

Diagnóstico de la enfermedad de hígado graso no alcohólico

Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias

INFORMES, ESTUDIOS E INVESTIGACIÓN



Diagnóstico de la enfermedad de hígado graso no alcohólico

Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias

INFORMES, ESTUDIOS E INVESTIGACIÓN



MINISTERIO
DE SANIDAD



RED ESPAÑOLA DE AGENCIAS DE EVALUACIÓN
de Tecnologías y Productos de Sistema Nacional de Salud



**EUSKO JAURLARITZA
GOBIERNO VASCO**

OSASUN SAILA
DEPARTAMENTO DE SALUD

Eusko Jaurlaritzaren Argitalpen Zerbitzu Nagusia

Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco

Vitoria-Gasteiz, 2023

Un registro bibliográfico de esta obra puede consultarse en el catálogo de la Biblioteca General del Gobierno Vasco:

https://www.katalogoak.euskadi.eus/cgi-bin_q81a/abnetclop?SUBC=VEJ/J0001

Edición: 2023

Internet: www.euskadi.eus/publicaciones

Edita: Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad
Eusko Jaurlaritzaren Argitalpen Zerbitzu Nagusia
Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco
c/ Donostia-San Sebastián, 1 - 01010 Vitoria-Gasteiz

Fotocomposición: EPS Comunicación
Herminio Madinabeitia, 18 - 01006 Vitoria-Gasteiz

NIPO: 133-23-016-3 (Ministerio de Sanidad)

Diagnóstico de la enfermedad de hígado graso no alcohólico. Iñaki Gutiérrez-Ibarluzea, Lorea Galnares-Cordero. Vitoria –Gasteiz. Ministerio de Sanidad/ Jauriaritzaren Argitalpen Zerbitzu Nagusia, Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco; 2023.

1 archivo pdf; (Informes, Estudios e Investigación)

NIPO: 133-23-016-3 (Ministerio de Sanidad)

Este documento ha sido realizado por OSTEBA en el marco de la financiación del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad para el desarrollo de actividades del *Plan anual de trabajo de la Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías y Prestaciones del SNS*, aprobado en el Pleno del Consejo Interterritorial del SNS de 8 de noviembre de 2017 (conforme al Acuerdo del Consejo de Ministros de 1 de diciembre de 2017).

Para citar este informe:

Gutiérrez-Ibarluzea I, Galnares-Cordero L. Diagnóstico de la enfermedad de hígado graso no alcohólico. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Servicio de Evaluación de Tecnologías Sanitarias del País Vasco; 2023. **Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias: OSTEBA.**

Índice de autores

Iñaki Gutiérrez-Ibarluzea. Fundación Vasca de Innovación e Investigación Sanitarias, Coordinador de Gestión del Conocimiento y Evaluación, Osteba, Barakaldo, España.

Lorea Galnares-Cordero. Fundación Vasca de Innovación e Investigación Sanitarias, Técnica de Gestión del Conocimiento y Evaluación, Osteba, Barakaldo, España.

Declaración de conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses en relación con este informe.

Coordinación del proyecto

Desarrollo científico y coordinación técnica: Iñaki Gutiérrez Ibarluzea

Búsqueda de la evidencia científica: Lorea Galnares-Cordero

Coordinación y gestión administrativa: Anaitz Leunda

Edición y difusión: Anaitz Leunda y Lorea Galnares-Cordero

Autor para correspondencia

Iñaki Gutiérrez-Ibarluzea: igutierrezibarluzea@bioef.eus

Índice

Abreviaturas	9
Resumen estructurado	11
Laburpen egituratua	13
Structured summary	15
I. Introducción y Justificación	17
II. Objetivos	26
III. Metodología	27
IV. Resultados	29
V. Discusión	38
VI. Conclusiones	39
VII. Referencias	40
VIII. Anexos	44

Abreviaturas

ALT	Alanina aminotransferasa
AST	Aspartato aminotransferasa
APRI	Índice de relación de niveles de plaquetas y aspartato-aminotransferasa (<i>aspartate aminotransferase to platelet ratio index</i>)
AUROC	Área bajo la curva característica operativa del receptor (<i>area under the receiver operating characteristic</i>)
CSI	Imagen de desplazamiento químico (<i>chemical shift imaging</i>)
DM 2	Diabetes mellitus tipo 2
EASL	European Association for the Study of the Liver
EFV	Efarivenz
FTC	Emtricitabina
FLI	Índice de Hígado Graso (<i>fatty liver index</i>)
FLIP	Algoritmo de inhibición de la progresión del hígado graso (<i>fatty liver inhibition of progression algorithm</i>)
HS	Horizon Scanning
HSI	Índice de esteatosis hepática (<i>hepatic steatosis index</i>)
IMC	Índice de masa corporal
LPC	Lisofosfatidilcolina
NAFL	Hígado graso no alcohólico (<i>nonalcoholic fatty liver</i>)
NAFLD	Enfermedad del hígado graso no alcohólico (<i>nonalcoholic fatty liver disease</i>)
NASH	Esteatohepatitis no alcohólica (<i>non-alcoholic steatoHepatitis</i>)
NASH CRN	Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network
NL	Hígado normal (<i>normal liver</i>)

PRO-C3	N-terminal del procolágeno tipo III (<i>N-terminal type III collagen propeptide</i>)
RI	Resistencia a la insulina
RPV	Rilpivirina
SAF	Puntuación esteatosis, actividad y fibrosis (<i>steatosis, activity, and fibrosis scoring system</i>)
SEPD	Sociedad Española de Patología Digestiva
SNS	Sistema Nacional de Salud
TDF	Tenofovir disoproxil fumarato
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana

Resumen estructurado

Título: Diagnóstico de la enfermedad de hígado graso no alcohólico

Autores: Iñaki Gutiérrez-Ibarluzea, Lorea Galnares-Cordero

Palabras clave: hígado no graso, owliver

Fecha: 2023

Páginas: 58

Referencias: 33

Lenguaje: Castellano, y resumen en castellano, inglés y euskera

Introducción

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) es una afección en la que se acumula un exceso de grasa en el hígado que no es causada por el consumo excesivo de alcohol. Es la causa más común de enfermedad hepática crónica que afecta al 25 % de la población mundial. Es más frecuente en personas que tienen ciertas afecciones, incluida la obesidad y dolencias que pueden estar relacionadas con ésta, como la diabetes mellitus tipo 2 (DM 2).

OWL Metabolomics es una empresa de biotecnología que ha desarrollado OWLiver Care® y OWLiver®, para la determinación del hígado graso. Se trata de pruebas in vitro basadas en la metabolómica utilizando micromuestras de sangre (<0,2 ml) frente al gold standard de diagnóstico actual que exige una biopsia hepática invasiva.

Objetivos

Analizar la seguridad, sensibilidad y especificidad y las implicaciones económicas, organizativas, éticas y legales de la utilización y utilidad de la tecnología OWLiver en la población con sospecha de NAFLD que puede derivar en una esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

Metodología

Búsqueda bibliográfica estructurada para la identificación de estudios de evidencia sobre OWLiver® para el diagnóstico de la enfermedad de hígado graso no alcohólico en las bases de datos generales: Medline (PubMed) y Embase (OvidWeb) y bases de datos multidisciplinares: Web of Science y Scopus.

Análisis económico: Sí **NO** **Opinión de expertos:** Sí **NO**

Resultados

Teniendo en cuenta la consistencia y limitaciones de los estudios localizados en la búsqueda llevada a cabo, y a pesar de mostrar resultados favorables en general en lo que respecta a la seguridad, los resultados deben ser vistos con cautela.

Los estudios recuperados son de calidad media baja y cuentan con posibles sesgos que pueden limitar su validez.

Conclusiones

El OWLiver test puede ser empleado en el seguimiento y el pronóstico de pacientes que han sido sometidos a técnicas de cirugía bariátrica.

La combinación de la prueba OWLiver y otros parámetros debe ser testado con cautela para la eliminación de biopsias innecesarias en pacientes con NAFLD y sospecha de NASH.

Laburpen egituratua

Izenburua: Gibel koipetsu ez-alkoholikoaren gaixotasunaren diagnostikoa

Egileak: Iñaki Gutiérrez-Ibarluzea, Lorea Galnares-Cordero

Gako-hitzak: gibel ez-koipetsua, owliver

Data: 2023

Orrialdeak: 58

Erreferentziak: 33

Hizkuntza: Gaztelania, eta laburpena gaztelaniaz, ingelesez eta euskaraz

Sarrera

Gibel koipetsu ez-alkoholikoaren gaixotasuna (NAFLD) gibelean gehiegizko koipea metatzean datza; gaitz hori ez dago alkoholaren gehiegizko kontsumoak eraginda. Gaixotasun hepatiko kronikoaren eragilerik ohikoenena da, eta munduko biztanleriaren % 25i erasaten dio. Ohikoagoa da afekzio jakin batzuk dituzten pertsonen artean, obesitatea eta harekin lotuta egon daitezkeen gaitzak barne, hala nola 2 motako diabetes mellitus-a (DM2).

OWL Metabolomics bioteknologiako enpresa bat da, eta OWLiver Care® eta OWLiver® probak garatu ditu, gibel koipetsuaren gaitza dagoen zehazteko. Metabolomikan oinarritutako *in vitro* proba horietarako, odol-mikrolaginak erabiltzen dira (< 0,2 ml); egungo diagnostikoko gold estandarrek, ordea, biopsia hepatiko inbaditzailea eskatzen du.

Helburuak

Aztertzea OWLiver teknologia esteatohepatitis ez-alkoholikoa (NASH) eragin dezakeen NAFLD gaitzaren susmoa duten pertsonengan erabiltzearen segurtasuna, sentikortasuna eta espezifikotasuna, bai eta teknologia horren baliagarritasuna eta ondorio ekonomiko, antolakuntzako, etiko eta legezkoak ere.

Metodologia

Bilaketa bibliografiko egituratua, gibel koipetsu ez-alkoholikoaren gaixotasuna diagnostikatzeko OWLiver® probari buruzko ebidentzia-azterketak identifikatze aldera, datu-base orokorretan: Medline (PubMed) eta Embase (OvidWeb) eta diziplina anitzeko datu-baseak: Web of Science eta Scopus.

Azterketa ekonomikoa: BAI **EZ** **Adituen iritzia:** BAI **EZ**

Emaitzak

Egindako bilaketan aurkitu diren azterketen sendotasuna eta mugak aintzat hartuta, emaitzak tentuz aztertu behar dira, segurtasunari dagokionez oro har aldeko emaitzak erakutsi dituzten arren.

Berreskuratutako azterlanak kalitate ertain-baxukoak dira, eta haien baliotasuna murriztu dezaketen balizko alborapenak dituzte.

Ondorioak

Kirurgia bariatrikoko teknikak aplikatu zaizkien pazienteen jarraipena eta prognosia egiteko erabil daiteke OWLiver testa.

OWLiver probaren eta beste parametro batzuen konbinazioa tentuz aztertu behar da, NAFLD izanda NASH gaitza izatearen susmopean dauden pazienteetan beharrezkoak ez diren biopsiak kentzeari begira.

Structured summary

Title: Diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease

Authors: Iñaki Gutiérrez-Ibarluzea, Lorea Galnares-Cordero

Keywords: non-alcoholic fatty liver, OWLiver

Date: 2023

Number of pages: 58

Number of references: 33

Language: Spanish, with a summary in English and Basque, as well as Spanish

Introduction

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a condition in which there is a build-up of fat in the liver that is not attributable to excessive alcohol intake. It is the most common cause of chronic liver disease, with a worldwide prevalence of 25 %. It is more common in people with certain other health conditions including obesity and related diseases, such as diabetes mellitus (T2DM).

OWL Metabolomics is a biotech company that has developed OWLiver Care[®] and OWLiver[®], for the detection of fatty liver. These are metabolomic-based in vitro tests that only require blood microsamples (<0.2 ml) unlike the current diagnostic gold standard that requires an invasive liver biopsy.

Objectives

To analyse the safety, sensitivity, and specificity as well as economic, ethical, legal, and organisational considerations regarding the use and utility of OWLiver technology in individuals with suspected NAFLD that may progress to non-alcoholic steatohepatitis (NASH).

Methodology

A structured literature search was conducted in general databases (Medline [PubMed]) and Embase [OvidWeb]), and multidisciplinary databases (Web of Science and Scopus) to identify studies providing evidence concerning OWLiver® for the diagnosis of NAFLD.

Economic analysis: YES **NO** **Expert opinion:** YES **NO**

Results

Given the lack of consistency and limitations of the studies found in the literature search, and despite the good general results in terms of safety, the findings must be interpreted with caution.

In particular, the studies retrieved are low-to-medium quality and have potential sources of biases that could restrict their validity.

Conclusions

The OWLiver test can be used for monitoring and prognosis in patients who have undergone bariatric surgery.

With the goal of avoiding unnecessary biopsies in patients with known NFLD and suspected NASH, the use of the combination of OWLiver results and other parameters for detecting progression to NASH should be explored with caution.

I. Introducción y Justificación

1.1 Descripción del problema de salud

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD, por sus siglas en inglés) es parte de una enfermedad multisistémica estrechamente asociada con la obesidad, la resistencia a la insulina (RI), la diabetes mellitus tipo 2 (DM 2), la hipertensión y la dislipidemia aterogénica (1).

NAFLD es una afección en la que se acumula un exceso de grasa en el hígado que no es causada por el consumo excesivo de alcohol, ya que cuando esto ocurre, la afección se denomina enfermedad hepática asociada con el alcohol (2).

Existen dos tipos de NAFLD que son el hígado graso no relacionado con el alcohol y la esteatohepatitis no alcohólica (NASH, por sus siglas en inglés). Son dos condiciones médicas separadas, siendo el hígado graso no relacionado con el alcohol una enfermedad leve y la NASH, una variante menos frecuente, pero más grave. Las personas suelen desarrollar un tipo de NAFLD u otro, aunque a veces a las personas con una forma se les diagnostica más tarde la otra forma de NAFLD (2).

Hígado graso no relacionado con el alcohol

El hígado graso no relacionado con el alcohol es la forma de NAFLD en la que la persona afectada tiene grasa en el hígado, pero poca o ninguna inflamación o daño hepático. Esta condición generalmente no progresa para causar daño hepático o complicaciones. Sin embargo, puede causar dolor por agrandamiento del hígado (2).

NASH

NASH es la forma de NAFLD en la que la persona tiene inflamación del hígado y daño hepático, además de grasa en el hígado. La inflamación y el daño hepático de NASH pueden causar fibrosis o cicatrización del hígado. NASH puede provocar cirrosis, en la que el hígado se cicatriza y se daña de forma permanente. La cirrosis puede provocar cáncer de hígado. La NASH se diagnostica con mayor frecuencia en pacientes entre 40 y 60 años, pero puede detectarse a cualquier edad. Muchos pacientes comprometidos presentan obesidad, DM 2, intolerancia a la glucosa, dislipidemia y/o síndrome metabólico (2,3).

Prevalencia del NAFLD

NAFLD es la causa más común de enfermedad hepática crónica que afecta al 25 % de la población mundial, mientras que la prevalencia de la forma potencialmente progresiva de NAFLD o NASH se encuentra entre el 12 % y el 14 %. Las tasas de prevalencia más altas de NAFLD y NASH se han notificado en los países de Oriente Medio (1).

NAFLD es una de las causas más comunes de enfermedad hepática en los Estados Unidos. La mayoría de las personas con NAFLD tienen hígado graso no alcohólico (NAFL, por sus siglas en inglés). Solo una pequeña proporción de personas con NAFLD tienen NASH. Los expertos estiman que alrededor del 24 % de los adultos estadounidenses tienen NAFLD y entre el 1,5 % y el 6,5 % de los adultos estadounidenses tienen NASH (4).

En Europa, la prevalencia de NAFLD varía ampliamente, entre el 4 % y el 49 % entre varios estudios basados en la población, utilizando modalidades de imagen para detectar NAFLD, con una prevalencia media del 23,7 % (5).

Un estudio de varios países que utilizó el Índice de Hígado Graso (FLI, por sus siglas en inglés), en 14 países europeos demostró que la prevalencia de NAFLD era del 33 % (6). Los estudios basados en la población europea tienden a utilizar el FLI para detectar NAFLD, dadas las recomendaciones de la guía de la European Association for the Study of the Liver (EASL) (7) para el uso de biomarcadores séricos para búsqueda de casos en NAFLD.

En cuanto a la prevalencia en España, la Sociedad Española de Patología Digestiva (SEPD) indicaba en 2020 que la NAFLD presenta una elevada prevalencia (23-25 % en la población general) de los cuales el 10-20 % presentan un NASH y hasta un 5 % desarrolla una cirrosis (8,9). Estas cifras son claramente superiores en pacientes obesos y diabéticos (NAFLD 70-90 % y 40-70 % respectivamente y NASH 15-40 % y 20-25 % respectivamente). Además, su incidencia y prevalencia están en aumento en relación con la mayor incidencia de otras enfermedades metabólicas con las que se encuentra patogénicamente asociada, principalmente a través de la RI. Más del 90 % de pacientes con NAFLD tienen al menos una característica del síndrome metabólico y aproximadamente una tercera parte tienen tres o más.

Factores asociados al desarrollo de NAFLD

NAFLD es más común en personas que tienen ciertas afecciones, incluida la obesidad y dolencias que pueden estar relacionadas con ésta, como la DM 2. Los estudios sugieren que entre un tercio y dos tercios de

las personas con DM 2 tienen NAFLD (4). Las investigaciones también sugieren que la NAFLD está presente en hasta el 75 % de las personas con sobrepeso y en más del 90 % de las personas con obesidad grave, también llamada obesidad extrema (10,11).

NAFLD puede afectar a las personas de cualquier edad, incluso a los niños. Las investigaciones sugieren que cerca del 10 % de los niños en los Estados Unidos entre 2 y 19 años tienen enfermedad del hígado graso no alcohólica. Sin embargo, las personas tienen más probabilidad de desarrollar esta enfermedad a medida que envejecen (12).

Si bien la NAFLD se presenta en personas de todas las razas y grupos étnicos, es más común entre los hispanos, seguidos de los blancos no hispanos y los asiáticoamericanos, siendo menos común entre los negros no hispanos (13,14).

Diagnóstico

El gold estándar para diagnosticar NAFLD y clasificar el estado de la enfermedad es la evaluación histológica. Ésta se realiza mediante biopsia hepática. El NAFLD se diagnostica histológicamente cuando hay al menos un 5 % de esteatosis hepática. Cuando esto ocurre junto con inflamación y lesión de los hepatocitos, como hinchamiento, particularmente en la distribución de la zona III, se clasifica como NASH (15).

La histología también proporciona una evaluación del grado de fibrosis y diferencia a los pacientes con fibrosis peri-sinusoidal, peri-portal, en puente y cirrosis (15).

Las guías publicadas coinciden en que la biopsia hepática debe reservarse para pacientes con alto riesgo de enfermedad hepática avanzada o con sospecha de enfermedad hepática secundaria concomitante (13,16).

Se han desarrollado varias escalas para ayudar a diagnosticar el espectro de la enfermedad NAFLD, de los cuales se usan comúnmente: la puntuación de actividad de NAFLD desarrollado por Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network (NASH CRN), y la puntuación esteatosis, actividad y fibrosis (SAF, por sus siglas en inglés) utilizada junto con el algoritmo de inhibición de la progresión del hígado graso (FLIP, por sus siglas en inglés) (15).

Biopsia hepática y sus limitaciones

A pesar de ser el estándar de referencia, existen varias limitaciones de la biopsia hepática. Inicialmente es una técnica invasiva que no está exenta de generar morbilidad en el paciente. Por otro lado, puede haber variabilidad en

el muestreo de la biopsia hepática debido a lesiones patológicas distribuidas de manera desigual, variabilidad interobservador e intraobservador en las interpretaciones patológicas y desafíos en el diagnóstico de cirrosis por NASH.

Las biopsias hepáticas se realizan en centros hospitalarios sin diagnóstico común a nivel comunitario, lo que lleva a un sesgo de verificación que sobrestima la prevalencia de una enfermedad más avanzada. Además, dados los riesgos asociados con una biopsia de hígado, el tipo de pacientes que aceptan el procedimiento puede conducir a un sesgo de selección en los resultados. Las escalas desarrolladas que pretenden evitar la utilización de un procedimiento invasivo como es la biopsia y que combinan diferentes parámetros tienen sus propias limitaciones.

Así, la escala NASH CRN desarrollada por el NASH CRN de Estados Unidos describe la escala NAS de actividad de la enfermedad del hígado graso no alcohólico, que es una puntuación compuesta de esteatosis, inflamación lobulillar, balonización citológica y fibrosis (etapa de la enfermedad). Es importante destacar que la puntuación NAS no debe usarse como un sustituto para el diagnóstico de NASH. Está sujeta a la variabilidad entre observadores y la puntuación compuesta puede no correlacionarse completamente con la presencia o ausencia de NASH. La escala FLIP y el sistema de puntuación SAF se ha utilizado para clasificar los pacientes con hígado graso (17). Aunque también puede clasificar incorrectamente a los pacientes entre NAFLD y NASH. Es importante destacar que la propagación de la esteatosis, la inflamación y la fibrosis se extiende a lo largo de un continuo, y la creación de sistemas de puntuación ordinales introduce errores en los límites de una etapa o grado frente al siguiente, por lo que es importante contar con parámetros objetivos de progresión de la patología y la realización de biopsias frecuentes no parece ser una opción óptima en este sentido.

Biomarcadores no invasivos como diagnóstico

Se han utilizado a nivel poblacional biomarcadores no invasivos y sus combinaciones, basados determinaciones y parámetros clínicos para evaluar el NAFLD. Proporcionan una forma fácil y económica de describir la enfermedad. Para la esteatosis, el FLI, el índice de adiposidad visceral, el índice de grasa hepática NAFLD, el índice de glucosa y de triglicéridos y el índice de esteatosis hepática (HSI, por sus siglas en inglés) se han descrito para ayudar a identificar a los pacientes con esteatosis hepática (15).

El biomarcador más utilizado en los estudios poblacionales, el FLI, se derivó de un estándar de referencia de esteatosis en determinaciones ecográficas en lugar de biopsia. Otros índices como el HSI o el índice de

esteatosis hepática no es exento de clasificaciones cuando menos inadecuadas porque un índice de masa corporal (IMC) superior a 30 da siempre un resultado positivo para NAFLD, lo cual no es siempre real (15).

Se ha demostrado que varias pruebas se correlacionan con la actividad NASH. Se basan en biomarcadores o son una combinación de biomarcadores y mediciones antropométricas. Entre estas pruebas, el panel de apoptosis, que consta de fragmentos de citoqueratina 18 y ligando Fas soluble, cuenta con la sensibilidad alta al tener un puntaje más alto bajo la curva ROC de 0,93. Sin embargo, estas pruebas no están validadas para la identificación de casos en estudios poblacionales (15).

Además de estos biomarcadores, las transaminasas séricas se han utilizado habitualmente como marcador sustitutivo de la actividad en estudios poblacionales, debido a su relativa facilidad de acceso (determinaciones en laboratorios estándar) y su presencia ubicua en las determinaciones diagnósticas habituales para hacer seguimiento del estatus de salud de la población, aunque la mayoría de los pacientes tienen transaminasas elevadas y evidencia de esteatosis probablemente tienen NAFLD después de excluir otras enfermedades hepáticas, un gran número de pacientes con NAFLD pueden tener transaminasas normales a pesar de tener la forma más agresiva de la enfermedad. También se ha cuestionado el límite superior de normalidad de las transaminasas (15).

Se considera ampliamente que un valor de alanina aminotransferasa (ALT) de 19 UI / L para mujeres y 30 UI / L para hombres representa los límites superiores de lo normal, la evaluación de lo que es normal se basó en la concordancia con factores clínicos más que histológicos y cuantitativos de la evaluación de la función hepática (15).

Asimismo, se pueden usar biomarcadores no invasivos para evaluar la fibrosis en poblaciones dentro de programas de cribado. Dentro del espectro clínico de la enfermedad, la fibrosis hepática es la única que es un predictor importante de la mortalidad general, así como de los resultados relacionados con patología hepática. El problema de utilizarlos para evaluar la carga de la enfermedad es que detectan mejor fibrosis avanzada (F3) en pacientes con fibrosis en estadio F3 y superior, y pueden pasar por alto casos de fibrosis temprana en las que actuaciones preventivas pudieran tener éxito (15).

Diagnóstico por imagen

Dos técnicas de imagen se utilizan habitualmente en el diagnóstico y seguimiento de posible patología hepática susceptible de ser NASH.

Así, la **ecografía** hepática se realiza comúnmente para detectar NAFLD, porque está ampliamente disponible, los equipos son relativamente portátiles y no hay exposición a radiación. La ecografía identifica típicamente la esteatosis como un aumento de la ecogenicidad en el hígado y puede clasificarse en una escala cualitativa de 4 puntos (15).

Aunque esta escala parece ser útil, no se correlaciona bien con el grado de esteatosis en las biopsias, y varios estudios poblacionales han elegido diferentes puntos de corte para la identificación de casos. La ecografía no puede diferenciar entre NAFLD y NASH, y también existe un grado de variabilidad interobservador e intraobservador entre ecografistas que no es desdeñable (15).

Por otra parte, las imágenes basadas en **resonancia magnética (RM)** tienen el mejor rendimiento para diagnosticar y clasificar NAFLD. La espectroscopia de RM y las técnicas de RM basadas en imágenes de desplazamiento químico (CSI, por sus siglas en inglés) tienen una alta precisión diagnóstica para la esteatosis, mientras que la elastografía por RM tiene un área bajo la curva característica operativa del receptor (AUROC, por sus siglas en inglés) de aproximadamente el 90 % para todas las etapas de la fibrosis (15).

La variabilidad de repetición de la elastografía por RM bidimensional es entre el 15 % y el 20 % y recientemente el comité de la Alianza de Biomarcadores de Imágenes Cuantitativas de la Sociedad Radiológica de Norteamérica ha recomendado que un cambio mínimo del 20 % se considere un cambio verificable con respecto a cualquier valor de referencia (15).

Una evaluación de la RM multiparamétrica descrita recientemente se muestra prometedora no sólo para identificar esteatosis y fibrosis, sino también diferenciando entre NAFLD y NASH (18). A pesar de su mayor precisión, las imágenes basadas en resonancia magnética son caras, difícilmente aplicables a toda la población y pueden requerir un pos-procesamiento complejo, lo que genera desafíos en su uso para cribados poblacionales de NAFLD y NASH.

Algoritmos diagnósticos

Se han propuesto diferentes algoritmos diagnósticos que combinan marcadores bioquímicos, factores de riesgo y síntomas y que permiten describir una ruta de gestión de las personas susceptibles de presentar NAFLD que pueda derivar en un NASH (19-21). Debajo se presenta el algoritmo de la sociedad británica de gastroenterología, quizá uno de los más detallados y que combina factores de riesgo con pruebas diagnósticas.

NAFLD DIAGNOSIS

NON INVASIVE FIBROSIS ASSESSMENT

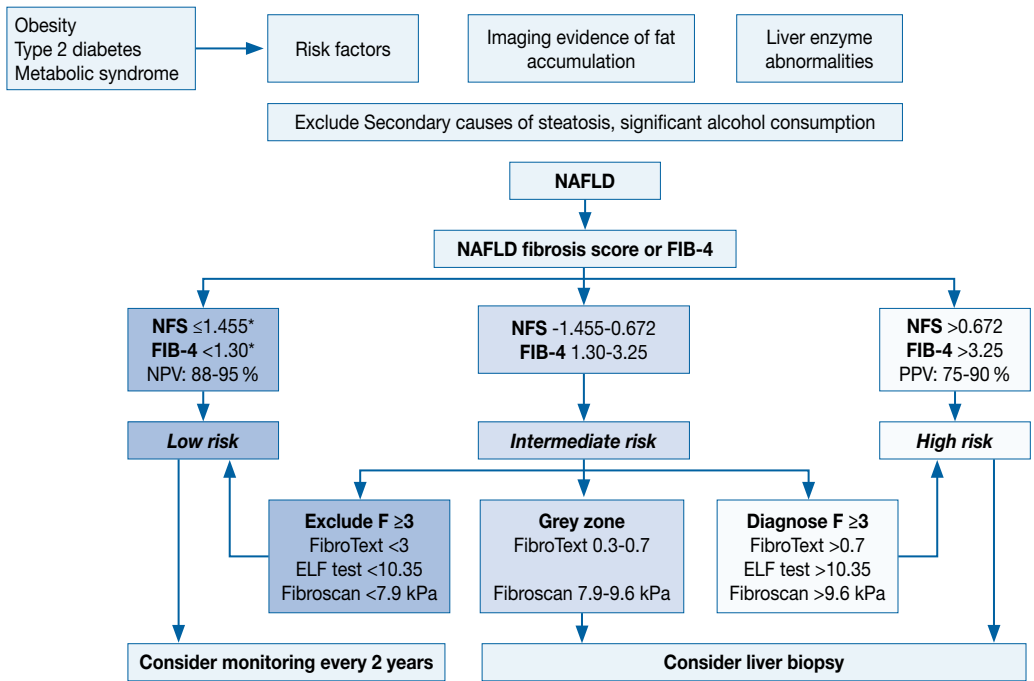


Fig 1. Algoritmo de la Sociedad Británica de Gastroenterología (22). * NFS threshold <0.12 for patients > 65 years # FIB-4 threshold <2.0 for patients >65 years old. Abbreviations: ELF – enhanced liver fibrosis, FIB-4 – Fibrosis 4, NAFLD – non-alcoholic fatty liver disease, NFS – NAFLD fibrosis core, NPV – negative predictive value, PPV – positive predictive value.

1.2 Descripción de la tecnología (23)

OWL Metabolomics es una empresa de biotecnología cuya actividad comprende la identificación, validación y comercialización de nuevas pruebas de diagnóstico para el hígado, incluida la identificación de posibles dianas terapéuticas implicadas en el desarrollo de dichas enfermedades. Desde su creación, OWL ha trabajado principalmente en la investigación diagnóstica dentro del espacio del hígado graso.

OWL ha desarrollado OWLiver Care® y OWLiver®, para la determinación del hígado graso y para el diagnóstico de NASH, respectivamente.

Se trata de pruebas in vitro basadas en la metabolómica para diagnosticar NASH y esteatosis hepática, respectivamente, utilizando micromuestras de sangre (<0,2 ml) frente al gold standard de diagnóstico actual que exige una biopsia hepática invasiva. Ambas pruebas usan técnicas de laboratorio sensibles para determinar el estadio de la enfermedad que ha alcanzado el paciente. De este modo, se puede realizar un análisis temprano y no invasivo, mediante un test de sangre, con las evidentes ventajas que ello conlleva para el paciente.

Toma de muestras

Las pautas básicas e imprescindibles para la correcta toma de muestras precisa para la realización del análisis OWLiver son las siguientes:

- Recogida de sangre en ayunas en tubos vacutainer SST II Advance sin anticoagulante y con gel separador o similares.
- Aguja vacutainer systems Blood Collection Set o similares.
- Las muestras de sangre se centrifugan siguiendo las indicaciones del fabricante del tubo de extracción.
- Una vez separadas las fases, se recoge el suero y se guarda cada una de ellas en tubos Eppendorf, congelándolos inmediatamente a -80°C.
- El transporte de las muestras se realiza en hielo seco para mantenerlas congeladas.
- El tiempo máximo de procesado y análisis de las muestras varía en función de los procedimientos necesarios en cada caso.

Procedimiento de solicitud y gestión de muestras

- El profesional sanitario autorizado solicita la prueba que se efectúa a partir de una muestra de suero del paciente.
- Se procede en el laboratorio de OWL a la extracción de metabolitos a partir de la muestra de suero.
- Se realiza el perfil metabolómico.
- Se determinan los metabolitos diferenciales marcadores de la enfermedad.

Patentes y marcados

El método que consiste en la determinación de un conjunto de marcadores proteicos y metabólicos se recoge en las siguientes patentes:

US Patent 8,563,318 B2 & MX 319774

“METHOD FOR THE DIAGNOSIS OF NON-ALCOHOLIC STEATOHEPATITIS BASED ON A METABOLOMIC PROFILE”

Selección de un conjunto de metabolitos que determinan el estadio de la enfermedad diferenciando entre controles sanos y pacientes con esteatosis y NASH.

US Patent 8,758,992 & Applications PCT/EP 10754349, CA 2775033 & MX /a/2012/003441

“METHOD FOR THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE BASED ON A METABOLOMIC PROFILE”

Método de diagnóstico basado en la selección de un conjunto de metabolitos que determinan el estadio de la enfermedad de hígado graso diferenciando entre esteatosis simple y NASH.

Igualmente, la tecnología cuenta con marcado CE.

Implicaciones

El empleo de esta tecnología en el ámbito sanitario conlleva una serie de cambios que afectan tanto al paciente como a los profesionales sanitarios, así como para los sistemas de salud.

En el caso de los pacientes, se les aplicaría una técnica no invasiva, pudiendo repetirse con la frecuencia necesaria para un mejor seguimiento de la enfermedad.

Respecto al ámbito clínico, al proporcionar un diagnóstico precoz, permitiría prevenir el desarrollo de la enfermedad y establecer medidas para frenar su evolución, poniendo el foco en la prevención y seguimiento personalizado.

En cuanto al sistema sanitario, supondría un método de prevención de una enfermedad que supone un alto coste, reduciendo asimismo costes de hospitalizaciones y de otro tipo de procedimientos asociados al desarrollo de la enfermedad, mejorando las prestaciones de los Servicios de Salud.

II. Objetivos

Analizar la seguridad, sensibilidad y especificidad y las implicaciones económicas, organizativas, éticas y legales de la utilización y utilidad de la tecnología OWLiver en la población con sospecha de NAFLD que puede derivar en un NASH.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Disponer de un análisis de la evidencia actual sobre la validez diagnóstica, y efectividad clínica.
- Establecer las características de los individuos que se beneficiarían más de este tipo de tecnología.
- Informar al Sistema Nacional de Salud (SNS) de las opciones actualmente existentes en otros entornos para este tipo de pacientes.
- Informar a las bases de datos de tecnologías emergentes sobre las características de la tecnología a estudio y sus resultados.

III. Metodología

3.1 Fuentes de información y estrategia de búsqueda bibliográfica

El proceso se inició, dado que se trataba de una tecnología emergente, mediante una búsqueda en la página de EuroScan, el sistema de Horizon Scanning (HS) internacional, y en la propia página del productor o compañía OWL.

No se localizó ninguna agencia que hubiera realizado un informe de HS sobre la tecnología y se encontraron varias referencias del productor, de estudios realizados principalmente en animales.

Con el fin de completar la identificación de estudios, se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica estructurada para la identificación de estudios de evidencia sobre OWLiver® para el diagnóstico de la enfermedad de hígado graso no alcohólico en las siguientes bases de datos de literatura médica:

- Bases de datos generales: Medline (PubMed) y Embase (OvidWeb).
- Bases de datos multidisciplinarias: Web of Science y Scopus.

La búsqueda fue ejecutada en noviembre de 2021.

La estrategia incluyó, entre otros, los siguientes términos en lenguaje libre y controlado: *owliver* y *non-alcoholic fatty liver*.

La estrategia de búsqueda se adaptó a cada una de las bases de datos siguiendo las estructuras detalladas que se pueden consultar en el Anexo 1.

Este proceso se completó con la revisión manual de las referencias de los trabajos incluidos con la finalidad de localizar aquellos estudios no recuperados en las búsquedas automatizadas, así como mediante una búsqueda en metabuscadores como Google académico, páginas web de sociedades científicas y agencias de evaluación nacionales e internacionales.

Se realizó una actualización de la búsqueda en las bases de datos principales (Medline y Embase), con el objetivo de identificar nuevos estudios que se publicasen antes de la edición de este documento.

3.2 Criterios de la selección de los estudios

Diseño de estudio	Artículos originales de investigación. Revisiones sistemáticas, metaanálisis, ensayos clínicos, estudios prospectivos de casos y controles o cohortes, series de casos y registros multicéntricos. Exclusión: cartas al director, artículos de opinión, editoriales y comunicaciones a congresos.
Pacientes	Pacientes con hígado graso no alcohólico
Intervención	OwLiver®
Comparación	Estándar u otros test
Resultados	Validez diagnóstica, efectividad clínica
Idioma	Inglés y castellano
Limitación temporal	Sin límite temporal

3.3 Extracción y análisis de datos

La extracción y análisis de datos se llevó a cabo por dos revisores independientes, previa elaboración de una tabla específica, donde se resumen las principales características y resultados de cada uno de los estudios incluidos.

3.4 Evaluación de la calidad y clasificación de los estudios

La calidad del nivel de evidencia de los estudios incluidos se realizó según la clasificación de Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN 50) (24).

IV. Resultados

4.1 Resultados de la búsqueda bibliográfica

La búsqueda bibliográfica realizada en las bases de datos electrónicas identificó 35 referencias como potencialmente relevantes. Una vez eliminadas las referencias duplicadas, se identificaron 17 para su lectura. 11 de ellas correspondían a presentaciones a congresos, por lo que se consideraron para su inclusión seis artículos que citaban la tecnología a estudio. De la revisión manual de las referencias incluidas en los artículos seleccionados, se recuperó una referencia más para su inclusión en este informe (Figura 1).

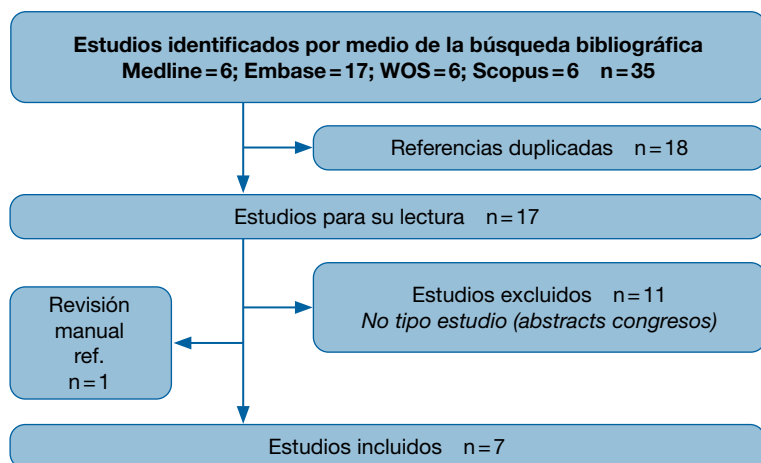


Figura 1. Diagrama de flujo

Se procedió a la actualización de la búsqueda en julio de 2022, de la cual no se seleccionó ningún estudio para su inclusión.

4.2 Descripción de los estudios seleccionados

En las siguientes tablas se recogen los estudios seleccionados y las principales características de estos.

Tabla 1. Estudios seleccionados

Bril F, McPhaul MJ, Caulfield MP, Clark VC, Soldevilla-Pico C, Firpi-Morell RJ, Lai J, Shiffman D, Rowland CM, Cusi K. Performance of Plasma Biomarkers and Diagnostic Panels for Nonalcoholic Steatohepatitis and Advanced Fibrosis in Patients With Type 2 Diabetes. <i>Diabetes Care</i> . 2020 Feb;43(2):290-297. doi: 10.2337/dc19-1071 (25).
Bril F, Millán L, Kalavalapalli S, McPhaul MJ, Caulfield MP, Martínez-Arranz I, Alonso C, Ortiz Betes P, Mato JM, Cusi K. Use of a metabolomic approach to non-invasively diagnose non-alcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus. <i>Diabetes Obes Metab</i> . 2018 Jul;20(7):1702-1709. doi: 10.1111/dom.13285 (26).
Netanel C, Goitein D, Rubin M, Kleinbaum Y, Katsberginsky S, Hermon H, Tsaraf K, Tachlytski I, Herman A, Safran M, Ben-Ari Z. The impact of bariatric surgery on nonalcoholic fatty liver disease as measured using non-invasive tests. <i>Am J Surg</i> . 2021 Jul;222(1):214-219. doi: 10.1016/j.amjsurg.2020.11.045 (27).
Mayo R, Crespo J, Martínez-Arranz I, Banales JM, Arias M, Mincholé I, Aller de la Fuente R, Jimenez-Agüero R, Alonso C, de Luis DA, Vitek L, Stritesky J, Caballería J, Romero-Gómez M, Martín-Duce A, Mugüerza Hugueta JM, Busteros-Moraza JI, Idowu MO, Castro A, Martínez-Chantar ML, Ortiz P, Bruha R, Lu SC, Bedossa P, Noureddin M, Sanyal AJ, Mato JM. Metabolomic-based noninvasive serum test to diagnose nonalcoholic steatohepatitis: Results from discovery and validation cohorts. <i>Hepatol Commun</i> . 2018 May 4;2(7):807-820. doi: 10.1002/hep4.1188 (28).
Ramos-Molina B, Castellano-Castillo D, Pastor O, Ocaña-Wilhelmi L, Fernández-García D, Romero-Gómez M, Cardona F, Tinahones FJ. A Pilot Study of Serum Sphingomyelin Dynamics in Subjects with Severe Obesity and Non-alcoholic Steatohepatitis after Sleeve Gastrectomy. <i>Obes Surg</i> . 2019 Mar;29(3):983-989. doi: 10.1007/s11695-018-3612-2 (29).
Perez-Diaz-Del-Campo N, Riezu-Boj JI, Marin-Alejandre BA, Monreal JI, Elorz M, Herrero JI, Benito-Boillos A, Milagro FI, Tur JA, Abete I, Zulet MA, Martínez JA. Three Different Genetic Risk Scores Based on Fatty Liver Index, Magnetic Resonance Imaging and Lipidomics for a Nutrigenetic Personalized Management of NAFLD: The Fatty Liver in Obesity Study. <i>Diagnostics (Basel)</i> . 2021 Jun 13;11(6):1083. doi: 10.3390/diagnostics11061083 (30).
Curran A, Rull A, Navarro J, Vidal-González J, Martín-Castillo M, Burgos J, Falcó V, Ribera E, Torrella A, Planas B, Peraire J, Crespo M. Lipidomics Reveals Reduced Inflammatory Lipid Species and Storage Lipids after Switching from EFV/FTC/TDF to RPV/FTC/TDF: A Randomized Open-Label Trial. <i>J Clin Med</i> . 2020 Apr 25;9(5):1246. doi: 10.3390/jcm9051246 (31).

De estos siete estudios que evalúan la validez diagnóstica y efectividad clínica de OWLiver, seis presentan un diseño observacional para el análisis de los datos (25-30), mientras que uno es un ensayo clínico piloto aleatorizado (31).

En cuanto al tipo de pacientes con NFLD incluidos en los estudios, en tres se incluían pacientes con obesidad (27,29,30); en dos, pacientes con DM 2 (25,26); en uno, pacientes con virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) positivo (31); y otro estudio que no especifica el tipo de paciente (28).

Con respecto al nivel de evidencia de los estudios según la escala de clasificación de SIGN 50 (24), al tratarse de estudios observacionales, reciben un nivel de evidencia bajo.

Tabla 2. Características de los estudios incluidos

Estudio	Diseño	Pacientes	Objetivos	Resultados	Conclusiones
Bril et al, 2020 (25)	Estudio transversal de pruebas diagnósticas	N = 213 tenían una Espectroscopia de resonancia magnética (MRS) y aquellos con un diagnóstico de NAFLD se sometieron a una biopsia hepática percutánea. Se midieron varios marcadores/puntajes clínicos no invasivos y biomarcadores plasmáticos para identificar NASH y fibrosis avanzada (NASH: ALT, citocueratina-18, NashTest 2, HAIR, BARD y OWLiver; fibrosis avanzada: AST, fragmentos de propeptido de procolágeno tipo III [PRO -C3], FIB-4, APRI, puntuación de fibrosis NAFLD y FibroTest).	Testar el valor de las técnicas no invasivas en pacientes con DM 2.	Ninguna de las herramientas no invasivas evaluadas para el diagnóstico de NASH en pacientes con DM 2 tuvo un rendimiento óptimo (todas las AUROC <0,80). Cabe destacar que ninguno de los paneles o biomarcadores fue capaz de superar la ALT plasmática (AUROC 0,78 [IC del 95 %: 0,71-0,84]). El rendimiento fue mejor para el diagnóstico de fibrosis avanzada, en el que el plasma PRO-C3, AST y APRI mostraron mejores resultados que los otros enfoques (AUROC 0,90 [0,85-0,95], 0,85 [0,80-0,91] y 0,86 [0,80-0,91], respectivamente). Una vez más, ninguno de los enfoques funcionó significativamente mejor que la AST plasmática. El uso secuencial de AST en plasma y otras pruebas no invasivas puede ayudar a limitar el número de biopsias hepáticas necesarias para identificar a los pacientes con fibrosis avanzada.	El rendimiento de los modelos/puntajes clínicos no invasivos y los biomarcadores plasmáticos para el diagnóstico de NASH o fibrosis avanzada fue subóptimo en pacientes con DM 2. La combinación de múltiples pruebas puede proporcionar una alternativa para minimizar la necesidad de biopsias hepáticas para detectar fibrosis en estos pacientes.
Bril et al, 2018 (26)	Estudio transversal comparativo de pruebas diagnósticas	Se reclutaron un total de 220 pacientes con DM 2. Los pacientes se sometieron a pruebas de laboratorio de rutina, espectroscopia de resonancia magnética de protones hepáticos (1 H-MRS), una prueba de tolerancia a la glucosa oral de 75 g y biopsia hepática si los hallazgos de 1 H-MRS indicaban enfermedad de hígado graso no alcohólico. Se proporcionó a ciegos una muestra de suero a OWL Metabolics para realizar las pruebas OWLiver Care y OWLiver.	Evaluar la utilidad de las puntuaciones metabólicas existentes para clasificar la enfermedad hepática en pacientes con DM 2.	En comparación con la biopsia hepática, las pruebas OWLiver Care y OWLiver tuvieron un rendimiento subóptimo en pacientes con DM 2 AUROC, ambas <0,70). Dada la discordancia de estos resultados en esta cohorte heterogénea y multiétnica en comparación con los de un informe anterior en pacientes predominantemente blancos sin diabetes, examinamos la influencia de la edad, el origen étnico y otras variables en el rendimiento de la prueba. Se seleccionó un subconjunto específico de pacientes para reflejar las características de la población utilizada para el desarrollo de este modelo (es decir, pacientes blancos sin DM 2). Entre los pacientes blancos con buen control glucémico (hemoglobina glicosilada <53mmol/mol [o <7 %]) y sin cirrosis, la curva AUROC mejoró significativamente (0,79 [IC 95 %: 0,68-0,90]). Entre los pacientes blancos con menor resistencia a la insulina (evaluación del modelo homeostático de resistencia a la insulina <3) y sin cirrosis, el AUROC fue aún mayor: 0,87 (IC 95 %: 0,76-0,97).	Existe una gran necesidad de desarrollar enfoques no invasivos para diagnosticar la esteatohepatitis no alcohólica en pacientes con DM 2; los modelos desarrollados originalmente para pacientes sin diabetes no pueden aplicarse directamente a pacientes con DM 2.

.../...

.../...

Estudio	Diseño	Pacientes	Objetivos	Resultados	Conclusiones
<p>Netanel et al, 2021 (27)</p>	<p>Observacional prospectivo pre-post</p>	<p>Pacientes con obesidad mórbida y NAFLD, planificados para SG, fueron evaluados antes y después de la cirugía. Los datos recopilados incluyeron antropometría, bioquímica, adiponectina, SteatoTest™, Nash-Test™, FibroTest™, prueba OWLiver® y elastografía ShearWave™ en tiempo real (SWE). Veintiséis sujetos fueron incluidos en el estudio, edad media 44,1 ± 4,8 años, 69,2 % varones.</p>	<p>Evaluar el efecto de la gastrectomía en manga (SG) en NAFLD utilizando medidas no invasivas validadas.</p>	<p>Un año después de la SG, el índice de masa corporal disminuyó significativamente de 41,7 ± 4,8 kg/m² a 29,6 ± 4,5 kg/m². Al mismo tiempo, se observaron mejoras significativas en triglicéridos, ALT, marcadores de diabetes y adiponectina. La esteatosis media, medida por SteatoTest™, mejoró significativamente. La puntuación de esteatohepatitis medida por Nash-Test™ y OWLiver® disminuyó significativamente. La fibrosis media, medida por la rigidez hepática SWE y FibroTest™, no cambió con el tiempo.</p>	<p>La SG mejora significativamente la esteatosis y la esteatohepatitis según lo medido por medidas no invasivas.</p>
<p>Mayo et al, 2018 (28)</p>	<p>Observacional Prospectivo</p>	<p>540 lípidos y aminoácidos en muestras de suero de sujetos probados por biopsia con hígado normal (NL), NAFL y NASH. Usando el análisis de regresión logística, se identificaron dos paneles de triglicéridos que podían discriminar primero entre NAFLD y NL y segundo entre NASH y NAFL. Estas pruebas no invasivas se compararon con la histología ciega como estándar de referencia. Realizamos estas pruebas en una cohorte original de 467 pacientes con NAFLD (90 NL, 246 NAFL y 131 NASH) que posteriormente se validó en una cohorte separada de 192 pacientes (7 NL, 109 NAFL, 76 NASH).</p>	<p>Identificar biomarcadores que sirvan para diferenciar entre NL, NAFLD y NASH.</p>	<p>Los rendimientos diagnósticos de las pruebas validadas mostraron un área bajo la curva característica operativa del receptor (ROC), sensibilidad y especificidad de 0,88 ± 0,05, 0,94 y 0,57, respectivamente, para la discriminación entre NAFLD y NL y 0,79 ± 0,04, 0,70 y 0,81, respectivamente, para la discriminación entre NASH y NAFL. Cuando el análisis se realizó excluyendo a los pacientes con niveles de glucosa >136 mg/dL, el área bajo la curva característica operativa del receptor para la discriminación entre NASH y NAFL aumentó a 0,81 ± 0,04 con una sensibilidad y especificidad de 0,73 y 0,80, respectivamente.</p>	<p>Las pruebas séricas lipídicas no invasivas evaluadas distinguen entre NAFLD y NL y entre NASH y NAFL con alta precisión.</p>

.../...

.../...

Estudio	Diseño	Pacientes	Objetivos	Resultados	Conclusiones
<p>Ramos-Molina et al, 2019 (29)</p>	<p>Observacional prospectivo pre-post</p>	<p>24 pacientes con obesidad de grado 3 diagnosticados con NAFL (n = 8) o NASH (n = 16) mediante el ensayo no invasivo OWLiver. Todos los pacientes que padecían NASH fueron reevaluados 6 meses después de la cirugía bariátrica mediante la prueba OWLiver para confirmar la resolución de la NASH. Los extractos de lípidos séricos se evaluaron al inicio y 6 meses después de la cirugía y se analizaron en una plataforma basada en cromatografía líquida de ultra rendimiento/espectrometría de masas de tiempo de vuelo (UPLC-TOF-MS).</p>	<p>Determinar si los cambios en el lípido sérico después de la gastrectomía en manga podrían usarse para discriminar pacientes obesos con NASH de aquellos con hígado graso no alcohólico (NAFL).</p>	<p>El análisis lipídico reveló un perfil diferencial de esfingomielina en pacientes con resolución de NASH después de gastrectomía en manga. Ciertas especies de esfingomielina sérica fueron significativamente más altas al inicio del estudio en pacientes con NASH en comparación con aquellos con NAFL. El perfil de esfingomielina de los sujetos con resolución de NASH fue similar al de los sujetos obesos con NAFL antes de la cirugía bariátrica.</p>	<p>Los niveles séricos de esfingomielina podrían estar relacionados con el estado de enfermedad del hígado graso no alcohólico y que ciertas especies de esfingomielina pueden usarse para el seguimiento de pacientes obesos con NASH después de gastrectomía en manga.</p>
<p>Perez-Díaz et al, 2021 (30)</p>	<p>Observacional prospectivo pre-post</p>	<p>Un grupo de 86 sujetos con sobrepeso/obesidad con NAFL del estudio Fatty Liver in Obesity (FLIO) se inscribió y se evaluó metabólicamente al inicio del estudio y después de 6 meses. Se aplicó y analizó un panel prediseñado de 95 variantes genéticas relacionadas con la obesidad y la pérdida de peso. Tres puntajes de riesgo genético (GRS) relacionados con la mejora en la salud hepática evaluada por métodos mínimamente invasivos como el índice de hígado graso (FLI) (GRSFLI), la prueba lipídica-OWLiver® (GRSOWL) y la resonancia magnética nuclear (RMN) (GRSMRI), se obtuvieron sumando los genotipos de los alelos de riesgo. También se monitorearon la composición corporal, los marcadores relacionados con la lesión hepática y la ingesta dietética.</p>	<p>Evaluar los determinantes genéticos y no genéticos supuestamente involucrados en el inicio y la progresión de NAFL después de un tratamiento nutricional de pérdida de peso de 6 meses.</p>	<p>En general, 23 SNP se asociaron de forma independiente con el cambio en FLI, 16 SNP con la prueba OWLiver® y 8 SNP con MRI, que eran específicos para cada herramienta de diagnóstico. Después de ajustar por sexo, edad y otros predictores relacionados (resistencia a la insulina, biomarcadores inflamatorios e ingesta dietética al inicio del estudio), los GRSFLI, GRSOWL y GRSMRI calculados fueron los principales contribuyentes a la mejora del estado hepático. Así, los modelos de regresión lineal ajustados mostraron una varianza del 53 % (adj. R² = 0,53) en la funcionalidad hepática (FLI), del 16 % (adj. R² = 0,16) en el metabolismo lipídico (prueba OWLiver®) y del 34 % (adj. R² = 0,34) en el contenido de grasa del hígado (MRI).</p>	<p>Estos resultados demuestran que tres puntuaciones genéticas diferentes pueden ser útiles para el manejo personalizado de NAFL, cuyo tratamiento debe basarse en recomendaciones dietéticas específicas guiadas por la medición de biomarcadores genéticos específicos.</p>

.../...

.../...

Estudio	Diseño	Pacientes	Objetivos	Resultados	Conclusiones
Curran et al, 2020 (31)	Estudio transversal comparativo	Pacientes ≥ 18 años con EFV coformulado con emtricitabina y tenofovir disoproxil fumarato (FTC/TDF) con ARN-VIH < 50 copias/mL durante ≥ 6 meses se aleatorizaron para continuar con EFV/FTC/TDF (n = 14) o cambiar a RPV/FTC/TDF (n = 15). Los análisis lipídicos realizados por espectrometría de masas (MS) se realizaron al inicio del estudio y después de 12 y 24 semanas. Se realizaron las pruebas OWLiver® Care y OWLiver® para estimar la presencia de enfermedad del hígado graso (NAFLD).	Comparar el perfil lipídico plasmático de pacientes con VIH que toman efavirenz (EFV) o rilpivirina (RPV).	Sin diferencias significativas (83% hombres, mediana de edad 44 años, 6 años recibiendo EFV/FTC/TDF; recuento de CD4+ 740 células/mm ³ , TC 207 [57 HDL-C/133 LDL-C] mg/dL, TG 117 mg/dL) entre los grupos al inicio del estudio. En los pacientes que cambiaron a RPV/FTC/TDF se observaron reducciones significativas en los lípidos y lipoproteínas plasmáticas, pero aumentaron las concentraciones de bilirrubina circulante. Los pacientes tratados con RPV/FTC/TDF mostraron una disminución en la cantidad global de lípidos almacenados (-0,137 log ₂ [veces de cambio] EFV frente a 0,059 log ₂ [veces de cambio] RPV) pero un aumento en las isofosfatidilcolinas (LPC) y los esteroides totales.	En comparación con EFV, RPV aumentó los metabolitos con propiedades antiinflamatorias y redujo el depósito de lípidos lipotóxicos específicos.

4.3 Resultados de la evidencia

Utilidad diagnóstica y discriminatoria

Aunque se han realizado y recuperado diferentes estudios que se han publicado en abstracts de congresos (listado en Anexo 2), únicamente un estudio publicado refiere la validez y la utilidad diagnóstica del OWLiver (28). Este estudio compara el test OWLiver frente al estándar oro de referencia para el diagnóstico y la estadificación de NAFLD. En este estudio, se midieron 540 lípidos y aminoácidos en muestras de suero de sujetos probados por biopsia con hígado normal (NL, por sus siglas en inglés), NAFL y NASH. Usando el análisis de regresión logística, identificaron dos paneles de triglicéridos que podían discriminar primero entre NAFLD y NL y segundo entre NASH y NAFL. Estas pruebas no invasivas se compararon con la histología ciega como estándar de referencia. Se realizaron estas pruebas en una cohorte original de 467 pacientes con NAFLD (90 NL, 246 NAFLD y 131 NASH) que posteriormente se validó en una cohorte separada de 192 pacientes (7 NL, 109 NAFLD, 76 NASH). Los rendimientos diagnósticos de las pruebas validadas mostraron un AUROC, sensibilidad y especificidad de $0,88 \pm 0,05$, $0,94$ y $0,57$, respectivamente, para la discriminación entre NAFLD y NL y $0,79 \pm 0,04$, $0,70$ y $0,81$, respectivamente, para la discriminación entre NASH y NAFLD. Cuando el análisis se realizó excluyendo a los pacientes con niveles de glucosa >136 mg/dL, el AUROC para la discriminación entre NASH y NAFL aumentó a $0,81 \pm 0,04$ con una sensibilidad y especificidad de $0,73$ y $0,80$, respectivamente.

Utilidad en pacientes con diabetes mellitus tipo II

Los estudios de Bril et al, 2018 y 2020 (25,26) que comparan diferentes paneles de biomarcadores y escalas no invasivas en pacientes con DM2, muestran que OWLiver test se muestra menos sensible y específico que posibles competidores. Aunque ninguna de las herramientas no invasivas evaluadas para el diagnóstico de NASH en pacientes con DM2 tuvo un rendimiento óptimo según los autores (todas las AUROC $<0,80$). Cabe destacar que ninguno de los paneles o biomarcadores fue capaz de superar la ALT plasmática (AUROC $0,78$ [IC del 95 %: $0,71-0,84$]). El rendimiento fue mejor para el diagnóstico de fibrosis avanzada, en el que el plasma N-terminal del procolágeno tipo III (PRO-C3, por sus siglas en inglés), el aspartato aminotransferasa (AST) y el índice de relación de niveles de plaquetas y aspartato-aminotransferasa (APRI, por sus siglas en inglés) mostraron mejores resultados que los otros enfoques (AUROC $0,90$ [$0,85-0,95$], $0,85$ [$0,80-0,91$])

y 0,86 [0,80-0,91], respectivamente). Una vez más, ninguno de los enfoques funcionó significativamente mejor que la AST plasmática. El uso secuencial de AST en plasma y otras pruebas no invasivas puede ayudar a limitar el número de biopsias hepáticas necesarias para identificar a los pacientes con fibrosis avanzada.

En comparación con la biopsia hepática, las pruebas OWLiver Care y OWLiver tuvieron un rendimiento subóptimo en pacientes con DM 2 (AUROC, ambas <0,70) (26). Dada la discordancia de estos resultados en esta cohorte heterogénea y multiétnica en comparación con los de un informe anterior en pacientes predominantemente blancos sin diabetes, los autores examinaron la influencia de la edad, el origen étnico y otras variables en el rendimiento de la prueba. Se seleccionó un subconjunto específico de pacientes para reflejar las características de la población utilizada para el desarrollo de este modelo (es decir, pacientes blancos sin DM 2). Entre los pacientes blancos con buen control glucémico (hemoglobina glicosilada <53mmol/mol [o <7 %]) y sin cirrosis, la curva AUROC mejoró significativamente (0,79 [IC 95 %: 0,68-0,90]). Entre los pacientes blancos con menor resistencia a la insulina (evaluación del modelo homeostático de resistencia a la insulina <3) y sin cirrosis, el AUROC fue aún mayor: 0,87 (IC 95 %: 0,76-0,97).

Utilidad en el seguimiento de pacientes con modificación de hábitos de vida o cirugía bariátrica

Los estudios de Netanel et al, 2021(27), Ramos-Molina et al, 2019 (29) y Perez-Diaz et al, 2021 (30), se muestran consistentes en la valoración de la utilidad del test en el seguimiento de pacientes que han seguido un tratamiento de cirugía bariátrica, ya que sirve para monitorizar el estatus del perfil hepático sin necesidad de biopsia. Sin embargo, la fibrosis previa no parece revertirse. Así en el caso de los descritos por Ramos-Molina et al, 2019 (29), los niveles séricos de esfingomielina podrían estar relacionados con el estado de enfermedad del hígado graso no alcohólico y que ciertas especies de esfingomielina pueden usarse para el seguimiento de pacientes obesos con NASH después de gastrectomía en banda (cirugía bariátrica).

Utilidad en el seguimiento de pacientes en tratamiento con fármacos que modifican el perfil lipídico

El estudio de Curran et al, 2020 (31), utiliza el test OWLiver para comparar el perfil lipídico plasmático de pacientes con VIH que toman efavirenz (EFV) o rilpivirina (RPV). En los pacientes que cambiaron a RPV,

emtricitabina (FTC) o tenofovir disoproxil fumarato (TDF) los autores observaron reducciones significativas en los lípidos y lipoproteínas plasmáticos, pero aumentaron las concentraciones de bilirrubina circulante. Los pacientes tratados con RPV/FTC/TDF mostraron una disminución en la cantidad global de lípidos almacenados ($-0,137 \log_2$ [veces de cambio] EFV frente a $0,059 \log_2$ [veces de cambio] RPV) pero un aumento en las lisofosfatidilcolinas (LPC) y los esteroides totales. En comparación con EFV, RPV aumentó los metabolitos con propiedades antiinflamatorias y redujo el depósito de lípidos lipotóxicos específicos. El test podría servir por tanto para testar el estatus hepático de fármacos que modifican el perfil lipídico y que pueden derivar en NASH o finalmente cirrosis. Dichos resultados debieran verificarse en estudios posteriores.

V. Discusión

Teniendo en cuenta la consistencia y limitaciones de los estudios localizados en la búsqueda llevada a cabo, y a pesar de mostrar resultados favorables en general en lo que respecta a la seguridad, los resultados deben ser vistos con cautela.

Los estudios recuperados son de calidad media baja y cuentan con posibles sesgos que pueden limitar su validez como ser estudios observacionales con limitaciones en la selección de los individuos a estudio.

De acuerdo con los estudios de Cariou et al, 2021 (32) y Poynard et al, 2021 (33) que emplean otras técnicas de determinación, la utilidad del OWLiver test en pacientes con DM 2 parece ser limitada siendo otras combinaciones de pruebas y síntomas más eficaces en la determinación y seguimiento de pacientes con dicha condición. Por otro lado, en el caso de pacientes que han sido sometidos a cirugía bariátrica de banda, sí que parece que la utilidad del test en el seguimiento y estado lipídico de los mismos, la utilización del test de OWLiver puede resultar de interés, siendo además una técnica no invasiva. Con respecto al método utilizado en el estudio de Netanel et al, 2021, es necesario reconocer algunas limitaciones. La prueba OWLiver® no evalúa el grado de fibrosis; sin embargo, puede distinguir la esteatosis de la NASH, que es una necesidad crucial (27).

En la mayoría de los estudios, la evaluación de NAFLD se realiza mediante biopsia hepática, por lo que los datos derivados de estudios que utilizan métodos no invasivos son limitados. Estudios previos han utilizado pruebas no invasivas para evaluar la esteatosis y la fibrosis, sin embargo, el efecto de la cirugía bariátrica en la NASH medida por métodos no invasivos se ha explorado levemente (27).

VI. Conclusiones

- Los estudios recuperados son de calidad media-baja.
- La tecnología cuenta con el marcado CE y con la aprobación FDA de comercialización.
- La validación de la técnica en pacientes con sospecha de NAFLD y NASH permite diferenciar frente al gold-estándar con las limitaciones antedichas de este.
- Los rendimientos diagnósticos de las pruebas validadas mostraron un AUROC, sensibilidad y especificidad de $0,88 \pm 0,05$, $0,94$ y $0,57$, respectivamente, para la discriminación entre NAFLD y NL y de $0,79 \pm 0,04$, $0,70$ y $0,81$, respectivamente, para la discriminación entre NASH y NAFL. Siendo los rendimientos diagnósticos mejores en los casos de pacientes no diabéticos.
- Los tests no parecen tener una buena correlación diagnóstica y pronóstica en los pacientes con DM 2.
- El OWLiver test puede ser empleado en el seguimiento y la prognosis de pacientes que han sido sometidos a técnicas de cirugía bariátrica.
- La combinación del test OWLiver y otros parámetros debe ser testado con cautela para la eliminación de biopsias innecesarias en pacientes con NAFLD y sospecha de NASH.
- Sería de interés hacer un seguimiento del rendimiento diagnóstico de la tecnología con otros parámetros de riesgo, signos y síntomas y otras técnicas de diagnóstico poco costosas, cruentas y disponibles en la comunidad.
- El OWLiver puede tener utilidad en la detección comunitaria por su característica no invasiva y su bajo coste frente a alternativas como la RM o la ecografía.
- Una de las limitaciones de la tecnología es la dependencia del laboratorio de la compañía para centralizar las muestras y presentar los resultados.
- En el caso de personas con sospecha de NAFLD y NASH sin DM 2 tendría interés comparar la utilidad de OWLiver frente a FibroScan.

VII. Referencias

1. Cusi K, Isaacs S, Barb D, Basu R, Caprio S, Garvey WT, Kashyap S, Mechanick JI, Mouzaki M, Nadolsky K, Rinella ME, Vos MB, Younossi Z. American Association of Clinical Endocrinology Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Primary Care and Endocrinology Clinical Settings: Co-Sponsored by the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). *Endocr Pract.* 2022 May;28(5):528-562. doi: 10.1016/j.eprac.2022.03.010.
2. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDKD). Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) & NASH. Available from: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/liver-disease/nafl-d-nash>
3. Tholey D. Hígado Graso no alcohólico (esteatohepatitis no alcohólica, NAFLD) - trastornos hepáticos y biliares [Internet]. Manual MSD. Versión para profesionales. Merck Sharp & Dohme Corp.; 2021 [cited 2022Oct]. Available from: <https://www.msmanuals.com/es-es/professional/trastornos-hep%C3%A1ticos-y-biliares/aproximaci%C3%B3n-al-paciente-con-hepatopat%C3%ADas/h%C3%ADgado-graso-no-alcoh%C3%B3lico-esteatohepatitis-no-alcoh%C3%B3lica,-nafl-d>
4. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology.* 2016;64(1):73–84. doi:10.1002/hep.28431.
5. Lin H, Zhang X, Li G, Wong GL, Wong VW. Epidemiology and Clinical Outcomes of Metabolic (Dysfunction)-associated Fatty Liver Disease. *J Clin Transl Hepatol.* 2021 Dec 28;9(6):972-982. doi: 10.14218/JCTH.2021.00201.
6. Cholongitas E, Pavlopoulou I, Papatheodoridi M, Markakis GE, Bouras E, Haidich AB, Papatheodoridis G. Epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Ann Gastroenterol.* 2021;34(3):404-414. doi: 10.20524/aog.2021.0604.
7. European Association for the Study of the Liver (EASL). EASL Clinical Practice Guidelines on the management of benign liver tumours. *J Hepatol.* 2016 Aug;65(2):386-98. doi: 10.1016/j.jhep.2016.04.001.
8. Sociedad Española de Patología Digestiva (SEPD). Registro NASH [Internet]. Available from: <https://sepd.es/proyectos/24>
9. Sociedad Española de Patología Digestiva (SEPD), OWLMetabolomics. (2020). Estudio multicéntrico NASH Registry. La Sociedad Española de Patología Digestiva (SEPD) coordina un proyecto que estudia cambios en la estrategia diagnóstica de la enfermedad hepática grasa no alcohólica en pacientes de alto riesgo de desarrollo. Available from <https://www.owlmetabolomics.com/noticias/2020.07.28%20-%20NASHRegistry%20SEPD%20cambios%20en%20la%20estrategia%20diagn%C3%B3stica%20de%20NAFLD.pdf>

10. Cotter TG, Rinella M. Nonalcoholic fatty liver disease 2020: the state of the disease. *Gastroenterology*. 2020;158(7):1851–1864. doi: 10.1053/j.gastro.2020.01.052.
11. Machado M, Marques-Vidal P, Cortez-Pinto H. Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery. *Journal of Hepatology*. 2006;45(4):600–606. doi: 10.1016/j.jhep.2006.06.013.
12. Schwimmer JB, Deutsch R, Kahen T, Lavine JE, Stanley C, Behling C. Prevalence of fatty liver in children and adolescents. *Pediatrics*. 2006;118(4):1388–1393. doi: 10.1542/peds.2006-1212.
13. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2018;67(1):328–357. doi:10.1002/hep.29367.
14. Golabi P, Paik J, Hwang JP, Wang S, Lee HM, Younossi ZM. Prevalence and outcomes of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) among Asian American adults in the United States. *Liver International*. 2019;39(4):748–757. doi:10.1111/liv.14038.
15. Muthiah MD, Sanyal AJ. Burden of Disease due to Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterol Clin North Am*. 2020 Mar;49(1):1-23. doi: 10.1016/j.gtc.2019.09.007.
16. European Association for the Study of the Liver (EASL); European Association for the Study of Diabetes (EASD); European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2016 Jun;64(6):1388-402. doi: 10.1016/j.jhep.2015.11.004.
17. Nascimbeni F, Bedossa P, Fedchuk L, Pais R, Charlotte F, Lebray P, Poynard T, Ratziu V; LIDO (Liver Injury in Diabetes and Obesity) Study Group. Clinical validation of the FLIP algorithm and the SAF score in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2020 May;72(5):828-838. doi: 10.1016/j.jhep.2019.12.008.
18. Hoodeshenas S, Yin M, Venkatesh SK. Magnetic Resonance Elastography of Liver: Current Update. *Top Magn Reson Imaging*. 2018 Oct;27(5):319-333. doi: 10.1097/RMR.0000000000000177.
19. Vilar-Gomez E, Chalasani N. Non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease: Clinical prediction rules and blood-based biomarkers. *J Hepatol*. 2018 Feb;68(2):305-315. doi: 10.1016/j.jhep.2017.11.013.
20. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, Liu YC, Torbenson MS, Unalp-Arida A, Yeh M, McCullough AJ, Sanyal AJ; Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005 Jun;41(6):1313-21. doi: 10.1002/hep.20701.

21. Boursier J, Guillaume M, Leroy V, Irlès M, Roux M, Lannes A, Foucher J, Zuberbuhler F, Delabaudière C, Barthelon J, Michalak S, Hiriart JB, Peron JM, Gerster T, Le Bail B, Riou J, Hunault G, Merrouche W, Oberti F, Pelade L, Fouchard I, Bureau C, Calès P, de Ledinghen V. New sequential combinations of non-invasive fibrosis tests provide an accurate diagnosis of advanced fibrosis in NAFLD. *J Hepatol*. 2019 Aug;71(2):389-396. doi: 10.1016/j.jhep.2019.04.020.
22. Horn P, Newsome P. NAFLD—diagnosis, assessment and management. British Society of Gastroenterology, 2020. Available from <https://www.bsg.org.uk/web-education-articles-list/nafl-d-diagnosis-assessment-and-management/#:~:text=The%20diagnosis%20is%20based%20on,management%20for%20the%20individual%20patient>
23. OWLiver. Test de diagnóstico no invasivo de la enfermedad de hígado graso y la esteatohepatitis [Internet]. OWLMetabolomics; [cited 2022Oct]. Available from: <https://www.owlmetabolomics.com/owl-liver-descripcion.aspx>
24. Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). SIGN 50: a guideline developer's handbook. Edinburgh: SIGN; 2015. (SIGN publication no. 50). [November 2015]. Available from <http://www.sign.ac.uk>
25. Bril F, McPhaul MJ, Caulfield MP, Clark VC, Soldevilla-Pico C, Firpi-Morell RJ, Lai J, Shiffman D, Rowland CM, Cusi K. Performance of Plasma Biomarkers and Diagnostic Panels for Nonalcoholic Steatohepatitis and Advanced Fibrosis in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2020 Feb;43(2):290-297. doi: 10.2337/dc19-1071.
26. Bril F, Millán L, Kalavalapalli S, McPhaul MJ, Caulfield MP, Martínez-Arranz I, Alonso C, Ortiz Betes P, Mato JM, Cusi K. Use of a metabolomic approach to non-invasively diagnose non-alcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*. 2018 Jul;20(7):1702-1709. doi: 10.1111/dom.13285.
27. Netanel C, Goitein D, Rubin M, Kleinbaum Y, Katsberginsky S, Hermon H, Tsaraf K, Tachlytski I, Herman A, Safran M, Ben-Ari Z. The impact of bariatric surgery on nonalcoholic fatty liver disease as measured using non-invasive tests. *Am J Surg*. 2021 Jul;222(1):214-219. doi: 10.1016/j.amjsurg.2020.11.045.
28. Mayo R, Crespo J, Martínez-Arranz I, Banales JM, Arias M, Mincholé I, Aller de la Fuente R, Jimenez-Agüero R, Alonso C, de Luis DA, Vitek L, Stritesky J, Caballería J, Romero-Gómez M, Martín-Duce A, Muguierza Huguet JM, Busteros-Moraza JI, Idowu MO, Castro A, Martínez-Chantar ML, Ortiz P, Bruha R, Lu SC, Bedossa P, Noureddin M, Sanyal AJ, Mato JM. Metabolomic-based noninvasive serum test to diagnose nonalcoholic steatohepatitis: Results from discovery and validation cohorts. *Hepatol Commun*. 2018 May 4;2(7):807-820. doi: 10.1002/hep4.1188.
29. Ramos-Molina B, Castellano-Castillo D, Pastor O, Ocaña-Wilhelmi L, Fernández-García D, Romero-Gómez M, Cardona F, Tinahones FJ. A Pilot Study of Serum Sphingomyelin Dynamics in Subjects with Severe Obesity and Non-alcoholic Steatohepatitis after Sleeve Gastrectomy. *Obes Surg*. 2019 Mar;29(3):983-989. doi: 10.1007/s11695-018-3612-2.

30. Perez-Diaz-Del-Campo N, Riezu-Boj JI, Marin-Alejandre BA, Monreal JI, Elorz M, Herrero JI, Benito-Boillos A, Milagro FI, Tur JA, Abete I, Zulet MA, Martinez JA. Three Different Genetic Risk Scores Based on Fatty Liver Index, Magnetic Resonance Imaging and Lipidomic for a Nutrigenetic Personalized Management of NAFLD: The Fatty Liver in Obesity Study. *Diagnostics (Basel)*. 2021 Jun 13;11(6):1083. doi: 10.3390/diagnostics11061083.
31. Curran A, Rull A, Navarro J, Vidal-González J, Martin-Castillo M, Burgos J, Falcó V, Ribera E, Torrella A, Planas B, Peraire J, Crespo M. Lipidomics Reveals Reduced Inflammatory Lipid Species and Storage Lipids after Switching from EFV/FTC/TDF to RPV/FTC/TDF: A Randomized Open-Label Trial. *J Clin Med*. 2020 Apr 25;9(5):1246. doi: 10.3390/jcm9051246.
32. Cariou B, Byrne CD, Loomba R, Sanyal AJ. Nonalcoholic fatty liver disease as a metabolic disease in humans: A literature review. *Diabetes Obes Metab*. 2021 May;23(5):1069-1083. doi: 10.1111/dom.14322.
33. Poynard T, Paradis V, Mullaert J, Deckmyn O, Gault N, Marcault E, Manchon P, Si Mohammed N, Parfait B, Ibberson M, Gautier JF, Boitard C, Czernichow S, Langer E, Drane F, Castille JM, Peta V, Brzustowski A, Terris B, Vallet-Pichard A, Roulot D, Laouénan C, Bedossa P, Castera L, Pol S, Valla D; Quid-Nash consortium. Prospective external validation of a new non-invasive test for the diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis in patients with type 2 diabetes. *Aliment Pharmacol Ther*. 2021 Oct;54(7):952-966. doi: 10.1111/apt.16543.

VIII. Anexos

Anexo 1. Estrategia de búsqueda

Fecha de búsqueda: noviembre 2021

Medline, vía Pubmed

Tecnología

#1 Search: owliver[Title/Abstract]

Hígado graso no alcohólico

#2 Search: “Fatty Liver”[Mesh] OR “Non-alcoholic Fatty Liver Disease”[Mesh]

#3 Search: (fatty[Title/Abstract] AND (liver[Title/Abstract] OR livers[Title/Abstract]))

#4 Search: steatohepatiti*[Title/Abstract] OR steatosis[Title/Abstract]

#5 Search: #2 OR #3 OR #4

#6 Search: #1 AND #5

La búsqueda se adaptó al resto de bases de datos, siguiendo la misma estructura.

Anexo 2. Listado abstracts de congresos excluidos

Title: Diagnostic performance of metabolomic test to detect nonalcoholic steatohepatitis and significant fibrosis in patients at high risk of progressive fatty liver disease.

Source: Hepatology. Conference: 72nd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD 2021. Virtual. 74(SUP-PL 1) (pp 949A-950A), 2021. Date of Publication: October 2021. Author: Mayo R.; Iruzubieta P.; Minchole I.; Aller R.; Samaniego L.I.; Herrojo J.A.; Abad J.; Mateos R.M.; Arias M.T.; Albillos A.; Banares R.; Panero J.L.C.; Romero-Gomez M.; Ortiz P.; Martinez-Arranz I.; Garcia J.C. Institution: (Mayo, Minchole, Ortiz, Martinez-Arranz) OWL Metabolomics, Derio, Bizkaia, Spain (Iruzubieta, Arias, Garcia) Digestivo, Hospital Universitario Marques de Valdecilla (Aller) Hospital Clinico Universitario de Valladolid (Samaniego, Banares) Servicio de Aparato Digestivo, Hospital General Universitario Gregorio Maranon (Herrojo, Romero-Gomez) Ugc de Enfermedades Digestivas, Hospital Universitario Virgen Del Rocio (Abad, Panero) Ucm Digestive Diseases, Hospital Universitario Puerta de Hierro (Mateos, Albillos) Ugc de Enfermedades Digestivas, Hospital Universitario Ramon y Cajal Publisher: John Wiley and Sons Inc.

Abstract: Background: Type 2 Diabetes mellitus (T2DM), age and obesity are risk factors for non-alcoholic steatohepatitis (NASH). However, diagnostic performance of non-invasive test to detect NASH and fibrosis is low in this population. Our aim was to assess the performance of non-invasive methods, including the serum metabolomic tests OWLiver DM2 and OWLiver F2+ (F2+), for the diagnosis of NASH and significant fibrosis. Method(s): 140 patients were recruited in 6 Spanish hospitals. Inclusion criteria were biopsy-proven NAFLD patients, aged 50 years or older, BMI > 25 kg/m² and T2DM. Blood sample and liver stiffness measurement by FibroScan (FS) were obtained within 6 months from biopsy. FIB-4 and the serum metabolomic tests were performed in all patients. Firstly, patients with FIB-4 > 2.67 were classified as advanced liver fibrosis (F3-F4) and the remaining patients were evaluated with FS or the metabolomic tests. Sensitivity (Se), specificity (Sp), positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV) and area under the receiver operating characteristic curve (AUROC) for the non-invasive methods and their diagnostic performances were assessed considering liver histology as the gold standard reference. Result(s): Patients distribution in the study cohort were: 27 (19,3 %) simple steatosis, 41 (29,3 %) NASH-F0/F1 and 72 (51,4 %) NASH-F ≥ 2. NASH was detected

in 101/113 patients with the metabolomic tests OWLiver DM 2 (0.40 cut-off) and F2+ (0.27 cut-off), with a Se of 89.4 % and PPV of 84.9 %. FIB-4 (2.67 cut-off) showed a Se and PPV of 29.2 % and 73.7 %, respectively, for advanced fibrosis. For patients with FIB-4 < 2.67 (n=121), F2+ rescued 30/34 patients with advanced fibrosis (88.2 %). Applying both methods sequentially, 62/72 patients (87.0 %) with F₂≥2, and 44/48 patients (91.7 %) with F3-F4 were correctly classified. When using FS instead of F2+, the combination of FIB-4 and FS showed a Se of 88.9 % to detect patients with F₂≥2, however, specificity dropped to 38 % while using F2+ was 46 %. Data proved that both F2+ and FS AUROC showed similar diagnostic performances to identify patients with F₂≥2 in the full cohort of 140 patients: F2+ (0,75; IC95 %0,66-0,82) and FS (0,74; IC95 %0,67-0,83) (Fig1). Conclusion(s): The diagnostic performance of FIB-4 in patients at high risk of progressive NASH is poor. The combination of FIB-4 and OWLiver panel provides an accurate, quick serum based, easy to use test as a screening tool in this population at high risk.

Title: Intermittent hypoxia featuring the obstructive sleep apnea syndrome contributes to hepatosteatosis by upregulating the intrahepatic expression of fatty acid translocase CD36 and lipogenic genes.

Source: Journal of Hepatology. Conference: EASL: The Digital International Liver Congress. Virtual, Online. 73(Supplement 1) (pp S657-S658), 2020. Date of Publication: August 2020. Author: Rey E.; Beeler B.; Maranon P.; Landete P.; Chavez S.; Farre R.; Almendros I.; Gonzalez-Rodriguez A.; Garcia-Monzon C. Institution: (Rey, Beeler, Maranon, Gonzalez-Rodriguez, Garcia-Monzon) Santa Cristina University Hospital, Instituto de Investigacion Sanitaria Princesa, Liver Research Unit, Madrid, Spain (Landete, Chavez) La Princesa University Hospital, Instituto de Investigacion Sanitaria Princesa, Respiratory Medicine, Madrid, Spain (Farre, Almendros) School of Medicine, Barcelona University, CIBERes, IDIBAPS, Biophysics and Bioengineering Unit, Barcelona, Spain Publisher: Elsevier B.V.

Abstract: Background and Aims: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) comprises varied grades of hepatic lipid accumulation, inflammation, ballooning and fibrosis; the most severe cases result in cirrhosis and liver failure. Recent evidence has linked obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) to hepatic lipid accumulation. As OSAS is featured by periods of intermittent hypoxia (IH) during sleep, it has been suggested that IH alters hepatic lipid metabolism and could contribute to NAFLD development in OSAS patients, but little is known about the molecular mechanisms underlying increased hepatic lipid accumulation due to IH. The aim of the present study was to elucidate the molecular mechanisms by which excessive lipid

accumulation occurs within the liver in conditions of IH. Method(s): Histopathology and triglyceride content were assessed in livers from mice submitted to an IH protocol. Furthermore, expression of genes related to lipid synthesis (Fasn, Scd1), beta-oxidation (Cpt1a, Ppara), and fatty acid uptake (Cd36) was tested by real-time PCR, Western-blot and immunohistochemistry. In addition, prevalence of NAFLD was evaluated in 90 patients with clinical and polygraphic features of OSAS and in 30 subjects with normal lung function tests by using a blood-based metabolomic assay (OWLiver test) capable to discriminate between simple steatosis, NASH and normal liver. None of patients and controls studied drank more than 20 g of alcohol per day. Result(s): Grades of steatosis and triglyceride contents were significantly higher in livers from mice exposed to IH conditions than in their control littermates. Furthermore, an increased intrahepatic expression of the fatty acid translocase CD36 and lipogenic genes, such as Fasn and Scd1, was also found in hypoxic mice with respect to their normoxic controls. Noteworthy, in livers from mice submitted to IH, CD36 expression was largely restricted to the plasma membrane of hepatocytes whereas it was mainly observed within hepatocyte cytoplasm in normoxic mice. Interestingly, metabolomics profile compatible with NAFLD were significantly more frequent in OSAS patients than in subjects with normal lung function (80.7 % vs 53.2 %, respectively, $p < 0.05$), being NASH the most frequent metabolomic diagnosis in OSAS patients (49 %). Conclusion(s): NAFLD is highly prevalent among OSAS patients and IH featuring OSAS could contribute to NAFLD setup by inducing fatty acid uptake and lipid synthesis within the liver. Copyright© 2020 European Association for the Study of the Liver.

Title: Clinical utility of a noninvasive metabolic approach in assessing the prevalence of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH) in type 2 diabetes.

Source: Diabetes. Conference: 80th Scientific Sessions of the American Diabetes Association, ADA 2020. Chicago, IL United States. 69 (Supplement 1) (no pagination), 2020. Date of Publication: June 2020. Author: Bellido V.; Martinez-Arranz I.; Goicolea I.; Amor A.J.; Pi J.; Perez A.; Espiga J.; Montalban C.; Mayo R.; Gaztambide S. Institution: (Bellido, Martinez-Arranz, Goicolea, Amor, Pi, Perez, Espiga, Montalban, Mayo, Gaztambide) Bilbao, Spain, Derio, Spain, Barcelona, Spain, Burgos, Spain, Santander, Spain Publisher: American Diabetes Association Inc.

Abstract: Aims: We aimed to assess the utility of validated metabolomic-based non-invasive tests to estimate the prevalence of liver disease in overweight/obese T2DM patients. Material(s) and Method(s): A total of 97 T2DM patients with HbA1c <7 % and BMI >25 kg/m were recruited. Patients

underwent routine lab, liver ultrasound and FibroScan. OWLiver Care test and OWLiver test were measured (two serum-based, BMI-dependent lipidomic tests that discriminate between normal liver and NAFLD, and between isolated steatosis and NASH, respectively). 2 Results: Based on results from ultrasound and FibroScan, patients were divided into four groups (Table). The prevalence of NAFLD and NASH was 86.4 % and 31.1 %, respectively. Severe fibrosis (F2-F4) was found in 22.9 % and cirrhosis (F4) in 12.2 %. OWLiver Care test classified correctly 95 % of patients with NAFLD (AUC 0.929). It showed high sensitivity (95 %) and high accuracy (80 %). OWLiver test showed high consistency with the results of ultrasound and FibroScan, classifying correctly 90 % of the samples of patients with NASH. Conclusion(s): The prevalence of NAFLD and NASH is high in overweight/obese T2DM patients. OWLiver Care test and OWLiver test can be good tools for early detection of NAFLD and NASH, respectively, in routine clinical practice.

Title: Non-invasive serum lipidomic approach to discriminate non-alcoholic steatohepatitis in multiethnic patients with type 2 diabetes mellitus.

Source: Hepatology v70 suppl.1 2019. Conference: 70th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Boston, MA United States. 70(Supplement 1) (pp 1030A), 2019. Date of Publication: October 2019. Author: Martinez-Arranz I.; Mayo R.; Banales J.; Minchola I.; Ortiz P.; Bril F.; Arrese M.; Garcia J.C.; Alonso C.; Mato J.M.; Cusi K. Institution: (Martinez-Arranz, Mayo, Minchola, Ortiz, Alonso) OWL Metabolomics, Bizkaia Technology Park, Derio, Spain (Banales) Ikerbasque, Basque Foundation for Science, Bilbao, Spain (Banales) Biodonostia Health Research Institute, Donostia University Hospital, University of the Basque Country (UPV/EHU), Ciberehd, San Sebastian, Spain (Bril) Division of Endocrinology, Diabetes and Metabolism, University of Florida, Gainesville, FL, United States (Bril, Cusi) Division of Endocrinology, Diabetes and Metabolism, Malcom Randall Veterans Administration Medical Center, Gainesville, FL, United States (Arrese) Department of Gastroenterology, School of Medicine, Pontificia Universidad Catolica De Chile (Garcia) Department of Digestive Disease, Marques De Valdecilla University Hospital, Cantabria University (Mato) CIC Biogune, Ciberehd, Bizkaia Technology Park, Derio, Spain (Cusi) Division of Endocrinology, Diabetes and Metabolism, University of Florida, Gainesville, FL, United States Publisher: John Wiley and Sons Inc.

Abstract: Background: The OWLiver Test has been reported to be a good test for the diagnosis of Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH) based on the triglyceride

profile and Body Mass Index (BMI). However, this test is limited by the discovery population composed by Caucasians without type 2 diabetes mellitus (T2DM). The aim of this study was to refine the OWLiver Test considering other populations with different ethnicities and diabetic status. **Methods:** A multiethnic, multicenter discovery cohort of 616 adult subjects with biopsy proven NAFLD (263 Steatosis, 353 NASH) was analyzed. A logistic regression model was developed including lipidomic features and clinical variables and following a K-fold Cross-Validation process. Finally, the model was validated in a new independent blind cohort (n = 65; 18 Steatosis, 47 NASH). The diagnostic performance was reflected in area under the receiver-operating characteristic (AUROC) curve, sensitivity and specificity. Values are given as mean \pm 1 standard deviation of the mean. **Results:** The characteristics of the discovery cohort (n = 616) were 53 % male, BMI (34.5 \pm 6.44, kg/m²), alanine aminotransferase (ALT = 53.33 \pm 38.27, U/L), aspartate aminotransferase (AST = 38.63 \pm 24.75, U/L) and glycated hemoglobin (HbA1c = 6.58 \pm 1.17, %). The 24 % of the cohort had a poor glycaemic control HbA1c > 7 %. A novel lipidomic-based algorithm in serum was generated from this international multiethnic cohort of patients with type 2 diabetes, resulting in an AUROC of 0.79 \pm 0.012 in training and 0.81 \pm 0.047 in the K-fold Cross-Validation process. The sensitivity was 0.67 \pm 0.012 (training) and 0.67 \pm 0.049 (validation), and specificity was 0.77 \pm 0.007 (training) and 0.80 \pm 0.029 (validation). Previous version of the OWLiver test in this cohort got an AUROC < 0.7. An independent cohort from Chile was analyzed (n = 65): 29 % male, BMI (31.21 \pm 4.60, kg/m²), ALT (81.96 \pm 67.24, U/L), AST (55.60 \pm 40.30, U/L) and HbA1c (6.13 \pm 1.07, %). The new test was blindly evaluated in this cohort. The AUROC was 0.81 \pm 0.064, sensitivity 0.72 \pm 0.147 and specificity 0.72 \pm 0.113, improving the results of previous version of the test that obtained a suboptimal performance. **Conclusion(s):** This new non-invasive test improves the results of the OWLiver test for the discrimination between steatosis and NASH in a more general population, taking into account the multiethnicity and diabetes status.

Title: Use of a metabolomic approach to non-invasively diagnose nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM).

Source: Endocrine Reviews. Conference: 100th Annual Meeting of the Endocrine Society, ENDO 2018. Chicago, IL United States. 39(2 Supplement 1) (no pagination), 2018. Date of Publication: April 2018. Author: Bril F.; Millan L.; Kalavalpalli S.; McPhaul M.J.; Caulfield M.P.; Martinez-Arranz I.; Alonso C.; Betes P.O.; Mato J.M.; Cusi K. Institution: (Bril, Kalavalpalli, Cusi) University of Florida, Gainesville, FL, United States

(Millan, Martinez-Arranz, Alonso, Betes) OWL Metabolomics, Derio, Spain
(McPhaul, Caulfield) Quest Diagnostics Nichols Inst, San Juan Capistrano,
CA, United States (Mato) CIC bioGUNE, CIBERehd, Derio, Spain.
Publisher: Oxford University Press.

Abstract: NAFLD has become the most common chronic liver disease among patients with T2DM. Despite the serious risks posed by NAFLD, it is frequently underdiagnosed, owing to the lack of methods to reliably assess it in a non-invasive, cost effective fashion. Several clinical/metabolic scores have been designed to predict the presence of NASH or advanced fibrosis, but none was specifically validated in patients with T2DM. **Objective** To assess the utility of existing metabolomics scores to classify liver disease in a patient population with T2DM. **Research Design and Methods** 220 patients with T2DM were recruited from the general population of Gainesville, Florida and San Antonio, Texas and from hepatology and endocrinology clinics at the University of Florida at Gainesville and The University of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas. Patients underwent routine lab tests, a proton magnetic resonance spectroscopy (1H-MRS) to measure intrahepatic triglyceride content, and a 75-gram oral glucose tolerance test. Patients with a diagnosis of NAFLD based on 1H-MRS were offered percutaneous liver biopsy to establish the diagnosis of NASH and to grade and stage the disease. A serum sample was blindly provided to OWL Metabolomics for measurement of OWLiver Care test and OWLiver test. **Results** When correlated with liver biopsy results, OWLiver Care and OWLiver test results in the overall cohort of patients with T2DM had a suboptimal performance, with AUROCs <0.70 for both tests. Given the discordance of these results in this heterogeneous, multiethnic cohort compared to a prior report in predominantly Caucasian non-diabetic patients, we examined the influence of ethnicity and other parameters on test performance. The OWLiver test performed similarly in patients older and younger than 65 years old and in those with good diabetes control compared to patients with uncontrolled diabetes. No significant differences were observed when comparing performance of the test based on Caucasian vs. Hispanic vs. other ethnicity or between males and females. Similar results were observed with OWLiver Care test. A specific subset of patients was selected to mirror the characteristics of the population used for the development of this model (i.e., European Caucasian without T2DM). Among Caucasian patients with good glycemic control (<70 %) and without cirrhosis (i.e., fibrosis stage 4), the AUROC curve was significantly improved to 0.79 (0.68 - 0.90). Among Caucasian patients with lower insulin resistance (HOMA-IR < 3) and without cirrhosis (i.e., fibrosis stage 4), the AUROC was even higher: 0.87 **Conclusions** There is a great need to develop non-invasive approaches to diagnose NASH in

patients with T2DM. However, models originally developed for patients without diabetes cannot be directly applied to patients with T2DM. This suggests that diabetes-specific, non-invasive tests are needed for this population.

Title: Benefits of weight loss and mediterranean diet adherence in the evolution of non alcoholic fatty liver disease. Utility of noninvasive lipidomic tests for diagnosis.

Source: Inflammatory Intestinal Diseases. Conference: 1st International Conference on Fatty Liver, ICFL 2017. Seville Spain. 2(1) (pp 20), 2017. Date of Publication: 2017. Author: Perez-Cormenzana M.; Martinez-Arranz I.; Garcia M.C.; Minchola I.; Mora N.; Lanza B.; Primo D.; Antolin B.; Arribas J.; Alonso C.; Aller R. Institution: (Perez-Cormenzana, Martinez-Arranz, Minchola, Lanza, Arribas, Alonso) OWL, Metabolomics Department, Derio, Spain (Garcia, Mora, Antolin, Aller) Hospital Clinico Universitario- University of Valladolid, Department of Digestive Disease, Valladolid, Spain (Primo, Aller) University of Valladolid, Institute of Endocrinology and Nutrition-Medicine School, Department of Endocrinology and Nutrition, Valladolid, Spain Publisher: S. Karger AG.

Abstract: Background and Aims: Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) includes a spectrum of histological phenotypes including steatosis, steatohepatitis (NASH) and fibrosis. Currently no drug is approved for NASH by regulatory agencies and lifestyle correction is mandatory for NAFLD management. However, lack of intervention adherence is a usual problem. Therefore, the benefits of a hypocaloric diet and exercise, and the effects of Mediterranean diet adherence were determined in the evolution of NAFLD patients. For that, the noninvasive lipidomic test OWLiver was employed. Method(s): 30 biopsy-proven NAFLD patients were enrolled. Noninvasive OWLiver Care (discriminating NAFLD and healthy liver) and OWLiver (discriminating NASH and steatosis) were validated with serum samples at the time of liver biopsy and used for patients' follow-up. Patients were prescribed hypocaloric diet (1500 kcal/day) and aerobic exercise (30-60 min/day), monitored for 2 to 5 years, when a new serum sample was analyzed. Mediterranean diet adherence evaluation was performed through a 14 points questionnaire in which a punctuation ≥ 9 meant high adherence and values 7-8, adherence. Result(s): Applied to this biopsy-proven cohort (46 ± 12 years, 33 % female, weigh = 86 ± 15 kg; BMI = 32 ± 5 kg/m²), the test diagnosed correctly 28 out of 30 patients, misclassifying 1 as having NASH with NAS score = 2, but presenting metabolic syndrome; and 1 as having steatosis with NAS score = 5, although without ballooning. Once validated, the test was applied to the patients' follow-up (weigh = 84 ± 14 kg; BMI = 31 ± 4 kg/m²);

67 % of patients had Mediterranean diet adherence (≥ 7), of whom 56 % had a high adherence (≥ 9). Among them, 22 % improved the diagnosis from NASH to steatosis or from steatosis to healthy liver (non-significant). There was no significant association between Mediterranean diet adherence and weight loss. Also, 31 % of patients lost at least 5 % of baseline weight. Among responders, 50 % improved diagnosis presenting positive post-interventional shifts from NASH to steatosis or steatosis to healthy liver. Interestingly, the original diagnosis remained unchanged for the 95 % of the non-responders to diet and exercise ($p = 0.01$). Conclusion(s): The lipidomic tests OWLiver and OWLiver Care are feasible as noninvasive tools for NAFLD diagnosis and to monitor the disease progression/regression. Besides, weight loss has proved to be more efficient than Mediterranean diet adherence to improve NAFLD.

Title: A lipidomic serum profiling may predict weight loss in obese NAFLD patients undergoing bariatric surgery.

Source: Inflammatory Intestinal Diseases. Conference: 1st International Conference on Fatty Liver, ICFL 2017. Seville Spain. 2(1) (pp 16), 2017. Date of Publication: 2017. Author: Arretxe E.; Netanel C.; Iruarrizaga-Lejarreta M.; Lanza B.; Arribas J.; Alonso C.; Ortiz P.; Ben-Ari Z. Institution: (Arretxe, Iruarrizaga-Lejarreta, Lanza, Arribas, Alonso, Ortiz) OWL, Metabolomics Department, Derio, Spain (Netanel, Ben-Ari) Sheba Medical Center, Liver Disease Center, Tel Hashomer, Israel (Ben-Ari) Tel Aviv University, Sackler School of Medicine, Tel Aviv, Israel Publisher: S. Karger AG

Abstract: Background and Aims: Obesity is a reported risk factor for several diseases, such as nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Bariatric surgery can improve the prognosis in NAFLD associated obesity. NAFLD can be diagnosed by a liver biopsy however it is an invasive procedure thus is unsuitable to incorporate in the routine clinical follow-up. We have developed a noninvasive test for the diagnosis of NAFLD and of nonalcoholic steatohepatitis (NASH). The aim of the study is to assess a lipidomic signature able to predict patients with higher predisposition to lose more weight than the average, after 3, 6 and 12 months from the bariatric surgery, and to determine the benefits on the evolution of NAFLD. Method(s): Serum samples from 24 patients undergoing bariatric surgery were collected before and 3, 6 and 12 months after the intervention. Lipidomics analysis of the serum samples was performed by liquid chromatography-mass spectrometry and its relationship with the predisposition to lose weight was determined. Additionally, NAFLD diagnosis was monitored through a noninvasive test established on the basis of 467 biopsy- proven patients (controls = 90; steatosis = 246; NASH = 131) and two BMI-dependent logistic regression algorithms: discriminating between NAFLD and healthy liver (OWLiver Care;

ROC = 0.90 ± 0.02) and between NASH and steatosis (OWLiver; ROC = 0.95 ± 0.01). Result(s): Patients (mean \pm sd age = 43.7 ± 11.1 years, BMI = 41.9 ± 4.9 kg/m²; female = 33 %) with bland steatosis (67 %) and NASH (29 %) underwent bariatric surgery. The average loss of the body weight was 20 %, 26 % and 28 % at 3, 6 and 12 months after the intervention, respectively. Lipidomic analysis revealed that patients losing more than the average weight at 3, 6 or 12 months had lower levels of ceramides and sphingomyelins before the intervention ($p < 0.05$). Patients who lost more than 30 % of body weight after 12 months also showed lower levels of triglycerides and phospholipids before the surgery ($p < 0.05$). According to the noninvasive test, 45 % of weight loss responders improved their diagnosis (from NASH to bland steatosis or no-NAFLD, or from bland steatosis to no-NAFLD). Original diagnosis remained unchanged for the 77 % of the patients who lost lower weight. Conclusion(s): Unique lipidomic serum profiling can determine a higher predisposition to weight reduction after bariatric surgery in obese NAFLD patients.

Title: Determination of the prevalence of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in a healthy adult population, using two lipidomic diagnostic methods.

Source: Inflammatory Intestinal Diseases. Conference: 1st International Conference on Fatty Liver, ICFL 2017. Seville Spain. 2(1) (pp 59-60), 2017. Date of Publication: 2017. Author: Garcia W.; Mayo R.; Gil-Aldea I.; Cemborain A.; Purroy A.; Huarte M.P.; Uriz J.; Zozaya J.M.; Minchole I.; Martinez-Arranz I.; Lanza B.; Arribas J.; Vadillo A.; Castro A.; Ortiz P. Institution: (Garcia, Mayo, Minchole, Martinez-Arranz, Lanza, Arribas, Vadillo, Castro, Ortiz) OWL, Metabolomics Department, Derio, Spain (Gil-Aldea, Purroy) Biobanco Navarrabiomed, Fundacion Miguel Servet. Servicio Navarro De Salud, Pamplona, Spain (Cemborain) Banco De Sangre y Tejidos De Navarra BSTN, Complejo Hospitalario De Navarra CHN. Servicio Navarro De Salud, Pamplona, Spain (Huarte, Uriz, Zozaya) Servicio De Aparato Digestivo, Complejo Hospitalario De Navarra, Pamplona, Spain Publisher: S. Karger AG.

Abstract: Background and Aims: Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD), the most frequent chronic hepatic disease in the western world, is often associated to obesity and diabetes. NAFLD evolves from steatosis or fat accumulation in the liver to Non- Alcoholic Steatohepatitis (NASH), involving inflammation, cell damage and progressive fibrosis. Liver biopsy, the standard method to diagnose NASH, is, however, expensive, invasive, prone to errors and involves risks for the patient. We therefore urgently need to find new alternative non-invasive diagnostic methods. OWL has

developed a method based on blood lipidomics, which allows to determine the degree of NAFLD and consists of two tests: OWLiverCare, which discriminates between healthy liver and NAFLD, and OWLiver, which differentiates between steatosis and NASH. The aim of this study was to determine the prevalence of NAFLD in a healthy adult population (OWLiverCare) and to identify those individuals with a greater probability of having NASH (OWLiver). Method(s): A total of 310 individuals were recruited among voluntary blood donors from Navarra's Blood and Tissue Bank (BSTN). They gave informed consent and filled up a questionnaire on food and alcohol consumption habits, as well as their clinical history. Various anthropometric parameters were also measured and these exclusion criteria were considered: any hepatopathy, metabolic syndrome, risk of alcohol consumption and last food intake lower than 3 hours. Result(s): Out of the 310 volunteers, 48 were eliminated from the study due to non-compliance with one or several of the exclusion criteria. 262 voluntaries finally participated, with the following test results: 168 individuals had a healthy liver (64.1 %), 69 steatosis (26.3 %) and 25 NASH (9.5 %). NAFLD prevalence increased with body mass index (BMI), ranging progressively from lower than 20% for BMIs <24 kg/m² to over 50 % for BMIs >30 kg/m². Similarly, a higher prevalence of NASH was observed with age, increasing in donors over 40 years old. Conclusion(s): Results obtained are in agreement with the worldwide 20-30 % NAFLD prevalence reported. Besides, around 9 % of these donors might suffer from NASH. These will be followed up by a hepatologist and those with steatosis by primary care, recommending diet, exercise and an echography if considered appropriate.

Title: A non-invasive lipidomic test accurately discriminates NASH from steatosis and tracks evolution of the disease.

Source: Hepatology. Conference: 67th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases: The Liver Meeting 2016. Boston, MA United States. 64(1 Supplement 1) (pp 559A), 2016. Date of Publication: October 2016. Author: Perez-Cormenzana M.; Garcia M.C.; Antolin B.; Mora N.; Martinez-Arranz I.; De Luis D.R.; Alonso C.; Aller R. Institution: (Perez-Cormenzana, Martinez-Arranz, Alonso) OWL, Derio, Spain (De Luis, Aller) Department of Endocrinology and Nutrition, Hospital Clinico Universitario, University of Valladolid, Valladolid, Spain (Garcia, Antolin, Mora, Aller) Department of Digestive Disease, Hospital Clinico Universitario, University of Valladolid, Valladolid, Spain Publisher: John Wiley and Sons Inc.

Abstract: BACKGROUND: Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) includes a spectrum of histological phenotypes including steatosis,

steatohepatitis (NASH) and fibrosis. While liver biopsy is the reference for diagnosis, it is invasive and associated with procedural risks and sampling variability. Thus, there is urgent need for a noninvasive and robust diagnostic procedure. Recently, we have described a serum-based lipidomic signature associated with NAFLD able to fulfill these unmet clinical diagnostic needs by: (1) differentiating NAFLD from healthy cohort, (2) discriminating between steatosis and NASH. AIMS: To validate this non-invasive assay in NAFLD diagnosis using blind-histology as a reference standard and then apply these test in the follow-up of the patients. METHOD(S): Thirty patients were enrolled as a blind, biopsy-proven NAFLD cohort, collecting the serum samples at the time of liver biopsy. Metabolic syndrome was assessed based on the presence of at least three of the conditions listed by the NCEP ATP III. Patients were prescribed a hypocaloric diet (1500kcal/day) and aerobic exercise (30-60min/day), monitored for 2 to 5 years, at which point a new serum sample was collected. The lipidomic test was established on the basis of 467 biopsy-proven patients (controls=90; steatosis=246; NASH=131) and two BMI-dependent logistic regression algorithms: 1) discriminating between NAFLD and healthy liver (assay name: OWLiver Care) and 2) between NASH and steatosis (OWLiver). The diagnostic performances of both assays were assessed by area under the ROC curve, positive and negative predictive values: 1) 0.90 ± 0.02 , 0.89 and 0.88, respectively; 2) 0.95 ± 0.01 , 0.89 and 0.90. RESULT(S): Applied to the independent biopsy-proven cohort (46 ± 12 years, 33% female, weigh=86 ± 15kg; BMI=32 ± 5kg/m²), the test diagnosed correctly 28 out of 30 patients, misclassifying one patient having NASH with NAS score=2, but presenting metabolic syndrome; and one patient as having steatosis with NAS score=5, although without ballooning. Once validated, the test was applied to the follow-up of the patients (weigh=84 ± 14kg; BMI=31 ± 4kg/m²). 31% of the patients lose at least 5% of baseline body weight. Among those responders, 50% of them improved their diagnosis presenting positive post-interventional shifts from NASH to steatosis or steatosis to healthy liver. Interestingly, the original diagnosis remained unchanged for the 95% of the non-responder patients. CONCLUSION(S): The results obtained in the independent cohort support the feasibility of these lipidomic tests as a non-invasive tool for NAFLD diagnosis and to monitor the disease progression/regression while circumventing the need for repeat liver biopsy.

Title: Clinical validation of a non-invasive lipidomic test for the diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease.

Source: Journal of Hepatology. Conference: 51st Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, International Liver Congress 2016. Barcelona Spain. Conference Publication: (var.pagings).

64(2 SUPPL. 1) (pp S492-S493), 2016. Date of Publication: April 2016. Author: Salvador P.; Blanco S.; Irazabal-Remuinan N.M.; Martinez-Arranz I.; Erana-Ledesma L.F.; Minchola I.; Menendez F.; Mayo R.; Ruiz P.; Gonzalez-Monasterio R.; Delgado E.; Arenas J.I.; Martos M.; Otegui A.; Arregui G.; Eizmendi M.C.; Urquiola S.; Vicente R.S.; Castro A.; Ortiz P.; Pijoan J.I.; Bustamante J. Institution: (Salvador, Bustamante) Gastroenterology and Hepatology Unit, Hospital Universitario Cruces, BioCruces Health Research Institute, Barakaldo, Spain (Blanco, Menendez) Gastroenterology Unit, Hospital Universitario Basurto, Bilbao, Spain (Irazabal-Remuinan, Erana-Ledesma) Gastroenterology Unit, Hospital Universitario Araba (Santiago), Vitoria-Gasteiz, Spain (Martinez-Arranz, Minchola, Mayo, Castro, Ortiz) One Way Liver, S.L. (OWL), Derio, Spain (Ruiz, Gonzalez-Monasterio) Gastroenterology Unit, Hospital San Eloy, Barakaldo, Spain (Delgado) Gastroenterology Unit, Hospital Universitario Araba (Txagorritxu), Vitoria-Gasteiz, Spain (Arenas, Martos) Gastroenterology Unit, Hospital Universitario Donostia, Donostia-San Sebastian, Spain (Otegui, Arregui, Eizmendi, Urquiola, Vicente) Centro de Salud de Zumarraga, Zumarraga, Spain (Pijoan) Clinical Epidemiology and Methodology Support Unit, Hospital Universitario Cruces, BioCruces Health Research Institute, Barakaldo, Spain Publisher: Elsevier.

Abstract: Background and Aims: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common chronic liver disease in most developed countries. NAFLD ranges from simple steatosis to the appearance of inflammation, cell damage and progressive fibrosis in the more severe non-alcoholic steatohepatitis (NASH) condition, which may also evolve to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The prevalence of NAFLD is high and its incidence has recently risen in most countries due to the current obesity epidemic. There is a clear need for non-invasive markers that allow the diagnosis of this disease without the practice of a liver biopsy. The objective of this study is to assess, firstly, the ability of the OWLiver diagnostic test to discriminate between simple steatosis and steatohepatitis (diagnostic value) and, secondly, its predictive value in the monitoring and prognosis of NAFLD (prognostic value). **Method(s):** A total of 22 clinicians from 6 hospitals and 1 primary care centre from the Basque Country Public Health System participated in this study, in which 98 NAFLD patients were recruited. Patients were prescribed diet and exercise and were monitored for 18 months, with visits at 0, 9 and 18 months, when serum was collected and metabolic profiling performed. Preliminary results for 77 patients that already finished follow-up are presented here. **Result(s):** 40 females and 37 males with a mean age of 50 years (sd: 10.0) and a mean body mass index (BMI) of 30.2 kg/m² (sd: 11.3) were studied. OWLiver results were consistent with those obtained from biochemical and anthropometric analyses. They were also consistent with the

adherence of some of these patients (19 %) to diet and exercise. Changes in the metabolic profile of some patients were obvious and shifts from both NASH to steatosis or steatosis to a healthy liver were observed. Only in patients with high fibrosis or cirrhosis the test did not perform well, due to the resemblance of the metabolic profile of these patients to those with a normal liver. Conclusion(s): The OWLiver test is able to non-invasively discriminate between steatosis and NASH, using just a serum sample and avoiding a liver biopsy. The test is less accurate in extreme cases, such as patients with a high amount of fibrosis or cirrhosis. The test emerges as a highly useful tool for specialists to identify those patients with steatosis or normal liver and direct them to primary care, allowing the specialist to focus on patients either with NASH or at risk of developing this more severe condition.

Title: A non-invasive lipidomic test accurately discriminates non-alcoholic steatohepatitis from steatosis: A blind validation study.

Source: Journal of Hepatology. Conference: 51st Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, International Liver Congress 2016. Barcelona Spain. Conference Publication: (var.pagings). 64(2 SUPPL. 1) (pp S478), 2016. Date of Publication: April 2016. Author: Crespo J.; Martinez-Arranz I.; Romero-Gomez M.; Mayo R.; De La Fuente R.A.; Caballeria J.; De Luis D.A.; Alonso C.; Vitek L.; Ortiz P.; Bruha R. Institution: (Crespo) Hospital Universitario Marques de Valdecilla, Universidad de Cantabria, Instituto de Investigacion Marques de Valdecilla (IDIVAL), Santander, Spain (Martinez-Arranz, Mayo, Alonso, Ortiz) OWL, Derio, Spain (Romero-Gomez) UG MQ Enf. Digestivas, Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme, Universidad de Sevilla, Sevilla, Spain (De La Fuente, De Luis) Hospital Clinico Universitario de Valladolid, Valladolid, Spain (Caballeria) Liver Unit, Hospital Clinic, CIBERehd, IDIBAPS, Barcelona, Spain (Vitek, Bruha) Faculty of Medicine, Charles University of Prague, Prague, Czechia Publisher: Elsevier.

Abstract: Background and Aims: Non-alcoholic fatty liver disease (NALFD) is the most common cause of chronic liver diseases worldwide and includes a broad spectrum of histological phenotypes, such as steatosis and steatohepatitis (NASH). While liver biopsy is the reference gold-standard for NAFLD diagnosis, it has the limitations due to its sampling variability, invasive nature and the high cost. Thus, there is a need for non-invasive, robust and reliable, as well as cost-effective procedure. Recently, we have described a serum-based, body mass index-dependent lipidomic signature associated to NAFLD, including 467 biopsy proven NAFLD patients. The aim of this study was to validate this non-invasive test in NAFLD diagnosis using blind-histology as a reference standard. Method(s): Five hospitals were

involved in the enrolment of a new blind, biopsy-proven NAFLD cohort to validate the lipidomic test. Finally, 181 patients were included (healthy liver = 30; steatosis = 66; NASH = 85). The serum lipidomic profile was analysed by UPLC-MS. The developed lipidomic test for NAFLD diagnosis was based in two logistic regression algorithms, firstly discriminating between healthy liver and NAFLD (named OWLiver Care), and secondly between NASH and simple steatosis (named OWLiver). The diagnostic performances of both tests were assessed by area under the receiver operating characteristic curve (ROC), sensitivity (se), specificity (sp), positive and negative predictive value (PPV and NPV): 0.90 ± 0.02 , 0.98, 0.78, 0.89 and 0.88, respectively for the first discrimination between healthy liver and NAFLD; 0.95 ± 0.01 , 0.83, 0.94, 0.89 and 0.90 for the discrimination between NASH and simple steatosis. Result(s): Overall, the enrolled subjects were 39% female, aged 46 years and obese (mean BMI = 34). Applied to this independent cohort, the performance of the discrimination between healthy liver and NAFLD remained similar, improving the specificity and PPV: $AUC = 0.91 \pm 0.04$, se = 0.92, sp = 0.87, PPV = 0.97 and NPV = 0.68. The performance of the discrimination between NASH and steatosis decreased slightly, as expected in an independent validation cohort, although the specificity improved as in the previous step of the test: $AUC = 0.88 \pm 0.03$, se = 0.78, sp = 0.95, PPV = 0.95 and NPV = 0.76. Conclusion(s): The results obtained in the independent validation cohort supports that the assessed non-invasive lipidomic tests accurately discriminates firstly between healthy liver and NAFLD, and secondly between NASH and simple steatosis.

