogens and their products to be in contact with liver immune receptors (Kupffer cells and stellate cells) leading to a pro-inflammatory state with liver injury and restorative mechanisms [65]. There are some similarities in gut microbiota changes related to both, NAFLD and IBD [66]. Some studies suggest that Gram negative bacteria, which are more common in NAFLD and obese patients, can increase the risk of liver fibrosis, and this may be associated with some wall components (lipopolysaccharides) [65,67]. Loomba et al. found a specific microbiome composition related to advance fibrosis in NAFLD [67]. In this population, Firmicutes and Bacteroidetes are increased, however, in cases of advanced fibrosis gram negatives as Proteobacteria phylum increases, while Gram-positive (for example, Firmicutes) decrease. In another study, Ruminococcus was associated with advanced fibrosis, probably due to their capacity to produce alcohol, which can damage gut integrity and led to liver inflammation [68].

Bile acids are produced in the liver through cholesterol oxidation, secreted into the duodenum and conjugated by gut microbiota in order to facilitate the absorption of fatty acids and also to activate the Farnesoid X Receptor (FXR) of the enterocytes, which regulates the enterohepatic circulation and play an important role in the glucose metabolism [66]. Dysbiosis leads to changes in bile acids composition and decreases the activation of FXR with an increase in serum bile acids and intestinal permeability, changes in lipid and glucose metabolism, and, also, a pro-inflammatory response [65]. In IBD, it is also associated with a disbalance in the Th17 response [66]. Moreover, bacterial dysbiosis has also been associated with higher levels of methylamines (TMAO) and hepatic accumulation of triglycerides with a higher risk of NAFLD and carcinogenesis [65,69].

Concerning the role of metabolic changes, the development of NASH is secondary to the accumulation of free fatty acids in the liver with an increase in the gluconeogenesis, which leads to higher levels of glucose and more conversion to fatty acids [70,71]. When fatty acids exceed liver capacity, lipotoxicity leads to mitochondrial damage, oxidative stress, hepatocyte injury, and pro-inflammatory response, as well as the activation of hepatic stellate cells, increasing the production of fibrotic compounds [70]. Tissue damage activates platelets that are also responsible for pro-inflammatory and fibrotic response, and in animals, inhibition of platelet activation has been associated with a decreased risk of HCC [72]. The oxidative stress and inflammatory response contribute to the genomic instability and mutagenesis and the risk of HCC. Insulin resistance and the production of pro-inflammatory cytokines can increase the hepatocyte proliferation, with mutagenesis accumulation. Activated stellate cells are important in the tumor environment and can play a role avoiding the immune surveillance in HCC, so it could be useful as a therapeutic target [73].

Innate but also adaptive immunity seem to play an important role in the development of fibrosis and HCC, since in NAFLD the continuous inflammatory response ends up producing dysregulation of the immune system with immunosuppression and tumor tolerance. Monocyte-derived macrophages form complexes with dead steatotic hepatocytes triggering a pro-fibrotic response, which could be involved in carcinogenesis [22]. Neutrophils with a N2 phenotype are more common in HCC and have a negative effect against T-cells leading the tumor to escape from immune surveillance [22]. Natural Killers (NK) are also associated with progression of NAFLD and some studies have demonstrated an altered phenotype of NK in HCC, reducing the cytotoxicity and oncologic surveillance [74]; in fact, fibroblastic cells in HCC can inhibit the activity of NK [75].

In conclusion, liver fibrosis is an independent risk factor for HCC but NAFLD HCC can also occur in absence of cirrhosis, so other elements should be considered in this population [24,76,77]. Metabolic conditions, such as diabetes, obesity, and metabolic syndrome, are also independent risk factors for HCC [24,64]. In many studies, the presence of type 2 diabetes is the main factor associated with an increased risk of HCC, being higher in patients with a longer evolution of diabetes [77–79]. An appropriate glycemic control seems to decrease the risk of HCC; however, the effect of each diabetes therapy is contradictory, since some studies have found a benefit for metformin but not for insulin or sulfonylureas [64,80–82]. In this way, the presence of metabolic syndrome and diabetes increases by five times the risk of HCC [24]. Obesity has also been associated with an increased risk of HCC and recurrence in cirrhosis, especially in patients with other metabolic alterations [24]. These findings are particularly important as these conditions often coexist in IBD patients with NAFLD.

Finally, we acknowledge the following limitations of our study. First, the different study designs of included studies and the high rate of uncontrolled studies. Second, the heterogeneity of diagnostic methods and cut-offs used for NAFLD and liver fibrosis diagnosis. Third, the variability of data reported by each study, especially for liver fibrosis. Fourth, the absence of solid evidence on the prevalence and specific risk factors of HCC in patients with concomitant IBD and NAFLD. Nevertheless, the strengths of the study are its large sample size, the high rate of recently published articles and that, on average, the quality of the included studies was high. Our findings are clinically relevant as they reveal the magnitude of a comorbidity, whose adequate prevention and treatment could improve the prognosis and quality of life of the IBD population.

5. Conclusions

NAFLD is a prevalent extraintestinal manifestation in patients with IBD and it can promote HCC through liver fibrosis development, although not exclusively. The presence of advanced liver fibrosis is not rare in the IBD population with NAFLD, especially in those suffering from Crohn's Disease. Therefore, the presence of NAFLD should be considered in patients with IBD, especially in association with additional risk factors. After diagnosis, hygienic-dietary measures should be initiated and evolution should be monitored to prevent complications, such as cirrhosis or HCC. Future studies are needed to evaluate the prevalence and specific risk factors of HCC in IBD population with NAFLD.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/cancers15133367/s1>, Table S1: Main characteristics of the 23 observational studies included in the systematic review. Table S2: Risk of bias assessment of the 10 cross-sectional studies included in the systematic review according to the Newcastle-Ottawa Scale (NOS). Table S3: Risk of bias assessment of the 10 cohort studies included in the systematic review according to the Newcastle-Ottawa Scale (NOS). Table S4: Risk of bias assessment of the 3 case-control studies included in the systematic review according to the Newcastle-Ottawa Scale (NOS).

Author Contributions: Conceptualization, S.J.M.-D., S.G.-M. and F.G.; methodology, S.J.M.-D., S.G.-M. and F.G.; data collection: S.J.M.-D., S.G.-M., V.L., C.J.G.-P. and B.G.L.; study risk bias assessment: S.J.M.-D., S.G.-M. and J.L.d.l.C.; writing—original draft preparation, S.J.M.-D., S.G.-M. and V.L.; writing—review and editing, C.J.G.-P., B.G.L., J.L.d.l.C. and F.G.; supervision, F.G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Powell, E.E.; Wong, V.W.S.; Rinella, M. Non-alcoholic fatty liver disease. *Lancet* **2021**, *397*, 2212–2224. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Nassir, F. NAFLD: Mechanisms, Treatments, and Biomarkers. *Biomolecules* **2022**, *12*, 824. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Younossi, Z.M.; Marchesini, G.; Pinto-Cortez, H.; Petta, S. Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis: Implications for Liver Transplantation. *Transplantation* **2019**, *103*, 22–27. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Gizard, E.; Ford, A.C.; Bronowicki, J.P.; Peyrin-Biroulet, L. Systematic review: The epidemiology of the hepatobiliary manifestations in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment. Pharm. Ther.* **2014**, *40*, 3–15. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Dias, E.; Andrade, P.; Lopes, S.; Gonçalves, R.; Cardoso, P.; Gaspar, R.; Macedo, G. Liver biopsy in inflammatory bowel disease patients with sustained abnormal liver function tests: A retrospective single-center study. *Ann. Gastroenterol.* **2023**, *36*, 54–60. [\[CrossRef\]](#)
- Younossi, Z.; Stepanova, M.; Ong, J.P.; Jacobson, I.M.; Bugianesi, E.; Duseja, A.; Council, G.N.S. Nonalcoholic Steatohepatitis Is the Fastest Growing Cause of Hepatocellular Carcinoma in Liver Transplant Candidates. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2019**, *17*, 748–755.e3. [\[CrossRef\]](#)
- Quek, J.; Chan, K.E.; Wong, Z.Y.; Tan, C.; Tan, B.; Lim, W.H.; Tan, D.J.H.; Tang, A.S.P.; Tay, P.; Xiao, J.; et al. Global prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in the overweight and obese population: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* **2023**, *8*, 20–30. [\[CrossRef\]](#)
- Younossi, Z.M.; Golabi, P.; de Avila, L.; Paik, J.M.; Srishord, M.; Fukui, N.; Nader, F. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *J. Hepatol.* **2019**, *71*, 793–801. [\[CrossRef\]](#)
- Ye, Q.; Zou, B.; Yeo, Y.H.; Li, J.; Huang, D.Q.; Wu, Y.; Yang, H.; Liu, C.; Kam, L.Y.; Tan, X.X.E.; 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*, 739–752. [\[CrossRef\]](#)
- Abomhaya, A.; Mahmoodurrahman, M.; Ayaz, S.; Hamad, H.; Khan, F. Burden and Predictors of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in a Retrospective Cohort of Patients with Crohn’s Disease. *Gastroenterol. Res.* **2022**, *15*, 82–90. [\[CrossRef\]](#)
- Simon, T.G.; Van Der Sloot, K.W.; Chin, S.B.; Joshi, A.D.; Lochhead, P.; Ananthakrishnan, A.N.; Khalili, H. IIRGM Gene Variants Modify the Relationship Between Visceral Adipose Tissue and NAFLD in Patients with Crohn’s Disease. *Inflamm. Bowel Dis.* **2018**, *24*, 2247–2257. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Saroli Palumbo, C.; Restellini, S.; Chao, C.Y.; Aruljothy, A.; Lemieux, C.; Wild, G.; Sebastiani, G. Screening for Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Inflammatory Bowel Diseases: A Cohort Study Using Transient Elastography. *Inflamm. Bowel Dis.* **2019**, *25*, 124–133. [\[CrossRef\]](#)
- Sourianarayanan, A.; Garg, G.; Smith, T.H.; Butt, M.I.; McCullough, A.J.; Shen, B. Risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease. *J. Crohn’s Colitis* **2013**, *7*, e279–e285. [\[CrossRef\]](#)
- Zou, Z.Y.; Shen, B.; Fan, J.G. Systematic Review with Meta-analysis: Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm. Bowel Dis.* **2019**, *25*, 1764–1772. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Zamani, M.; Alizadeh-Tabari, S.; Singh, S.; Loomba, R. Meta-analysis: Prevalence of, and risk factors for, non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2022**, *55*, 894–907. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Rodriguez-Duque, J.C.; Calleja, J.L.; Iruzubieta, P.; Hernández-Conde, M.; Rivas-Rivas, C.; Vera, M.I.; Garcia, M.J.; Pascual, M.; Castro, B.; Garcia-Blanco, A.; et al. Increased risk of MAFLD and Liver Fibrosis in Inflammatory Bowel Disease Independent of Classic Metabolic Risk Factors. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2023**, *21*, 406–414.e7. [\[CrossRef\]](#)
- Glassner, K.; Malaty, H.M.; Abraham, B.P. Epidemiology and Risk Factors of Nonalcoholic Fatty Liver Disease Among Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm. Bowel Dis.* **2017**, *23*, 998–1003. [\[CrossRef\]](#)
- Mantovani, A.; Csermely, A.; Petracca, G.; Beatrice, G.; Corey, K.E.; Simon, T.G.; Byrne, C.D.; Targher, G. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of fatal and non-fatal cardiovascular events: An updated systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* **2021**, *6*, 903–913. [\[CrossRef\]](#)
- Allen, A.M.; Therneau, T.M.; Larson, J.J.; Coward, A.; Somers, V.K.; Kamath, P.S. Nonalcoholic fatty liver disease incidence and impact on metabolic burden and death: A 20 year-community study. *Hepatology* **2018**, *67*, 1726–1736. [\[CrossRef\]](#)

20. Duell, P.B.; Welty, F.K.; Miller, M.; Chait, A.; Hammond, G.; Ahmad, Z.; Cohen, D.E.; Horton, J.D.; Pressman, G.S.; Toth, P.P. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Cardiovascular Risk: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2022**, *42*, e168–e185. [\[CrossRef\]](#)
21. Kanwal, F.; Kramer, J.R.; Mapakshi, S.; Natarajan, Y.; Chayanupatkul, M.; Richardson, P.A.; Li, L.; Desiderio, R.; Thrift, A.P.; Asch, S.M. Risk of Hepatocellular Cancer in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* **2018**, *155*, 1828–1837.e2. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Cannito, S.; Dianzani, U.; Parola, M.; Albano, E.; Sutti, S. Inflammatory processes involved in NASH-related hepatocellular carcinoma. *Biosci. Rep.* **2023**, *43*, BSR20221271. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Stine, J.G.; Wentworth, B.J.; Zimmet, A.; Rinella, M.E.; Loomba, R.; Caldwell, S.H.; Argo, C.K. Systematic review with meta-analysis: Risk of hepatocellular carcinoma in non-alcoholic steatohepatitis without cirrhosis compared to other liver diseases. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2018**, *48*, 696–703. [\[CrossRef\]](#)
24. Ito, T.; Nguyen, M.H. Perspectives on the Underlying Etiology of HCC and Its Effects on Treatment Outcomes. *J. Hepatocell Carcinoma* **2023**, *10*, 413–428. [\[CrossRef\]](#)
25. Page, M.J.; McKenzie, J.E.; Bossuyt, P.M.; Boutron, I.; Hoffmann, T.C.; Mulrow, C.D.; Shamseer, L.; Tetzlaff, J.M.; Akl, E.A.; Brennan, S.E.; et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* **2021**, *88*, 105906.
26. Aller, R.; Fernández-Rodríguez, C.; Lo Iacono, O.; Bañares, R.; Abad, J.; Carrión, J.A.; García-Monzón, C.; Caballería, J.; Berenguer, M.; Rodríguez-Perálvarez, M.; et al. Documento de consenso. Manejo de la enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA). Guía de práctica clínica. *Gastroenterol. Hepatol.* **2018**, *41*, 328–349. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Eslam, M.; Sanyal, A.J.; George, J.; Sanyal, A.; Neuschwander-Tetri, B.; Tiribelli, C.; Kleiner, D.E.; Brunt, E.; Bugianesi, E.; Yki-Järvinen, H.; et al. MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* **2020**, *158*, 1999–2014.e1. [\[CrossRef\]](#)
28. Eslam, M.; Newsome, P.N.; Sarin, S.K.; Anstee, Q.M.; Targher, G.; Romero-Gomez, M.; Zelber-Sagi, S.; Wong, V.W.S.; Dufour, J.F.; Schattenberg, J.M. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *J. Hepatol.* **2020**, *73*, 202–209. [\[CrossRef\]](#)
29. Ottawa Hospital Research Institute. Available online: https://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp (accessed on 28 March 2023).
30. Herzog, R.; Álvarez-Pasquin, M.J.; Díaz, C.; Del Barrio, J.L.; Estrada, J.M.; Gil, Á. Are healthcare workers' intentions to vaccinate related to their knowledge, beliefs and attitudes? a systematic review. *BMC Public Health* **2013**, *13*, 154. [\[CrossRef\]](#)
31. Almohannadi, M.; Chandra, P.; Varughese, B.; Darweesh, A.; Hamid, A.; Badi, A.; Kaabi, S.A.; Yakoob, R.; Al-Ejji, K.; Sultan, K.; et al. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease among Patients with Inflammatory Bowel Disease in Qatar: Prevalence and Risk Factors. *Open J. Gastroenterol. Hepatol. Internet*. Available online: <https://escipub.com/ojgh-2020-08-2805/> (accessed on 28 March 2023).
32. Aggarwal, M.; Garg, R.; Parthasarthy, G.; Nowacki, A.S.; Padival, R.; McCullough, A.; Qazi, T.; Click, B.; Rieder, F.; Cohen, B.L. Crohn's Disease Is Associated with Liver Fibrosis in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Dig. Dis. Sci.* **2023**, *68*, 1006–1015. [\[CrossRef\]](#)
33. Bessissow, T.; Le, N.H.; Rollet, K.; Afif, W.; Bitton, A.; Sebastiani, G. Incidence and Predictors of Nonalcoholic Fatty Liver Disease by Serum Biomarkers in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm. Bowel Dis.* **2016**, *22*, 1937–1944. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Bosch, D.E.; Yeh, M.M. Primary sclerosing cholangitis is protective against nonalcoholic fatty liver disease in inflammatory bowel disease. *Hum. Pathol.* **2017**, *69*, 55–62. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Carr, R.M.; Patel, A.; Bownik, H.; Oranu, A.; Kerner, C.; Praestgaard, A.; Forde, K.A.; Reddy, K.R.; Lichtenstein, G.R. Intestinal Inflammation Does Not Predict Nonalcoholic Fatty Liver Disease Severity in Inflammatory Bowel Disease Patients. *Dig. Dis. Sci.* **2017**, *62*, 1354–1361. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Carrillo-Palau, M.; Hernández-Camba, A.; Alvarez-Buylla, N.H.; Ramos, L.; Alonso-Abreu, I.; Hernández-Pérez, A.; Vela, M.; Arranz, L.; Hernández-Guerra, M.; González-Gay, M.; et al. Insulin Resistance Is Not Increased in Inflammatory Bowel Disease Patients but Is Related to Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *JCM* **2021**, *10*, 3062. [\[CrossRef\]](#)
37. Chen, J.; Dan, L.; Tu, X.; Sun, Y.; Deng, M.; Chen, X.; Hesketh, T.; Li, R.; Wang, X.; Li, X. Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease and liver function markers are associated with Crohn's disease but not Ulcerative Colitis: A prospective cohort study. *Hepatol. Int.* **2023**, *17*, 202–214. [\[CrossRef\]](#)
38. Kablawi, D.; Aljohani, F.; Palumbo, C.S.; Restellini, S.; Bitton, A.; Wild, G.; Afif, W.; Lakatos, P.L.; Bessissow, T.; Sebastiani, G. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Increases Cardiovascular Risk in Inflammatory Bowel Diseases. *Crohn's Colitis* **2023**, *5*, otad004. [\[CrossRef\]](#)
39. Likhitsup, A.; Dundulis, J.; Ansari, S.; Patibandla, S.; Hutton, C.; Kennedy, K.; Helzberg, J.H. High prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease receiving anti-tumor necrosis factor therapy. *Ann. Gastroenterol.* **2019**, *32*, 463–468. [\[CrossRef\]](#)
40. Magri, S.; Paduano, D.; Chicco, F.; Cingolani, A.; Farris, C.; Delogu, G.; Tumbarello, F.; Lai, M.; Melis, A.; Casula, L.; et al. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease: Beyond the natural history. *WJG* **2019**, *25*, 5676–5686. [\[CrossRef\]](#)

41. McHenry, S.; Sharma, Y.; Tirath, A.; Tsai, R.; Mintz, A.; Fraum, T.J.; Salter, A.; Browning, J.D.; Flores, A.G.; Davidson, N.O.; et al. Crohn's Disease Is Associated with an Increased Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Cross-Sectional Study Using Magnetic Resonance Proton Density Fat Fraction Mapping. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2019**, *17*, 2816–2818. [\[CrossRef\]](#)
42. Ritaccio, G.; Stoleru, G.; Abutaleb, A.; Cross, R.K.; Shetty, K.; Sakiani, S.; Wong, U. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Is Common in IBD Patients However Progression to Hepatic Fibrosis by Noninvasive Markers Is Rare. *Dig. Dis. Sci.* **2021**, *66*, 3186–3191. [\[CrossRef\]](#)
43. Ribaldone, D.G.; Garavagno, M.; Pellicano, R.; Bresso, F.; Fagoonee, S.; David, E.; Sapone, N.; Bonagura, A.G.; Resegotti, A.; Astegiano, M. Prevalence and prognostic value of hepatic histological alterations in patients with Crohn's disease. *Scand. J. Gastroenterol.* **2015**, *50*, 1463–1468. [\[CrossRef\]](#)
44. Sartini, A.; Gitto, S.; Bianchini, M.; Verga, M.C.; Di Girolamo, M.; Bertani, A.; Del Buono, M.; Schepis, F.; Lei, B.; De Maria, N.; et al. Non-alcoholic fatty liver disease phenotypes in patients with inflammatory bowel disease. *Cell Death Dis.* **2018**, *9*, 87. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Spagnuolo, R.; Montalcini, T.; De Bonis, D.; Ferro, Y.; Cosco, C.; Mazza, E.; Romeo, S.; Doldo, P.; Pujia, A. Weight Gain and Liver Steatosis in Patients with Inflammatory Bowel Diseases. *Nutrients* **2019**, *11*, 303. [\[CrossRef\]](#)
46. Trifan, A.; Stafie, R.; Rotaru, A.; Stratina, E.; Zenovia, S.; Nastasa, R.; Huiban, L.; Cuciureanu, T.; Muzica, C.; Chiriac, S.; et al. Screening for Liver Steatosis and Fibrosis in Patients with Inflammatory Bowel Disease Using Vibration Controlled Transient Elastography with Controlled Attenuation Parameter. *JCM* **2022**, *11*, 5959. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. Van Lingen, E.; Tushuizen, M.E.; Steenhuis, M.E.J.; van Deynen, T.; Martens, J.; Morales, D.D.I.; Maljaars, P.W.J. Disease activity in inflammatory bowel disease patients is associated with increased liver fat content and liver fibrosis during follow-up. *Int. J. Color. Dis.* **2022**, *37*, 349–356. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
48. Veltkamp, C.; Lan, S.; Korompoki, E.; Weiss, K.H.; Schmidt, H.; Seitz, H.K. Hepatic Steatosis and Fibrosis in Chronic Inflammatory Bowel Disease. *J. Clin. Med.* **2022**, *11*, 2623. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
49. Yen, H.H.; Su, P.Y.; Huang, S.P.; Wu, L.; Hsu, T.C.; Zeng, Y.H.; Chen, Y.Y. Evaluation of non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease using controlled attenuation parameter technology: A Taiwanese retrospective cohort study. *PLoS ONE* **2021**, *16*, e0252286. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
50. Lin, A.; Roth, H.; Anyane-Yeboah, A.; Rubin, D.T.; Paul, S. Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Inflamm. Bowel Dis.* **2021**, *27*, 947–955. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
51. Meserve, J.; Facciorusso, A.; Holmer, A.K.; Annese, V.; Sandborn, W.J.; Singh, S. Systematic review with meta-analysis: Safety and tolerability of immune checkpoint inhibitors in patients with pre-existing inflammatory bowel diseases. *Aliment. Pharm. Ther.* **2021**, *53*, 374–382.
52. Facciorusso, A.; Aziz, M.A.A.E.; Singh, S.; Pusceddu, S.; Milione, M.; Giacomelli, L.; Sacco, R. Statin Use Decreases the Incidence of Hepatocellular Carcinoma: An Updated Meta-Analysis. *Cancers* **2020**, *12*, 874. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
53. Stepanova, M.; Rafiq, N.; Makhlof, H.; Agrawal, R.; Kaur, I.; Younoszai, Z.; McCullough, A.; Goodman, Z.; Younoszi, Z.M. Predictors of all-cause mortality and liver-related mortality in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig. Dis. Sci.* **2013**, *58*, 3017–3023. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
54. Hossain, N.; Afendy, A.; Stepanova, M.; Nader, F.; Srishord, M.; Rafiq, N.; Younoszi, Z. Independent predictors of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2009**, *7*, e1–e2. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
55. Krawczyk, M.; Liebe, R.; Lammert, F. Toward Genetic Prediction of Nonalcoholic Fatty Liver Disease Trajectories: PNPLA3 and Beyond. *Gastroenterology* **2020**, *158*, 1865–1880.e1. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
56. Valenti, L.; Al-Serri, A.; Daly, A.K.; Galmozzi, E.; Rametta, R.; Dongiovanni, P.; Day, C.P. Homozygosity for the patatin-like phospholipase-3/adiponutrin I148M polymorphism influences liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* **2010**, *51*, 1209–1217. [\[CrossRef\]](#)
57. Rotman, Y.; Koh, C.; Zmuda, J.M.; Kleiner, D.E.; Liang, T.J.; NASH CRN. The association of genetic variability in patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* **2010**, *52*, 894–903. [\[CrossRef\]](#)
58. Xu, R.; Tao, A.; Zhang, S.; Deng, Y.; Chen, G. Association between patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) polymorphisms and nonalcoholic fatty liver disease: A HuGE review and meta-analysis. *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 9284. [\[CrossRef\]](#)
59. Sookoian, S.; Pirola, C.J. 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*, 1883–1894. [\[CrossRef\]](#)
60. Burza, M.A.; Pirazzi, C.; Maglio, C.; Sjöholm, K.; Mancina, R.M.; Svensson, P.A.; Jacobson, P.; Adiels, M.; Baroni, M.G.; Borén, J.; et al. PNPLA3 I148M (rs738409) genetic variant is associated with hepatocellular carcinoma in obese individuals. *Dig. Liver Dis.* **2012**, *44*, 1037–1041. [\[CrossRef\]](#)
61. Hassan, M.M.; Kaseb, A.; Etzel, C.J.; El-Serag, H.; Spitz, M.R.; Chang, P.; Li, D. Genetic variation in the PNPLA3 gene and hepatocellular carcinoma in USA: Risk and prognosis prediction. *Mol. Carcinog.* **2013**, *52* (Suppl. S1), E139–E147. [\[CrossRef\]](#)
62. Liu, Y.L.; Patman, G.L.; Leathart, J.B.S.; Piguet, A.C.; Burt, A.D.; Dufour, J.F.; Anstee, Q.M. Carriage of the PNPLA3 rs738409 C > G polymorphism confers an increased risk of non-alcoholic fatty liver disease associated hepatocellular carcinoma. *J. Hepatol.* **2014**, *61*, 75–81. [\[CrossRef\]](#)

63. Mancina, R.M.; Spagnuolo, R.; Milano, M.; Brogneri, S.; Morrone, A.; Cosco, C.; Romeo, S. PNPLA3 148M Carriers with Inflammatory Bowel Diseases Have Higher Susceptibility to Hepatic Steatosis and Higher Liver Enzymes. *Inflamm. Bowel Dis.* **2016**, *22*, 134–140. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Ioannou, G.N. Epidemiology and risk-stratification of NAFLD-associated HCC. *J. Hepatol.* **2021**, *75*, 1476–1484. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Tripathi, A.; Debelius, J.; Brenner, D.A.; Karin, M.; Loomba, R.; Schnabl, B.; Knight, R. The gut-liver axis and the intersection with the microbiome. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **2018**, *15*, 397–411. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Abenavoli, L.; Giubilei, L.; Procopio, A.C.; Spagnuolo, R.; Luzzza, F.; Boccuto, L.; Scarpellini, E. Gut Microbiota in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Patients with Inflammatory Bowel Diseases: A Complex Interplay. *Nutrients* **2022**, *14*, 5323. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Loomba, R.; Seguritan, V.; Li, W.; Long, T.; Klitgord, N.; Bhatt, A.; Nelson, K.E. Gut Microbiome-Based Metagenomic Signature for Non-invasive Detection of Advanced Fibrosis in Human Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Cell Metab.* **2017**, *25*, 1054–1062.e5. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Boursier, J.; Mueller, O.; Barret, M.; Machado, M.; Fizanne, L.; Araujo-Perez, F.; Diehl, A.M. The severity of nonalcoholic fatty liver disease is associated with gut dysbiosis and shift in the metabolic function of the gut microbiota. *Hepatology* **2016**, *63*, 764–775. [[CrossRef](#)]
69. Chen, Y.M.; Liu, Y.; Zhou, R.F.; Chen, X.L.; Wang, C.; Tan, X.Y.; Zhu, H.L. Associations of gut-flora-dependent metabolite trimethylamine-N-oxide, betaine and choline with non-alcoholic fatty liver disease in adults. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 19076. [[CrossRef](#)]
70. Van Son, K.C.; Verschuren, L.; Hanemaaijer, R.; Reeves, H.; Takkenberg, R.B.; Drenth, J.P.H.; Tushuizen, M.E.; Holleboom, A.G. Non-Parenchymal Cells and the Extracellular Matrix in Hepatocellular Carcinoma in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Cancers* **2023**, *15*, 1308. [[CrossRef](#)]
71. Loomba, R.; Friedman, S.L.; Shulman, G.I. Mechanisms and disease consequences of nonalcoholic fatty liver disease. *Cell* **2021**, *184*, 2537–2564. [[CrossRef](#)]
72. Malehmir, M.; Pfister, D.; Gallage, S.; Szydlowska, M.; Inverso, D.; Kotsiliti, E.; Leone, V.; Peiseler, M.; Surewaard, B.G.; Rath, D.; et al. Platelet GPIIb α is a mediator and potential interventional target for NASH and subsequent liver cancer. *Nat. Med.* **2019**, *25*, 641–655. [[CrossRef](#)]
73. Wang, P.W.; Lin, T.Y.; Yang, P.M.; Yeh, C.T.; Pan, T.L. Hepatic Stellate Cell Modulates the Immune Microenvironment in the Progression of Hepatocellular Carcinoma. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 10777. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Tan, S.; Xu, Y.; Wang, Z.; Wang, T.; Du, X.; Song, X.; Guo, X.; Peng, J.; Zhang, J.; Liang, Y.; et al. Tim-3 Hampers Tumor Surveillance of Liver-Resident and Conventional NK Cells by Disrupting PI3K Signaling. *Cancer Res.* **2020**, *80*, 1130–1142. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Keenan, B.P.; Fong, L.; Kelley, R.K. Immunotherapy in hepatocellular carcinoma: The complex interface between inflammation, fibrosis, and the immune response. *J. Immunother. Cancer* **2019**, *7*, 267. [[CrossRef](#)]
76. Angulo, P.; Kleiner, D.E.; Dam-Larsen, S.; Adams, L.A.; Björnsson, E.S.; Charatcharoenwitthaya, P.; Mills, P.R.; Keach, J.C.; Lafferty, H.D.; Stahler, A.; 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*, 389–397.e10. [[CrossRef](#)]
77. Shah, P.A.; Patil, R.; Harrison, S.A. NAFLD-related hepatocellular carcinoma: The growing challenge. *Hepatology* **2023**, *77*, 323–338. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
78. Alexander, M.; Loomis, A.K.; Van Der Lei, J.; Duarte-Salles, T.; Prieto-Alhambra, D.; Ansell, D.; Alazawi, W. Risks and clinical predictors of cirrhosis and hepatocellular carcinoma diagnoses in adults with diagnosed NAFLD: Real-world study of 18 million patients in four European cohorts. *BMC Med.* **2019**, *17*, 95. [[CrossRef](#)]
79. Kanwal, F.; Kramer, J.R.; Li, L.; Dai, J.; Natarajan, Y.; Yu, X.; El-Serag, H.B. Effect of Metabolic Traits on the Risk of Cirrhosis and Hepatocellular Cancer in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology* **2020**, *71*, 808–819. [[CrossRef](#)]
80. Kramer, J.R.; Natarajan, Y.; Dai, J.; Yu, X.; Li, L.; El-Serag, H.B.; Kanwal, F. Effect of diabetes medications and glycemic control on risk of hepatocellular cancer in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* **2022**, *75*, 1420–1428. [[CrossRef](#)]
81. Lee, T.Y.; Wu, J.C.; Yu, S.H.; Lin, J.T.; Wu, M.S.; Wu, C.Y. The occurrence of hepatocellular carcinoma in different risk stratifications of clinically noncirrhotic nonalcoholic fatty liver disease. *Int. J. Cancer* **2017**, *141*, 1307–1314. [[CrossRef](#)]
82. Singh, S.; Singh, P.P.; Singh, A.G.; Murad, M.H.; Sanchez, W. Anti-diabetic medications and the risk of hepatocellular cancer: A systematic review and meta-analysis. *Am. J. Gastroenterol.* **2013**, *108*, 881–891. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Discusión general

El perfil de los pacientes con EII en nuestro medio está cambiando progresivamente hacia un fenotipo más complejo. En torno a un 10-30% de los pacientes con EII tienen más de 60 años(1), el 10% cumplen criterios de multimorbilidad(2), y más de un 15% reciben fármacos biológicos durante los 12 meses posteriores al diagnóstico(3). Tal y como se ha mencionado en la introducción, diferentes estudios han intentado estimar la prevalencia de EHGNA en los pacientes con EII obteniendo resultados a menudo discordantes(4–6).

Los resultados publicados en esta tesis confirman una alta prevalencia de EHGNA en pacientes con EII (45%), basada en ecografía abdominal y ET. En los estudios previos la prevalencia había oscilado entre un 6-8%(4) y un 55-65%(5,6). Múltiples factores han podido contribuir a esta variabilidad en la prevalencia como el año de realización del estudio, la variabilidad geográfica, el tamaño muestral o los métodos diagnósticos utilizados.

En términos generales, estudios realizados a finales del siglo XX (*Whornell et al*(7) en 1984, *Broomé et al*(8) en 1990, *De Fazio et al*(9) en 1992, *Mattila et al*(10) en 1994, *Riegler et al*(11) en 1998) reportaron prevalencias de EHGNA en torno al 5-15%. Asimismo, estudios publicados en la primera década de los años 2.000 (*Gisbert et al*(12) en 2007 o *Yamamoto-Furusho et al*(13) en 2010) publicaron prevalencias similares. Sin embargo, se ha observado una tendencia hacia el incremento de la prevalencia de EHGNA en los últimos años llegando hasta el 50-65% en estudios diseñados específicamente para tal fin(5,6,14). Estos datos son más parecidos a los publicados en los artículos de esta tesis, sin embargo, sigue existiendo heterogeneidad en los datos comunicados recientemente por lo que existen más factores que podrían explicar esta variabilidad.

La variabilidad geográfica es otro de los factores que podría influir. Se han reportado diferencias en la prevalencia de EHGNA entre los diferentes continentes, siendo altamente prevalente en Latinoamérica y Norteamérica, mientras que la prevalencia es menor en África subsahariana(15). Nuestra prevalencia de EHGNA del 45% en pacientes aragoneses con EII es similar al 42% reportado por *Rodríguez-Duque et al* en 2022, en un estudio transversal de casos-controles que incluía pacientes de Santander y de Madrid(16).

El tamaño muestral de los estudios también ha sido muy variable, desde estudios que contienen grupos de pacientes con EC o CU de 15-25 pacientes(17,18), hasta estudios que incluyen más de 800 pacientes(16,19), u otros que incluyen una alta cantidad de registros procedentes de biobancos(20,21). El tamaño muestral no solo influye en la estimación de la prevalencia sino en la capacidad para detectar potenciales factores de riesgo para EHGNA relacionados con la EII. En

cuanto a las técnicas diagnósticas utilizadas, la mayoría de los estudios utilizan técnicas no invasivas, siendo muy pocos los que han empleado la histología como *Bosch et al*(22,23). Hay que tener en cuenta que la S y E de las diferentes técnicas no invasivas es diferente, especialmente en los casos de esteatosis leve(24). Por ejemplo, el hecho de que la RM sea la técnica no invasiva más precisa ha podido influir en la alta prevalencia de EHGNA reportada por *Adams et al* en pacientes con bajo peso (87%) en 2018(25). Habitualmente los estudios han utilizado una sola prueba en cada paciente para detectar esteatosis mientras que en nuestro estudio destaca la fortaleza de haber utilizado tanto ecografía como ET en cada paciente. En términos generales, la mayor parte de estudios han adoptado el punto de corte del CAPTM > 248 dB/m(16,26–30), aunque otros han utilizado 216 dB/m(5) o 275 dB/m(31).

Gracias al desarrollo de la ET, algunos de los estudios publicados en los últimos años han informado la rigidez hepática al mismo tiempo que la esteatosis medida por CAPTM(5,16,26–33). A pesar de ello, muchos de los estudios no han evaluado la fibrosis hepática, incluyendo incluso algunos publicados en los últimos 5 años (14,17,20,34–36). De nuevo, apenas dos estudios han evaluado la fibrosis histológica(22,23). Otros han clasificado a los pacientes en base a índices serológicos de fibrosis como el BATT(21), NFS(18,19,25,37), FIB-4(25,38–40) o Fibrosure(6). La elastografía de transición ha demostrado ser superior a los índices serológicos de fibrosis en pacientes con biopsia hepática(41), por lo que consideramos una fortaleza de nuestro estudio haber realizado el diagnóstico de fibrosis hepática significativa en base a ET en lugar de marcadores serológicos. Los estudios previos habían utilizado puntos de corte en torno a 7 kPa(5,16,26–28,30,33) u 8 kPa(29,31,32) para fibrosis hepática significativa y de 9,7 kPa para fibrosis hepática avanzada(16). En nuestro estudio elegimos como punto de corte para fibrosis hepática significativa 8 kPa ya que en un estudio publicado por *Eddowes et al* en *Gastroenterology* en 2019 se demostró una buena precisión diagnóstica de este punto de corte con un área bajo la curva de 0,77(42).

Nuestros hallazgos fueron de una prevalencia de fibrosis hepática significativa del 10% en pacientes con EII y EHGNA, y una mediana y rango de elasticidad hepática de 5,1 (2,4–44,2) kPa. Esta prevalencia es similar a la reportada por *Kablawi et al*(31) en 2023 (8,6%), por *McHenry et al*(38) en 2019 (11%), por *Veltkamp et al*(27) en 2022 (8%) o por *Saroli Palumbo et al*(30) en 2018 (12%). Sin embargo, otros estudios reportaron prevalencias muy dispares: *Yen et al*(29) un 4,9% en 2021, *Thin et al*(43) un 6,4% en 2014, *Magri et al*(33) un 16% en 2019, *Van Lingen et al*(28) un 20% en 2021 y *Trifan et al*(26) un 36,9% en 2022. A la heterogeneidad de las técnicas diagnósticas utilizadas se añade la variabilidad en la forma de reportar los resultados en los estudios previamente publicados ya que algunos reportan el porcentaje de pacientes con

cirrosis(44), algunos estudios longitudinales reportan la incidencia durante el período de seguimiento(21), otros reportan fibrosis avanzada(16,23), y otros solamente reportan los valores continuos de elasticidad hepática(32).

En nuestro estudio detectamos una alta prevalencia de EHGNA en controles sin EII, que ascendía al 32%. Estos datos son similares a los publicados en la población general, que oscilan entre el 25% y el 30% aproximadamente en los últimos años(45,46). La mayoría de los estudios que han evaluado la prevalencia de EHGNA en pacientes con EII no disponían de controles sanos sin EII(4–6,14,19,22,26–35,37,39,40,44,47–50), por lo que no podían evaluar si la prevalencia era significativamente mayor a la de la población general. *Rodríguez-Duque et al* encontraron una prevalencia de EHGNA del 33% en controles sin EII (similar a la de nuestro estudio), pero en este caso fue significativamente mayor la de los casos con EII (42%, $p<0,001$)(16). *McHenry et al* también reportaron una prevalencia en controles sin EII del 30% (similar a la de nuestro estudio) y significativamente superior a la de los casos (38%, $p=0,010$)(38). Fue inferior la prevalencia en controles sin EII reportada por *Likhitsup et al*(17) y por *Principi et al*(51) (16% y 20%, respectivamente), en ambos estudios significativamente superior a la de los casos con EII (44%, $p<0,001$; 28%, $p=0,04$ respectivamente). Los resultados de *Li et al* contrastan con los reportados en esta tesis y en los estudios comentados anteriormente ya que encontraron una prevalencia de EHGNA de en torno al 10% en pacientes con EII y del 4-9% en controles sin EII(52).

Respecto a los factores de riesgo para el desarrollo de EHGNA y de fibrosis hepática, se va a centrar la discusión principalmente en aquellos relacionados con las características, el curso o el tratamiento de la EII. En nuestro estudio se identificaron una mayor duración de la EII y una edad más avanzada al diagnóstico como factores de riesgo independientes para desarrollar EHGNA. Estos factores ya habían sido identificados por algunos autores, aunque ha habido inconsistencias en la literatura publicada hasta el momento(14,18).

La mayor duración de la EII había sido descrita como factor de riesgo de EHGNA por *Abenavoli et al*(34), *Trifan et al*(26), *Veltkamp et al*(27), *Glassner et al*(53) y *Bessisow et al*(40). La mayor edad avanzada al diagnóstico por *Abenavoli et al*(34), *Trifan et al*(26) y *Yen et al*(29). Otros factores de riesgo para EHGNA descritos han sido el patrón estenosante(34), la actividad de la EII(14,28,35,40,54), la enfermedad perianal en pacientes con EC(21), la resección intestinal(14,26,40,50,54), el subtipo EC(37,38) o el uso de corticoides(50). Mientras que *Rodríguez-Duque et al* publicaron que la EII era un factor de riesgo independiente para EHGNA(16), otros estudios no encontraron asociación entre factores relacionados con la EII y el desarrollo de EHGNA y/o fibrosis hepática(18,19,25,33,51).

En nuestro estudio identificamos la EC como factor de riesgo independiente para desarrollar fibrosis hepática significativa en pacientes con EHGNA. Este hallazgo ha sido recientemente reportado también por *Rodríguez-Duque et al* y *Chen et al* (16,21). Otros factores reportados en la literatura han sido la duración de la EII(26,27), la actividad de la EII(28) o el curso intermitente(48).

Otro de los hallazgos interesantes del capítulo 1 de esta tesis fue que la EHGNA aparecía con niveles de IMC significativamente más bajos en los pacientes con EII en comparación con los controles sin EII. Este hallazgo sugiere que en los pacientes con EII los factores de riesgo metabólicos clásicos pueden tener un papel menos importante en el desarrollo de EHGNA, y que puede haber otros factores directamente relacionados con la EII que favorezcan el desarrollo de EHGNA. Este supuesto nos motivó a realizar un análisis pormenorizado comparando los pacientes con bajo peso/normopeso y los pacientes con sobrepeso/obesidad en base al IMC, tal y como se ha expuesto en el capítulo 2 de la tesis.

Clásicamente, la EHGNA se ha asociado a los factores de riesgo cardiovascular, siendo esta asociación especialmente fuerte con la DM2 y la obesidad(55). Sin embargo, en los últimos años se ha despertado el interés en aquellos pacientes que desarrollan EHGNA en ausencia de sobrepeso u obesidad, ya que supone el 5-20% de los individuos europeos catalogados como “delgados”(56). Del mismo modo, no todos los individuos obesos desarrollan EHGNA(57).

El concepto de “lean NAFLD” (del inglés, significa EHGNA en pacientes magros o delgados) surgió en Asia, donde la prevalencia de EHGNA en individuos delgados oscila entre el 5% y el 45%(56). La distribución de la grasa visceral, tejido metabólicamente muy activo, presenta variabilidad en función de la etnia. De hecho, los puntos de corte del IMC en pacientes asiáticos son diferentes, de tal forma que se considera ausencia de sobrepeso/obesidad en aquellos pacientes con un $IMC < 23 \text{ kg/m}^2$. Sin embargo, los pacientes asiáticos pueden tener obesidad central pese a un $IMC < 23 \text{ kg/m}^2$, lo cual se pone de manifiesto por un aumento de la circunferencia de cadera(58). Hay que tener en cuenta la limitación del IMC, el cual no refleja la distribución de la grasa corporal y no puede distinguir entre masa grasa y masa magra, por lo que no informa específicamente sobre la presencia de grasa visceral(59). Este es un matiz importante porque la grasa visceral se asocia más fuertemente a la mortalidad cardiovascular que el IMC(60).

No están del todo definidas las vías fisiopatológicas de la EHGNA en pacientes delgados, pudiendo contribuir la predisposición genética, la microbiota intestinal, la circulación enterohepática y la disregulación metabólica. Se cree que es una entidad diferente ya que se han identificado diferencias en la microbiota intestinal o en el metabolismo de los ácidos biliares, por

lo que requiere un estudio específico de la misma(56). Nuestros hallazgos sugieren que se debería profundizar en esta relación fisiopatológica, porque se podrían identificar factores que relacionen la EII y la EHGNA.

En el capítulo 2 de esta tesis reportamos una prevalencia de EHGNA del 21% en 300 pacientes delgados con EII y del 10% en 80 controles delgados sin EII ($p=0,022$). En un metaanálisis publicado por *Ye et al* en 2020 que incluía 84 estudios se reportó una prevalencia de EHGNA en individuos delgados del 5,1%. En otro metaanálisis publicado por *Shi et al* en 2020 que incluía 45 estudios se reportó una prevalencia de EHGNA en delgados del 10%(61). Por tanto, la prevalencia de EHGNA en pacientes delgados sin EII reportada en nuestro estudio fue similar a la estimada en otros estudios realizados en la población general.

Tan solo unos pocos estudios han reportado la prevalencia de EHGNA en pacientes con EII en función del IMC. *Yen et al* publicó un estudio de cohortes prospectivo en 2021 que incluía 81 pacientes con EII en los que se evaluó la presencia de esteatosis y fibrosis hepática mediante ET. Observaron un incremento de los valores de CAPTM conforme aumentaba el IMC (162 dB/m en pacientes con bajo peso, 211 dB/m en pacientes con normopeso, 261 dB/m en pacientes con sobrepeso y 274 dB/m en pacientes obesos). En este estudio se reportó que existía un porcentaje significativamente superior de pacientes con sobrepeso entre los pacientes con EHGNA en comparación con los pacientes sin EHGNA (62,5% vs. 14%, $p<0,001$) pero no se reportó la prevalencia de EHGNA ni de fibrosis hepática en función del IMC. Tampoco se incluyó un grupo control sin EII(29), a diferencia de nuestro estudio.

McHenry et al publicaron en 2019 un estudio de casos-contróles que reportaba la prevalencia de EHGNA basada en RM en el subgrupo de pacientes delgados ($IMC < 25 \text{ Kg/m}^2$), dentro de una cohorte más amplia compuesta por 311 pacientes con EC, 622 controles internos sin EII y 622 controles de base poblacional sin EII. Encontraron una prevalencia de EHGNA del 20% en pacientes delgados con EC mientras que fue del 10% en ambos grupos controles ($p=0,024$ y $0,013$, respectivamente)(38). Estos datos son muy similares a los encontrados en nuestro estudio, ya que también encontramos una prevalencia de EHGNA del 21% en pacientes delgados con EII y del 10% en controles delgados sin EII ($p=0,022$). Sin embargo, *McHenry et al* no reportaron información sobre la fibrosis hepática pormenorizada en función del IMC(38).

Adams et al realizaron un estudio transversal de casos-contróles publicado en 2018 que comparó casos con diagnóstico de bajo peso basado en un $IMC < 18,5 \text{ Kg/m}^2$ y controles con normopeso basado en un IMC de $20\text{-}24,9 \text{ Kg/m}^2$, en los que se evaluó la presencia de esteatosis hepática por RM. Observaron una prevalencia de EHGNA significativamente mayor en pacientes con EII

con IMC < 18,5 Kg/m² en comparación con aquellos con normopeso (88% vs. 22%, p<0,001), también observaron una prevalencia de EHGNA significativamente mayor en pacientes con IMC < 18,5 Kg/m² sin EII. Además, los pacientes con un bajo peso extremo (definidos como IMC < 17,5 Kg/m²) tuvieron niveles significativamente superiores de esteatosis en comparación con aquellos con IMC entre 17,5-18,5 Kg/m² (p<0,05)(25). Estos datos contrastan con nuestros hallazgos, ya que en nuestra cohorte de pacientes con EII observamos un 17% de EHGNA en caso de bajo peso y un 22% en caso de normopeso, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas (p=1,000). En parte, la ausencia de diferencias significativas puede deberse al escaso tamaño muestral del que disponíamos en el grupo de bajo peso (n= 18).

Li et al realizaron un estudio retrospectivo publicado en 2017 que incluyó 137 pacientes con EC, 69 con CU y 412 controles sin EII. En pacientes con EC con bajo peso y con normopeso, detectaron EHGNA en torno a un 10% de los casos (menor que en nuestro estudio), siendo significativamente superior que en los controles sin EII (p= 0,002 y 0,004, respectivamente). Tampoco se evaluó la fibrosis hepática en esta cohorte de pacientes(52).

Sagami et al realizaron un estudio de cohortes retrospectivo en 2017 que incluía 303 pacientes con EC a los que se le realizó ecografía abdominal. En los pacientes con normopeso (IMC 20-22,9 Kg/m², ya que incluyó población asiática) y con bajo peso (IMC < 20 Kg/m²) reportaron una prevalencia del 21% y del 14%, respectivamente. Estos datos son muy similares a los reportados en esta tesis en población española, sin embargo, este estudio tampoco evaluó la fibrosis hepática que es el marcador pronóstico más determinante a largo plazo(47).

En el capítulo 2 de esta tesis, también observamos un incremento progresivo de la prevalencia de EHGNA tanto en pacientes con EII como sin EII conforme aumentaba el IMC. Datos similares han sido reportados por *Li et al*(52) o por *Sagami et al*(47), sin embargo, *Adams et al* observó un incremento de la esteatosis hepática paralelo al descenso del IMC(25).

Se ha descrito que los individuos delgados con EHGNA de la población general presentan tasas significativamente más bajas de HTA y de glucemia en ayunas, así como niveles más altos de HDL que en pacientes obesos(61). En nuestro estudio obtuvimos resultados similares en los pacientes con EII ya que observamos en el análisis univariante una mayor prevalencia de HTA, un peor control glucémico y niveles mayores de los indicadores de resistencia a la insulina en los pacientes con EII y EHGNA que tenían sobrepeso u obesidad en comparación con los pacientes con EII y EHGNA que eran delgados. Un metaanálisis reciente confirma que los pacientes delgados con EHGNA tuvieron un grado de disfunción metabólica significativamente menor que

los pacientes con EHGNA y sobrepeso, siendo la prevalencia de DM del 19,6% en los pacientes delgados con EHGNA y del 45,7% en los pacientes obesos con EHGNA ($p<0,01$)(62).

Teniendo en cuenta la menor prevalencia de disfunción metabólica en pacientes delgados con EHGNA, cabría esperar que el pronóstico a medio-largo plazo fuera mejor. Sin embargo, este es un punto controvertido y objeto de debate ya que algunos estudios han reportado una peor evolución de la enfermedad en pacientes delgados con EHGNA. *Ha et al* publicó un metaanálisis en 2023 que incluía 10 estudios de cohortes (109.151 pacientes con EHGNA) en el que observó un riesgo similar de mortalidad por todas las causas (RR 1,09 IC95% (0,66-1,90)), mortalidad cardiovascular (RR 1,12 IC95% (0,66-1,90)) y eventos adversos hepáticos incluyendo cirrosis descompensada o carcinoma hepatocelular (RR 0,81 IC95% (0,50-1,30)) en individuos delgados con EHGNA en comparación con aquellos no delgados(63). De hecho, observaron un riesgo de mortalidad relacionada con hepatopatía mayor en los pacientes delgados que en los no delgados con EHGNA (RR 1,88 IC95% (1,02-3,45))(63). Otro metaanálisis publicado por *Ye et al* en 2020 reportó alto grado de comorbilidad hepática y no hepática a largo plazo en los pacientes delgados con EHGNA(64). Dada la escasa evidencia al respecto en población con EII, es necesario realizar en el futuro estudios prospectivos para poder aclarar el pronóstico de los individuos delgados con EII.

Por tanto, a pesar de una menor prevalencia de fibrosis avanzada y un perfil de factores de riesgo metabólicos más favorable en pacientes delgados con EHGNA, tienen un mayor riesgo de desarrollar problemas derivados de enfermedad hepática grave en comparación con los pacientes con sobrepeso/obesidad y EHGNA(65). Además, se ha reportado que los pacientes delgados con EHGNA tienen más comorbilidades metabólicas y mayor riesgo de mortalidad cardiovascular y por todas las causas en comparación con las personas delgadas sin EHGNA(66). Estos hallazgos resaltan la importancia de sospechar y realizar un diagnóstico precoz de la EHGNA en individuos delgados.

En nuestro estudio se identificó que la EII es un factor de riesgo independiente para el desarrollo de EHGNA en individuos delgados. Con la intención de detectar un perfil de riesgo dentro de la población con EII se estudiaron potenciales factores relacionados con la enfermedad, sin encontrar asociación entre estos y la EHGNA. *Sagami et al* reportaron que los pacientes con bajo peso y EHGNA tenían niveles mayores de remisión clínica y mayor supervivencia libre de cirugía en comparación con aquellos sin EHGNA(47). En cambio, en nuestro estudio no encontramos diferencias en función de la actividad, lo cual puede estar explicado, al menos parcialmente, por la baja proporción de pacientes con actividad.

La evidencia sobre la prevalencia de fibrosis hepática en pacientes delgados con EII es menor todavía. Nuestro grupo ha reportado una prevalencia de fibrosis hepática significativa del 4,7% en pacientes delgados con EII y del 0% en pacientes delgados sin EII, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas ($p=1,000$). Es probable que no se hayan encontrado diferencias por el menor tamaño muestral del grupo control sin EII y la baja prevalencia de fibrosis hepática significativa. Un dato interesante es que observamos un incremento de la prevalencia de fibrosis hepática significativa en pacientes con EII y sobrepeso/obesidad en comparación con los pacientes delgados con EII (12% vs. 4,7%), pero las diferencias tampoco fueron significativas ($p=0,107$). *Adams et al* llegaron a conclusiones similares estudiando la fibrosis hepática mediante FIB-4 y NFS, ya que apenas encontraron casos de fibrosis hepática significativa al ser leves-moderados la mayoría de diagnósticos de esteatosis por RM. Por tanto, tampoco observaron diferencias en términos de fibrosis hepática en función del IMC entre los pacientes con bajo peso y normopeso(25).

Aunque no conseguimos identificar ningún factor de riesgo relacionado con la EII para fibrosis hepática en pacientes delgados, algunos datos en la literatura sugieren que la EII podría tener un rol relevante. En este sentido, *Rodríguez-Duque et al* reportaron en su estudio transversal de casos-controles publicado en 2022 una prevalencia de fibrosis hepática avanzada asociada a la EHGNA significativamente superior en casos con EII en comparación con controles sin EII (9,5% vs. 2,3%, $p<0,001$). Realizaron un interesante subanálisis de los pacientes no obesos y de los pacientes sin DM2 observando que estas diferencias en la fibrosis hepática significativa se incrementaban(16).

La mayor parte de limitaciones del estudio presentado en el capítulo 2 son compartidas por el presentado en el capítulo 1 debido a las similitudes metodológicas. Fundamentalmente hay que destacar la ausencia de confirmación histológica, la baja proporción de pacientes con actividad inflamatoria en el momento de ser evaluados, y la ausencia de un seguimiento prospectivo de los pacientes. A diferencia de otros estudios como *Rodríguez-Duque et al*, que incluyeron un subgrupo de pacientes diagnosticados mediante biopsia hepática(16), en nuestro estudio los pacientes con hallazgos de F3-F4 en la ET fueron remitidos a las consultas monográficas de Hepatología de nuestro hospital y solamente se contempló la realización de biopsia hepática en caso de que fuera indicada en práctica clínica habitual por su hepatólogo de referencia. Ello pudo influir en que el porcentaje de pacientes con disponibilidad de biopsia fuera tan bajo como para no permitir un análisis en base a los hallazgos histológicos.

Por otro lado, el escaso tamaño muestral de pacientes con actividad pudo afectar al análisis de la actividad de la EII como factor de riesgo para EHGNA y/o fibrosis hepática. Cabe destacar que se clasificó a los pacientes en función de la puntuación obtenida en los índices clínicos de actividad correspondientes, sin tener en consideración los parámetros bioquímicos, endoscópicos ni histológicos. Es probable que, en caso de haber evaluado la actividad en base a las endoscopias recientes disponibles, se hubiera detectado pacientes paucisintomáticos con actividad endoscópica. Asimismo, la alta prevalencia de EHGNA en la población general también pudo influir en la ausencia de diferencias en la prevalencia de casos y controles cuando se analizó toda la cohorte de pacientes. Sin embargo, estos participantes fueron seleccionados con las mayores garantías posibles al tratarse de pacientes consecutivos (no fueron seleccionados en base a la presencia de factores de riesgo para EHGNA) de centros de Atención Primaria pertenecientes a la misma área sanitaria y reclutados durante el mismo período de tiempo. Por último, el escaso tamaño muestral de pacientes con fibrosis hepática significativa también pudo influir en los resultados, siendo más patente todavía en el capítulo 2 ya que el grupo control de pacientes delgados tuvo un tamaño muestral sustancialmente menor que el resto de grupos.

En la revisión sistemática presentada en el capítulo 4 confirmamos los hallazgos ya observados en nuestro artículo original del capítulo 1. Observamos que la prevalencia de EHGNA en pacientes con EII era alta (34%) y ligeramente superior a la de pacientes sin EII (31%). Otras revisiones sistemáticas también han reportado una prevalencia de EHGNA en pacientes con EII de entre el 30-32%(67,68). La mayor parte de estudios incluidos en nuestra revisión sistemática encontraron asociación entre el desarrollo de EHGNA en pacientes con EII y los factores de riesgo metabólicos clásicos, pero hubo disparidad entre los diferentes estudios en relación a los factores relacionados con la EII. Constatamos una prevalencia de fibrosis hepática avanzada del 12% en pacientes con EII y EHGNA incluidos en 6 estudios. Los autores que reportaron datos más similares fueron *Rodríguez-Duque et al* con un 9,5%(16) y *Saroli-Palumbo et al* con un 8,1%(30). Una prevalencia similar (14%) ha sido también recientemente publicada en otra revisión sistemática(67).

En cuanto a la prevalencia y factores de riesgo de carcinoma hepatocelular, la evidencia específica en población con EII es muy escasa. Sin embargo, algunos autores han estudiado los mecanismos fisiopatológicos que conducen a la progresión de la fibrosis hepática. La presencia de EHGNA es un predictor independiente de mortalidad relacionada con el hígado(69), y la DM2 es uno de los predictores más importantes de fibrosis avanzada(70). En los pacientes con EII, una edad más avanzada y la obesidad han sido descritos como factores de riesgo independientes para desarrollar fibrosis hepática(30).

El desarrollo de carcinoma hepatocelular en pacientes con EHGNA no cirróticos sugiere que existen otros factores diferentes de la fibrosis hepática que pueden contribuir a la carcinogénesis(71). Más allá de los factores de riesgo metabólicos clásicos, en la patogenia del carcinoma hepatocelular se ha reportado la influencia de factores genéticos(72), cambios metabólicos(73), la microbiota(74) y el sistema inmunológico(75).

Respecto a los factores genéticos, polimorfismos del gen *PNPLA3* se han asociado significativamente con el desarrollo de EHGNA, con la progresión de la EHNA, así como con el desarrollo de fibrosis hepática y de carcinoma hepatocelular(72,76). A su vez, se ha reportado que los portadores del alelo *PNPLA3* 148M con EII tienen mayor riesgo de esteatosis hepática(77). Por otro lado, como ya se ha comentado en la introducción, la disbiosis presente tanto en la EHGNA como en la EII y la alteración en la permeabilidad intestinal favorecen una respuesta proinflamatoria que genera daño hepático y fibrosis. De hecho, se han reportado alteraciones específicas en la microbiota de pacientes con EHGNA y fibrosis hepática avanzada(74).

El acúmulo de ácidos grasos libres en el hígado también contribuye al estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria, que a su vez produce inestabilidad del genoma, favorece la mutagénesis y aumenta el riesgo de carcinoma hepatocelular(74,78). La activación de las células estrelladas durante el proceso de fibrogénesis a su vez puede favorecer el microambiente tumoral y el escape inmunológico durante la progresión del carcinoma hepatocelular(79). Además, otras células pertenecientes a la inmunidad innata o adaptativa se han relacionado con el desarrollo de fibrosis y carcinoma hepatocelular. Por ejemplo, las células NK muestran un fenotipo alterado en pacientes con carcinoma hepatocelular ya que presentan una citotoxicidad disminuida favoreciendo la supervivencia de las células tumorales(75,80). Otro ejemplo son los macrófagos que forman complejos con los hepatocitos muertos con esteatosis, los cuales desencadenan una respuesta fibrótica que a su vez favorece la carcinogénesis(81).

Durante el período de tiempo en el que se realizó el trabajo de campo correspondiente a los capítulos 1 y 2 (octubre de 2020-octubre de 2021) el mundo entero se sumergió una pandemia por la infección por SARS-CoV-2. Pronto surgieron hipótesis sobre una mayor susceptibilidad y/o gravedad de la infección en pacientes con enfermedades crónicas o en pacientes inmunodeprimidos, ya que se establecieron vínculos entre los casos graves y una respuesta inflamatoria exagerada(82). Consecuentemente, estudiar la seroprevalencia de la infección nos pareció una oportunidad excelente al mismo tiempo que se realizaba el estudio de las comorbilidades metabólicas. Entender cómo se produce la respuesta a las infecciones en los

pacientes con EII por un lado iba a ser útil para profundizar en el conocimiento de la infección por SARS-CoV-2, al mismo tiempo que nos proporcionaría información extrapolable a otras infecciones conocidas o que se puedan propagar en el futuro.

Obtuvimos una seroprevalencia del 9,5% en pacientes con EII no vacunados, similar a la de la población general en nuestro medio. De acuerdo al estudio nacional de sero-epidemiología de la infección por SARS-CoV-2 en España (ENECOVID) realizado por el Ministerio de Sanidad, la prevalencia fue del 9,4% en la provincia de Zaragoza en la cuarta ronda (realizada entre el 16 de noviembre de 2020 y el 29 de noviembre de 2020)(83). Se trata de un amplio estudio longitudinal sero-epidemiológico de base poblacional que constituyó una de las fuentes de información epidemiológica más sólida en nuestro medio(84). Estos hallazgos concordaban con otros autores como *Scucchi et al* que describieron una seroprevalencia de la infección en pacientes con EII similar a la de la población general(85).

Identificamos que la obesidad era factor de riesgo para la seroconversión frente a SARS-CoV-2, sin embargo, no se asoció significativamente a la gravedad de la infección. En nuestro estudio evaluamos la gravedad de la infección en función de la necesidad de ingreso hospitalario y, teniendo en cuenta el escaso número de pacientes hospitalizados en nuestra cohorte, es posible que la ausencia de diferencias significativas estuviera influenciada por el tamaño muestral. De hecho, se ha descrito que la obesidad incrementa de forma significativa el riesgo de infección grave por COVID-19 y que es un factor de riesgo para muerte e intubación orotraqueal en pacientes con COVID-19(86).

Además, observamos una mayor seroprevalencia entre los pacientes con infección confirmada/sospecha de infección que habían precisado ingreso hospitalario, en comparación con los que se habían manejado ambulatoriamente. Es probable que este resultado pueda estar sesgado porque al inicio de la pandemia se realizaba generalmente un test microbiológico a los pacientes hospitalizados, pero muchos de los pacientes con sospecha de infección que no ingresaban no llegaban a confirmarse microbiológicamente. En consecuencia, los casos sospechosos que se manejaban ambulatoriamente podían corresponder a infecciones por otros virus diferentes del SARS-CoV-2 con síntomas similares que se atribuían a la COVID-19 por el contexto epidemiológico del momento.

En cuanto a los factores relacionados con la EII, identificamos que el tratamiento con biológicos anti-TNF se asociaba a una menor seroprevalencia, tras ajustar por factores de confusión. Nuestros resultados fueron concordantes con los reportados por *Kennedy et al*(87) que observaron menores niveles de anticuerpos en pacientes tratados con infliximab en

comparación con vedolizumab ($p=0,0027$) e inmunomoduladores ($p=0,012$), o por *Martin-Arranz et al*(88) que encontraron niveles de anticuerpos significativamente más bajos tanto en comparación con el resto de tratamientos para la EII ($p=0,03$) como al compararlo con los pacientes que recibían ustekinumab o vedolizumab ($p=0,002$). Por el contrario, *Berté et al* no pudieron confirmar este hallazgo(89). En nuestro estudio, se compararon los diversos tratamientos con los pacientes sin tratamiento y con los que recibían 5-ASA (ya que estos fármacos no presentan acción inmunosupresora), constituyendo la suma de ambos grupos el 47,9% de los pacientes incluidos en la fase de seroprevalencia. Respecto al resto de factores relacionados con la EII como el subtipo EC/CU, el patrón, la localización, la extensión, la presencia de enfermedad perianal o la historia de cirugías previas, no observamos que influyeran en la seroprevalencia.

No identificamos ningún tratamiento ni factor relacionado con la EII asociado a la gravedad de la infección, lo cual puede estar influenciado por el escaso tamaño muestral de pacientes hospitalizados. Algunos autores como *Wetwittayakhleng et al* observaron que el uso de corticoides sistémicos y la actividad de la EII se asociaban con la gravedad de la infección por COVID-19(90). Por el contrario, *Sultan et al* no reportaron asociación entre el uso de biológicos o de corticoides y una peor evolución de la infección por SARS-CoV-2 en pacientes con EII(91), y *Bamias et al* reportaron que el uso de agentes anti-TNF ejercía como factor protector contra un curso desfavorable de la COVID-19(92).

Al constatar la influencia del tratamiento anti-TNF en la respuesta humoral a la infección y al difundirse la vacunación frente a la infección en los pacientes con EII, nos pareció muy interesante evaluar la respuesta humoral y celular a la vacuna. Para ello, se analizó una muestra de sangre periférica extraída entre 10 y 14 semanas tras completar la pauta vacunal, y en un subgrupo de pacientes, también se realizó extracción de sangre periférica pre-vacunación.

Observamos que los niveles de anticuerpos aumentaban de forma significativa tras la vacuna tanto en los pacientes con biológicos como en los pacientes sin tratamiento. Sin embargo, al comparar los niveles post-vacunación entre los pacientes que recibían diferentes biológicos y los pacientes sin tratamiento, se observó que los pacientes que recibían anti-TNF desarrollaban niveles significativamente inferiores mientras que no existían diferencias en los pacientes que recibían ustekinumab o vedolizumab. Estos resultados son concordantes con los reportados por *Edelman-Klapper et al* y *Doherty et al*, que también encontraron una menor respuesta humoral a la vacuna frente a SARS-CoV-2 en pacientes con EII tratados con anti-TNF(93,94).

El estudio de la respuesta vacunal presenta varias limitaciones. Por un lado, el número de pacientes que disponían de una determinación pre-vacunación fue limitado por la celeridad mediante la cual se instauró la vacunación en pacientes considerados de riesgo y en las franjas etarias de los pacientes incluidos. Además, el número de pacientes incluidos en cada grupo de tratamiento (anti-TNF, vedolizumab, ustekinumab, sin tratamiento) fue pequeño. La heterogeneidad en las vacunas administradas también podría haber influido en los resultados, si bien, la mayoría de ellas disponían de un mecanismo de acción común a pesar de pertenecer a diferentes casas comerciales. Por último, haber realizado un análisis de las citoquinas podría haber informado sobre la activación funcional de las células.

Sin embargo, la mayor fortaleza de nuestro estudio fue el análisis de la respuesta celular a la vacuna, de la cual había mucha menos evidencia disponible en ese momento. En nuestro caso, se ha observado el aumento o disminución de diversas poblaciones linfocitarias, monocitarias y de células NK como manifestación de la activación del sistema inmune tras la vacuna.

En el caso de las poblaciones linfocitarias se observó un aumento de TIM-3 y LAG-3. LAG-3 es una proteína transmembrana que no se expresa en las células T naïve, sin embargo, la activación tras estimulación antigénica promueve su expresión. Tiene funciones inhibitorias tras unirse a su ligando ya que reduce la producción de granzima en las células T efectoras e induce la diferenciación hacia células T reguladoras(95,96). TIM-3 tiene funciones similares regulando la función de las células T efectoras para evitar una respuesta inmune descontrolada, tratándose de un marcador de activación pese a su función inhibitoria(97).

En las poblaciones monocitarias se observó un aumento de PD-1 y LAG-3 y un descenso de TIM-3. El aumento de la expresión de PD-1 en los monocitos es un marcador de activación y también tiene función inhibitoria en el aclaramiento de patógenos y de tumores, jugando un papel importante en el mantenimiento de la tolerancia(98). En este caso, interpretamos que el descenso de TIM-3 podría estimular el sistema inmune a través de la citotoxicidad de las células T y de la producción de citoquinas. De hecho, se ha observado que la inhibición de TIM-3 promueve la activación de los macrófagos(99).

En las células NK también se observó un descenso de TIM-3, mientras que se incrementó la expresión de NKG2A y NKG2D. NKG2A son receptores inhibidores y NKG2D son receptores activadores que reconocen el HLA-E y MIC (del inglés “major histocompatibility complex class I chain related molecule”) en células infectadas durante las respuestas antivirales(100,101). Ya se había reportado en otros estudios que la infección por SARS-CoV-2 induce sobreexpresión de NKG2A y que esta se correlaciona con la gravedad de la enfermedad(102).

El hallazgo clave fue la ausencia de diferencias sustanciales en los patrones de activación de las diferentes subpoblaciones linfocitarias, monocitarias y NK cuando se compararon los pacientes bajo tratamiento biológico con aquellos sin tratamiento o con 5-ASA. Este hallazgo sugiere que, pese a la alteración en la respuesta humoral, la respuesta celular a la vacuna se encontraría respetada. Los resultados serían plausibles teniendo en cuenta que algunos estudios habían demostrado que el tratamiento con biológicos no afectaba al curso de la infección, y esto podría justificarse porque la defensa frente al virus probablemente estaría mediada a través de la inmunidad celular(91,92). Sin embargo, otros estudios sugieren que la menor respuesta humoral puede estar originada por una alteración en las células B memoria, debido a la ausencia de activación de las células T auxiliares foliculares circulantes tipo 1. Por tanto, se requieren estudios en el futuro que continúen evaluando la respuesta inmune celular a infecciones y/o vacunas en pacientes con EII, teniendo en cuenta la influencia de los tratamientos para la EII(103).

Bibliografía discusión

1. Mosli MH, Alghamdi MK, Bokhary OA, Alzahrani MA, Takieddin SZ, Galai TA, et al. Inflammatory bowel disease in the elderly: A focus on disease characteristics and treatment patterns. *Saudi J Gastroenterol*. 2023;29(4):212-9.
2. Mosli MH, Alsahafi M, Alsanea MN, Alhasani F, Ahmed M, Saadah O. Multimorbidity among inflammatory bowel disease patients in a tertiary care center: a retrospective study. *BMC Gastroenterol*. 2022;22(1):487.
3. Chaparro M, Garre A, Núñez Ortiz A, Diz-Lois Palomares M, Rodríguez C, Riestra S, et al. Incidence, Clinical Characteristics and Management of Inflammatory Bowel Disease in Spain: Large-Scale Epidemiological Study. *J Clin Med*. 2021;10(13):2885.
4. Silva J, Brito BS, Silva INDN, Nóbrega VG, Silva MCSMD, Gomes HDDN, et al. Frequency of Hepatobiliary Manifestations and Concomitant Liver Disease in Inflammatory Bowel Disease Patients. *Biomed Res Int*. 2019;2019:1-7.
5. Spagnuolo R, Montalcini T, De Bonis D, Ferro Y, Cosco C, Mazza E, et al. Weight Gain and Liver Steatosis in Patients with Inflammatory Bowel Diseases. *Nutrients*. 2019;11(2):303.
6. Likhitsup A, Dundulis J, Ansari S, Patibandla S, Hutton C, Kennedy K, et al. High prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease receiving anti-tumor necrosis factor therapy. *Ann Gastroenterol*. 2019;32(5):463-8.
7. Whorwell PJ, Hawkins R, Dewbury K, Wright R. Ultrasound survey of gallstones and other hepatobiliary disorders in patients with Crohn's disease. *Digest Dis Sci*. 1984;29(10):930-3.
8. Broome U, Glaumann H, Hultcrantz R. Liver histology and follow up of 68 patients with ulcerative colitis and normal liver function tests. *Gut*. 1990;31(4):468-72.
9. De Fazio C, Torgano G, De Franchis R, Meucci G, Arrigoni M, Vecchi M. Detection of liver involvement in inflammatory bowel disease by abdominal ultrasound scan. *Int J Clin Lab Res*. 1992;21(2-4):314-7.
10. Mattila J, Aitola P, Matikainen M. Liver lesions found at colectomy in ulcerative colitis: correlation between histological findings and biochemical parameters. *J Clin Pathol*. 1994;47(11):1019-21.
11. Riegler G, D'Incà R, Sturniolo GC, Corrao G, Vecchio Blanco CD, Leo VD, et al. Hepatobiliary Alterations in Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Multicenter Study. *Scand J Gastroenterol*. 1998;33(1):93-8.
12. Gisbert JP, Luna M, González-Lama Y, Pousa ID, Velasco M, Moreno-Otero R, et al. Liver injury in inflammatory bowel disease: Long-term follow-up study of 786 patients. *Inflamm Bowel Dis*. 2007;13(9):1106-14.
13. Yamamoto-Furusho JK, Sánchez-Osorio M, Uribe M. Prevalence and factors associated with the presence of Abnormal Function Liver Tests in patients with ulcerative colitis. *Ann Hepatol*. 2010;9(4):397-401.

14. Hoffmann P, Jung V, Behnisch R, Gauss A. Prevalence and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel diseases: A cross-sectional and longitudinal analysis. *World J Gastroenterol.* 2020;26(46):7367-81.
15. Wong VWS, Ekstedt M, Wong GLH, Hagström H. Changing epidemiology, global trends and implications for outcomes of NAFLD. *J Hepatol.* 2023;79(3):842-52.
16. Rodriguez-Duque JC, Calleja JL, Iruzubieta P, Hernández-Conde M, Rivas-Rivas C, Vera MI, et al. Increased risk of MAFLD and Liver Fibrosis in Inflammatory Bowel Disease Independent of Classic Metabolic Risk Factors. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2023;21(2):406-414.e7.
17. Likhitsup A, Dundulis J, Ansari S, El-Halawany H, Michelson R, Hutton C, et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease on computed tomography in patients with inflammatory bowel disease visiting an emergency department. *Ann Gastroenterol.* 2019;32(3):283-6.
18. Carr RM, Patel A, Bownik H, Oranu A, Kerner C, Praestgaard A, et al. Intestinal Inflammation Does Not Predict Nonalcoholic Fatty Liver Disease Severity in Inflammatory Bowel Disease Patients. *Dig Dis Sci.* 2017;62(5):1354-61.
19. Al-Mohannadi DM, Chandra DP, Varughese DB, Hamid DA, Badi DA, Kaabi DSA, et al. Non-alcoholic Fatty Liver Disease among patients with Inflammatory Bowel Disease in Qatar: Prevalence and Risk Factors. *Open J Gastroenterol Hepatol.* 2020;3:40.
20. Zhang Q, Liu S, Wu J, Zhu S, Wu Y, Wu S, et al. Non-alcoholic fatty liver degree and long-term risk of incident inflammatory bowel disease: A large-scale prospective cohort study. *Chin Med J (Engl).* 2023. En prensa.
21. Chen J, Dan L, Tu X, Sun Y, Deng M, Chen X, et al. Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease and liver function markers are associated with Crohn's disease but not Ulcerative Colitis: a prospective cohort study. *Hepatol Int.* 2023;17(1):202-14.
22. Bosch DE, Yeh MM. Primary sclerosing cholangitis is protective against nonalcoholic fatty liver disease in inflammatory bowel disease. *Hum Pathol.* 2017;69:55-62.
23. Aggarwal M, Garg R, Parthasarthy G, Nowacki AS, Padival R, McCullough A, et al. Crohn's Disease Is Associated with Liver Fibrosis in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis Sci.* 2023;68(3):1006-15.
24. Iruzubieta P, González M, Cabezas J, Arias-Loste MT, Crespo J. Diagnosis and Characterization of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. En: Rodrigo L, editor. *Liver Research and Clinical Management* [Internet]. IntechOpen; 2018 [citado 12 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://www.intechopen.com/chapters/58896>
25. Adams LC, Lübke F, Bressem K, Wagner M, Hamm B, Makowski MR. Non-alcoholic fatty liver disease in underweight patients with inflammatory bowel disease: A case-control study. *PLoS One.* 2018;13(11):e0206450.
26. Trifan A, Stafie R, Rotaru A, Stratina E, Zenovia S, Nastasa R, et al. Screening for Liver Steatosis and Fibrosis in Patients with Inflammatory Bowel Disease Using Vibration Controlled Transient Elastography with Controlled Attenuation Parameter. *J Clin Med.* 2022;11(19):5959.
27. Veltkamp C, Lan S, Korompoki E, Weiss KH, Schmidt H, Seitz HK. Hepatic Steatosis and Fibrosis in Chronic Inflammatory Bowel Disease. *J Clin Med.* 2022;11(9):2623.

28. van Lingen E, Tushuizen ME, Steenhuis MEJ, van Deynen T, Martens J, Morales DDI, et al. Disease activity in inflammatory bowel disease patients is associated with increased liver fat content and liver fibrosis during follow-up. *Int J Colorectal Dis.* 2022;37(2):349-56.
29. Yen HH, Su PY, Huang SP, Wu L, Hsu TC, Zeng YH, et al. Evaluation of non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease using controlled attenuation parameter technology: A Taiwanese retrospective cohort study. *PLoS One.* 2021;16(5):e0252286.
30. Saroli Palumbo C, Restellini S, Chao CY, Aruljothy A, Lemieux C, Wild G, et al. Screening for Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Inflammatory Bowel Diseases: A Cohort Study Using Transient Elastography. *Inflamm Bowel Dis.* 2019;25(1):124-33.
31. Kablawi D, Aljohani F, Palumbo CS, Restellini S, Bitton A, Wild G, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Increases Cardiovascular Risk in Inflammatory Bowel Diseases. *Crohn's Colitis* 360. 2023;5(1):otad004.
32. Carrillo-Palau M, Hernández-Camba A, Hernández Alvarez-Buylla N, Ramos L, Alonso-Abreu I, Hernández-Pérez A, et al. Insulin Resistance Is Not Increased in Inflammatory Bowel Disease Patients but Is Related to Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *J Clin Med.* 2021;10(14):3062.
33. Magrì S, Paduano D, Chicco F, Cingolani A, Farris C, Delogu G, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease: Beyond the natural history. *World J Gastroenterol.* 2019;25(37):5676-86.
34. Abenavoli L, Spagnuolo R, Scarlata GGM, Scarpellini E, Boccuto L, Lizza F. Ultrasound Prevalence and Clinical Features of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients with Inflammatory Bowel Diseases: A Real-Life Cross-Sectional Study. *Medicina.* 2023;59(11):1935.
35. McHenry S, Glover M, Ahmed A, Alayo Q, Zulfiqar M, Ludwig DR, et al. NAFLD Is Associated With Quiescent Rather Than Active Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2023;izad129.
36. Onwuzo S, Boustany A, Saleh M, Gupta R, Onwuzo C, Mascarenhas Monteiro J, et al. Increased Risk of Non-Alcoholic Steatohepatitis in Patients With Inflammatory Bowel Disease: A Population-Based Study. *Cureus.* 2023; 15(3):e35854.
37. Ritaccio G, Stoleru G, Abutaleb A, Cross RK, Shetty K, Sakiani S, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Is Common in IBD Patients However Progression to Hepatic Fibrosis by Noninvasive Markers Is Rare. *Dig Dis Sci.* 2021;66(9):3186-91.
38. McHenry S, Sharma Y, Tirath A, Tsai R, Mintz A, Fraum TJ, et al. Crohn's Disease Is Associated With an Increased Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Cross-Sectional Study Using Magnetic Resonance Proton Density Fat Fraction Mapping. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2019;17(13):2816-8.
39. Simon TG, Van Der Sloot KWJ, Chin SB, Joshi AD, Lochhead P, Ananthakrishnan AN, et al. *IRGM* Gene Variants Modify the Relationship Between Visceral Adipose Tissue and NAFLD in Patients With Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2018;24(10):2247-57.

40. Bessissow T, Le NH, Rollet K, Afif W, Bitton A, Sebastiani G. Incidence and Predictors of Nonalcoholic Fatty Liver Disease by Serum Biomarkers in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2016;22(8):1937-44.
41. Tovo CV, Villela-Nogueira CA, Leite NC, Panke CL, Port GZ, Fernandes S, et al. Transient hepatic elastography has the best performance to evaluate liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Ann Hepatol*. 2019;18(3):445-9.
42. Eddowes PJ, Sasso M, Allison M, Tsochatzis E, Anstee QM, Sheridan D, et al. Accuracy of FibroScan Controlled Attenuation Parameter and Liver Stiffness Measurement in Assessing Steatosis and Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2019;156(6):1717-30.
43. Thin LWY, Lawrance IC, Spilsbury K, Kava J, Olynyk JK. Detection of liver injury in IBD using transient elastography. *J Crohns Colitis*. 2014;8(7):671-7.
44. Abomhya A, Mahmoodurrahman M, Ayaz S, Hamad H, Khan F. Burden and Predictors of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in a Retrospective Cohort of Patients With Crohn's Disease. *Gastroenterol Res*. 2022;15(2):82-90.
45. Liebe R, Esposito I, Bock HH, vom Dahl S, Stindt J, Baumann U, et al. Diagnosis and management of secondary causes of steatohepatitis. *J Hepatol*. 2021;74(6):1455-71.
46. Younossi ZM, Stepanova M, Younossi Y, Golabi P, Mishra A, Rafiq N, et al. Epidemiology of chronic liver diseases in the USA in the past three decades. *Gut*. 2020;69(3):564-8.
47. Sagami S, Ueno Y, Tanaka S, Fujita A, Hayashi R, Oka S, et al. Significance of non-alcoholic fatty liver disease in Crohn's disease: A retrospective cohort study. *Hepatol Res*. 2017;47(9):872-81.
48. Ribaldone DG, Garavagno M, Pellicano R, Bresso F, Fagoonee S, David E, et al. Prevalence and prognostic value of hepatic histological alterations in patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol*. 2015;50(12):1463-8.
49. Schröder T, Schmidt KJ, Olsen V, Möller S, Mackenroth T, Sina C, et al. Liver steatosis is a risk factor for hepatotoxicity in patients with inflammatory bowel disease under immunosuppressive treatment. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2015;27(6):698-704.
50. Sourianarayanan A, Garg G, Smith TH, Butt MI, McCullough AJ, Shen B. Risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. 2013;7(8):e279-85.
51. Principi M, Iannone A, Losurdo G, Mangia M, Shahini E, Albano F, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Inflammatory Bowel Disease: Prevalence and Risk Factors. *Inflamm Bowel Dis*. 2018;24(7):1589-96.
52. Li D, Lu C, Yu C. High incidence of non-alcoholic fatty liver disease in patients with Crohn's disease but not ulcerative colitis. *Int J Clin Exp Pathol*. 2017;10(10):10633-9.
53. Glassner K, Malaty HM, Abraham BP. Epidemiology and Risk Factors of Nonalcoholic Fatty Liver Disease Among Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2017;23(6):998-1003.

54. Sartini A, Gitto S, Bianchini M, Verga MC, Di Girolamo M, Bertani A, et al. Non-alcoholic fatty liver disease phenotypes in patients with inflammatory bowel disease. *Cell Death Dis.* 2018;9(2):87.
55. Hamid O, Eltelbany A, Mohammed A, Alsabbagh Alchirazi K, Trakroo S, Asaad I. The epidemiology of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) in the United States between 2010-2020: a population-based study. *Ann Hepatol.* 2022;27(5):100727.
56. Eslam M, Chen F, George J. NAFLD in Lean Asians. *Clin Liver Dis (Hoboken).* 2021;16(6):240-3.
57. Calleja JL, Turnes J, editores. EHGNA. Enfermedad del hígado graso no alcohólico:un estudio integral [Internet]. Madrid: Libroacadémico; 2021 [citado 4 de febrero de 2024]. 199 p. Disponible en: <https://aeeh.es/wp-content/uploads/2022/02/EHGNA-pdf.pdf>
58. Niriella MA, Ediriweera DS, Withanage MY, Darshika S, Silva STD, Silva HJ. Prevalence and associated factors for non-alcoholic fatty liver disease among adults in the South Asian Region: a meta-analysis. *Lancet Reg Health Southeast Asia.* 2023;15:100220.
59. Mathew DE, Jayakaran JAJ, Hansdak SG, Iyadurai R. Cost effective and adaptable measures of estimation of visceral adiposity. *Clin Epidemiol Glob Health.* 2023;23:101362.
60. Coutinho T, Goel K, Corrêa de Sá D, Carter RE, Hodge DO, Kragelund C, et al. Combining body mass index with measures of central obesity in the assessment of mortality in subjects with coronary disease: role of «normal weight central obesity». *J Am Coll Cardiol.* 2013;61(5):553-60.
61. Shi Y, Wang Q, Sun Y, Zhao X, Kong Y, Ou X, et al. The Prevalence of Lean/Nonobese Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Gastroenterol.* 2020;54(4):378.
62. Tang A, Ng CH, Phang PH, Chan KE, Chin YH, Fu CE, et al. Comparative Burden of Metabolic Dysfunction in Lean NAFLD vs Non-lean NAFLD - A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2023;21(7):1750-1760.e12.
63. Ha J, Yim SY, Karagozian R. Mortality and Liver-Related Events in Lean Versus Non-Lean Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2023;21(10):2496-2507.e5.
64. 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):739-52.
65. Hagström H, Nasr P, Ekstedt M, Hammar U, Stål P, Hultcrantz R, et al. Risk for development of severe liver disease in lean patients with nonalcoholic fatty liver disease: A long-term follow-up study. *Hepatol Commun.* 2018;2(1):48-57.
66. Golabi P, Paik J, Fukui N, Locklear CT, de Avilla L, Younossi ZM. Patients With Lean Nonalcoholic Fatty Liver Disease Are Metabolically Abnormal and Have a Higher Risk for Mortality. *Clin Diabetes.* 2019;37(1):65-72.

67. Zamani M, Alizadeh-Tabari S, Singh S, Loomba R. Meta-analysis: prevalence of, and risk factors for, non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2022;55(8):894-907.
68. Lin A, Roth H, Anyane-Yeboah A, Rubin DT, Paul S. Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients With Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis.* 2021;27(6):947-55.
69. Stepanova M, Rafiq N, Makhoul 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):3017-23.
70. Hossain N, Afendy A, Stepanova M, Nader F, Srishord M, Rafiq N, et al. Independent Predictors of Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2009;7(11):1224-1229.e2.
71. Ioannou GN. Epidemiology and risk-stratification of NAFLD-associated HCC. *J Hepatol.* 2021;75(6):1476-84.
72. Liu YL, Patman GL, Leathart JBS, Piguet AC, Burt AD, Dufour JF, et al. Carriage of the PNPLA3 rs738409 C >G polymorphism confers an increased risk of non-alcoholic fatty liver disease associated hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2014;61(1):75-81.
73. Chen Z, Yu R, Xiong Y, Du F, Zhu S. A vicious circle between insulin resistance and inflammation in nonalcoholic fatty liver disease. *Lipids Health Dis.* 2017;16(1):203.
74. Song Q, Zhang X. The Role of Gut–Liver Axis in Gut Microbiome Dysbiosis Associated NAFLD and NAFLD-HCC. *Biomedicines.* 2022;10(3):524.
75. Tan S, Xu Y, Wang Z, Wang T, Du X, Song X, et al. Tim-3 Hampers Tumor Surveillance of Liver-Resident and Conventional NK Cells by Disrupting PI3K Signaling. *Cancer Res.* 2020;80(5):1130-42.
76. Xu R, Tao A, Zhang S, Deng Y, Chen G. Association between patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) polymorphisms and nonalcoholic fatty liver disease: a HuGE review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2015;5:9284.
77. Mancina RM, Spagnuolo R, Milano M, Brogneri S, Morrone A, Cosco C, et al. PNPLA3 148M Carriers with Inflammatory Bowel Diseases Have Higher Susceptibility to Hepatic Steatosis and Higher Liver Enzymes. *Inflamm Bowel Dis.* 2016;22(1):134-40.
78. Poetsch AR. The genomics of oxidative DNA damage, repair, and resulting mutagenesis. *Comput Struct Biotechnol J.* 2020;18:207-19.
79. Wang PW, Lin TY, Yang PM, Yeh CT, Pan TL. Hepatic Stellate Cell Modulates the Immune Microenvironment in the Progression of Hepatocellular Carcinoma. *Int J Mol Sci.* 2022;23(18):10777.
80. Keenan BP, Fong L, Kelley RK. Immunotherapy in hepatocellular carcinoma: the complex interface between inflammation, fibrosis, and the immune response. *J Immunother Cancer.* 2019;7(1):267.

81. Cannito S, Dianzani U, Parola M, Albano E, Sutti S. Inflammatory processes involved in NASH-related hepatocellular carcinoma. *Biosci Rep.* 2023;43(1):BSR20221271.
82. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet.* 2020;395(10229):1033-4.
83. Ministerio de Sanidad. Estudio ENE-COVID: cuarta ronda estudio nacional de sero-epidemiología de la infección por SARS-CoV-2 en España [Internet]. Madrid; 2020 [citado 23 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://portalcne.isciii.es/enecovid19/>
84. Pollán M, Pérez-Gómez B, Pastor-Barriuso R, Oteo J, Hernán MA, Pérez-Olmeda M, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study. *Lancet.* 2020;396(10250):535-44.
85. Scucchi L, Neri B, Sarmati L, Mossa M, Sena G, Massoud R, et al. Low prevalence of SARS-CoV-2 infection in inflammatory bowel disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2021;25(5):2418-24.
86. Alfaro S, Autrey C, Sen-Crowe B, Elkbuli A. Obesity implications on SARS-CoV-2 infections' prevalence, hospitalizations, critical care needs, fatalities & vaccination rates: A public health crisis. *Ann Med Surg (Lond).* 2021;72:103096.
87. Kennedy NA, Goodhand JR, Bewshea C, Nice R, Chee D, Lin S, et al. Anti-SARS-CoV-2 antibody responses are attenuated in patients with IBD treated with infliximab. *Gut.* 2021;70(5):865-75.
88. Martin-Arranz MD, García-Ramírez L, Hernandez-Perez M, Montero Vega D, Martín-Arranz E, Sánchez-Azofra M, et al. Seroprevalence of ANTI-SARS-CoV-2 antibodies in patients with inflammatory bowel disease. *Sci Rep.* 2023;13(1):7044.
89. Berte' R, Mazza S, Stefanucci MR, Noviello D, Costa S, Ciafardini C, et al. Seroprevalence of SARS-CoV2 in IBD Patients Treated with Biologic Therapy. *J Crohns Colitis.* 2021;15(5):864-8.
90. Wetwittayakhleng P, Albader F, Golovics PA, Hahn GD, Bessissow T, Bitton A, et al. Clinical Outcomes of COVID-19 and Impact on Disease Course in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Can J Gastroenterol Hepatol.* 2021;2021:7591141.
91. Sultan K, Durbin L, Bhardwaj R, Mackey J, Becher N, Abureesh M, et al. Corticosteroid and Biologic Use Not Associated With Adverse Outcomes for Inflammatory Bowel Disease Patients Hospitalized With COVID-19. *Gastroenterology Res.* 2021;14(6):324-33.
92. Bamias G, Kokkotis G, Christidou A, Christodoulou DK, Delis V, Diamantopoulou G, et al. The natural history of COVID-19 in patients with inflammatory bowel disease: a nationwide study by the Hellenic Society for the study of IBD. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2021;33(1S Suppl 1):e810-7.
93. Edelman-Klapper H, Zittan E, Bar-Gil Shitrit A, Rabinowitz KM, Goren I, Avni-Biron I, et al. Lower Serologic Response to COVID-19 mRNA Vaccine in Patients With Inflammatory Bowel Diseases Treated With Anti-TNFα. *Gastroenterology.* 2022;162(2):454-67.
94. Doherty J, Morain NO, Stack R, Girod P, Tosetto M, Inzitari R, et al. Reduced Serological Response to COVID-19 Vaccines in Patients with IBD is Further Diminished by TNF Inhibitor

- Therapy; Early Results of the VARIATION study [VARIability in Response in IBD Against SARS-COV-2 Immunisation]. *J Crohns Colitis*. 2022;16(9):1354-62.
95. Maruhashi T, Sugiura D, Okazaki IM, Okazaki T. LAG-3: from molecular functions to clinical applications. *J Immunother Cancer*. 2020;8(2):e001014.
 96. Rodríguez-Guilarte L, Ramírez MA, Andrade CA, Kalergis AM. LAG-3 Contribution to T Cell Downmodulation during Acute Respiratory Viral Infections. *Viruses*. 2023;15(1):147.
 97. Herrmann M, Schulte S, Wildner NH, Wittner M, Brehm TT, Ramharter M, et al. Analysis of Co-inhibitory Receptor Expression in COVID-19 Infection Compared to Acute Plasmodium falciparum Malaria: LAG-3 and TIM-3 Correlate With T Cell Activation and Course of Disease. *Front Immunol*. 2020;11:1870.
 98. Zasada M, Lenart M, Rutkowska-Zapała M, Stec M, Durlak W, Grudzień A, et al. Analysis of PD-1 expression in the monocyte subsets from non-septic and septic preterm neonates. *PLoS One*. 2017;12(10):e0186819.
 99. Wang S, Liu Y, Yuan X, Yao L, Yang S, Ma R. Fecal bacteria from ulcerative colitis patients downregulate Tim-3-mediated inhibitory effects on monocytes in vitro. *Microb Pathog*. 2019;128:147-52.
 100. Kumar S. Natural killer cell cytotoxicity and its regulation by inhibitory receptors. *Immunology*. 2018;154(3):383-93.
 101. Scott-Algara D, Mancini-Bourguine M, Fontaine H, Pol S, Michel ML. Changes to the natural killer cell repertoire after therapeutic hepatitis B DNA vaccination. *PLoS One*. 2010;5(1):e8761.
 102. Wang X, Xiong H, Ning Z. Implications of NKG2A in immunity and immune-mediated diseases. *Front Immunol*. 2022;13:960852.
 103. Garner-Spitzer E, Wagner A, Gudipati V, Schoetta AM, Orola-Taus M, Kundi M, et al. Lower magnitude and faster waning of antibody responses to SARS-CoV-2 vaccination in anti-TNF- α -treated IBD patients are linked to lack of activation and expansion of cTfh1 cells and impaired B memory cell formation. *EBioMedicine*. 2023;96:104788.

Conclusiones

La EHGNA es una enfermedad altamente prevalente en los pacientes con EII por lo que es importante tener un alto índice de sospecha, especialmente cuando concurren otros factores de riesgo. Aunque no se han observado diferencias estadísticamente significativas entre la prevalencia de EHGNA en los casos con EII y en los controles sin EII, la identificación de factores de riesgo relacionados con la EII como una edad más avanzada al diagnóstico o una mayor duración de la EII sugiere que la EII puede tener un papel clave en el desarrollo y/o progresión de la EHGNA.

Los pacientes con EHGNA que padecen EII presentan unos niveles más bajos de IMC en comparación con aquellos que padecen EHGNA pero no EII, lo cual también sugiere que la propia EII podría jugar un papel determinante en la fisiopatología de la EHGNA, además de los factores de riesgo metabólicos clásicos. De hecho, hemos demostrado que la EII es un factor de riesgo para el desarrollo de EHGNA en pacientes delgados, con independencia de los factores de riesgo metabólicos clásicos. Sin embargo, es necesario realizar en el futuro estudios prospectivos que permitan identificar factores relacionados con la EII que se asocien al desarrollo de EHGNA en delgados, así como aclarar el pronóstico a medio-largo plazo de los pacientes delgados con EHGNA y EII.

Es precisa una monitorización estrecha del desarrollo o progresión de la fibrosis hepática en pacientes con EC diagnosticados de EHGNA, ya que se ha demostrado que la EC es un factor de riesgo independiente para el desarrollo de fibrosis hepática significativa. También es necesario evaluar prospectivamente la influencia del curso de la EII y sus tratamientos en la progresión de la fibrosis hepática, así como en la aparición de complicaciones derivadas de la hepatopatía crónica y de mortalidad de causa hepática.

En cuanto a la respuesta inmunológica en pacientes con EII, la respuesta humoral a la infección por SARS-CoV-2 se ha visto disminuida en pacientes tratados con anti-TNF. En líneas generales, la seroprevalencia de SARS-CoV-2 ha sido comparable a la de la población general, y no se han asociado otros factores relacionados con la EII ni otros tratamientos de la EII con la seroprevalencia ni con la gravedad de la infección. Aunque la respuesta humoral frente a la vacuna también se ha visto disminuida en pacientes bajo tratamiento con anti-TNF, no se han observado diferencias sustanciales en la respuesta celular a la vacuna en función del tratamiento biológico utilizado, lo que sugiere que los pacientes con EII estarían protegidos frente a la infección gracias a los mecanismos de la respuesta celular. Los resultados sobre la influencia de la EII y sus tratamientos en la respuesta inmunológica frente a SARS-CoV-2 son una fuente de

información de gran utilidad para el manejo de otras infecciones ya conocidas, así como de otras nuevas que potencialmente puedan propagarse en el futuro.

Por último, la evidencia sobre la prevalencia y factores de riesgo de carcinoma hepatocelular en pacientes con EII y EHGNA es escasa en el momento actual, apareciendo tanto en pacientes con fibrosis avanzada como en su ausencia. Nuestra revisión sistemática ha constatado una alta prevalencia de EHGNA en pacientes con EII por lo que, paralelamente, la coexistencia o la progresión a fibrosis hepática avanzada se ha convertido en un importante factor a tener en cuenta en el manejo de los pacientes con EII. Se necesitan estudios originales que realicen una evaluación más exhaustiva y homogénea del papel de la fibrosis hepática en el desarrollo de carcinoma hepatocelular. Ello nos permitirá optimizar las estrategias de vigilancia del carcinoma hepatocelular en pacientes con EII y EHGNA, así como identificar si existen otros factores adicionales relacionados con la EII a considerar en esta vigilancia, o si esta solo debe fundamentarse en el grado de fibrosis hepática.

Perspectivas futuras

Tras finalizar esta tesis doctoral por compendio de publicaciones sobre comorbilidades en pacientes con EII, el doctorando y sus directores de tesis van a continuar en los próximos años desarrollando diversas líneas de investigación en el campo de la EII:

1. Seguimiento prospectivo del desarrollo de EHGNA y fibrosis hepática en pacientes con EII
2. Estudio experimental sobre el papel de la microbiota fecal en la patogenia de la EHGNA y la fibrosis hepática en pacientes con EII

Partiendo de la cohorte de pacientes incluidos en los estudios transversales correspondientes a los capítulos 1 y 2 de esta tesis, en los que se ha identificado una alta prevalencia de EHGNA en pacientes con EII así como diversos factores relacionados con la EII que se asocian al desarrollo de EHGNA y/o fibrosis hepática, pretendemos realizar un estudio de cohortes prospectivo mediante un seguimiento en el tiempo de estos mismos pacientes. Aproximadamente 4 años después, se va a reevaluar la presencia de EHGNA y de fibrosis hepática, los factores relacionados con la EII (curso de la enfermedad, fallos o cambios de tratamiento, historia de cirugía a causa de la EII) y los factores de riesgo metabólicos/enfermedad cardiovascular.

Para ello se realizará una nueva entrevista clínica, una recogida de información de la historia clínica, nuevas mediciones antropométricas, una determinación analítica, así como una nueva ecografía y ET. Al tratarse de un estudio longitudinal se podrá determinar la incidencia de EHGNA y fibrosis hepática durante el seguimiento y evaluar si los factores relacionados con la EII influyen en el desarrollo o la progresión de la enfermedad hepática a lo largo del tiempo. Asimismo, se evaluará si la presencia de enfermedad hepática basal influye en el curso de la EII o en el fracaso terapéutico.

Los estudios prospectivos disponibles en este campo son escasos, entre los que destaca el publicado por *Van Lingen et al* en 2021 con un tamaño muestral de 82 pacientes con EII y un seguimiento de 6-12 meses(1). También tienen un diseño prospectivo dos artículos publicados por *Zhang et al* y *Chen et al* en 2023 a partir del Biobanco de Reino Unido en los que estiman la presencia de EHGNA y/o fibrosis hepática a partir de marcadores no invasivos en sangre periférica(2,3).

Además, se evaluará el desarrollo de complicaciones metabólicas, carcinoma hepatocelular y mortalidad durante el período de seguimiento. Teniendo en cuenta la escasez de estudios que evalúen la presencia de carcinoma hepatocelular en pacientes con EHGNA y EII, estos datos podrían ayudarnos a conocer el impacto de la enfermedad en estos pacientes. El seguimiento

prospectivo también nos ayudará a aclarar la controversia sobre el pronóstico a medio plazo en los pacientes delgados con EHGNA.

El objetivo de nuestro grupo no sólo se limita a realizar estudios clínicos o epidemiológicos sobre la EHGNA en pacientes con EII, sino también que abarca la puesta en marcha estudios de investigación básica que nos ayuden a comprender mejor la fisiopatología de la enfermedad. Tal y como se ha mencionado en esta tesis, la microbiota juega un papel fundamental en la patogenia de la EHGNA en los pacientes con EII(4). Por este motivo, se va a llevar a cabo un estudio experimental para evaluar el papel de la microbiota en el desarrollo de EHGNA en pacientes con EII, para lo cual hemos recibido financiación del Instituto de Salud Carlos III en la modalidad Proyectos de investigación en salud de la convocatoria 2021 de la Acción Estratégica en Salud (PI21/01907).

A través de este proyecto, nuestro objetivo principal es evaluar si la microbiota de los pacientes con EII y EHGNA puede favorecer el desarrollo de EHGNA en modelos animales de EII sin daño hepático o exacerbar el daño hepático en modelos animales con EHGNA.

En el estudio experimental se incluirán 6 subpoblaciones, cada una de ellas compuesta por 10 pacientes, con las siguientes características en base a los hallazgos de ecografía abdominal y ET: grupo 1 pacientes con CU extensa y EHGNA con fibrosis hepática avanzada ($F3-F4 \geq 10$ kPa), grupo 2 pacientes con EC ileal o ileocólica y EHGNA con fibrosis hepática avanzada ($F3-F4$), grupo 3 controles sin EII pero con EHGNA con fibrosis hepática avanzada ($F3-F4$) apareados por sexo y edad con los pacientes de los grupos 1 y 2, grupo 4 pacientes con CU extensa sin EHGNA, grupo 5 pacientes con EC ileal o ileocólica sin EHGNA, y grupo 6 controles sin EII ni EHGNA apareados por sexo y edad con los pacientes de los grupos 4 y 5. A cada paciente se le instruirá para la recogida de muestras de heces y/o orina para estudiar la microbiota y sus metabolitos con unos dispositivos específicos diseñados para tal fin que se proporcionarán al paciente.

El estudio en animales comenzará una vez que se hayan recolectado y almacenado adecuadamente todas las muestras de heces de los 60 pacientes. Luego se generará un pool con las heces de los pacientes de cada grupo pesando la misma cantidad de heces de cada uno de ellos, mezclándose adecuadamente y utilizando una pequeña muestra del conjunto de heces para la extracción de ADN microbiano y análisis metagenómico de las poblaciones microbianas presentes. Para el pool de heces de cada grupo de pacientes y cada modelo animal se utilizará un total de 7 animales. Una vez transcurrido el proceso de inducción en los modelos animales (8 semanas), trasplantaremos el pool de heces de los pacientes previamente seleccionados. A partir de este momento los animales se mantendrán en las mismas condiciones y una semana después

del trasplante se sacrificarán 2 animales por cada grupo experimental. Después de la segunda semana realizaremos eutanasia de otros 2 animales y la esterilización completa de los animales restantes para cada modelo animal mediante el uso de antibióticos. Una semana después, los animales restantes serán sacrificados.

Todos los animales incluidos se pesarán diariamente desde el momento del trasplante fecal hasta el final del estudio. En el momento de la eutanasia se evaluará la presión venosa portal y se realizará pesaje de hígado, bazo e intestinos (duodeno-ano). Además, se recogerán las siguientes muestras para análisis: sangre (evaluación de ALT, bilirrubina total), hígado (contenido de colágeno hepático, inmunohistoquímica, evaluación de carga tumoral, ARN mensajero para la evaluación de diferentes genes como TGFB1), tejido del íleon (hiperplasia epitelial, índice inflamatorio, tinción Hematoxilina-Eosina y PAS (ácido periódico-Schiff, del inglés “periodic acid-Schiff”), inmunohistoquímica CD11c y RNA mensajero para evaluación de genes implicados en la respuesta inflamatoria), y tejido de colon (evaluación de la adherencia de la microbiota tras el trasplante fecal).

Todavía queda mucho por dilucidar sobre la interacción entre ciertas comorbilidades como la EHGNA, la EII y sus tratamientos. Por un lado, identificar los factores relacionados con la EII que confieren susceptibilidad para desarrollar EHGNA y/o fibrosis hepática nos permitirá dirigir las estrategias de prevención primaria y diagnóstico precoz a los pacientes que más lo necesitan. Por otro lado, profundizar en el conocimiento de su patogenia muy probablemente nos permitirá ampliar el abanico terapéutico disponible para unas patologías que, no solo son cada vez más prevalentes, sino que conllevan una alta carga de enfermedad en nuestro medio.

Bibliografía perspectivas futuras

1. van Lingen E, Tushuizen ME, Steenhuis MEJ, van Deynen T, Martens J, Morales DDI, et al. Disease activity in inflammatory bowel disease patients is associated with increased liver fat content and liver fibrosis during follow-up. *Int J Colorectal Dis.* 2022;37(2):349-56.
2. Zhang Q, Liu S, Wu J, Zhu S, Wu Y, Wu S, et al. Non-alcoholic fatty liver degree and long-term risk of incident inflammatory bowel disease: A large-scale prospective cohort study. *Chin Med J (Engl).* 2023. En prensa.
3. Chen J, Dan L, Tu X, Sun Y, Deng M, Chen X, et al. Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease and liver function markers are associated with Crohn's disease but not Ulcerative Colitis: a prospective cohort study. *Hepatol Int.* 2023;17(1):202-14.
4. Song Q, Zhang X. The Role of Gut–Liver Axis in Gut Microbiome Dysbiosis Associated NAFLD and NAFLD-HCC. *Biomedicines.* 2022;10(3):524.

Agradecimientos

A mis directores de tesis, Fernando y Carla, por haberme guiado siempre por el buen camino. Supisteis forjar un gran proyecto desde el comienzo, ayudarme y enseñarme a obtener los frutos de este trabajo.

A Sandra y Bea, por acompañarme, apoyarme y hacerme más fácil cada día durante este proceso. Excelentes compañeras e investigadoras pero mejores personas. Sois uno de los mejores regalos que me ha traído esta tesis.

A todo el servicio de Digestivo, porque gracias a la semilla que habéis plantado cada uno de vosotros en mi interior me convierto en mejor profesional y mejor persona. Especialmente a Cristina, no podría haber tenido mejor compañera y amiga durante los años de residencia. A Ángel, por confiar desde el principio en mi potencial y por ser un referente a seguir.

A Pablo, por haber sabido sacar lo mejor de mí en los últimos años. Admiro tu espíritu de superación, tu sonrisa y tu gran corazón. A todos mis amigos, porque gracias a los buenos momentos vividos, vuestros consejos y palabras de ánimo habéis hecho este camino mucho más sencillo.

A mis padres y mi hermana, porque sois las personas más determinantes en lo que soy hoy en día. Agradezco de corazón la educación y valores que me habéis inculcado. No podría haber llegado hasta aquí sin vuestra confianza en mí y vuestro apoyo incondicional.

“Si quieres triunfar en la vida, haz de la perseverancia tu amigo del alma, de la experiencia tu sabio consejero, de la advertencia tu hermano mayor y de la esperanza tu genio guardián”

Joseph Addison