

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca>

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=es>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



**TESI DOCTORAL**

**Prevalença de dèficits de micronutrients i  
d'insuficiència pancreàtica exocrina en pacients  
amb cirrosi hepàtica descompensada**

**GEMMA LLIBRE NIETO**

**Sabadell, 2023**



TESI DOCTORAL

**PREVALENÇA DE DÈFICITS DE MICRONUTRIENTS I  
D'INSUFICIÈNCIA PANCREÀTICA EXOCRINA EN PACIENTS  
AMB CIRROSI HEPÀTICA DESCOMPENSADA**

**Doctoranda:**

**GEMMA LLIBRE NIETO**

**Directors: Jordi Sánchez Delgado i Mireia Miquel Planas**

**Tutora: Assumpta Caixàs Pedragós**

Programa de Doctorat en Medicina. Departament de Medicina.

Universitat Autònoma de Barcelona

Sabadell, 2023



“Half of what you’ll learn in medical school will be shown to be either dead wrong or out of date within five years of your graduation; the trouble is that nobody can tell you which half – So the most important thing to learn is how to learn on your own.”

[David Sackett]



## DEDICATÒRIA

Als meus **parens – Consol i Josep –**, perquè sense vosaltres i els vostres grans valors no seria com sóc. Gràcies per haver-me inculcat el valor de l'esforç i per haver-me ensenyat que compartir i cooperar és la forma més ràpida d'avançar. Gràcies per aconsellar-me i recolzar-me sempre - tant en la vida personal com professional -, i també per deixar que m'equivoqui de tant en tant... Us estimo.

A l'**Aina**, per ensenyar-me l'amor més bonic que existeix i ser el meu motor.

Al **Pablo**, per ser el meu millor amic, la millor persona que conec, el meu nord i el meu gran recolzament. Gràcies per tot el que hem construït junts i, sobretot, gràcies per ensenyar-me a valorar el que realment importa.

Als meus quatre **avis**: els herois sense capa de la meva infància. Gràcies per ensenyar-me tantíssimes coses...Us trobo a faltar molt.

Als meus **tiets i cosins – Nacho, Dolors, Eva i Xavi –**, la meva segona família. Simplement, gràcies per rescatar-me sempre que ho he necessitat.

Al **Pablo** i a l'**Edi**, per acollir-me i estimar-me com a una filla.

A la **Sílvia**, l'**Arnau**, la **Maria**, la **Marina**, la **Clara** i la **Clàudia**. Gràcies per ser-hi des de sempre i fins sempre. Sou els millors amics que es poden tenir.

Al grup de "Sardines" (**Maria, Clàudia, Àlex, Georgina, Xavi, Eva i Marta**): tot i que la vida ha fet que ara molts visquem en llocs diferents, les estones de riure (i plorar de riure) amb vosaltres sempre són la millor desconexió.

A l'**Alba**, una gran amiga amb la que he tingut la sort de compartir moltes aventures: ESO, Batxillerat, treball de recerca, selectivitat, 6 anys de Medicina, les pràctiques a Filadèlfia, l'examen MIR...L'únic que puc fer és somriure mentre escric tot això. Sempre serem "els Nobels del futur" :)... potser sí que qui ens ho va dir va ser una mica massa ambiciós, però tinc claríssim que arribaràs tan lluny com et proposis. T'admiro!

Al **Jordi Sánchez**, a qui ja considero un amic. Gràcies per tantíssim..., però, sobretot, gràcies per haver confiat en mi des del principi.





## AGRAÏMENTS

Primerament, vull donar les gràcies al **Jordi Sánchez**, el verdader impulsor d'aquest projecte. Gràcies per confiar en mi des del primer moment per desenvolupar i materialitzar el que, inicialment, era una petita gran idea. Gràcies, també, pel teu entusiasme i ganes de seguir sempre endavant (inclòs quan la metodologia principal de l'estudi es torça...i molt!) i per saber treure sempre la part positiva dels petits i grans contratemps.

Gràcies, per descomptat, a la **Laia Grau** per acollir-me a casa seva i ajudar-me amb tota l'estadística dels estudis. Sé que ha estat una feineda....moltes gràcies!

Agrair també la implicació i la meticulositat de la **Mireia Miquel**, sempre primmirant fins l'últim detall i vetllant pel català correcte.

Gràcies a tots els meus companys del **Servei de Digestiu del Taulí**, especialment als "resis", per les bones estones compartides durant tot aquest temps, tan a dins com a fora de l'Hospital. També vull fer un agraïment especial a la **Merche Vergara** - per escoltar-me i aconsellar-me sempre que ho vaig necessitar durant la meva etapa de resident - i a l'**Albert Villoria** i al **Xavi Calvet**, per les bones estones a la planta de "Gastro".

Per descomptat, aquesta tesi no hagués estat possible sense l'ajuda dels companys d'infermeria de la 8a planta del Taulí (**Josep Maria, Núria, Noemí, Montse i Fanny**) i sense la gran implicació de la **Gemma Solé**, la **Marta Solà** i l'**Antònia Humanes**. Moltes gràcies a tots! Gràcies, també, als **pacients** que van participar altruïstament en els estudis que conformen aquesta tesi, ja que sense ells res d'això tindria sentit.

També vull fer un especial agraïment al **Salvador Navarro** per haver sabut motivar-me en la meva etapa d'estudiant i alhora per ensenyar-nos coses tan importants com que *Everybody is free to wear sunscreen*.

Per últim, i no per això menys importants, vull donar les gràcies als meus companys del **Servei de Digestiu de l'Hospital de Granollers**, per haver creat un ambient distès, ple de confiança i de companyerisme que fa que puguem gaudir de la nostra feina i seguir creixent i aprenent junts cada dia. Gràcies, **Bea, Blau, Carmen, Jair, Sergio, Quim** i, sobretot, gràcies, **Francesc**, per haver estat el catalitzador del canvi.



## ABREVIATURES

**APRI:** *Aspartate aminotransferase to Platelet Ratio Index*

**AUROC:** *Area Under the Receiver Operating Characteristic Curve*

**CAP:** Centre d'atenció primària

**CH:** Cirrosi hepàtica

**CHC:** Carcinoma hepatocel·lular

**cm<sup>3</sup>:** Centímetres cúbics

**<sup>13</sup>C-MTG:** Triglicèrids mixtes marcats amb carboni-13

**CPRE:** Colangiopancreatografia retrògrada endoscòpica

**CPRM:** Colangiopancreatografia per ressonància magnètica

**DM:** *Diabetis mellitus*

**EASL:** *European Association for the Study of the Liver*

**EF:** Elastasa fecal

**EH:** Encefalopatia hepàtica

**ELISA:** *Enzyme-linked immunoabsorbent assay*

**EUA:** Estats Units d'Amèrica

**FQ:** Fibrosi quística

**GPVH:** Gradient de pressió venosa hepàtica

**HTA:** Hipertensió arterial

**HTPo:** Hipertensió portal

**IMC:** Índex de massa corporal

**IPE:** Insuficiència pancreàtica exocrina

**KPa:** Quilopascal



**MAFLD:** Metabolic associated faty liver disease / Malaltia per fetge gras associada a disfunció metabòlica

**MELD:** Model for end-stage liver disease / Model de malaltia hepàtica en fase final

**METAVIR:** Meta-analysis of Histological Data in Viral Hepatitis / Metaanàlisi de dades histològiques en hepatitis víriques

**MHz:** Megahertz

**MiRNA:** Microribonucleic acid / Àcid microribonucleic

**mmHg:** Mil·límetres de mercuri

**NAFLD:** Non-alcoholic fatty liver disease / Malaltia per fetge gras no associada a l'alcohol

**OMS:** Organització Mundial de la Salut

**PA:** Pancreatitis aguda

**PC:** Pancreatitis crònica

**RBP:** Retinol binding protein / Proteïna lligadora del retinol

**RM:** Ressonància magnètica

**ROS:** Reactive Oxygen Species / Espècies reactives a l'oxigen

**TC:** Tomografia computeritzada

**TDF:** Thiamine diphosphate / Difosfat de tiamina

**TP:** Temps de protrombina

**TREP:** teràpia de reemplaçament amb enzims pancreàtics

**USE:** Ultrasonografia endoscòpica

**VHB:** Virus de l'Hepatitis B

**VHC:** Virus de l'Hepatitis C

**XL:** Extra Large / Extra gran



# ÍNDEX

<b>Resum</b> .....	19
<b>Summary</b> .....	23
<b>1. Introducció</b> .....	27
1.1. Generalitats de la cirrosi hepàtica.....	27
1.1.1. Fisiopatologia.....	27
1.1.2. Epidemiologia.....	28
1.1.3. Etiologia.....	28
1.1.4. Manifestacions clíniques i complicacions.....	29
1.1.5. Mètodes diagnòstics.....	30
1.1.5.1. Biòpsia hepàtica.....	30
1.1.5.2. Elastografia hepàtica.....	31
1.1.5.3. Tests serològics indirectes.....	32
1.1.6. Història natural.....	32
1.2. Estat nutricional en pacients amb cirrosi hepàtica.....	35
1.2.1. Vitamines liposolubles.....	37
1.2.2. Vitamines hidrosolubles.....	39
1.2.3. Oligoelements.....	40
1.3. Insuficiència pancreàtica exocrina.....	41
1.3.1. Generalitats de la insuficiència pancreàtica exocrina.....	41
1.3.2. Etiologia i manifestacions clíniques.....	42
1.3.3. Epidemiologia.....	43
1.3.4. Diagnòstic.....	44
1.3.5. Tractament.....	46
1.3.6. Insuficiència pancreàtica exocrina en cirrosi hepàtica.....	46
<b>2. Hipòtesi</b> .....	49
<b>3. Objectius</b> .....	51
3.1. Objectiu principal.....	51
3.2. Objectius secundaris.....	51
<b>4. Compendi de publicacions</b> .....	53
4.1. Primer article.....	53
4.2. Segon article.....	69
<b>5. Resum global de resultats</b> .....	85





<b>6. Resum global de la discussió.....</b>	<b>89</b>
<b>7. Conclusions.....</b>	<b>105</b>
<b>8. Futures línies d'investigació.....</b>	<b>107</b>
<b>9. Bibliografia.....</b>	<b>109</b>



## **RESUM**

La cirrosi hepàtica (CH) és el resultat final de diverses malalties hepàtiques cròniques, que es produeix com a conseqüència d'una agressió continuada al fetge. La CH es pot dividir en una fase compensada i una de descompensada, presentant aquesta segona unes manifestacions clíniques que comporten un pitjor pronòstic i una menor supervivència. Una de les grans complicacions que presenten els pacients amb CH, sobretot aquells que es troben en etapes més avançades de la malaltia, és la malnutrició, tan a nivell de macronutrients com de micronutrients.

Per a realitzar una correcta aproximació terapèutica a nivell nutricional en els pacients amb CH descompensada, cal conèixer primer les deficiències característiques d'aquesta població. A més, cal avaluar l'existència d'altres factors diferents a la malaltia hepàtica que puguin contribuir i exacerbar l'estat de malnutrició d'aquests pacients, que tant impacta sobre la seva morbimortalitat.

Amb aquesta motivació esmentada, els dos estudis que componen aquesta tesi doctoral pertanyen a una mateixa línia d'investigació i estan realitzats amb pacients amb CH descompensada: d'una banda, s'estudia la prevalença de dèficits de micronutrients que presenten aquests pacients i, de l'altra, s'estudia la prevalença d'insuficiència pancreàtica exocrina (IPE), la qual està relacionada amb maldigestió de greixos i dèficits de micronutrients.

En relació al primer estudi, en el moment de la seva realització, es va detectar una elevada prevalença de dèficit de vitamina A (93.5%), vitamina D (94.5%) i zinc (85.6%). Menys de l'1% de la mostra presentava nivells òptims de vitamina D >30ng/mL, mentre que un 75.2% tenia un dèficit sever (<10ng/mL).

La prevalença objectivada de dèficit de vitamina B6 i vitamina C va ser de 60.8% i 50.5%, respectivament, mentre que la prevalença de dèficit de vitamina E va ser de 15.4%. En

menor mesura, es va detectar un dèficit de vitamina B1 en un 3.7% dels pacients i un dèficit de vitamina K, en un 3.1%. Cap pacient va presentar un dèficit de vitamina B12.

Quant a la resta d'oligoelements, es va detectar una prevalença de dèficit de ferro i fòsfor de 38.4% i 34.4%, respectivament. El dèficit de coure va ser de 16.8% i el de magnesi, de 12.8%. El dèficit d'àcid fòlic i calci va ser de 4.6% i 5.2%, respectivament.

Pel que fa a la funció hepàtica, vam objectivar que els pacients *Child-Pugh* B i C presentaven nivells sèrics significativament més baixos de vitamina A ( $p < 0.0001$ ), zinc ( $p < 0.0001$ ), vitamina E ( $p = 0.01$ ) i magnesi ( $p = 0.05$ ). A més, els pacients *Child-Pugh* C tenien concentracions sèriques més elevades de ferro ( $p = 0.009$ ), ferritina ( $p = 0.002$ ) i vitamina B12 ( $p < 0.0001$ ) que els pacients *Child-Pugh* A i B. De la mateixa manera, els pacients amb puntuació més elevada en l'índex *Model for end-stage liver disease (MELD)*, presentaven nivells sèrics més baixos de vitamina A ( $p < 0.0001$ ), vitamina E ( $p = 0.001$ ), magnesi ( $p = 0.01$ ) i zinc ( $p = 0.02$ ) i valors més elevats de ferritina ( $p = 0.002$ ) i de vitamina B12 ( $p < 0.0001$ ).

En relació al segon estudi, la nostra hipòtesi de treball era que els pacients amb CH descompensada d'etiologia enòlica podien presentar una prevalença més elevada de pancreatitis crònica (PC) i, com a conseqüència, també d'IPE, ja que presentaven un consum excessiu d'alcohol com a factor de risc d'aquestes entitats. El resultat que vam trobar va ser una prevalença d'IPE de 26.9%, definida per la presència de dues mostres d'elastasa fecal (EF)  $< 200 \mu\text{g/g}$ . D'aquests pacients amb IPE, un 81.2% presentaven etiologia alcohòlica de la CH mentre que un 18.8% presentava una etiologia no alcohòlica.

Vam estudiar la possible correlació entre la IPE trobada en aquests pacients i la presència de PC i el que vam trobar és que només un 9.2% del total dels pacients va presentar criteris radiològics de PC. Val a dir que dins d'aquest grup amb PC, hi havia més pacients amb IPE respecte al grup sense criteris de PC: 21.9% vs. 5.1%,  $p = 0.0013$ .

Pel que fa a les manifestacions clíniques d'IPE prèviament a l'ingrés, un 32.8% del total de pacients va reportar presentar diarrea, 26.9% va reportar esteatorrea i un 12.6% va referir dolor epigàstric recurrent. Ara bé, aquestes manifestacions no van servir per discriminar els pacients que presentaven PC dels que no.

Per últim, en aquest estudi també es van avaluar els dèficits de micronutrients de tots els pacients i no es van trobar diferències significatives entre els que presentaven IPE i els que presentaven EF normal.



## **SUMMARY**

Liver cirrhosis (LC) is the end result of several chronic liver diseases, which occurs as a result of continued aggression to the liver. LC can be divided into a compensated and a decompensated phase, the latter presenting clinical manifestations that lead to a poorer prognosis and lower survival. One of the major complications presented by patients with LC, especially those in more advanced stages of the disease, is malnutrition, both at the level of macronutrients and micronutrients.

In order to carry out a correct therapeutic approach at the nutritional level in patients with decompensated LC, it is first necessary to know the characteristic deficiencies of this population. In addition, it is necessary to evaluate the existence of other factors different from the liver disease itself that may contribute to and exacerbate the state of malnutrition in these patients, which has such an impact on their morbimortality.

With this previously mentioned motivation, the two articles that make up this doctoral thesis belong to the same line of research and are carried out in patients with decompensated LC: on the one hand, the prevalence of micronutrient deficits presented by these patients is evaluated and, on the other, we study the prevalence of exocrine pancreatic insufficiency (EPI), which is related to fat maldigestion and micronutrient deficiencies.

In relation to the first study, at the time of its completion, we detected a high prevalence of vitamin A deficiency (93.5%), vitamin D deficit (94.5%) and zinc deficit (85.6%). Less than 1% of the patients presented optimal levels of vitamin D >30ng/mL, while 75.2% had a severe deficiency (<10ng/mL). We found a prevalence of vitamin B6 and vitamin C deficiency of 60.8% and 50.5%, respectively, while the prevalence of vitamin E deficiency



was 15.4%. To a lesser extent, vitamin B1 deficiency was detected in 3.7% of patients and vitamin K deficiency in 3.1%. No patient presented vitamin B12 deficiency.

Regarding the other trace elements, we detected a prevalence of iron and phosphorus deficits of 38.4% and 34.4%, respectively. The copper deficit was 16.8% and the magnesium deficit was 12.8%. The deficit of folic acid and calcium was 4.6% and 5.2%, respectively.

In relation to liver function, we observed that Child-Pugh B and C patients presented significantly lower serum levels of vitamin A ( $p < 0.0001$ ), zinc ( $p < 0.0001$ ), vitamin E ( $p = 0.01$ ) and magnesium ( $p = 0.05$ ). In addition, Child-Pugh C patients had higher serum iron ( $p = 0.009$ ), ferritin ( $p = 0.002$ ), and vitamin B12 ( $p < 0.0001$ ) than Child-Pugh A and B patients. Likewise, patients with a higher MELD score had lower serum levels of vitamin A ( $p < 0.0001$ ), vitamin E ( $p = 0.001$ ), magnesium ( $p = 0.01$ ) and zinc ( $p = 0.02$ ) and higher values of ferritin ( $p = 0.002$ ) and vitamin B12 ( $p < 0.0001$ ).

In relation to the second study, our working hypothesis was that patients with decompensated LC of alcoholic etiology could present a higher prevalence of chronic pancreatitis (CP) and, as a consequence, also of EPI, since they presented excessive alcohol consumption as a risk factor for these entities. The result we found was a prevalence of EPI of 26.9%, defined by the presence of two samples of fecal elastase (FE)  $< 200 \mu\text{g/g}$ . Of these patients with EPI, 81.2% had an alcoholic etiology of LC, while 18.8% had a non-alcoholic etiology.

We studied the possible correlation between the EPI found in these patients and the presence of chronic pancreatitis (CP) and what we found is that only 9.2% of the whole patients presented radiological criteria of CP. Within this group of patients, there were more subjects who presented EPI than in the group without CP criteria: 21.9% vs. 5.1%,  $p = 0.0013$ .

Regarding clinical manifestations of EPI prior to admission, 32.8% of the whole patients reported diarrhea, 26.9% reported steatorrhea and 12.6% referred recurrent epigastric pain. However, these manifestations did not serve to discriminate the patients who presented CP from those who did not.

Finally, this study also assessed the micronutrient deficiencies of all patients and found no significant differences between those with EPI and those with normal FE.



# **1. INTRODUCCIÓ**

## **1.1. GENERALITATS DE LA CIRROSI HEPÀTICA**

### **1.1.1. Fisiopatologia**

La CH és el resultat final de diverses malalties hepàtiques cròniques, que es produeix com a conseqüència d'una agressió continuada al fetge que genera un procés inflamatori progressiu. Aquesta inflamació acaba conduint a un procés de remodelatge i fibrosi, el qual consisteix en la substitució del parènquima hepàtic normal per dipòsits de matriu extracel·lular, essent aquest procés de remodelatge el precursor de la fase més avançada de fibrosi o fase de CH (1).

Hi ha molts tipus de cèl·lules, citocines i àcids microribonucleics (*miRNAs*) que estan implicats en la iniciació del procés de fibrosi i també en la progressió d'aquesta cap a la fase de cirrosi. L'exposició perllongada a agents nocius i/o a citocines inflamatòries produeix l'activació de les cèl·lules estrellades del fetge, que resideixen a l'espai de Disse i que normalment es troben en estat quiescent. Les funcions principals d'aquestes cèl·lules són l'emmagatzematge de vitamina A, la producció de matriu extracel·lular i la regulació de la microcirculació sinusoidal (2,3). Així doncs, l'activació de les cèl·lules estrellades és un esdeveniment clau per l'inici i la progressió de la fibrosi ja que és un dels principals contribuents a la formació de dipòsits de col·lagen (4,5).

En aquest procés, i a través de diferents mecanismes, també s'activen les cèl·lules de Kupffer, les quals destrueixen els hepatòcits i afavoreixen l'activació de les cèl·lules estrellades (6). Els hepatòcits danyats, al seu torn, alliberen espècies reactives a l'oxigen (*ROS*), que són molècules amb una forta capacitat oxidant, i mediadors que afavoreixen la fibrogènesi per par dels miofibroblasts (7). Diversos cicles repetits d'apoptosi cel·lular

i regeneració del teixit en forma de dipòsits de col·lagen i matriu extracel·lular són el que acaba produint la fibrosi hepàtica i, en última instància, la cirrosi.

### **1.1.2. Epidemiologia**

Actualment, les malalties hepàtiques i la cirrosi són la 12a causa de mort als EUA (8). Estudis recents, a més, suggereixen que es tractaria de la 8a causa de mort a nivell general i la 3a causa de mort en persones d'entre 45-64 anys (9-11). A més, suposen una gran causa de morbiditat i una gran part d'ocupació i utilització dels recursos sanitaris a nivell mundial (9).

Es desconeix quina és la prevalença real de CH a nivell mundial (12). L'any 1998, es va estimar una prevalença del 0.15% als EUA (13), on es van registrar més de 25.000 morts per aquesta causa i on es van comptabilitzar unes 373.000 altes hospitalàries en pacients afectes (14). El 2010, la cirrosi va ser catalogada com a diagnòstic en 727.000 altes hospitalàries als Estats Units i es van registrar 31.903 morts per aquesta causa (8). Xifres similars s'han obtingut de països europeus. Per contra, a la majoria de països asiàtics i de l'Àfrica subsahariana, les xifres són més elevades, sobretot per l'elevada prevalença d'hepatitis crònica per VHB i la manca de recursos per a detectar-la i evitar-ne la transmissió (15,16).

Tot i així, és probable que aquestes xifres siguin una infravaloració de les dades reals ja que la prevalença de cirrosi compensada no diagnosticada és elevada. Així doncs, es considera que una estimació raonable és que fins a un 1% de la població a nivell mundial podria tenir cirrosi a nivell histològic (12).

### **1.1.3. Etiologia**

Es coneixen múltiples causes de CH i la prevalença d'aquestes varia en funció de l'àrea geogràfica de la qual parlem. Al països desenvolupats, les etiologies més freqüents

actualment són el consum excessiu d'alcohol, l'hepatitis crònica per VHC i la malaltia per fetge gras associada a disfunció del metabolisme – o *MAFLD* segons el seu acrònim en anglès (17-19). Sí bé és cert, que des de la implementació al 2015 dels nous antivirals directes per l'hepatitis C, el pronòstic d'aquests pacients ha millorat de forma exponencial i s'han objectivat menys taxes d'hospitalització (20); a més de detectar i tractar precoçment la malaltia per tal de no arribar a fases avançades de cirrosi. D'altra banda, als països en vies desenvolupament, – com la major part d'Àsia i els països de l'Àfrica subsahariana – l'hepatitis crònica per VHB segueix essent la primera causa de malaltia hepàtica crònica (15,16,21). Existeixen altres causes menys freqüents de CH, com serien la colangitis biliar primària, l'hepatitis autoimmune, la colangitis esclerosant primària i altres, menys freqüents encara, com les malalties genètiques (la malaltia de Wilson i l'hemocromatosis) (22-29). Alguns casos també poden ser idiopàtics o criptogènics i, altres, poden ser secundaris a toxicitat farmacològica.

No obstant això, cal esmentar que en les últimes dècades, la *MAFLD* ha augmentat de forma molt important als països desenvolupats a causa del preocupant augment del sobrepès i l'obesitat, convertint-se en una de les principals causes de CH en aquestes àrees (30,31).

#### **1.1.4. Manifestacions clíniques i complicacions**

No és infreqüent que la cirrosi sigui asimptomàtica i indolent i que no es diagnostiqui fins a l'aparició de complicacions greus de la malaltia (12). Encara avui dia, hi ha una proporció considerable de pacients amb cirrosi que mai no arriba a l'atenció mèdica. També constitueix una troballa freqüent en les autòpsies d'aquests pacients que prèviament no havien estat diagnosticats (32).

No obstant això, el diagnòstic de cirrosi en fase asimptomàtica sol fer-se arran d'una troballa incidental a l'anàlisi en forma d'alteració del perfil hepàtic – que motiva la

realització de més exploracions – i/o de signes característics de cirrosi en una prova radiològica realitzada per un altre motiu.

En els darrers anys, gràcies a la campanya de la OMS per l'eliminació del VHC com a problema de salut pública abans del 2030, i també al fet de saber que fins a un 10% dels pacients amb *MAFLD* poden progressar a cirrosi, ha conduït a un augment de diagnòstics de forma més precoç en aquests grups d'alt risc (33).

No obstant això, i com ja s'ha comentat amb anterioritat, la presentació clínica inicial en forma de descompensació de la cirrosi és encara freqüent avui dia. Aquest debut en forma de CH descompensada es caracteritza per la presència de manifestacions clíniques greus, algunes de les quals són amenaçadores per la vida, com l'hemorràgia digestiva per varius, l'ascites, la peritonitis bacteriana espontània, el carcinoma hepatocel·lular (CHC) o l'encefalopatia hepàtica (12).

### **1.1.5. Mètodes diagnòstics**

#### **1.1.5.1. Biòpsia hepàtica**

La biòpsia hepàtica és el *gold standard* tradicional pel diagnòstic de la cirrosi, per l'estadiatge del grau de fibrosi i per esclarir l'etiologia d'una malaltia hepàtica no filiada. Per tal d'interpretar-ne els resultats sol utilitzar-se el sistema METAVIR, que divideix la malaltia en 5 fases consecutives en funció del grau de fibrosi existent: essent F0 l'absència de fibrosi; F1, la fibrosi portal; F2, la fibrosi periportal; F3, la presència de ponts de fibrosi entre diferents espais porta i F4, la cirrosi establerta (34).

No obstant això, hi ha diversos factors que influeixen en la precisió diagnòstica d'aquesta tècnica a l'hora de fer un correcte estadiatge: la mida de la mostra (35,36), l'etiologia de la malaltia (37), la localització de la punció (38) i la variabilitat intra i inter-observador (39). A més, cal esmentar que encara que la mida de la mostra sigui bona, el fragment de teixit que s'analitza és molt petit i tan sols representa un 0.002% del fetge, la qual

cosa fa que l'avaluació sigui inexacta i que es puguin classificar de manera errònia fins un 25% del total de biòpsies (36).

Per últim, cal dir que la limitació més important d'aquesta tècnica és que es tracta d'una prova invasiva, pel que associa una morbimortalitat no menyspreable (40). El dolor post-punció és molt habitual (fins a un 80% dels pacients en presenta) i, tot i que amb poca freqüència, també es poden produir complicacions greus com hematomes (0.2%), hemoperitoni (0.04%) i, fins i tot, la mort (0.01%) (41).

És per tots aquests motius, que va sorgir la necessitat d'avaluar altres alternatives no invasives per poder identificar el grau de fibrosi i així evitar la biòpsia hepàtica.

#### 1.1.5.2. Elastografia hepàtica

L'elastografia hepàtica és una tècnica relativament nova que s'utilitza per a l'avaluació no invasiva de la fibrosi hepàtica. Aquesta tècnica consisteix en l'ús d'un transductor emissor-receptor col·locat al final d'una sonda d'ecografia que transmet ones de pressió de 50 MHz a través del teixit hepàtic. La velocitat de l'ona de cisallament resultant és directament proporcional a la rigidesa hepàtica i és captada pel transductor de la sonda d'ecografia, de forma que es pot fer una estimació del grau de fibrosi (42). El volum tissular que es mesura és d'uns 4cm<sup>3</sup> i s'efectuen 10 mesures vàlides, és a dir, mesures amb una variabilitat inferior al 30% (40). Els valors normals varien entre 2.5 i 6.5-9 kPa en funció de l'etiologia de la malaltia hepàtica, sent el valor màxim 75KPa. Aquesta tècnica és especialment fiable per les formes més avançades de malaltia (F2-F4) i, sobretot, pel diagnòstic de cirrosi (F4) (40,43). A més, en els darrers anys, s'ha demostrat que existeix una bona correlació entre el valor d'elasticitat hepàtica i el de pressió portal, almenys per valors de pressió portal inferiors a 12mmHg. Així doncs, amb aquesta tècnica no només es pot identificar la fibrosi avançada i la cirrosi, sinó que es pot estratificar els pacients segons el risc de presentar hipertensió portal clínicament significativa (44,45). D'aquesta manera, es pot fer un maneig individualitzat en funció del



risc i s'estalvia la realització de proves invasives – com seria la fibrogastrososcòpia – en un subgrup de pacients.

Tot i així, l'aplicabilitat de la prova està limitada per la presència d'ascites i per l'obesitat (46), però amb l'ús d'una sonda *extra large* (XL), millora de forma notable l'èxit tècnic en els pacients amb obesitat. A més, la seva reproductibilitat és alta i la variabilitat entre diferents operadors és petita (42).

#### 1.1.5.3. Tests serològics indirectes

Els tests o marcadors serològics indirectes són fórmules matemàtiques senzilles que inclouen diversos paràmetres que s'han relacionat amb el desenvolupament de la fibrosi. El resultat d'aquests tests permet estimar el grau de fibrosi sense necessitat de realitzar proves invasives, la qual cosa els confereix una àmplia disponibilitat i aplicabilitat. En ser equacions matemàtiques també tenen l'avantatge de tenir una elevada reproductibilitat entre diferents laboratoris (47).

Entre els diversos marcadors, destaquen els que s'utilitzen per a les malalties hepàtiques d'etiologia vírica (APRI, FIB-4, Fibrotest) i els que es fan servir per a l'esteatosi hepàtica (puntuació de fibrosi NAFLD i puntuació BARD).

Aquests tests tenen una bona capacitat diagnòstica per a la fase de cirrosi (AUROC: 0,9), però cal saber que no són bons marcadors a l'hora de distingir les etapes inicials de fibrosi ni tampoc per diagnosticar amb exactitud el grau de fibrosi quan aquesta ja és significativa ( $F \geq 2$  en l'escala METAVIR) (42).

#### 1.1.6. Història natural

Conèixer i entendre la història natural de la cirrosi és important, entre d'altres coses, per poder identificar els pacients que presenten el risc més elevat de complicacions de la malaltia, ja que això permetria una intervenció precoç i una milloria significativa en els resultats de morbimortalitat.

Els pacients amb cirrosi solen classificar-se en funció de si presenten la malaltia compensada o descompensada, ja que aquesta divisió té una gran importància pronòstica. En una revisió sistemàtica amb un gran nombre de pacients, es va objectivar que la supervivència mitja dels pacients amb malaltia compensada era de 12 anys, mentre que per la malaltia descompensada, era de 2 anys (48). En un altre estudi realitzat al Regne Unit, es va obtenir una supervivència global a l'any de 87% en pacients amb malaltia compensada i de 75% en pacients amb malaltia descompensada. El mateix estudi va obtenir una supervivència global als 5 anys de 67% versus 45% en els pacients compensats i descompensats, respectivament (49).

Existeix una altra classificació dels pacients amb cirrosi, basada en la presència o absència de manifestacions clíniques evidents de la hipertensió portal. Aquesta permet entendre que els pacients amb cirrosi compensada i descompensada tinguin resultats clínics tan diferents. L'estadi 1 ve definit per l'absència de signes d'hipertensió portal. L'estadi 2 es caracteritza per l'absència d'ascites i la presència de varius esofàgiques i/o gàstriques que mai no han sagnat. Aquests dos estadis representarien la cirrosi compensada. L'estadi 3 inclou aquells pacients amb ascites en absència o presència de varius que mai no han sagnat. L'estadi 4 es caracteritza per la presència d'hemorràgia per varius en presència o absència d'ascites. L'estadi 3 i 4 conformarien el grup de pacients amb malaltia descompensada. Utilitzant aquesta classificació, es va obtenir una supervivència mitja a l'any del 99%, 97%, 80% i 43%, respectivament (48).

No obstant això, hi ha altres manifestacions de la malaltia descompensada que també tenen impacte en els resultats de supervivència mitja. En un estudi danès realitzat en pacients amb cirrosi alcohòlica, es va objectivar una supervivència mitja a l'any de 36-80% en pacients amb malaltia descompensada (50). Els resultats eren pitjors en els pacients que presentaven encefalopatia hepàtica (36%), seguit dels pacients que presentaven ascites i hemorràgia per varius (51%), i eren relativament millors en els pacients que només presentaven ascites (71%) o hemorràgia per varius (80%) (50).

D'aquesta manera, doncs, podríem dir que l'elevada morbidimortalitat dels pacients amb cirrosi es produeix arrel de la transició de la malaltia compensada a descompensada. Hi ha diversos estudis que s'han centrat en estudiar el risc de desenvolupar aquesta transició, sobretot per les seves implicacions pronòstiques. Un estudi realitzat a Barcelona, que incloïa 293 pacients, va quantificar el risc de progressió de malaltia compensada a descompensada en un període de 10 anys, obtenint un valor de 58% (51). D'altra banda, un estudi retrospectiu que va analitzar els resultats de 4537 pacients, va objectivar un risc mitjà anual de transició de malaltia compensada a descompensada del 12% (52). No obstant això, van veure que aquest risc era molt més elevat durant el primer any després del diagnòstic de cirrosi (31%) que en els anys posteriors (5-7%). Aquest valor mig de transició anual obtingut concorda amb estudis previs similars que havien estimat un risc anual de progressió d'entre 6-9% (48). A més, existeixen estudis que han estratificat aquest risc de progressió anual en funció de l'etiologia hepàtica. D'aquesta manera, investigadors clínics de la *Harvard Medical School* van descriure un risc anual de progressió del 4% en pacients amb cirrosi hepàtica d'etiologia viral per hepatitis C, d'entre 6-10% en pacients amb cirrosi alcohòlica i del 10% en pacients amb cirrosi viral per hepatitis B (53).

Tot i que l'augment de la puntuació a l'índex *MELD* i la disminució de l'albumina sèrica són bons predictors del pas cap a un estat de malaltia descompensada, se sap que no reflecteixen completament aquesta transició (54). Per tal d'ajudar a entendre-la millor i poder avaluar el risc de descompensació de la malaltia hepàtica, la mesura del gradient de pressió venosa hepàtica (GPVH) i de la rigidesa hepàtica – a través de l'elastografia – són actualment de gran utilitat (1,44,45,54).

Així doncs, se sap que un GPVH elevat constitueix un factor predictor independent del desenvolupament de malaltia hepàtica descompensada, independentment de la puntuació en l'índex *MELD* i de la funció de síntesi hepàtica (54,55). A més, també és un factor predictor de mortalitat independent, de manera que un augment d'1mmHg en el

GPVH tradueix un increment de mortalitat del 3% (56), amb un elevadíssim risc de mortalitat per sobre de 20mmHg (64% a l'any vs. 20%) (57,58). De la mateixa manera, una reducció del GPVH per sota de 12mmHg o una disminució del GPVH de com a mínim un 20% s'associa a un risc reduït de complicacions per hipertensió portal (HTPo) i a una millora de la supervivència, amb una reducció de mortalitat del 60% (59,60,61).

D'altra banda, diversos estudis han demostrat que hi ha una bona correlació entre els valors de GPVH i els de la rigidesa hepàtica mesurada amb elastografia, tot i que aquesta pot ser només moderada (62-64). A través d'un important i reconegut estudi, realitzat de forma prospectiva, se sap que per valors d'elastografia  $\geq 21.1$ kPa, aquesta tècnica té una sensibilitat del 100% i, una especificitat del 65% per predir el desenvolupament de les complicacions relacionades amb la HTPo (l'hemorràgia digestiva per varius i l'ascites) (65). Per últim, a partir d'un altre estudi realitzat en pacients amb cirrosi, va poder establir-se que valors d'elastografia  $< 10.5$ kPa identificaven pacients amb un baix risc de complicacions clíniques en els propers 2 anys (66).

### **1.1.2. ESTAT NUTRICIONAL EN PACIENTS AMB CIRROSI HEPÀTICA**

La malnutrició és una condició freqüent en els pacients amb cirrosi. La seva prevalença varia en funció de la gravetat de la malaltia hepàtica: es troba, aproximadament, en un 20% dels pacients amb malaltia compensada i fins a un 80% en els pacients amb insuficiència hepàtica greu (67,68). Diversos estudis han demostrat que està associada a un increment de la morbiditat i la mortalitat i a una disminució de la qualitat de vida dels pacients afectes (67-70). Així mateix, s'han reportat pitjors resultats en els pacients sotmesos a trasplantament de fetge (69,71).

Un aspecte important a tenir en compte és que no hi ha consens en la definició del terme "malnutrició", pel que diversos autors n'utilitzen diferents definicions, la qual cosa dificulta la realització d'estudis i la correcta interpretació d'aquests. En general, podríem dir que es defineix com una disminució del múscul esquelètic, del greix visceral i del teixit

subcutani, però alguns autors també inclouen en aquesta definició la deficiència de micronutrients (vitamines i oligoelements). Al 2019, la *European Association for the Study of the Liver (EASL)* va publicar una guia clínica sobre nutrició en les malalties hepàtiques cròniques on estableixen una definició del terme “malnutrició” i l'equiparen, també, al terme “desnutrició”. Estableixen que es tracta d'un trastorn relacionat amb la nutrició resultant de la manca d'ingesta o absorció de nutrients, que condueix a una alteració de la composició corporal (disminució de la massa lliure de greix) i de la massa cel·lular corporal, la qual condueix a una disminució de la funció física i mental i a un deteriorament del resultat clínic de la malaltia hepàtica (72).

Els dèficits de vitamines i oligoelements són freqüents en els pacients amb CH, independentment de l'etiologia d'aquesta. Aquests pacients tenen unes reserves de vitamines que estan disminuïdes respecte la població general, normalment a causa de la disfunció hepàtica, de la baixa ingesta de la dieta, d'una baixa absorció i d'un augment del catabolisme. A més, la mala digestió i l'ús de diürètics també contribueixen a incrementar aquest dèficit de micronutrients (70).

És ben sabut que els pacients amb insuficiència hepàtica presenten nivells baixos de proteïnes de transport sèriques, la qual cosa podria conduir a una sobreestimació de les deficiències de micronutrients. Tot i així, alguns estudis en pacients amb malaltia hepàtica en fases pre-cirròtiques suggereixen que es tracta de dèficits reals (72).

És cert que alguns dèficits de vitamines i oligoelements s'han estudiat individualment en els pacients amb CH, però fins ara no hi hagut una revisió completa que englobi totes les deficiències. A més, la majoria d'estudis que avaluen la prevalença de dèficits de micronutrients en pacients amb CH descompensada tenen un nombre reduït de subjectes, només avaluen la deficiència de certs micronutrients i/o es realitzen en pacients que esperen un trasplantament hepàtic.

D'altra banda, la guia clínica de l'*EASL* sobre nutrició en els pacients amb malaltia hepàtica crònica, publicada el 2018, reconeix que no hi ha estudis ni evidència científica sobre el benefici de la suplementació de micronutrients en pacients amb cirrosi. Tot i així, suggereix que les deficiències detectades o clínicament sospitades haurien de suplementar-se d'acord amb les recomanacions generals per a la pràctica clínica habitual. El dèficit vitamínic més estudiat i ben documentat en els pacients amb CH és el de vitamina D, per la seva alta prevalença i per la seva relació amb pitjors resultats clínics. En aquest sentit, la guia de la *EASL* recomana administrar suplementos orals als pacients que presentin nivells de vitamina D <20ng/ml amb l'objectiu d'assolir nivells >30ng/ml. Pel que fa a la resta de vitamines, la prevalença real del seu dèficit i la necessitat de suplementació és encara una incògnita i cal més evidència científica al respecte. Com que l'estat vitamínic no és fàcil d'avaluar i l'administració de suplementos multivitamínics és econòmica i pràcticament no presenta efectes secundaris, la recomanació general seria que l'administració de suplementos multivitamínics podria estar justificada en pacients amb CH descompensada (72).

#### **1.1.2.1. Vitamines liposolubles**

La deficiència de vitamines liposolubles és especialment freqüent en aquests pacients, ja sigui per la colèstasi associada i també per la IPE associada que presenten alguns pacients amb CH. Com s'ha comentat anteriorment, el dèficit de vitamina D és el més estudiat i se sap que la seva prevalença es troba entre el 64% i el 92%, i que aquesta augmenta a mesura que augmenta el grau d'insuficiència hepàtica, mesurada amb la classificació de *Child-Pugh* (73,74). S'ha vist que aquest dèficit és independent de l'etiologia de la cirrosi i no es limita a pacients amb malaltia colestàsica. Alguns estudis, a més, han demostrat que s'associa amb una major taxa de descompensació hepàtica, una elevada incidència d'infecció i un augment de la mortalitat (75-78).

La vitamina D és sobretot coneguda pel seu paper en el metabolisme del calci i en la mineralització òssia, però últimament ha guanyat també importància per la seva

implicació en processos extraesquelètics. Se sap que participa activament en la resposta immunitària a través d'una doble acció: d'una banda, ajuda a estimular la defensa innata de l'hoste perquè aquesta sigui més efectiva, i de l'altra, limita la immunitat adquirida evitant una inflamació excessiva (ja que retarda l'activació de limfòcits T i la diferenciació i proliferació cel·lular exagerades) (79,80-82). A més, el seu dèficit s'ha relacionat amb la fisiopatologia d'algunes malalties cròniques com, per exemple, el càncer, la diabetis *mellitus* (DM), la hipertensió arterial (HTA), l'esclerosi múltiple i diverses malalties del sistema immunitari; de forma que es creu que podria augmentar, per tant, el risc cardiovascular (83).

La resta de vitamines liposolubles (A, E i K), sobretot la vitamina E i la K, han estat molt menys estudiades, tan globalment com, específicament, en pacients amb malalties hepàtiques cròniques i/o cirrosi.

Quant a la vitamina A, es calcula que la prevalença del seu dèficit en pacients amb CH és alta i la presenten fins a un 66,7% d'aquests pacients (71). Així mateix, es creu que la prevalença encara podria ser més elevada en pacients amb una ingesta diària reduïda, en dones, en persones amb alcoholisme crònic, en pacients amb malalties colestàsiques cròniques i en pacients amb CH avançada (*Child-Pugh C*) (84-86).

Se sap que la vitamina A és un micronutrient essencial per mantenir la visió, promoure el creixement i el desenvolupament i protegir la integritat de l'epiteli i les mucoses del cos humà (87). A més, es tracta d'una vitamina amb un important efecte anti-inflamatori pel seu paper essencial en el desenvolupament del sistema immunitari i perquè està implicada en la regulació de les respostes immunitàries, tan de processos cel·lulars com humorals (87,88). Així mateix, ha demostrat un efecte terapèutic en el tractament de diverses malalties infeccioses.

Per últim, i, ja centrant-nos en els pacients amb malalties hepàtiques, s'ha vist que el dèficit de vitamina A té implicacions clíniques importants ja que s'ha associat amb la

progressió de la malaltia cap a la fase de cirrosi a través de promoure i accelerar els processos de fibrosi (89). Alguns autors, a més, han relacionat els nivells disminuïts de vitamina A amb un augment d'algunes descompensacions clíniques com, per exemple, la presència d'ascites o d'EH (90).

Pel que fa a la prevalença de dèficit de vitamina E en pacients amb CH, cal destacar que hi ha pocs estudis de qualitat al respecte. A més, els pocs estudis realitzats han obtingut resultats molt diversos amb prevalences que varien en un ampli rang: entre el 3% i el 44%. (91,92,93). Això és degut, entre altres factors, al fet que alguns autors defineixen el dèficit de vitamina E segons el seu valor absolut, mentre que altres ho fan amb el càlcul de la ratio vitamina E / colesterol (94-99).

Cal saber que un dels efectes de la vitamina E és que interfereix eficaçment en els mecanismes moleculars de la fibrosi (100-102), per la qual cosa la fibrosi hepàtica pot agreujar-se en condicions de disminució de la disponibilitat de vitamina E. El seu dèficit, a més, també s'ha associat amb la lesió per reperfusió després de rebre un trasplantament hepàtic i a certes neuropaties (103).

En relació a la vitamina K, podríem dir que el seu dèficit és el menys estudiat ja que no hem trobat cap estudi que n'estimi la prevalença en pacients amb CH. Hi ha un estudi que descriu que el dèficit de vitamina K no és freqüent en els pacients amb CH, mentre que sí que estaria més relacionat amb les malalties colestàsiques i, en menys mesura, amb la presència de CHC (104). Com és ben sabut, el seu dèficit es relaciona amb alteracions en la coagulació.

### **1.1.2.2. Vitamines hidrosolubles**

Els pacients amb CH també tenen predisposició a tenir deficiències de vitamines hidrosolubles, especialment de tiamina (vitamina B1), independentment de l'etiologia de la cirrosi. També són freqüents els dèficits de piridoxina (vitamina B6), de folat (vitamina B9) i de cobalamina (vitamina B12), principalment a causa de la disminució de les



reserves hepàtiques. Cal destacar, però, que aquests dèficits solen ser més freqüents en pacients amb malaltia d'etiologia alcohòlica, no només per la baixa ingesta i la disminució de les reserves hepàtiques, sinó també per la dificultat d'absorció a nivell intestinal produïda per l'etanol (105). No obstant això, actualment hi ha pocs estudis de qualitat sobre la veritable prevalença d'aquests dèficits i sobre la necessitat de suplementar-los.

El dèficit de vitamina B1 està relacionat amb l'aparició de lesions cerebrals que poden produir trastorns neuropsiquiàtrics. En els casos més greus, pot aparèixer una encefalopatia metabòlica severa amb símptomes neurològics greus – l'encefalopatia de Wernicke – que sobretot es dona en pacients amb malaltia hepàtica d'origen enòlic. El dèficit de vitamina B12 pot produir anèmia megaloblàstica i símptomes neurològics, tant a nivell central (pèrdua de memòria, deliris, depressió) com a nivell perifèric (entumiment i formigueig de mans i peus). Al seu torn, el dèficit de vitamina B9 també pot produir anèmia megaloblàstica i s'ha relacionat amb astènia intensa, confusió i afectació bucal en forma d'aftes i glossitis. Per últim, el dèficit de vitamina B6 pot produir lesions de pell i mucoses (dermatitis, glossitis i boqueres) i símptomes neurològics com convulsions i formigueig de mans i peus (105).

### **1.1.2.3. Oligoelements**

Pel que fa als oligoelements, és molt freqüent trobar dèficits de zinc, ferro i fòsfor en els pacients amb CH descompensada. També s'han detectat dèficits de coure, magnesi i calci en aquests pacients, en un percentatge menor però gens menyspreable.

El dèficit de zinc és freqüent en pacients amb malalties hepàtiques cròniques, com les hepatitis cròniques virals, la malaltia per fetge gras associada al metabolisme i la CH. En aquests pacients, la deficiència de zinc produeix diferents anomalies metabòliques, de forma que contribueix en la resistència a la insulina, l'esteatosi hepàtica, la sobrecàrrega de ferro i l'encefalopatia hepàtica. De tota manera, se sap que aquestes anomalies

metabòliques poden millorar amb els suplementes de zinc (106,107). Pel que fa al dèficit de ferro, no hi ha estudis que n'estimin la prevalença en pacients amb CH, específicament. Sí que hem trobat estudis en aquest grup de pacients que valoraven la presència d'anèmia ferropènica, trobant una prevalença del 15% en la cirrosi compensada i una prevalença del 29.1% en la cirrosi descompensada (108). Altres estudis s'han centrat en calcular la prevalença de dèficit de magnesi en pacients amb CH compensada, obtenint valors al voltant del 10% (109). Quant al calci i al fòsfor, no hem trobat estudis que avaluïn el seu dèficit en pacients amb malalties hepàtiques cròniques ni en CH de qualsevol etiologia i en qualsevol estat de descompensació.

### **1.1.3. INSUFICIÈNCIA PANCREÀTICA EXOCRINA**

#### **1.1.3.1. Generalitats de la insuficiència pancreàtica exocrina**

La IPE és una entitat caracteritzada per la maldigestió de macronutrients i micronutrients a causa d'un alliberament inadequat d'enzims pancreàtics al duodè. Les manifestacions clíniques d'IPE inclouen la presència d'esteatorrea, malnutrició, dèficit d'oligoelements i vitamines, molèsties i inflor abdominals i també alteracions del metabolisme ossi (110-112). Aquestes alteracions, en última instància, comporten un augment de la morbimortalitat – sobretot relacionada amb el grau de malnutrició – i produeixen una disminució marcada de la qualitat de vida dels pacients (113).

El diagnòstic d'IPE, actualment, és un repte per als clínics ja que els símptomes i manifestacions no són específics d'aquesta entitat, sinó que estan presents en múltiples trastorns gastrointestinals. Aquest fet pot conduir a una manca de diagnòstic o a un diagnòstic tardà. És per això que l'element clau per diagnosticar la IPE és una sospita clínica elevada a través de la identificació de pacients d'alt risc de desenvolupar-la, com serien els que presenten pancreatitis crònica (PC) o fibrosi quística (FQ) i els que presenten causes minoritàries com el càncer de pàncrees irressecable, la DM, la malaltia celíaca no tractada, la malaltia inflamatòria intestinal, l'alteració de l'estimulació de la secreció pancreàtica per part de la colecistoquinina o els que han estat intervinguts

quirúrgicament amb reseccions pancreàtiques (tant per patologia maligna com benigna) o cirurgia gastrointestinal (112,114).

### **1.1.3.2. Etiologia i manifestacions clíniques**

Actualment les causes més freqüents d'IPE són la PC i la FQ, tot i que cada vegada s'està donant més importància a les causes minoritàries, que hem anomenat anteriorment (114).

Pel que fa a la PC, durant molts anys s'ha mantingut una categorització excessivament simplificada – segons diversos autors contemporanis – atenent a la seva etiologia alcohòlica (60-80% dels casos) o no alcohòlica (20-40% restant) (115).

La PC és un procés inflamatori del pàncrees que condueix a una destrucció progressiva de la glàndula. El dolor abdominal és el símptoma principal, mentre que l'aparició d'esteatorrea i DM són conseqüències clíniques dels estadis més avançats (115,116). Cal destacar que els símptomes d'IPE no apareixen fins que s'ha perdut aproximadament un 90% de la funció exocrina del pàncrees (117). Les manifestacions d'IPE inclouen esteatorrea (sovint sense diarrea), dispèpsia, pèrdua de pes, dèficits vitamínics i alteracions del metabolisme ossi (117). La malabsorció de greixos comporta dèficits nutricionals, entre els quals es destaquen els de vitamines liposolubles (A,D,E,K) i possibles dèficits de calci, àcid fòlic, magnesi, tiamina i zinc (117). A més, com a resultat de la deficiència de vitamina D, els pacients amb IPE presenten un elevat risc de desenvolupar osteopenia o osteoporosi degut a la disminució de la densitat mineral òssia (118,119). La prevalença global d'osteopatia (osteopenia i osteoporosi) en pacients amb PC és de més del 60%, i un de cada 4 pacients, presenta osteoporosi establerta (120). S'han descrit diversos factors de risc etiològics associats a PC, que es classifiquen en diferents categories: tòxico-metabòlics (alcohol, tabac, hipercalcèmia, hiperlipèmia, insuficiència renal crònica, fàrmacs), obstructius (pàncrees *divisum*, obstruccions ductals, lesions periampulars, lesions post-traumàtiques, disfunció de l'esfínter d'Oddi), pancreatitis recurrent i pancreatitis aguda (PA) greu (PA postnecròtica, PA recurrent,

malaltia vascular, post-irradiació), genètics (PRSS1, PRSS2, SPINK1, CFTR), autoimmunes i idiopàtics (115). Durant molt de temps, l'alcohol ha estat considerat el factor etiològic més important (115,116,121). Recentment, però, el tabac i les alteracions genètiques s'han incorporat com a factors de risc cardinals en la PC, la qual cosa ha restat protagonisme a l'alcohol i ha permès reduir la proporció de pancreatitis idiopàtiques (115, 116, 121, 122).

Tot i que es creu que hi hauria una associació dosi-depenent entre el consum d'alcohol i l'aparició de PC, només s'ha pogut demostrar l'existència d'una associació estadística amb el consum de  $\geq 5$  begudes alcohòliques al dia (116). D'altra banda, el tabac també confereix un important risc de desenvolupar PC, de forma independent, dosi-depenent i amb un efecte additiu o multiplicatiu quan es combina amb el consum excessiu d'alcohol (116).

Pel cas que ens ocupa en aquesta tesi doctoral, només ens centrarem en la PC com a causa d'IPE ja que la nostra mostra inclou majoritàriament pacients amb consum excessiu d'enol i amb tabaquisme, com a factors de risc de PC i, per tant, de possible IPE.

### **1.1.3.3. Epidemiologia**

Pel que fa a la prevalença i incidència de PC, cal dir que hi ha molt pocs estudis realitzats pel que la literatura és realment escassa i amb resultats variables. Alguns estudis d'Europa i Japó mostren incidències de 5.4 casos nous per 100.000 habitants per any, essent més elevada en el cas del sexe masculí – 8.4 respecte 2.7 (123-126). Diversos estudis coincideixen en el fet que el sexe masculí constitueix un important factor de risc per a desenvolupar PC ja que s'ha demostrat que els homes amb pancreatitis aguda presenten un risc més elevat de progressió a PC que les dones (127,128). D'altra banda, el tabac accelera la progressió cap a PC i també cap a estadis més avançats d'aquesta (129).

Pel que fa a la prevalença, dades recents d'Itàlia, Espanya, Xina i Japó descriuen prevalences d'entre 13.5 i 52.4 casos per 100.000 habitants (124-126).

La prevalença de IPE en la població general és desconeguda. Aquesta entitat es troba majoritàriament associada a estadis avançats de PC. Se sap que un 60-90% de pacients amb PC patiran IPE durant els 10-12 anys següents al diagnòstic de la malaltia pancreàtica (130). Normalment els pacients amb PC avançada fan seguiment en centres terciaris, mentre que els pacients amb PC en estadis primerencs fan seguiment a atenció primària. S'ha reportat que la prevalença d'IPE en aquests pacients amb PC en etapes inicials que són avaluats als centres d'atenció primària (CAP) es troba al voltant del 18.7% (125).

#### **1.1.3.4. Diagnòstic**

El diagnòstic de PC es realitza bàsicament a través de criteris obtinguts a partir de proves d'imatge. Val a dir, però, que la majoria de criteris d'imatge s'han desenvolupat a través de casos de PC en estadis avançats (presència de calcificacions, canvis ductals i desestructuració de la glàndula), pel que no són realment útils pel diagnòstic en etapes primerenques. En casos amb elevada sospita clínica de PC que només presenten criteris radiològics de probabilitat, cal que es compleixin 2 dels 3 criteris clínics addicionals: dolor abdominal superior recurrent, concentracions anòmales en sèrum o orina d'enzims pancreàtics (lipasa o amilasa 2-3 vegades per sobre del límit superior de la normalitat) i elastasa fecal (EF) < 200µg/g (131).

Pel que fa a les proves d'imatge, hi ha estudis que han demostrat que no hi ha diferències significatives entre la sensibilitat i especificitat de diverses tècniques pel que fa al diagnòstic de PC en estadis avançats: tomografia computeritzada (TC), ressonància magnètica (RM), colangiopancreatografia per RM (CPRM), colangiopancreatografia retrògrada endoscòpica (CPRE) i ultrasonografia endoscòpica (USE). És cert que la CPRE i la USE presenten un major rendiment que la resta, però donat que la precisió diagnòstica inicial és similar per a totes les tècniques, l'elecció del tipus de prova es pot

fer en base a altres criteris: disponibilitat, invasivitat, experiència del centre i costos derivats (132). De fet, les guies clíniques recomanen prioritzar les tècniques no invasives i només si la sospita clínica és elevada i el TC i la RM no són conclouents, realitzar tècniques més invasives com la USE (133). El diagnòstic de PC en estadis precoços és encara un repte important avui en dia. Estudis recents mostren que la tècnica diagnòstica més prometedora i adequada actualment és la USE, sobretot en combinació amb l'elastografia pancreàtica, ja que permeten un estudi d'alta resolució i la mesura de la rigidesa pancreàtica, element clau per la detecció de fibrosi en els estadis més inicials (134).

Pel diagnòstic d'IPE, és clau que prèviament hi hagi una sospita clínica per a realitzar les proves diagnòstiques pertinents. La probabilitat de patir IPE a causa de PC, també depèn de l'etiologia d'aquesta, essent els pacient amb PC de causa alcohòlica els de major risc (135). A més, el fet de fumar constitueix un factor de risc independent per patir PC i la probabilitat d'IPE augmenta notablement quan el tabac es combina amb l'alcohol (136,137).

Existeixen diverses tècniques diagnòstiques, que es podrien dividir en dos grups: els tests indirectes i els directes. Els tests indirectes avaluen les conseqüències de la IPE a través de mesurar els canvis quantitius de la secreció pancreàtica i són, en general, més econòmics i més fàcils de dur a terme a la pràctica clínica habitual. Aquests inclourien l'EF, la quimi tripsina fecal, el tripsinogen sèric, la quantificació de greix en femtes, el test de pancreolauril i el test d'alè amb triglicèrids mixtes marcats amb carboni-13 (C13-MTG). Els tests directes, en canvi, avaluen directament la secreció pancreàtica i és per això que són invasius, cars i poc pràctics de realitzar. El més conegut és el test d'estimulació amb secretina-colecistoquinina (138).

De cara als nostres estudis, només parlarem de l'EF, ja que és el mètode indirecte que hem empleat per ser el més assequible i el més utilitzat globalment. El test comercial utilitza la tècnica d'ELISA per a determinar en femtes la quantitat de dues isoformes de

l'elastasa "quimiotripsina-like" humana. L'elastasa-1 és un enzim pancreàtic molt estable en les femtes, fàcil de conservar, i que es correlaciona amb la secreció pancreàtica de diversos enzims: elastasa, lipasa, amilasa i tripsina. La única precaució que cal prendre a l'hora de recollir la mostra per tal de no obtenir un fals positiu és que aquesta sigui de consistència sòlida (139).

Quant a la interpretació de resultats, les concentracions de  $<200\mu\text{g/g}$  es consideren patològiques i per sota de  $100\mu\text{g/g}$  es considera que hi ha una IPE greu. La sensibilitat de l'EF per a IPE lleu i greu és de 63% i del 100%, respectivament. L'especificitat és del 93% (140).

#### **1.1.3.5. Tractament**

El tractament de la IPE és la teràpia de reemplaçament amb enzims pancreàtics (TREP), que consisteix en l'administració d'enzims pancreàtics activats per tal que arribin al duodè durant els àpats i permetin una correcta absorció dels nutrients. Es tracta de comprimits recoberts que contenen extractes de pàncrees porcí (pancrelipasa) (141). Cal administrar una dosi mínima d'inici de 40.000-50.000UI de lipasa per a cada àpat i la meitat d'aquesta dosi pels *snacks*. A més, val a dir que la teràpia enzimàtica substitutiva ha de ser administrada durant els àpats o just en el període post-prandial immediat per tal que sigui el màxim d'efectiva (117). Un important metanàlisi recent, ha mostrat que la TREP millora el coeficient d'absorció de greix i nitrogen, reduint l'excreció de greix fecal, l'excreció de nitrogen fecal i el dolor abdominal, sense esdeveniments adversos significatius. A més, s'ha vist que millora l'estat nutricional global amb un augment de l'IMC i dels paràmetres nutricionals sèrics (com la prealbúmina, el colesterol i la *RBP*), una millora dels símptomes gastrointestinals i de la qualitat de vida (142).

#### **1.1.3.6. Insuficiència pancreàtica exocrina en cirrosi hepàtica**

El consum excessiu crònic d'alcohol és un conegut factor etiològic tant per la PC com per la CH i és ben sabut que aquest risc es correlaciona directament amb la quantitat

diària consumida i amb els anys de consum (143,144). No obstant això, només una minoria dels pacients amb alcoholisme crònic desenvoluparan aquestes malalties. En relació a la PC i el consum excessiu d'alcohol, se sap que al voltant d'un 5% patiran PC. En el cas de la CH les dades són més diverses: alguns autors parlen d'un 3-5%, mentre que d'altres ho fan d'un 10-15% o, fins i tot, d'un 8-20% (144-147). Se sap que en el cas de la PC, la durada del consum d'alcohol és més curta que no pas en la CH; per això el diagnòstic de PC sol realitzar-se en pacients més joves que el de CH (148). D'aquests pacients amb PC, com s'ha comentat anteriorment, un 60-90% desenvoluparan IPE en els 10-12 anys posteriors als diagnòstic.

Actualment, existeix controvèrsia sobre la freqüència amb que coincideixen aquestes dues entitats en els pacients amb alcoholisme crònic. Els estudis existents presenten resultats discordants sobre aquest aspecte, sembla ser que atribuïble a una metodologia diversa i a l'avaluació de diferents paràmetres per a cada entitat (clínic, funcionals, radiològics o histopatològics) que fa difícil de comparar-los entre ells (148-150).

El fet que la PC i la CH tinguin un factor etiològic comú tan important i reconegut com és l'alcoholisme crònic fa pensar a alguns autors que les dues entitats podrien coincidir en els pacients amb l'esmentat factor de risc. És cert que a la pràctica clínica diària, la coincidència de PC i CH en un mateix pacient no és gaire habitual, ja sigui per un infradiagnòstic d'aquestes entitats o perquè realment no solen coexistir. Per acabar, cal tenir en compte que a part del consum excessiu crònic d'alcohol aquestes dues entitats no comparteixen altres factors etiològics, pel que alguns autors pensen que es tracta de dues entitats completament diferents quant a etiopatogènia i pronòstic (150).

Pel que fa a la presència d'IPE en la CH, cal emfatitzar que no hi ha estudis recents que avaluïn la funció pancreàtica en aquests pacients. Hi ha, però, un estudi japonès del 1998 que a través de tests directes i indirectes va avaluar la funció pancreàtica en pacients amb hepatopatia crònica a través de quatre grups: hepatitis crònica sense CH, CH, CH amb CHC i un grup control. Els resultats que van trobar va ser que els pacients



dels grups CH i CH amb CHC presentaven alteració de les proves de funció pancreàtica de forma estadísticament significativa:  $70.5\pm 10.7\%$ ,  $p<0.01$  i  $68.5\pm 11.2\%$ ,  $p<0.01$ ; respectivament. Així doncs, van concloure que els pacients amb CH presentaven una prevalença més elevada d'IPE que el grup control, però que el mecanisme pel qual això succeïa era encara desconegut (151).

Cal destacar, també, els resultats de la tesi doctoral del Dr. Garcia-Pugés, realitzada l'any 1981. A partir dels seus estudis, va objectivar una prevalença d'IPE en pacients amb CH de qualsevol etiologia de 22% i va determinar, a més, que la IPE era la causa més freqüent d'esteatorrea en els pacients amb CH d'etiologia no biliar (152).

Per últim, comentar un estudi en el que es proposa un mecanisme pel qual els pacients amb CH podrien presentar IPE. Aquest estudi es va centrar en avaluar la funció pancreàtica exocrina en pacients amb CH d'etiologia biliar. Va concloure que la presència d'esteatorrea i de disfunció pancreàtica apareixia quan els nivells de salts biliars intestinals eren  $<3.0\text{mM}$  i que aquests pacients presentaven una disminució de l'activitat de la tripsina intestinal. Així doncs, va suggerir que la falta de salts biliars a l'intestí, disminueix l'activitat de la tripsina pancreàtica, la qual cosa produeix maldigestió de greixos i esteatorrea (153). D'aquesta manera, podríem dir que suggereixen que aquests pacients presenta una IPE secundària, és a dir, sense la presència d'una afectació estructural del pàncrees.

## **2. HIPÒTESI**

Amb tot el que s'ha exposat anteriorment, les hipòtesis per a la realització d'aquesta tesi doctoral són les següents:

- Els pacients amb CH descompensada, especialment d'etiologia alcohòlica, presenten una prevalença elevada de dèficits de micronutrients (vitamines i oligoelements).
- Els pacients amb CH descompensada, sobretot d'etiologia enòlica, presenten una prevalença elevada d'IPE, secundària a la presència de PC.



### **3. OBJECTIUS**

#### **3.1. OBJECTIU PRINCIPAL**

- Establir la prevalença de dèficit de micronutrients i d'IPE en pacients amb CH descompensada, majoritàriament d'etiologia enòlica.

#### **3.2. OBJECTIUS SECUNDARIS**

- Analitzar els dèficits de micronutrients en funció del grau de disfunció hepàtica mesurats a través de la classificació de *Child-Pugh* i de l'índex *MELD*.
- Establir la prevalença de PC en pacients amb CH descompensada.
- Elaborar noves hipòtesis de treball per a futurs estudis on es realitzi una intervenció farmacològica amb tractament substitutiu, tant a nivell de dèficit de micronutrients com d'enzims pancreàtics.



## **4. COMPENDI DE PUBLICACIONS**




### **4.1. PRIMER ARTICLE**

**Gemma Llibre-Nieto**, Alba Lira, Mercedes Vergara, Cristina Solé, Meritxell Casas, Valentí Puig-Diví, Gemma Solé, Antonia Humanes, Laia Grau, Josep Maria Barradas, Mireia Miquel, Jordi Sánchez-Delgado. Micronutrient deficiencies in patients with decompensated liver cirrhosis. *Nutrients* 2021;13(4):1249.  
<https://doi.org/10.3390/nu13041249>



## Article

# Micronutrient Deficiencies in Patients with Decompensated Liver Cirrhosis

Gemma Llibre-Nieto <sup>1,2,3,\*</sup> , Alba Lira <sup>1</sup>, Mercedes Vergara <sup>1,2,4</sup> , Cristina Solé <sup>1,4</sup>, Meritxell Casas <sup>1</sup>, Valentí Puig-Diví <sup>1,5</sup>, Gemma Solé <sup>6</sup>, Antonia Humanes <sup>7</sup>, Laia Grau <sup>8</sup>, Josep Maria Barradas <sup>9</sup>, Mireia Miquel <sup>1,2,4,10,†</sup> and Jordi Sánchez-Delgado <sup>1,2,4,†</sup> 

- <sup>1</sup> Hepatology Unit, Digestive Disease Department, Hospital Universitari Parc Taulí, Institut d'Investigació i Innovació Parc Taulí (I3PT), 08208 Sabadell, Spain; alira@tauli.cat (A.L.); mvergara@tauli.cat (M.V.); csole@tauli.cat (C.S.); Mcasas@tauli.cat (M.C.); Vpuig@tauli.cat (V.P.-D.); mmiquel@tauli.cat (M.M.); jsanchezd@tauli.cat (J.S.-D.)
  - <sup>2</sup> Departament de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Spain
  - <sup>3</sup> Fundació Privada Hospital Assil de Granollers, 08402 Granollers, Spain
  - <sup>4</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III, 28029 Madrid, Spain
  - <sup>5</sup> Gastroenterology Unit, Digestive Disease Department, Hospital Universitari Parc Taulí, Institut d'Investigació i Innovació Parc Taulí (I3PT), 08208 Sabadell, Spain
  - <sup>6</sup> Laboratory Unit, Hospital Universitari Parc Taulí, Institut d'Investigació i Innovació Parc Taulí (I3PT), 08208 Sabadell, Spain; gsole@tauli.cat
  - <sup>7</sup> Endocrinology and Nutrition Department, Hospital Universitari Parc Taulí, Institut d'Investigació i Innovació Parc Taulí (I3PT), 08208 Sabadell, Spain; ahumanes@tauli.cat
  - <sup>8</sup> Statistics, Hospital Germans Trias i Pujol, Neurology Service, 08916 Badalona, Spain; lgrau.germanstrias@gencat.cat
  - <sup>9</sup> Nursing Service, Hepatology Unit, Digestive Disease Department, Hospital Universitari Parc Taulí, Institut d'Investigació i Innovació Parc Taulí (I3PT), 08208 Sabadell, Spain; jbarradas@tauli.cat
  - <sup>10</sup> Departament de Medicina, Universitat de Vic—Universitat Central de Catalunya (UVic-UCC), 08500 Vic, Spain
- \* Correspondence: gllibre@fphag.org  
† These authors contributed equally to this work.



**Citation:** Llibre-Nieto, G.; Lira, A.; Vergara, M.; Solé, C.; Casas, M.; Puig-Diví, V.; Solé, G.; Humanes, A.; Grau, L.; Barradas, J.M.; et al.

Micronutrient Deficiencies in Patients with Decompensated Liver Cirrhosis. *Nutrients* **2021**, *13*, 1249. <https://doi.org/10.3390/nu13041249>

Academic Editors: Manuela Merli

Received: 14 March 2021

Accepted: 8 April 2021

Published: 10 April 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

**Abstract:** Patients with cirrhosis often develop malnutrition and micronutrient deficiencies, leading to a worse prognosis and increased mortality. Our main goal was to assess the prevalence of micronutrient deficiencies in patients with decompensated cirrhosis. This was a prospective single-center study including 125 consecutive patients hospitalized for acute decompensation of cirrhosis (mostly of alcoholic etiology). A blood test including trace elements and vitamins was performed on admission. The main micronutrient deficiencies observed were vitamin D (in 94.5%), vitamin A (93.5%), vitamin B6 (60.8%) and zinc (85.6%). Patients in Child-Pugh class C had lower levels of vitamin A ( $p < 0.0001$ ), vitamin E ( $p = 0.01$ ) and zinc ( $p < 0.001$ ), and higher levels of ferritin ( $p = 0.002$ ) and vitamin B12 ( $p < 0.001$ ) than those in Child-Pugh class A and B. Patients with a higher model of end-stage liver disease (MELD) score had lower levels of vitamin A ( $p < 0.0001$ ), vitamin E ( $p < 0.001$ ), magnesium ( $p = 0.01$ ) and zinc ( $p = 0.001$ ), and higher levels of ferritin ( $p = 0.002$ ) and vitamin B12 ( $p < 0.0001$ ). Severe hepatic insufficiency correlated with lower levels of zinc, vitamin E and vitamin A, and higher levels of vitamin B12 and ferritin.

**Keywords:** micronutrient deficiency; trace element deficiency; vitamin deficiency; malnutrition; decompensated cirrhosis.



**Copyright:** © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Malnutrition is common in patients with liver cirrhosis. Several studies have demonstrated its association with increased morbidity and mortality and decreased quality of life [1–4]. In addition, it can severely compromise liver transplant outcomes [3,5]. The



prevalence of malnutrition varies depending on disease severity: it occurs in about 20% of patients with compensated disease and up to 80% of patients with severe liver failure [1,2].

Several authors use different definitions of the term "malnutrition", making it difficult to conduct and interpret studies properly. In general, it is defined as a decrease in skeletal muscle, visceral fat and subcutaneous tissue, but some authors also include micronutrient deficiency (vitamins and trace elements).

Vitamin and trace elements deficits are common in cirrhosis, irrespective of the etiology. Patients with liver cirrhosis have diminished vitamin reserves with respect to the general population, usually due to hepatic dysfunction, low dietary intake, low absorption and increased catabolism. In addition, malabsorption and maldigestion and use of diuretics contribute to micronutrient deficiencies [4]. Some micronutrient deficits have been studied individually in cirrhosis, but there has not been a complete review of all deficiencies so far.

Deficiency of fat-soluble vitamins is especially frequent in this group of patients. Vitamin D deficiency happens in cirrhosis irrespective of the etiology and is not limited to patients with cholestatic disease. The prevalence of vitamin D deficiency in patients with liver cirrhosis is estimated at 64–92% and increases according to the severity of liver insufficiency, as measured with the Child-Pugh classification [6,7]. Some studies have shown that vitamin D deficiency is associated with liver decompensation, high incidence of infection and increased mortality [8–10]. Vitamin A deficiency has been related to immune system disorders and to a more severe liver disease course [5,11]. Vitamin E deficiency has been associated with reperfusion injury after liver transplantation and neuropathies, and vitamin K deficiency, with coagulation disorders [12]. Patients with liver insufficiency have low levels of serum transport proteins, which could potentially lead to overestimation of such deficiencies; however, studies in patients with liver disease in pre-cirrhotic phases suggest that these are real deficiencies.

Patients with liver cirrhosis are also predisposed to water-soluble vitamin deficiencies, especially vitamin B1, irrespective of cirrhosis etiology. Deficiencies of pyridoxine (B6), folate (B9) and cobalamin (B12) are also common, mainly due to decreased liver reserves [13]. However, there are currently few high-quality studies on the true prevalence of these deficiencies and the need for supplementation.

As for trace elements, it is common to find deficiencies of calcium, magnesium, zinc and iron in the serum of cirrhotic patients. Zinc deficit is common in chronic liver diseases, such as chronic hepatitis, metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD) and liver cirrhosis. In such patients, zinc deficiency origins many types of metabolic abnormalities, including insulin resistance, hepatic steatosis, iron overload and hepatic encephalopathy. However, these metabolic anomalies may be improved with zinc supplements [14,15].

The guidelines from the European Association for the Study of the Liver on nutrition in patients with chronic liver disease published in 2018 recognize that there are no specific studies or evidence on the benefit of micronutrient supplementation in patients with cirrhosis [16]. However, they suggest that confirmed deficiencies should be supplemented in accordance with the general recommendations for usual clinical practice.

Most of the studies evaluating the prevalence of micronutrient deficiencies in decompensated cirrhosis have a small number of subjects, only assess the deficiency of certain micronutrients and are performed on individuals awaiting liver transplant.

The main goal of the present study was to determine the prevalence of micronutrient deficiencies in patients with decompensated liver cirrhosis of any etiology and any degree of liver failure and to assess whether any of these deficiencies correlated with liver disease severity.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Study Design

This was a prospective single-center cohort study conducted at Parc Taulí Hospital from October 2017 to December 2019.



## 2.2. Sampling and Inclusion Criteria

We included 125 consecutive patients with liver cirrhosis of any etiology admitted to our hospital due to decompensation (ascitic decompensation, infections, hepatic encephalopathy, alcoholic hepatitis, acute kidney injury and portal hypertensive bleeding). We excluded from the analysis all patients who were taking supplements of any of the micronutrients of interest.

## 2.3. Sample Size Calculation

As there were no existing studies on calculating the prevalence of micronutrient deficiencies, it was not possible to estimate a sample size. Therefore, the sample was limited by the period of the study (from October 2017 until December 2019) and the number of admissions to the hepatology unit due to decompensated cirrhosis: 125 patients were included. This sample size allowed us to estimate characteristics related to prevalence of micronutrient deficiencies with a precision of  $\pm 10\%$  and 95% confidence, assuming a prevalence of 80% of the variable of interest.

## 2.4. Data Collection and Measurements

Patients were identified with a number code to ensure confidentiality of their personal data. The following variables were obtained at the time of inclusion: demographic data (age and sex), smoking and alcohol habits, presence of diabetes, anthropometric parameters (weight, height, tricipital skinfold thickness and mid-arm circumference), reason for admission, blood test results (hemogram, bilirubin, international normalized ratio, renal function, albumin, prealbumin, total protein, cholesterol [high-density lipoprotein (HDL) and low-density lipoprotein (LDL)], triglycerides, fat-soluble vitamins (A, D, E, K), water-soluble vitamins (B1, B6, B9 or folic acid, B12 and C) and trace elements (calcium, phosphorus, zinc, magnesium, copper, iron and ferritin)) and cirrhosis etiology (alcoholic, hepatitis C virus (HCV), hepatitis B virus (HBV) or MAFLD cirrhosis). Patients with primary biliary cirrhosis were not included given the low number of decompensations and the bias in the interpretation of deficiency of fat-soluble vitamins. The vitamin forms we measured were the following: retinol (vitamin A), thiamine diphosphate (Vitamin B1), pyridoxal phosphate (vitamin B6), cyanocobalamin (vitamin B12), folic acid (vitamin B9), ascorbic acid (vitamin C), 25-hydroxicholecalciferol (vitamin D), alpha-tocopherol (vitamin E) and phyloquinone (vitamin K).

We also recorded the presence of hepatic complications (ascitic decompensation, infections, hepatic encephalopathy, alcoholic hepatitis, acute kidney injury and portal hypertensive bleeding). We only included patients with alcoholic hepatitis who required admission because they met at least one of the following hospital admission criteria for the disease: hepatic encephalopathy, bilirubin levels  $>12$  mg/dL, prothrombin time  $>1.36$ , acute kidney injury, ascites or important social problems. We defined acute kidney injury (AKI) according to the position paper of International Club of Ascites: an increase in serum creatinine  $\geq 0.3$  mg/dL within 48 h or a percentage increase in serum creatinine  $\geq 50\%$  from baseline, which have occurred within the prior seven days [17].

From physical examination we obtained patient weight, height, body mass index (BMI), mid-arm circumference, triceps skinfold and mid-arm muscle circumference (MAMC). The severity of liver dysfunction was assessed using the Child-Pugh classification system and the MELD score, in which a higher score indicates more severe liver dysfunction.

## 2.5. Definition of Deficiencies

We defined micronutrient deficiencies according to the hospital laboratory reference values. We considered a deficiency to be any value below the lower limit of normality, except for vitamin D. For vitamin D, we considered a true deficiency to be values below 20 ng/mL, the lower limit of normality being 30 ng/mL. Values between 20 and 30 ng/mL were considered vitamin D insufficiency and values below 10 ng/mL were considered severe deficiency.



The lower limit of the reference range used for each nutrient were the following: vitamin A (0.3 mg/L) and vitamin E (5 µg/mL), both measured by high-performance liquid chromatography-ultraviolet (HPLC-UV) (Waters®), vitamin B1 (2 µg/dL) and vitamin C (0.4 mg/dL), both measured by high performance liquid chromatography-fluorescence detection (HPLC-FLD) (Waters®), vitamin K (0.13 µg/L), measured by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) (Waters®), vitamin B6 (23 nmol/L), measured by enzyme immunoassays (EIA), vitamin D (20 ng/mL), vitamin B12 (150 pg/mL) and folic acid (2 ng/mL), measured by electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) (Roche Diagnostics GmbH®), iron (60 µg/dL) and magnesium (1.6 mg/dL), measured by colorimetric assays (Roche Diagnostics GmbH®), calcium (8.8 mg/dL) and phosphorous (2.7 mg/dL), measured by complexometric assays (Roche Diagnostics GmbH®), ferritin (30 ng/mL), measured by immunoturbidimetric assays (Roche Diagnostics GmbH®), and zinc (68 µg/dL) and copper (70 µg/dL), measured by colorimetric assays (Randox®).

## 2.6. Statistical Methods

Descriptive analysis was performed. Continuous variables were described using mean and standard deviation (SD) or median and interquartile range, as appropriate. For categorical variables, absolute numbers and percentages were calculated with their 95% confidence intervals. We used the T-test for continuous variables and the Chi square test for categorical ones. We collected and analyzed data using SPSS. In all cases, statistical significance was achieved when the *p*-value was smaller than 0.05.

## 2.7. Ethics

The design, procedures and goal of the study were approved by the corresponding ethics review board (Clinical Research Ethical Committee of Parc Taulí Hospital Ref.: 2017536), ClinicalTrials.gov identifier: NCT03236038. Participants were given information about the content of the study and signed a consent form before their inclusion. The study complied with the ethics set out in the Declaration of Helsinki. Confidentiality was preserved in agreement with existing Spanish Data Protection Law (15/1999).

## 3. Results

### 3.1. Patient Characteristics

A total of 125 patients with decompensated liver cirrhosis of various etiologies were included. Baseline patient characteristics are shown in Table 1. The mean age was  $62.6 \pm 10.3$  years, and 76.8% were men. The etiology of liver disease was alcoholic in 79.2%, 57.4% of whom still consumed alcohol. The vast majority of patients recruited had severe liver dysfunction: 12 patients were in Child-Pugh class A (9.6%), 70 were in Child-Pugh class B (56%) and 43 were in Child-Pugh class C (34.4%). The mean MELD score was  $16.12 \pm 6.3$ .

Patients were classified as underweight (1.7%), normal weight (27.1%), overweight (39.8%), obese (24.6%) and extreme obese (6.8%) based on body mass index (BMI). According to mid-arm muscle circumference (MAMC), 8 patients (6.4%) presented malnutrition (defined by MAMC < percentile 10) and 22 patients (17.6%) presented severe malnutrition (defined by MAMC < percentile 5).

At the time of admission, 80% had ascites, 37.6% had an infection, 24.8% had hepatic encephalopathy, 16.8% had acute kidney injury, 15.2% had portal hypertensive bleeding and 14.4% had alcoholic hepatitis. Of the patients who had infections at the time of admission, only 6.4% had spontaneous bacterial peritonitis (SBP). Respiratory and urinary infections were the most common at 8.8% each.

### 3.2. Micronutrient Deficiencies

Blood test results including serum levels of trace elements and vitamins are listed in Table 2.

**Table 1.** Summary of baseline characteristics for all included patients.

Variable	Value
Age	62.6 ± 10.3
Sex	
Male	96 (76.8%)
Female	29 (23.2%)
Current smoker	52 (41.6%)
Current alcohol consumption	70 (57.4%)
Diabetes mellitus	45 (36%)
Child-Pugh class	
A	12 (9.6%)
B	70 (56%)
C	43 (34.4%)
MELD score	16.2 ± 6.3
Mid-arm muscle circumference	
<percentile 5	22 (17.6%)
<percentile 10	8 (6.4%)
≥percentile 10	95 (76%)
BMI categories	
Underweight (<18.5)	2 (1.7%)
Normal weight (18.5–24.9)	32 (27.1%)
Overweight (25–26.9)	47 (39.8%)
Obese (30–39.9)	29 (24.6%)
Extremely obese (>40)	8 (6.8%)
Etiology of cirrhosis	
Alcohol	99 (79.2%)
Hepatitis C	5 (4%)
Alcohol + hepatitis C	8 (6.4%)
Hepatitis B	2 (1.6%)
MAFLD	4 (3.2%)
Cryptogenic	7 (5.6%)
Decompensation of cirrhosis	
Ascites	100 (80%)
Encephalopathy	31 (24.8%)
Portal hypertensive bleeding	19 (15.2%)
Acute kidney injury	21 (16.8%)
Alcoholic hepatitis	18 (14.4%)
Infection	47 (37.6%)
SBP	8 (6.4%)
Respiratory infection	11 (8.8%)
Urinary infection	11 (8.8%)
Cutaneous infection	7 (5.2%)
Bacteremia	5 (4%)
Other	5 (4%)

Data are mean ± standard deviation (SD) for quantitative variables and *n* (%) for qualitative variables. MELD: Model for end-stage liver disease; BMI: Body mass index; MAFLD: Metabolic associated fatty liver disease; SBP: Spontaneous bacterial peritonitis.

We detected a high prevalence of deficiency of vitamin A (93.5%), vitamin D (94.5%) and zinc (85.6%). These deficiencies were practically universal in this group of patients. Excluding patients taking vitamin D supplements from the entire cohort, only 1 patient (0.91%) had optimal vitamin D serum levels >30 ng/mL, whereas 82 patients (75.2%) had severe vitamin D deficiency (serum concentration <10 ng/mL). The prevalence of vitamin B6 and vitamin C deficiency was 60.8% and 50.5%, respectively. The prevalence of iron and phosphorous deficiency was also not insignificant: 38.4% and 34.4%, respectively. Copper and magnesium deficiencies were detected in 16.8% and 12.8% respectively, and vitamin E deficit was detected in 15.4%. Plasma concentrations of vitamin E are influenced by lipoprotein metabolism. Due to the low concentrations of cholesterol and triglycerides in some patients, the vitamin E/cholesterol + triglycerides ratio was calculated, which better reflects the nutritional status of this vitamin. The prevalence of calcium and folic acid



deficiencies were 4.6% and 5.2% respectively, and for vitamin B1 and vitamin K, were 3.7% and 3.1%. Of the entire cohort, no patient had vitamin B12 deficiency. The prevalence of all deficiencies is summarized in Table 3. It shows the total sample from which the prevalence of each micronutrient deficiency was calculated, as we excluded those who were taking that particular supplement.

**Table 2.** Baseline levels for all patients.

Parameter	Value	Reference Value
Leucocytes	6.86 (1.76–27.06)	4–11 × 10 <sup>9</sup> /L
Hemoglobin	105.7 ± 26.7	130–175 g/L
Platelets	110 (21–466)	130–400 × 10 <sup>9</sup> /L
INR	1.47 ± 0.3	0.8–1.3
Urea	45.19 ± 31.7	10–50 mg/dL
Creatinine	1.05 ± 0.56	0.70–1.20 mg/dL
Sodium	136.8 ± 8.4	136–145 mEq/L
Bilirubin	3.4 ± 1.7	0.1–1.3 mg/dL
Total protein	62.07 ± 10.7	66–87 g/L
Albumin	30.1 ± 5.7	34–48 g/L
Prealbumin	8.5 ± 4.2	20–40 mg/dL
Total cholesterol	114.3 ± 49.3	150–200 mg/dL
HDL	34.3 ± 18.2	35–100 mg/dL
LDL	64.1 ± 40.6	
Triglycerides	87.2 ± 47.2	50–200 mg/dL
Vitamin A	0.09 (0.05–0.16)	0.3–1 mg/L
Vitamin B1	3.9 (2.9–13.8)	2–7.2 µg/dL
Vitamin B6	19 (9.05–33.5)	23–173 nmol/L
Vitamin B12	982 (664–1542)	150–695 pg/mL
Vitamin C	0.4 (0.11–0.81)	0.4–2 mg/dL
Vitamin D	6.8 (5.2–49)	>30 ng/mL
Vitamin E	8.8 (5.9–11.1)	5–20 µg/mL
Vitamin K	0.7 (0.2–3.1)	0.13–1.50 µL/L
Folic acid	5.4 (4–9.4)	2–14.54 ng/mL
Corrected calcium for albumin	9.3 ± 0.56	8.8–10.2 mg/dL
Phosphorus	2.88 ± 0.82	2.7–4.5 mg/dL
Magnesium	1.9 ± 0.41	1.6–2.6 mg/dL
Copper	91.3 ± 32.1	70–140 µg/dL
Zinc	45.9 ± 29.1	68–120 µg/dL
Iron	81.4 ± 63.7	60–158 µg/dL
Ferritin	211 (75.5–4362.7)	30–400 ng/mL

Data are mean ± SD or median (range). Albumin (*n* = 87), vitamin B1 (*n* = 81), vitamin D (*n* = 109), vitamin K (*n* = 97), corrected calcium for albumin (*n* = 115). INR: international normalized ratio; HDL: high-density lipoprotein; LDL: low-density lipoprotein.

Some of the cut-offs we used to establish some vitamin deficiencies were different from the literature. Vitamin A could have been over-reported since we used a cut-off for deficiency of 0.3 mg/L (1.07 µmol/L), whereas other authors used 0.196 mg/L (0.7 µmol/L), values below which we considered as a severe deficit. However, this has little impact on the prevalence as only 4 patients had vitamin A levels between 0.196 and 0.3 mg/L, so the resulting prevalence would be 90.2%. The same occurred for vitamin C. We used a cut-off for deficiency of 0.4 mg/dL instead of 0.2 mg/dL. In this way, since there were 6 patients who had vitamin C levels between 0.2 and 0.4 mg/dL, the resulting prevalence would be 44.6%. On the contrary, vitamin K deficit could have been under-estimated since we used a cut-off for deficiency of 13 µg/L instead of 15 µg/L, as described in the literature. In this case, two patients had vitamin K levels of 0.14 µg/L, so the resulting prevalence would be 5.1%.

**Table 3.** Prevalence of micronutrient deficiencies.

Micronutrient (n)	Prevalence
Vitamins	
A (n = 123)	115 (93.5%)
B1 (n = 81)	3 (3.7%)
B6 (n = 120)	73 (60.8%)
B9 (folic acid) (n = 97)	5 (5.2%)
B12 (n = 123)	0 (0%)
C (n = 101)	51 (50.5%)
D (n = 109)	103 (94.5%)
E (n = 123)	19 (15.4%)
K (n = 97)	3 (3.1%)
Trace elements	
Calcium (n = 87)	4 (4.6%)
Phosphorus (n = 125)	43 (34.4%)
Magnesium (n = 125)	16 (12.8%)
Copper (n = 125)	21 (16.8%)
Iron (n = 125)	48 (38.4%)
Ferritin (n = 125)	6 (5.2%)
Zinc (n = 125)	107 (85.6%)

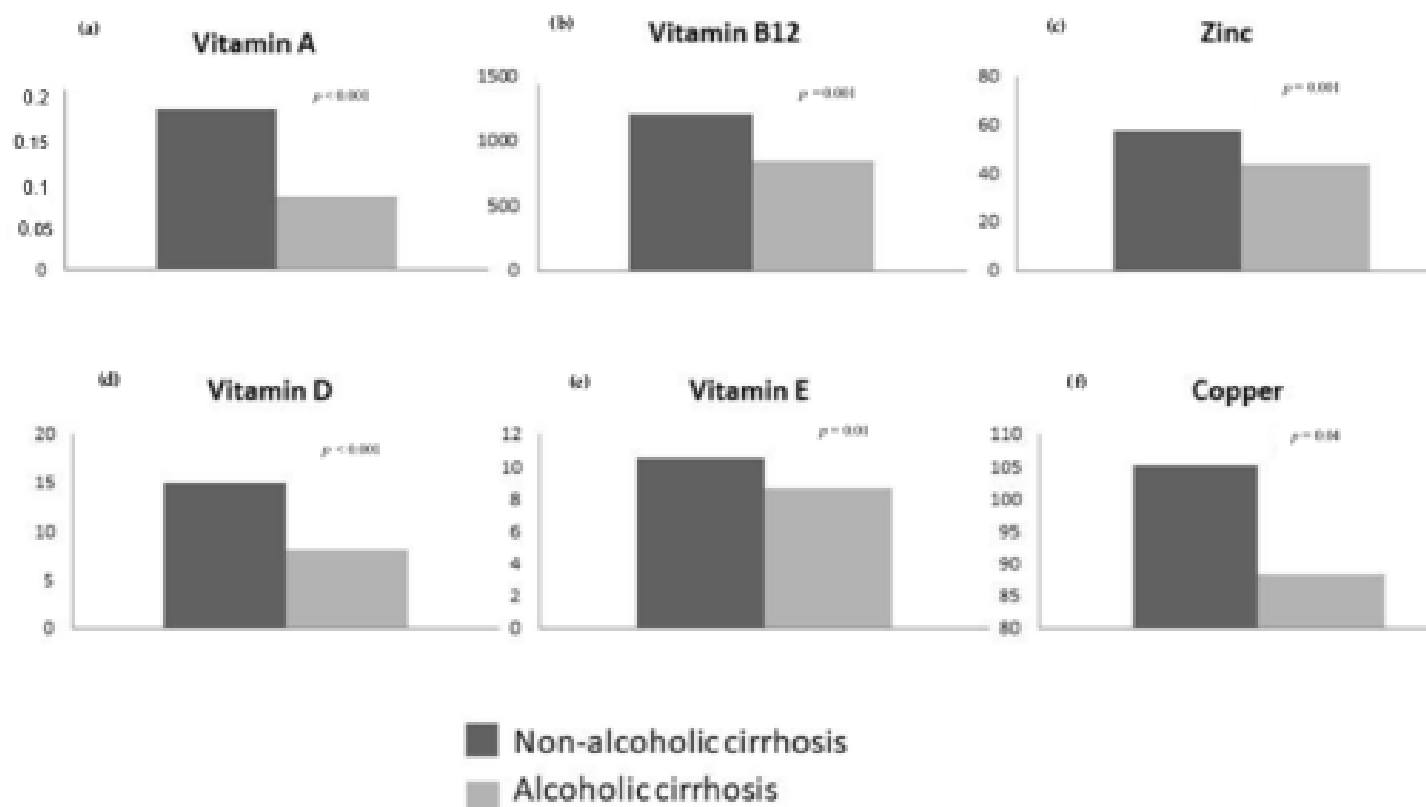
There were no significant differences in micronutrient deficiencies according to age, sex, type of cirrhosis decompensation, current alcohol consumption, presence of diabetes mellitus or body mass index. Likewise, there were no significant differences in relation to the etiology of cirrhosis. However, since most of our patients had alcoholic cirrhosis, we analyzed the micronutrient levels depending on the etiology of cirrhosis by treating it as a dichotomous variable: alcoholic cirrhosis ( $n = 107$ ) vs. non-alcoholic cirrhosis ( $n = 18$ ). Then, we found statistically significant differences for serum levels of vitamin A ( $0.1 \pm 0.09$  vs.  $0.23 \pm 0.1$  ( $p < 0.001$ )), vitamin B12 ( $861.5 \pm 455$  vs.  $1160.5 \pm 594.8$  ( $p = 0.001$ )), vitamin E ( $8.3 \pm 4.3$  vs.  $10.7 \pm 2.7$  ( $p = 0.01$ )), vitamin D ( $8.1 \pm 4.6$  vs.  $14.9 \pm 11.4$  ( $p < 0.001$ )), copper ( $88.8 \pm 32.2$  vs.  $105.06 \pm 29.5$  ( $p = 0.04$ )) and zinc ( $44.06 \pm 33.1$  vs.  $58.6 \pm 17.8$  ( $p = 0.001$ )). These results are shown in Figure 1.

With regard to liver function, we identified that patients in Child-Pugh class C had lower values of vitamin A ( $p < 0.0001$ ), zinc ( $p < 0.0001$ ), vitamin E ( $p = 0.01$ ) and magnesium ( $p = 0.05$ ). In addition, Child-Pugh class C patients had higher levels of iron ( $p = 0.009$ ), ferritin ( $p = 0.002$ ) and vitamin B12 ( $p < 0.0001$ ) than those in class A and B. The median serum concentration of vitamin A in patients in Child-Pugh class C was  $0.05$  mg/L, whereas the median values for class A and B were  $0.24$  and  $0.09$  mg/L, respectively. As for zinc, we found that patients in Child-Pugh class C had a median serum value of  $35$   $\mu$ g/dL, while those in class A and B had a median serum concentration of  $56$  and  $45.5$   $\mu$ g/dL. These results are summarized in Table 4.

Patients with a higher MELD score had lower levels of vitamin A ( $p < 0.0001$ ), vitamin E ( $p = 0.001$ ), magnesium ( $p = 0.01$ ) and zinc ( $p = 0.02$ ), and higher values of ferritin ( $p = 0.002$ ) and vitamin B12 ( $p < 0.0001$ ). These results are represented in Figure 2.

As for infections, we analyzed whether any micronutrient deficiencies correlated with infection at the time of admission. We did not find a statistically significant correlation between any vitamin deficiency and the presence of infection. However, when we focused on trace elements, we found that patients who had infection at the time of admission had lower serum concentrations of phosphorus, and this correlation reached statistical significance with a  $p$ -value of  $0.03$ .





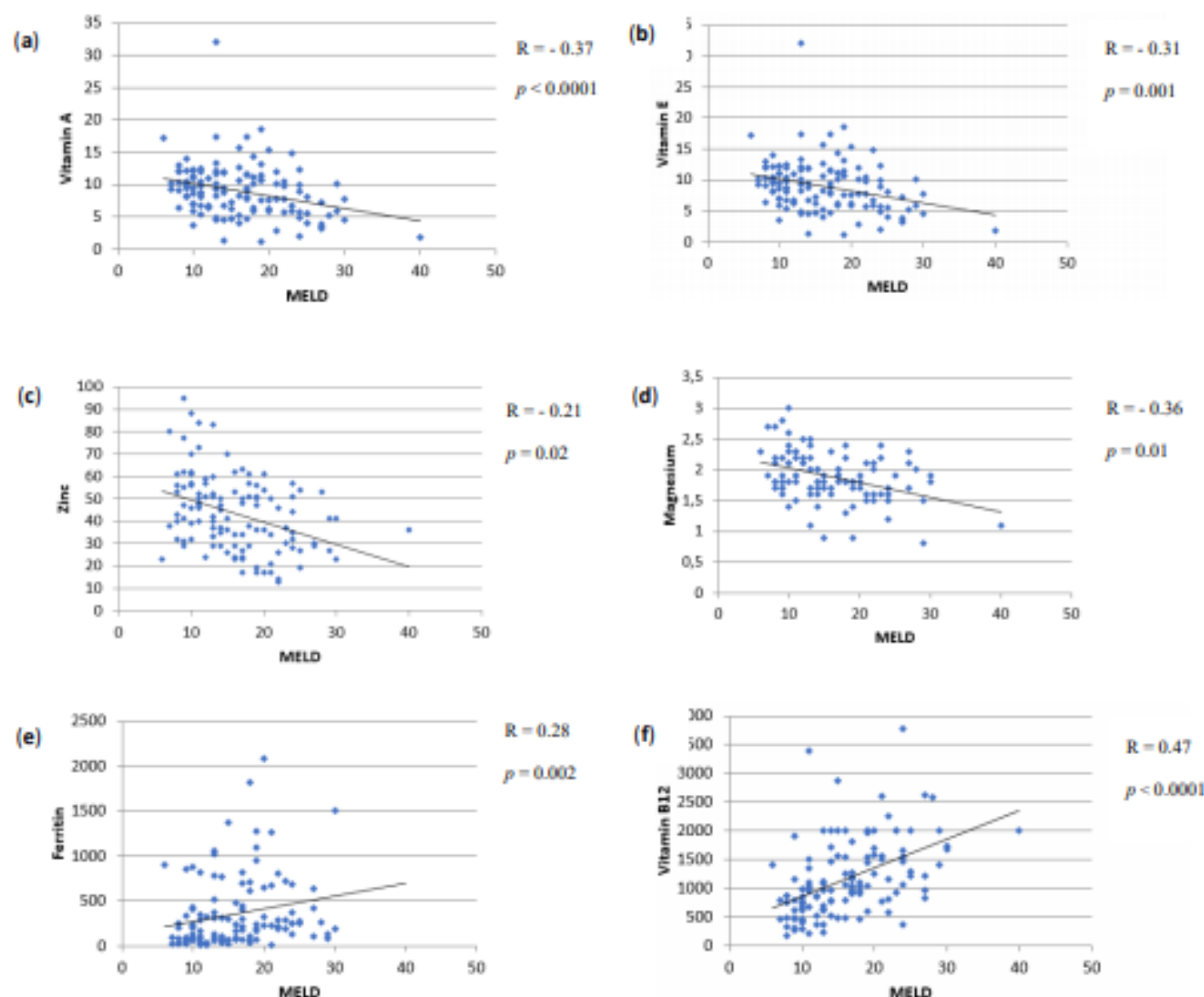
**Figure 1.** Bar chart of the serum levels of the micronutrients that reached statistical significance when analyzed depending on etiology of cirrhosis as a dichotomic variable. (a) Etiology of cirrhosis and vitamin A levels. (b) Etiology of cirrhosis and vitamin B12 levels. (c) Etiology of cirrhosis and zinc levels. (d) Etiology of cirrhosis and vitamin D levels. (e) Etiology of cirrhosis and vitamin E levels. (f) Etiology of cirrhosis and copper levels.

**Table 4.** Serum concentrations of micronutrients according to Child-Pugh class. Univariate analysis.

	Child-Pugh A	Child-Pugh B	Child-Pugh C	p-value
Vitamin A	0.24 (0.09–0.59)	0.09 (0.01–0.55)	0.05 (0.02–0.22)	<0.0001
Vitamin B1	4.2 (3.4–4.8)	3.9 (1.2–8.7)	3.1 (1.2–13.8)	0.5
Vitamin B6	27.4 (11.3–106)	22.1 (9–97.8)	12.35 (9–46)	0.21
Folic acid (B9)	6.2 (4–14.40)	5.4 (1.3–20)	5.3 (1.5–23.30)	0.5
Vitamin B12	416.5 (164–1919)	872.5 (269–2868)	1459 (186–3771)	<0.0001
Vitamin C	0.6 (0.1–1.41)	0.41 (0.1–2.69)	0.24 (0.1–9)	0.82
Vitamin D	9.8 (5.5–22.9)	6.6 (5–26.9)	6.6 (5–49)	0.25
Vitamin E	10.6 (4.7–17.4)	9.4 (1.2–32)	6.5 (1.3–14.3)	0.01
Vitamin K	1.14 (0.18–4.03)	0.83 (0.09–4.31)	0.52 (0.05–1.90)	0.07
Calcium	9.2 (8–9.8)	9.4 (8.29–10.8)	9.5 (8.17–10.6)	0.26
Phosphorus	3.2 (2.3–4)	2.75 (1–4.7)	2.75 (1–3.5)	0.27
Magnesium	2.1 (1.8–2.5)	1.8 (0.9–2.7)	1.75 (0.8–2.5)	0.05
Copper	86 (67–126)	96.5 (17–121)	80.5 (40–155)	0.44
Zinc	56 (51–84)	45.5 (17–95)	35 (13–57)	<0.0001
Ferritin	71 (12–774)	208.5 (10–2083)	260 (12–4262)	0.002
Iron	32 (25–269)	46.5 (11–205)	80 (22–178)	0.009

Data are median (range). p-value (Child-Pugh C compared to Child-Pugh A and B).

We also analyzed if patients with active alcohol consumption had a different micronutrient deficiency profile from those without active alcohol consumption. We found that patients with active consumption had lower serum concentrations of vitamin A ( $p = 0.001$ ), vitamin E ( $p = 0.02$ ) and vitamin D ( $p < 0.0001$ ), and higher serum concentrations of vitamin B12 ( $p = 0.013$ ).



**Figure 2.** Scatter plots of the correlations of MELD score with the micronutrients that reached statistical significance. R is the correlation coefficient. (a) MELD score and vitamin A (negative correlation,  $R = -0.37$ ), (b) MELD score and vitamin E (negative correlation,  $R = -0.31$ ), (c) MELD score and zinc (negative correlation,  $R = -0.21$ ), (d) MELD score and magnesium (negative correlation,  $R = -0.36$ ), (e) MELD score and ferritin (positive correlation,  $R = 0.28$ ), (f) MELD score and vitamin B12 (positive correlation,  $R = 0.47$ ).

#### 4. Discussion

Vitamins and minerals play a significant role in several antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic metabolic processes, and their deficiencies are common in patients with cirrhosis regardless of the etiology of the liver disease. Our study is the first to provide an overall view of the prevalence of micronutrient deficiency for both vitamins and trace elements in patients with decompensated cirrhosis. So far, this is the largest and most complete prevalence study of micronutrient deficiency in patients with decompensated cirrhosis, regardless of their status on the transplant list. To date, the most studied and well-documented deficiencies in patients with liver disease are those of zinc and vitamin D.

Zinc deficiency may occur as a consequence of diuretic use or restricted animal protein intake [18–20]. The results of our study showed a high prevalence—around 85%—of zinc deficiency, which is similar to previously published findings by several authors (83–94%) [21–23]. In 1996, Pescovitz et al. conducted a study in 34 cirrhotic patients awaiting liver transplantation and found a prevalence of zinc deficiency of 94% [22]. More



recently, in 2015, Sengupta et al. found a high prevalence of zinc deficiency (83%) in 163 cirrhotic patients [23]. They also demonstrated that the deficiency was significantly higher in patients with Child-Pugh class B or C cirrhosis than in those in Child-Pugh class A. These results are consistent with ours: we found a high prevalence of zinc deficiency (85.6%) and a significantly higher deficiency in patients with more severe liver disease, with a median zinc concentration of 56, 45.5 and 35  $\mu\text{g}/\text{dL}$  in patients in Child-Pugh class A, B and C, respectively. Patients in Child-Pugh class C had significantly lower values of zinc than those in class A and B ( $p < 0.0001$ ). The results were similar when we considered the MELD score: we found a correlation between patients with higher MELD score and lower values of zinc ( $p = 0.02$ ).

Some authors have demonstrated that vitamin D deficiency has significant implications in chronic liver disease: it correlates with disease severity and degree of fibrosis and is associated with poorer outcomes [11,24–27]. A study in 88 hospitalized cirrhotic patients conducted by Anty et al. found a prevalence of severe vitamin D deficiency ( $<10 \text{ ng}/\text{mL}$ ) of 56.8% [28]. They also described that infections were more frequent in this group than in those with higher levels of vitamin D (54% vs. 29%,  $p = 0.02$ ). They concluded that severe vitamin D deficiency was a predictor of infection independently of Child-Pugh class.

Similarly, Buonomo et al. found a prevalence of vitamin D deficiency of 64% in a group of 345 inpatients and outpatients, 50.27% of whom had a severe deficiency [29]. They also described an association between severe vitamin D deficit and poor survival, independently of Child-Pugh class.

These results fit in with ours: we found a prevalence of vitamin D deficiency of 94.5% and a prevalence of vitamin D insufficiency ( $<30 \text{ ng}/\text{mL}$ ) of 99%. Eighty-two patients (75.2%) had a severe deficiency ( $<10 \text{ ng}/\text{mL}$ ). However, we did not find a correlation between vitamin D deficiency and more advanced liver disease as measured with the MELD score or Child-Pugh classification.

In 2013, Venu et al. conducted a retrospective study in 63 outpatients awaiting liver transplant and reported a high prevalence of vitamin A and D deficiency (69.8% and 80.9%, respectively) [5]. However, only 3.2% of the patients had a vitamin E deficiency.

In the present study in hospitalized patients, we found a prevalence of vitamin A deficiency of 93.5% and a prevalence of vitamin E deficiency of 15.4%. Vitamin K deficiency was observed in 3.1% of patients. These results suggest that prolonged prothrombin time in liver diseases is not due to vitamin K deficiency but rather to liver insufficiency, since the vast majority of the patients in the study had a prolonged prothrombin time but only a few had an objective vitamin K deficiency. Vitamin K deficiency was not greater in the subgroups with active alcohol consumption or lower prealbumin serum levels.

Interestingly, the patients with the most severely impaired liver function as measured with MELD score had significantly lower levels of vitamin A ( $p < 0.0001$ ) and vitamin E ( $p = 0.001$ ). In addition, we found that patients with marked advanced liver disease (Child-Pugh C) also had lower values of vitamin A ( $p < 0.0001$ ) and E ( $p = 0.01$ ) than those with more preserved liver function (Child-Pugh A and B). Low vitamin A levels can be attributed to reduced synthesis of prealbumin and retinol-binding protein in the liver. Furthermore, alcoholic cirrhosis is usually associated with zinc deficit, which can contribute to decreased retinol-binding protein synthesis and, therefore, impair vitamin A mobilization [30].

Another point to be interpreted with caution is that of low vitamin E levels, because these are influenced by lipoprotein metabolism. Due to the low serum concentrations of cholesterol and triglyceride in these patients, the vitamin E/cholesterol + triglycerides ratio should be calculated, since it better reflects the nutritional status of this vitamin.

For water-soluble vitamins, we found a prevalence of vitamin B6 and vitamin C deficiency of 60.8% and 50.5%, respectively. Vitamin B1 deficiency was observed in 3.7%, and none of the patients had B12 vitamin deficiency. In fact, 74% of the patients had serum levels of vitamin B12 above the upper limit of normality with a median value of 982  $\text{pg}/\text{mL}$  and a range of 664–1542. Strikingly, we found that patients in Child-Pugh class C had



higher values of vitamin B12 than those in class A or B ( $p < 0.0001$ ). The results were similar when using MELD score: patients with higher MELD score had higher serum values of vitamin B12 ( $p > 0.0001$ ).

Our results are consistent with those reported by Sugihara et al. [31], who found that patients in Child-Pugh class C had serum vitamin B12 levels significantly higher than those in class A or B. Specifically, they found a serum concentration of  $1308 \pm 599$  pg/mL in Child-Pugh class C patients,  $660 \pm 464$  pg/mL in class B and  $784 \pm 559$  pg/mL in class A ( $p = 0.029$ ). Furthermore, they found that higher values of vitamin B12 were linked to poor prognosis.

One finding from our study that may be impactful is that the prevalence of vitamin B12 deficiency was 0% in a population of patients with cirrhosis mostly of alcoholic etiology. The association of vitamin B12 deficiency with chronic alcoholism has been known for over 40 years [32,33]. However, more recent studies comparing patients with liver disease and healthy subjects both with excessive chronic consumption of alcohol found that the presence of liver damage correlated with elevated vitamin B12 levels. Therefore, they concluded that levels of vitamin B12 were a good indicator of the degree of hepatocytes injury by alcohol. They proposed two mechanisms that may explain this fact: firstly, excess release due to the destruction of liver cells, and secondly, reduced uptake of vitamin B12 from serum by injured hepatocytes [31,34,35].

In relation to trace elements, the prevalence of iron and phosphorous deficiency was also high: 38.4% and 34.4%, respectively. Interestingly, however, we found that Child-Pugh class C patients had higher serum iron ( $p = 0.009$ ) and ferritin ( $p = 0.002$ ) values than those in class A and B. Similar results were found when we analyzed based on the MELD score: patients with the most severe liver dysfunction had higher values of ferritin ( $p = 0.002$ ). In fact, these results are consistent with several studies conducted in patients with decompensated liver disease, which showed an association between serum ferritin levels and patient prognosis [36–39]. Walker et al. assessed 191 candidates for liver transplant and reported that baseline serum ferritin levels  $>200$   $\mu\text{g/L}$  was an independent predictor of mortality at 6 and 12 months [38]. Similarly, Maiwall et al. carried out a study with 318 patients with decompensated cirrhosis and found that ferritin values correlated with severity of liver decompensation and with early liver-related death, independent of the MELD score [39]. They described a progressive risk of death with increasing ferritin levels which plateaued and rose very gradually above a concentration of  $500$   $\mu\text{g/L}$ . In our study, the median serum concentrations and the range were 71 (12–774), 208.5 (10–2083) and 260 (12–4262)  $\mu\text{g/L}$  for Child-Pugh class A, B and C, respectively.

As for copper and magnesium, deficiencies were detected in 16.8% and 12.8%, respectively. In our bibliographic search, we did not find any studies on the prevalence of copper or magnesium deficiency in patients with cirrhosis or liver disease.

Some authors have reported the benefits of screening for magnesium and copper deficiency and of supplementation if a deficiency is detected. A review by Liu et al. concluded that magnesium deficiency aggravates cirrhosis and could contribute to liver cancer progression [40]. They stated that magnesium supplementation can slow the progression of liver disease and decrease the associated mortality. Nangliya et al. carried out a study with 150 cirrhotic patients and 50 controls and reported that serum magnesium, zinc and selenium levels were significantly decreased in cirrhotic patients in comparison to controls ( $p < 0.001$ ) [41]. In our study, we found that patients with more advanced liver disease as measured with MELD score had lower serum concentrations of magnesium ( $p = 0.01$ ). Similarly, Child-Pugh class C patients had lower serum concentrations of magnesium than Child-Pugh class A and B patients ( $p = 0.05$ ).

As for copper, Aigner et al. conducted a study with 120 patients with MAFLD and concluded that an association between copper status and iron homeostasis exists, suggesting that low copper bioavailability may increase hepatic iron stores [42], which could contribute to the progression of liver fibrosis [43,44].



In our study, the prevalence of calcium and folic acid deficiency was 4.6% and 5.2%, respectively. It is well-known that patients with liver disease develop bone loss that can lead to atraumatic fractures. Nakchbandi recommended that physicians should evaluate bone density in these patients regardless of serum calcium values and should supplement with a minimum of vitamin D and calcium to prevent bone fractures and osteoporosis [45].

As the prevalence of micronutrient deficiencies in cirrhotic patients is so high, some authors recommend checking serum magnesium, zinc, vitamin D and vitamin A every 6 months [11,20]. We fully agree with them and support the need for micronutrient analyses in these patients to allow supplementation to be given as soon as possible. Given the high prevalence of vitamin A, vitamin D and zinc deficiencies detected and the safety of their supplementation, it could be reasonable to start treatment at the time of admission at the established dosage and continue with further supplementation during hospitalization if other deficiencies are detected. However, the efficacy of this intervention should be evaluated in subsequent studies.

Finally, an issue that should be discussed is that in the present study, micronutrient levels were not corrected for inflammatory status. Inflammation can confuse the interpretation of micronutrient status, and one of the key elements involved in cirrhosis pathophysiology is systemic inflammation [46]. However, this chronic inflammation is difficult to assess and quantify. In fact, most studies on inflammatory status and micronutrients conducted so far only focus on acute inflammatory response. In 2017, researchers from the Biomarkers Reflecting Inflammation and Nutritional Determinants of Anemia (BRINDA) project published a new mathematical method to estimate the prevalence of iron and vitamin A in settings of acute and chronic inflammation [47]. They suggested that without this adjustment, iron deficiency could be under-reported and vitamin A and zinc deficiency could be over-reported [47–49]. Nevertheless, it is unclear if the results of this study can be used in individuals. There is still a lot of research to be done in this area, especially to assess the benefits of micronutrient supplementation in patients with chronic systemic inflammation, such as those with liver cirrhosis.

## 5. Conclusions

This study provided a detailed picture of the micronutrient deficiency situation in patients with decompensated cirrhosis mostly of alcoholic etiology who we see every day in our hospitals, regardless of their age and the severity of liver failure. The most common vitamin deficiencies were A, D, B6 and C. Zinc deficiency was practically universal in this population. The severity of liver disease correlates well with lower levels of magnesium, zinc, vitamin A and vitamin E, and with higher serum values of vitamin B12 and ferritin. Further studies assessing the global supplementation of all these microelements in patients with cirrhosis and their effects on prognosis should be explored in the near future.

**Author Contributions:** Conceptualization, A.L. and V.P.-D.; methodology, J.S.-D. and G.L.-N.; validation, M.V., C.S., M.C. and M.M.; formal analysis, L.G.; investigation, G.L.-N. and J.S.-D.; resources, G.S., J.M.B. and A.H.; data curation, J.S.-D., L.G. and G.L.-N.; writing—original draft preparation, G.L.-N.; writing—review and editing, J.S.-D. and M.M.; supervision, J.S.-D. and M.M. All authors have read and agree to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received a grant (CIR 2017) from the Corporació Sanitària Parc Taulí in the modality “Encouraging initiation in clinical research”.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of Parc Taulí Hospital (2017536, 26 June 2017).

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

**Data Availability Statement:** The datasets generated and analyzed during the current study are not publicly available due to provisions of the written informed consent.

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



## References

1. Kalaitzakis, E.; Simrén, M.; Olsson, R.; Henfridsson, P.; Hugosson, I.; Bengtsson, M.; Björnsson, E. Gastrointestinal symptoms in patients with liver cirrhosis: Associations with nutritional status and health-related quality of life. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2006**, *10*, 1464–1472. [CrossRef]
2. Campillo, B.; Richardet, J.P.; Scherman, E.; Bories, P.N. Evaluation of nutritional practice in hospitalized cirrhotic patients: Results of a prospective study. *Nutrition* **2003**, *19*, 515–521. [CrossRef]
3. Englesbe, M.J.; Patel, S.P.; He, K.; Lynch, R.J.; Schaubel, D.E.; Harbaugh, C.; Holcombe, S.A.; Wang, S.C.; Segev, D.L.; Sonnenday, C.J. Sarcopenia and mortality after liver transplantation. *J. Am. Coll. Surg.* **2010**, *211*, 271–278. [CrossRef] [PubMed]
4. Cheung, K.; Lee, S.S.; Raman, M. Prevalence and Mechanisms of Malnutrition in Patients with Advanced Liver Disease, and Nutrition Management Strategies. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2012**, *10*, 117–125. [CrossRef] [PubMed]
5. Venu, M.; Martin, E.; Saeian, K.; Gawrieh, S. High prevalence of vitamin A deficiency and vitamin D deficiency in patients evaluated for liver transplantation. *Liver Transplant.* **2013**, *19*, 627–633. [CrossRef]
6. Trautwein, C.; Possienke, M.; Schlitt, H.-J.; Boker, K.H.W.; Horn, R.; Raab, R.; Manns, M.P.; Brabant, G. Bone density and metabolism in patients with viral hepatitis and cholestatic liver diseases before and after liver transplantation. *Am. J. Gastroenterol.* **2000**, *95*, 2343–2351. [CrossRef] [PubMed]
7. Stokes, C.S.; Volmer, D.A.; Grünhage, F.; Lammert, F. Vitamin D in chronic liver disease. *Liver Int.* **2013**, *33*, 338–352. [CrossRef] [PubMed]
8. Finkelmeier, F.; Kronenberger, B.; Zeuzem, S.; Piiper, A.; Waidmann, O. Low 25-hydroxyvitamin D levels are associated with infections and mortality in patients with cirrhosis. *PLoS ONE* **2015**, *10*. [CrossRef]
9. Putz-Bankuti, C.; Pilz, S.; Stojakovic, T.; Schrnagl, H.; Pieber, T.R.; Trauner, M.; Obermayer-Pietsch, B.; Stauber, R.E. Association of 25-hydroxyvitamin D levels with liver dysfunction and mortality in chronic liver disease. *Liver Int.* **2012**, *32*, 845–851. [CrossRef]
10. Stokes, C.S.; Krawczyk, M.; Reichel, C.; Lammert, F.; Grünhage, F. Vitamin D deficiency is associated with mortality in patients with advanced liver cirrhosis. *Eur. J. Clin. Investig.* **2014**, *44*, 176–183. [CrossRef]
11. Koop, A.H.; Mousa, O.Y.; Pham, L.E.; Corral-Hurtado, J.E.; Pungpapong, S.; Keaveny, A.P. An argument for vitamin D, A, and zinc monitoring in cirrhosis. *Ann. Hepatol.* **2018**, *17*, 920–932. [CrossRef]
12. Harrison, S.A.; Torgerson, S.; Hayashi, P.; Ward, J.; Schenker, S. Vitamin E and Vitamin C Treatment Improves Fibrosis in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis. *Am. J. Gastroenterol.* **2003**, *98*, 2485–2490. [CrossRef]
13. Bémeur, C.; Butterworth, R.F. Nutrition in the management of cirrhosis and its neurological complications. *J. Clin. Exp. Hepatol.* **2014**, *4*, 141–150. [CrossRef]
14. Gammoh, N.Z.; Rink, L. Zinc in infection and inflammation. *Nutrients* **2017**, *9*, 624. [CrossRef]
15. Himoto, T.; Masaki, T. Associations between zinc deficiency and metabolic abnormalities in patients with chronic liver disease. *Nutrients* **2018**, *10*, 88. [CrossRef]
16. Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines on nutrition in chronic liver disease. *J. Hepatol.* **2019**, *70*, 172–193. [CrossRef]
17. Angeli, P.; Ginès, P.; Wong, F.; Bernardi, M.; Boyer, T.D.; Gerbes, A.; Moreau, R.; Jalan, R.; Sarin, S.K.; Piano, S.; et al. Diagnosis and management of acute kidney injury in patients with cirrhosis: Revised consensus recommendations of the International Club of Ascites. *Gut* **2015**, *64*, 531–537. [CrossRef]
18. Mangray, S.; Zweit, J.; Puri, P. Zinc Deficiency in Cirrhosis: Micronutrient for Thought? *Dig. Dis. Sci.* **2015**, *60*, 2868–2870. [CrossRef]
19. McClain, C.; Vatsalya, V.; Cave, M. Role of Zinc in the Development/Progression of Alcoholic Liver Disease. *Curr. Treat. Options Gastroenterol.* **2017**, *15*, 285–295. [CrossRef]
20. Tandon, P.; Raman, M.; Mourtzakis, M.; Merli, M. A practical approach to nutritional screening and assessment in cirrhosis. *Hepatology* **2017**, *65*, 1044–1057. [CrossRef]
21. Teriaky, A.; Mosli, M.; Chandok, N.; Al-Judaibi, B.; Marotta, P.; Qumosani, K. Prevalence of fat-soluble vitamin (A, D, and E) and zinc deficiency in patients with cirrhosis being assessed for liver transplantation. *Acta Gastroenterol. Belg.* **2017**, *80*, 237–241.
22. Pescovitz, M.D.; Mehta, P.L.; Jindal, R.M.; Milgrom, M.L.; Leapman, S.B.; Filo, R.S. Zinc deficiency and its repletion following liver transplantation in humans. *Clin. Transplant.* **1996**, *10*, 256–260.
23. Sengupta, S.; Wroblewski, K.; Aronsohn, A.; Reau, N.; Reddy, K.G.; Jensen, D.; Te, H. Screening for Zinc Deficiency in Patients with Cirrhosis: When Should We Start? *Dig. Dis. Sci.* **2015**, *60*, 3130–3135. [CrossRef]
24. Malham, M.; Jørgensen, S.P.; Ott, P.; Agnholt, J.; Vilstrup, H.; Borre, M.; Dahlerup, J.F. Vitamin D deficiency in cirrhosis relates to liver dysfunction rather than aetiology. *World J. Gastroenterol.* **2011**, *17*, 922–925. [CrossRef]
25. Savić, Ž.; Vračarić, V.; Milić, N.; Nićiforović, D.; Damjanov, D.; Pellicano, R.; Medić-Stojanoska, M.; Abenavoli, L. Vitamin D supplementation in patients with alcoholic liver cirrhosis: A prospective study. *Minerva Med.* **2018**, *109*, 352–357. [CrossRef]
26. Jamil, Z.; Arif, S.; Khan, A.; Durrani, A.A.; Yaqoob, N. Vitamin D Deficiency and Its Relationship with Child-Pugh Class in Patients with Chronic Liver Disease. *J. Clin. Transl. Hepatol.* **2018**, *6*, 1–6. [CrossRef]
27. Rode, A.; Fourlanos, S.; Nicoll, A. Oral vitamin D replacement is effective in chronic liver disease. *Gastroenterol. Clin. Biol.* **2010**, *34*, 618–620. [CrossRef]



28. Anty, R.; Tonohouan, M.; Ferrari-Panaia, P.; Piche, T.; Pariente, A.; Anstee, Q.M.; Gual, P.; Tran, A. Low levels of 25-hydroxy vitamin D are independently associated with the risk of bacterial infection in cirrhotic patients. *Clin. Transl. Gastroenterol.* **2014**, *5*. [[CrossRef](#)]
29. Buonomo, A.R.; Scotto, R.; Zappulo, E.; Nerilli, M.; Pinchera, B.; Perruolo, G.; Formisano, P.; Nappa, S.; Gentile, I. Severe Vitamin D deficiency increases mortality among patients with liver cirrhosis regardless of the presence of HCC. *In Vivo* **2019**, *33*, 177–182. [[CrossRef](#)]
30. Leo, M.A.; Lieber, C.S. Alcohol, vitamin A, and beta-carotene: Adverse interactions, including hepatotoxicity and carcinogenicity. *Am. J. Clin. Nutr.* **1999**, *69*, 1071–1085. [[CrossRef](#)]
31. Sugihara, T.; Koda, M.; Okamoto, T.; Miyoshi, K.; Matono, T.; Oyama, K.; Hoshio, K.; Okano, J.I.; Isomoto, H.; Murawaki, Y. Falsely Elevated Serum Vitamin B12 Levels Were Associated with the Severity and Prognosis of Chronic Viral Liver Disease. *Yonago Acta Med.* **2017**, *60*, 31–39.
32. Halsted, C.H. B-vitamin dependent methionine metabolism and alcoholic liver disease. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2013**, *51*, 457–465. [[CrossRef](#)]
33. Levy, C.M.; Cardi, L.; Frank, O.; Gellene, R.; Baker, H. Incidence and significance of hypovitaminemia in a randomly selected municipal hospital population. *Am. J. Clin. Nutr.* **1965**, *17*, 259–271. [[CrossRef](#)]
34. Cylwik, B.; Czygier, M.; Daniluk, M.; Chrostek, L.; Szmitowski, M. Vitamin B12 concentration in the blood of alcoholics. *Pol. Merkur Lek.* **2010**, *28*, 122–125. (In Polish)
35. Kazimierska, E.; Czestochowska, E. Serum homocysteine, vitamin B12 and folic acid concentrations in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Pol. Merkur Lek.* **2003**, *15*, 140–143. (In Polish)
36. Oikonomou, T.; Goulis, I.; Soulaïdopoulos, S.; Karasmani, A.; Doumtsīs, P.; Tsioni, K. High serum ferritin is associated with worse outcome of patients with decompensated cirrhosis. *Ann. Gastroenterol.* **2017**, *30*, 217–224. [[CrossRef](#)]
37. Maras, J.S.; Maiwall, R.; Harsha, H.C.; Das, S.; Hussain, M.S.; Kumar, C.; Bihari, C.; Rastogi, A.; Kumar, M.; Trehanpati, N.; et al. Dysregulated iron homeostasis is strongly associated with multiorgan failure and early mortality in acute-on-chronic liver failure. *Hepatology* **2015**, *61*, 1306–1320. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Walker, N.M.; Stuart, K.A.; Ryan, R.J.; Desai, S.; Saab, S.; Nicol, J.A.; Fletcher, L.M.; Crawford, D.H. Serum ferritin concentration predicts mortality in patients awaiting liver transplantation. *Hepatology* **2010**, *51*, 1683–1691. [[CrossRef](#)]
39. Maiwall, R.; Kumar, S.; Chaudhary, A.K.; Maras, J.; Wani, Z.; Kumar, C.; Rastogi, A.; Bihari, C.; Vashisht, C.; Sarin, S.K. Serum ferritin predicts early mortality in patients with decompensated cirrhosis. *J. Hepatol.* **2014**, *61*, 43–50. [[CrossRef](#)]
40. Liu, M.; Yang, H.; Mao, Y. Magnesium and liver disease. *Ann. Transl. Med.* **2019**, *7*, 578. [[CrossRef](#)]
41. Nangliya, V.; Sharma, A.; Yadav, D.; Sunder, S.; Nijhawan, S.; Mishra, S. Study of Trace Elements in Liver Cirrhosis Patients and Their Role in Prognosis of Disease. *Biol. Trace Elem. Res.* **2015**, *165*, 35–40. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Aigner, E.; Theurl, I.; Haufe, H.; Seifert, M.; Hohla, F.; Scharinger, L.; Stickel, F.; Mourlane, F.; Weiss, G.; Datz, C. Copper Availability Contributes to Iron Perturbations in Human Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* **2008**, *135*, 680–688. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Mehta, K.J.; Farnaud, S.J.; Sharp, P.A. Iron and liver fibrosis: Mechanistic and clinical aspects. *World J. Gastroenterol.* **2019**, *25*, 521–538. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Antonucci, L.; Porcu, C.; Iannucci, G.; Balsano, C.; Barbaro, B. Non-alcoholic fatty liver disease and nutritional implications: Special focus on copper. *Nutrients* **2017**, *9*, 1137. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Nakhbandi, I.A. Osteoporosis and fractures in liver disease: Relevance, pathogenesis and therapeutic implications. *World J. Gastroenterol.* **2014**, *20*, 9427–9438.
46. Dirchwolf, M.; Ruf, A.E. Role of systemic inflammation in cirrhosis: From pathogenesis to prognosis. *World J. Hepatol.* **2015**, *7*, 1974–1981. [[CrossRef](#)]
47. Namaste, S.M.; Aaron, G.J.; Varadhan, R.; Peerson, J.M.; Suchdev, S.; BRINDA Working Group. Methodologic approach for the Biomarkers Reflecting Inflammation and Nutritional Determinants of Anemia (BRINDA) project. *Am. J. Clin. Nutr.* **2017**, *106*, 333–347.
48. Diana, A.; Haszard, J.J.; Purnamasari, D.M.; Nurulazmi, I.; Luftimas, D.E.; Rahmania, S.; Nugraha, G.I.; Erhardt, J.; Gibson, R.S.; Houghton, L. Iron, zinc, vitamin A and selenium status in a cohort of Indonesian infants after adjusting for inflammation using several different approaches. *Br. J. Nutr.* **2017**, *118*, 830–839. [[CrossRef](#)]
49. Namaste, S.M.; Ou, J.; Williams, A.M.; Young, M.F.; Yu, E.X.; Suchdev, S. Adjusting iron and vitamin A status in settings of inflammation: A sensitivity analysis of the Biomarkers Reflecting Inflammation and Nutritional Determinants of Anemia (BRINDA) approach. *Am. J. Clin. Nutr.* **2019**, *112*, 458–467. [[CrossRef](#)]

#### **4.2. SEGON ARTICLE**

**Gemma Llibre-Nieto**, Alba Lira, Mercedes Vergara, Meritxell Casas, Cristina Solé, José Ferrusquía-Acosta, Valentí Puig-Diví, Laia Grau-López, Josep Maria Barradas, Marta Solà, Mireia Miquel, and Jordi Sánchez-Delgado. 2023. "Prevalence of Radiological Chronic Pancreatitis and Exocrine Pancreatic Insufficiency in Patients with Decompensated Liver Disease: Is Fecal Elastase Useful in This Setting?" *Nutrients* 15, no. 2: 375. <https://doi.org/10.3390/nu15020375>





## Article

# Prevalence of Radiological Chronic Pancreatitis and Exocrine Pancreatic Insufficiency in Patients with Decompensated Liver Disease: Is Fecal Elastase Useful in This Setting?

Gemma Llibre-Nieto <sup>1,2,3,\*</sup>, Alba Lira <sup>1</sup>, Mercedes Vergara <sup>1,2,4</sup>, Meritxell Casas <sup>1</sup>, Cristina Solé <sup>1,4</sup>, José Ferrusquía-Acosta <sup>1,4</sup>, Valentí Puig-Diví <sup>5</sup>, Laia Grau-López <sup>6</sup>, Josep Maria Barradas <sup>7</sup>, Marta Solà <sup>8</sup>, Mireia Miquel <sup>1,2,4,9,†</sup> and Jordi Sánchez-Delgado <sup>1,2,4,†</sup>

<sup>1</sup> Unitat Hepatologia, Servei Aparell Digestiu, Hospital Universitari Parc Taulí, Institut d'Investigació i Innovació Parc Taulí (I3PT), 08208 Sabadell, Spain

<sup>2</sup> Departament de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Spain

<sup>3</sup> Hospital General de Granollers, 08402 Granollers, Spain

<sup>4</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III, 28029 Madrid, Spain

<sup>5</sup> Unitat Gastroenterologia, Servei Aparell Digestiu, Institut d'Investigació i Innovació Parc Taulí (I3PT), Hospital Universitari Parc Taulí, 08208 Sabadell, Spain

<sup>6</sup> Estadística, Hospital Germans Trias i Pujol, Servei de Neurologia, 08916 Badalona, Spain

<sup>7</sup> Servei d'Infermeria, Unitat Hepatologia, Servei d'Aparell Digestiu, Institut d'Investigació i Innovació Parc Taulí (I3PT), Hospital Universitari Parc Taulí, 08208 Sabadell, Spain

<sup>8</sup> Servei de Diagnòstic per la Imatge, Institut d'Investigació i Innovació Parc Taulí (I3PT), Hospital Universitari Parc Taulí, 08208 Sabadell, Spain

<sup>9</sup> Departament de Medicina, Universitat de Vic–Universitat Central de Catalunya (UVic-UCC), 08500 Vic, Spain

\* Correspondence: gllibre@fphag.org

† These authors contributed equally to this work.

**Citation:** Llibre-Nieto, G.; Lira, A.; Vergara, M.; Casas, M.; Solé, C.; Ferrusquía-Acosta, J.; Puig-Diví, V.; Grau-López, L.; Barradas, J.M.; Solà, M.; et al. Prevalence of Radiological Chronic Pancreatitis and Exocrine Pancreatic Insufficiency in Patients with Decompensated Liver Disease: Is Fecal Elastase Useful in This Setting? *Nutrients* **2023**, *15*, 375. <https://doi.org/10.3390/nu15020375>

Academic Editor: Antonio Colechia

Received: 16 November 2022

Revised: 6 January 2023

Accepted: 10 January 2023

Published: 11 January 2023



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

**Abstract:** Chronic alcohol consumption is a well-known etiological factor for both chronic pancreatitis (CP) and liver cirrhosis. However, there is discussion over how often these two entities are present together in the same patient. The main goal of our study is to establish the prevalence of CP and low fecal elastase (FE-1) in patients with decompensated liver disease (DLD). In addition, we aim to identify the demographic, epidemiological and clinical factors associated with EPI and CP in patients with decompensated liver cirrhosis. This was an observational single-center study including 119 consecutive patients hospitalized for acute decompensation of cirrhosis, mostly of alcoholic etiology. Patients underwent computed tomography (CT) or magnetic resonance imaging (MRI) to assess the radiological features of CP. We also performed two FE-1 tests and complete blood tests to assess the presence of exocrine pancreatic insufficiency (EPI) and nutritional status, including micronutrients. The results of our study show that 32 patients (26.9%) had low fecal elastase suggesting EPI and 11 (9.2%) had CP. Patients meeting radiological CP criteria had lower FE-1 than patients without CP. There were no statistically significant differences in micronutrient deficiencies according to the presence of CP or not. Likewise, we did not find any statistically significant differences in micronutrient deficiencies among patients with normal and low FE-1 indicative of EPI. FE-1 alone may not be suitable for assessing EPI in patients with acute DLD. Detecting co-existing pancreatic disease may be important in a subset of patients with DLD, when the FE-1 levels are significantly low, potentially suggestive of a pancreatic anomaly. Moreover, the clinical manifestations of EPI and CP are not useful in detecting CP in DLD patients. Likewise, CP cannot explain all causes of EPI in these patients.

**Keywords:** chronic pancreatitis; exocrine pancreatic insufficiency; decompensated cirrhosis; micronutrient deficiencies



## 1. Introduction

Chronic alcohol consumption is a well-known etiological factor for both alcoholic chronic pancreatitis (ACP) and alcoholic liver cirrhosis (ALC) and this risk directly correlates with the amount of alcohol consumed [1,2]. Only a minority of patients with chronic alcoholism will develop these diseases: about 3–5% will develop ACP, while only 2–3% will develop ALC [2,3]. In the case of ACP, the duration of alcohol consumption is shorter than in ALC; therefore, the diagnosis of ACP is usually made in younger patients than that of ALC [4].

The fact that ACP and ALC have a common etiological factor as important and recognized as chronic alcohol consumption suggests that the two conditions may coexist in some patients. However, there is discussion over how often these two entities are present together in patients with chronic alcoholism.

Existing studies present discordant results on this aspect; their different methodologies and evaluation of different parameters for each entity (clinical, functional, radiological or histopathological) make it difficult to compare them [4–7]. In addition, in clinical practice, the concurrence of ACP and ALC in the same patient is not very common, either because they are underdiagnosed or because they do not coexist. Finally, apart from chronic excessive alcohol consumption, the two entities do not share other risk factors [6].

Chronic pancreatitis (CP) is an inflammatory process of the pancreas that leads to the progressive destruction of the gland. The main symptom is abdominal pain, while steatorrhea and diabetes mellitus are clinical consequences that occur in the most advanced stages [8,9]. Specifically, exocrine pancreatic insufficiency (EPI) symptoms do not appear until approximately 90% of the exocrine function of the pancreas has been lost [10]. EPI manifestations include steatorrhea (often without diarrhea), dyspepsia, weight loss, vitamin deficiencies and altered bone metabolism [11]. Fat malabsorption leads to nutritional deficiencies, including those of fat-soluble vitamins (A, D, E, K) and possibly calcium, folic acid, magnesium, thiamine and zinc [12]. In addition, owing to vitamin D deficiency, patients with EPI are at a high risk of osteoporosis due to decreased bone mineral density [2,11]. The overall prevalence of bone disease (osteopenia and osteoporosis) in CP patients is greater than 60%, and one in four patients has established osteoporosis [13].

The diagnosis of EPI is challenging for clinicians since the symptoms and manifestations are not specific to this condition, but are also present in multiple gastrointestinal disorders, which can lead to late diagnosis or non-diagnosis. Key for diagnosis of EPI is a high clinical suspicion and identification of at-risk patients, such as those with CP [10,14]. It should also be noted that the probability of developing EPI secondary to CP also depends on the etiology, patients with ACP being at the greatest risk [15,16].

The diagnosis of EPI is based on the combination of symptoms, nutrient deficiencies and tests of pancreatic function. The most used and accessible test is FE-1, which has a specificity of 93% [17]. Given its high efficacy and non-invasiveness, this test could be considered the one of choice for screening patients with suspected EPI.

The commercial test used measures the concentration of fecal elastase in stool by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and determines the amount in feces of two isoforms of the human chymotrypsin-like elastase. Elastase is a very stable pancreatic enzyme in feces, easy to preserve, and correlates with the pancreatic secretion of various enzymes: elastase, lipase, amylase and trypsin. The only caution to be noted when collecting the sample is that it should be of solid consistency to avoid a false positive [18].

The main goal of our study is to establish the prevalence of CP and low FE-1 in patients with DLD, in a cohort of patients where the majority had ALC. In addition, we aim to identify the demographic, epidemiological and clinical factors associated with EPI—diagnosed on the basis of low FE-1—and CP in patients with decompensated liver cirrhosis.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Study Design

This was a prospective single-center cohort study conducted at Parc Tauli Hospital from October 2017 to December 2019.

### 2.2. Sampling and Inclusion Criteria

We included 119 consecutive patients with liver cirrhosis of any etiology admitted to our hospital due to decompensation (ascitic decompensation, infection, hepatic encephalopathy, alcoholic hepatitis, acute kidney injury or portal hypertensive bleeding). We excluded from the analysis all patients who had a previous diagnosis of pancreatic disease different from CP (cystic fibrosis, acute necrotizing pancreatitis and pancreatic tumors) and those who had undergone certain surgeries (pancreatic resection or gastrointestinal surgery) that could interfere with pancreatic function.

### 2.3. Sample Size Calculation

Few articles have evaluated the prevalence of ACP in patients with ALC, and we did not find any references on ACP prevalence in patients with DLD. The prevalence of ACP in patients with alcoholic liver disease was 16.2% in a recent meta-analysis [7]. The sample size of patients with decompensated liver cirrhosis was 106, which allowed us to estimate the prevalence of CP with a precision of  $\pm 7\%$  and 95% confidence, assuming a prevalence of 16% of the variable of interest.

### 2.4. Data Collection and Measurements

Patients were identified with a numerical code to ensure the confidentiality of their personal data after they had been properly informed and given signed consent. The following variables were obtained at the time of inclusion: demographic data (age and sex); smoking and alcohol intake; presence of diabetes; anthropometric parameters (weight and height for body mass index calculation); reason for admission; blood test results: hemogram, bilirubin, international normalized ratio, renal function, albumin, prealbumin, total protein, cholesterol (high-density lipoprotein (HDL) and low-density lipoprotein (LDL)), triglycerides, fat-soluble vitamins (A, D, E, K), water-soluble vitamins (B1, B6, B9 or folic acid, B12 and C) and trace elements (calcium, phosphorus, zinc, magnesium, copper, iron and ferritin); and cirrhosis etiology: alcoholic, hepatitis C virus (HCV), hepatitis B virus (HBV) or metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD). The vitamin forms measured were the following: retinol (vitamin A), thiamine diphosphate (Vitamin B1), pyridoxal phosphate (vitamin B6), cyanocobalamin (vitamin B12), folic acid (vitamin B9), ascorbic acid (vitamin C), 25-hydroxycholecalciferol (vitamin D), alpha-tocopherol (vitamin E) and phyloquinone (vitamin K).

We also recorded the presence of hepatic complications (ascitic decompensation, infection, hepatic encephalopathy, alcoholic hepatitis, acute kidney injury and portal hypertensive bleeding).

We included only patients with alcoholic hepatitis who required admission because they met at least one of the following hospital admission criteria: hepatic encephalopathy, bilirubin levels  $> 12$  mg/dL, prothrombin time  $> 1.36$ , acute kidney injury, ascites or significant social problems. We defined acute kidney injury (AKI) according to the position paper of the International Club of Ascites: an increase in serum creatinine  $\geq 0.3$  mg/dL within 48 h or a  $\geq 50\%$  increase in serum creatinine from baseline, occurring in the previous seven days [19].

The severity of the liver dysfunction was assessed using the Child–Pugh classification system and the MELD score (Model for End-stage Liver Disease), in which a higher score indicates more severe liver dysfunction. During hospital stay, we took two stool samples from each patient to measure FE-1 (ScheBo BiotechAG Germany Stool Test). The nurses who collected the samples and the laboratory staff who analyzed them were aware that liquid samples should be rejected to avoid false positives. At the time of admission, patients underwent a clinical questionnaire regarding the symptoms they experienced at home that



could be suggestive of CP with EPI: diarrhea (defined as  $\geq 3$  stools/day), steatorrhea and recurrent epigastric pain.

To assess CP features, patients underwent a CT scan or an MRI according to clinical indication and scanner availability.

### 2.5. Definition of Variables

We defined chronic pancreatitis as the presence of at least one of the following radiological criteria [20]:

- Glandular atrophy not explained by age.
- Irregularities or ectasia of the duct of Wirsung.
- Presence of calcifications.

We considered patients to have EPI if they had two stool samples with fecal elastase  $< 200 \mu\text{g/g}$ . If one or both of the values were  $>200 \mu\text{g/g}$ , we considered this to mean the absence of EPI [21].

### 2.6. Statistical Methods

Descriptive analysis was performed. Continuous variables were described using mean and standard deviation (SD) or median and interquartile range, as appropriate. For categorical variables, absolute numbers and percentages were calculated with their 95% confidence intervals. We used the *t*-test for continuous variables. For categorical variables, Fisher's test was used when there were fewer than five categories for the variable in question, while we used the chi-squared test if there were five or more categories. We collected and analyzed data using SPSS 23.0. In all cases, statistical significance was reached when the *p*-value was less than 0.05.

### 2.7. Ethics

Patients were recruited consecutively as they were admitted to our hospital due to cirrhosis decompensation. Once the inclusion criteria were met, patients were identified with a numerical code to ensure the confidentiality of their personal data after they had been properly informed and given signed consent.

The design, procedures and goal of the study were approved by the corresponding ethics review board (Clinical Research Ethical Committee of Parc Tauli Hospital, Ref.: 2017536), ClinicalTrials.gov identifier: NCT03236038. As previously stated, the participants were given information about the content of the study and signed a consent form before their inclusion. The study complied with the ethics set out in the Declaration of Helsinki. Confidentiality was preserved in agreement with the existing Spanish Data Protection Law (15/1999).

## 3. Results

### 3.1. Patient Characteristics

A total of 119 patients with DLD were included. Baseline patient characteristics are shown in Table 1. The mean age was  $62.4 \pm 10.2$  years and 78.2% were men.

A total of 110 patients underwent a radiological investigation: 104 had a CT scan and 6 an MRI.

The etiology of liver cirrhosis was alcoholic in 92% of the patients (84.9% alcoholic only vs. 6.7% alcoholic and HCV). Of these, 57.8% still consumed alcohol. A total of 43.6% of the patients were active smokers and 35.3% had diabetes mellitus. Eleven patients were in Child-Pugh class A (9.2%), 68 were in Child-Pugh class B (57.1%) and 40 were in Child-Pugh C (33.6%). The mean MELD score was  $15.9 \pm 6$ .

**Table 1.** Summary of the baseline characteristics for all included patients ( $n = 119$ ).

Variable	Value
Age (years)	62.4 ± 10.3
Sex	
Male	93 (78.2%)
Female	26 (21.8%)
Current smoker	51 (43.6%)
<i>Etiology of cirrhosis</i>	
Alcohol	101 (84.9%)
Alcohol and HCV	8 (6.7%)
Others (HCV, HBV, MAFLD, cryptogenic)	10 (11.9%)
Current alcohol consumption	67 (57.8%)
Diabetes mellitus	42 (35.3%)
<i>BMI categories</i>	
Underweight (<18.5)	2 (1.7%)
Normal weight (18.5–24.9)	31 (26%)
Overweight (25–29.9)	45 (37.8%)
Obese (30–39.9)	27 (22.6%)
Extremely obese (>40)	8 (5.8%)
<i>Child–Pugh class</i>	
A	11 (9.2%)
B	68 (57.1%)
C	40 (33.6%)
MELD score	15.9 ± 6
<i>Decompensation of cirrhosis</i>	
Ascites	97 (81.5%)
Encephalopathy	28 (23.5%)
Portal hypertensive bleeding	17 (14.3%)
Acute kidney injury	19 (16%)
Alcoholic hepatitis	17 (14.3%)
Non-SBP infection	40 (33.6%)
SBP	11 (9.2%)
Low fecal elastase (<200 µg/g)	32 (26.9%)
Chronic pancreatitis ( $n = 110$ )	11 (9.2%)
Diarrhea	39 (32.8%)
Steatorrhea	32 (26.9%)
Recurrent epigastric pain	15 (12.6%)
<i>Vitamin deficiencies</i>	
Vitamin A (<0.3 mg/L)	109 (91.6%)
Vitamin D (<30 ng/mL)	101 (94.4%)
Vitamin E (<5 µg/mL)	16 (15%)
Vitamin K (<0.13 µL/L)	3 (3.4%)
Vitamin B1 (<2 µg/dL)	3 (3.4%)
Vitamin B6 (<23 nmol/L)	50 (64.9%)
Vitamin B9 (<2 ng/mL)	5 (4.2%)
Vitamin B12 (<150 pg/mL)	0
Vitamin C (<0.4 mg/dL)	26 (33.8%)
<i>Trace element deficiencies</i>	
Calcium (<8.8 mg/dL)	6 (5%)
Phosphorous (<2.7 mg/dL)	41 (34.5%)
Magnesium (<1.6 mg/dL)	15 (12.6%)

Copper (<70 µg/dL)	18 (15.1%)
Iron (<60 µg/dL)	46 (38.7%)
Ferritin (<30 ng/mL)	5 (4.2%)
Zinc (<68 µg/dL)	101 (84.9%)

Data are mean (SD) for quantitative variables and n (%) for qualitative variables. MELD: Model for end-stage liver disease; SBP: Spontaneous bacterial peritonitis.

### 3.2. Chronic Pancreatitis and Decompensated Liver Disease

The vast majority of our patients had alcoholic cirrhosis (92%); 84.9% were of alcoholic etiology only and 6.7% were caused by alcohol and HCV. We found that 9.2% (11 of the 110 patients with a radiological investigation) met the established radiological criteria for CP.

There were no significant differences in the prevalence of CP in DLD according to age, sex, type of cirrhosis decompensation, etiology of cirrhosis, severity of liver disease, current alcohol consumption, active smoking or presence of diabetes mellitus. These results are summarized in Table 2.

**Table 2.** Chronic radiological pancreatitis vs. normal pancreas (n = 110).

Variable	Chronic Pancreatitis	Normal Pancreas	p-Value
	11 (9.2%)	99 (90.8%)	
Age (years)	65 ± 13.6	62.4 ± 10	0.71
Female	2 (20%)	24 (24%)	0.77
Low fecal elastase (<200 µg/g)	7 (63.6%)	25 (25.2%)	0.02
Diarrhea	2 (20%)	35 (35%)	0.4
Steatorrhea	4 (40%)	27 (27%)	0.38
Recurrent epigastric pain	2 (20%)	12 (12%)	0.47
Current smoker	6 (60%)	41 (41.8%)	0.39
Current alcohol consumption	4 (40%)	54 (55.7%)	0.5
Alcoholic cirrhosis	8 (80%)	84 (84%)	0.66
Child–Pugh Class			
A	2 (19%)	9 (9.1%)	0.37
B	4 (36%)	60 (60.6%)	0.37
C	5 (45%)	30 (30.3%)	0.37
MELD score	15.4 ± 6.8	15.2 ± 5.5	0.3
Diabetes mellitus	4 (40%)	38 (38.3%)	0.8
BMI	25.8 ± 4.03	27.6 ± 6.5	0.44
Prealbumin (20–40 mg/dL)	8.12 ± 3.4	9.03 ± 4.16	0.7
Albumin (34–48 g/L)	31.7 ± 5.1	30 ± 5.9	0.42
Cholesterol (125–200 mg/dL)	103.28 ± 28.4	124 ± 53.4	0.38
Triglycerides (50–200 mg/dL)	78 ± 20.5	95.4 ± 55.4	0.83
Decompensation of cirrhosis			
Ascites	8 (80%)	89 (89.8%)	0.87
SBP	0	11 (11%)	0.26
Encephalopathy	2 (20%)	26 (26.2%)	0.72
Portal hypertensive bleeding	1 (10%)	16 (16.1%)	0.67
Non-SBP infection	5 (50%)	33 (33%)	0.31
Alcoholic hepatitis	1 (10%)	15 (15%)	0.67
Hepatorenal syndrome	0	13 (13%)	0.6
Micronutrient levels and deficiencies			
Vitamin A levels (0.3–1 mg/L)	0.11 ± 0.1	0.13 ± 0.12	0.7
Vitamin A deficiency (<0.3 mg/L)	10 (100%)	90 (91.8%)	0.44
Vitamin D levels (>30 ng/dL)	6.6 ± 4.06	9.4 ± 6.8	0.17



Vitamin D deficiency (<30 ng/dL)	8 (80%)	86 (96%)	0.66
Vitamin E levels (5–20 µg/dL)	6.3 ± 3.2	9.3 ± 4.1	0.012
Vitamin E deficiency (<5 µg/dL)	3 (30%)	12 (12.2%)	0.14
Vitamin K levels (0.13–1.50 µg/L)	0.38 ± 0.19	0.85 ± 0.82	0.11
Vitamin K deficiency (<0.13 µg/L)	0	2 (2.7%)	0.68
Vitamin B1 levels (2–7.2 µg/dL)	5.2 ± 4.3	3.9 ± 1.39	0.85
Vitamin B1 deficiency (<2 µg/dL)	1 (16.7%)	1 (1.6%)	0.17
Vitamin B6 levels (23–173 nmol/L)	20.54 ± 19.9	24 ± 18.67	0.59
Vitamin B6 deficiency (<23 nmol/L)	6 (60%)	57 (60%)	0.62
Vitamin B9 levels (2–14.54 ng/mL)	7.4 ± 6.2	6.8 ± 3.94	0.93
Vitamin B9 deficiency (<2 ng/mL)	1 (11.1%)	4 (5.2%)	0.47
Vitamin B12 levels (150–695 pg/mL)	1129.2 ± 837.6	1062.8 ± 603.74	0.75
Vitamin B12 deficiency (<150 pg/mL)	0	0	1
Calcium (8.8–10.2 mg/dL)	9.2 ± 0.4	9.27 ± 0.54	0.24
Calcium deficiency (<8.8 mg/dL)	0	6 (6.6%)	0.52
Phosphorous (2.7–4.5 mg/dL)	3.1 ± 0.76	2.7 ± 0.8	0.55
Phosphorous deficiency (<2.7 mg/dL)	2 (22.2%)	36 (40%)	0.47
Magnesium (1.6–2.6 mg/dL)	1.1 ± 0.26	1.8 ± 0.4	0.47
Magnesium deficiency (<1.6 mg/dL)	0	13 (17.1%)	0.34
Copper (70–140 µg/dL)	114.2 ± 26.4	91.5 ± 35.9	0.28
Copper deficiency (<70 µg/dL)	1 (14.3%)	16 (20%)	0.71
Iron (60–158 µg/dL)	105.3 ± 95	74.6 ± 55.2	0.36
Iron deficiency (<60 µg/dL)	3 (30%)	38 (40.4%)	0.74
Ferritin (30–400 ng/mL)	164.9 ± 121.4	303.8 ± 321.1	1
Ferritin deficiency (<30 ng/mL)	1 (10%)	4 (4.3%)	0.41
Zinc (68–120 µg/dL)	53.3 ± 2.3	43.8 ± 17.2	0.04
Zinc deficiency (<68 µg/dL)	8 (88.9%)	85 (90.4%)	0.88

Data are mean ± SD for quantitative variables and *n* (%) for qualitative variables. MELD: Model for end-stage liver disease; SBP: Spontaneous bacterial peritonitis; BMI: Body mass index.

### 3.3. Chronic Pancreatitis and EPI

The results of our study show that 32 patients (26.9%) had two low FE-1 results (<200 µg/g) indicative of EPI. Of these patients, 81.2% had an alcoholic etiology of liver disease and 18.8% had a non-alcoholic etiology.

Patients meeting the radiological CP criteria had a lower FE-1 than patients without CP: seven (21.9%) vs. four (5.1%), *p* = 0.013. There were no significant differences in relation to the presence of recurrent epigastric pain, diarrhea, steatorrhea or micronutrient deficiencies. There were also no significant differences in the presence of low fecal elastase indicative of EPI according to age, sex, type of cirrhosis decompensation, etiology of cirrhosis, severity of liver disease, current alcohol consumption, active smoking or presence of diabetes mellitus. These results are summarized in Table 3.

**Table 3.** Exocrine pancreatic insufficiency vs. normal fecal elastase (*n* = 119).

Variable	Low Fecal Elastase 32 (26.9%)	Normal Fecal Elastase 87 (73.1%)	<i>p</i> -Value
Age (years)	62.6 ± 10.5	62.3 ± 10.2	0.85
Female	10 (31.3%)	16 (18.4%)	0.14
Chronic pancreatitis	7 (21.9%)	4 (5.1%)	0.013
Diarrhea	5 (15.6%)	34 (39.1%)	0.016
Steatorrhea	9 (28.1%)	23 (26.4%)	0.85
Recurrent epigastric pain	4 (12.5%)	11 (12.6%)	0.98
Current smoker	12 (37.5%)	39 (45.9%)	0.71

Current alcohol consumption	15 (46.9%)	52 (61.9%)	0.2
Alcoholic cirrhosis	26 (81.3%)	75 (86.2%)	0.56
Child–Pugh Class			
A	4 (12.5%)	7 (8%)	0.75
B	18 (56.3%)	50 (57.5%)	0.75
C	10 (31.3%)	30 (34.5%)	0.75
MELD score	15.9 ± 5.1	16 ± 6.3	0.82
Diabetes mellitus	10 (31.3%)	32 (36.8%)	0.66
BMI	26.6 ± 6	27.7 ± 6.3	0.72
Prealbumin (20–40 mg/dL)	8.6 ± 4.4	8.8 ± 4.3	0.41
Albumin (34–48 g/L)	29.7 ± 5.7	30 ± 5.9	0.89
Cholesterol (125–200 mg/dL)	114.3 ± 31.1	116.1 ± 55.2	0.78
Triglycerides (50–200 mg/dL)	80.8 ± 21.8	92.6 ± 56.1	0.9
Decompensation of cirrhosis			
Ascites	25 (78.1%)	72 (82.8%)	0.59
SBP	4 (12.5%)	7 (8%)	0.48
Encephalopathy	11 (34.4%)	17 (19.5%)	0.14
Portal hypertensive bleeding	4 (12.5%)	13 (14.9%)	0.49
Non-SBP infection	11 (34.4%)	29 (33.3%)	0.54
Alcoholic hepatitis	2 (6.3%)	15 (17.2%)	0.15
AKI	3 (9.4%)	11 (12.6%)	0.75
Vitamin A levels (0.3–1 mg/L)	0.11 ± 0.1	0.13 ± 0.12	0.63
Vitamin A deficiency (<0.3 mg/L)	30 (96.8%)	79 (91.9%)	0.67
Vitamin D levels (>30 ng/dL)	9.5 ± 5.5	8.9 ± 6.8	0.15
Vitamin D deficiency (<30 ng/dL)	26 (96.3%)	75 (98.7%)	0.44
Vitamin E levels (5–20 µg/dL)	8.9 ± 3.6	8.5 ± 3.2	0.5
Vitamin E deficiency (<5 µg/dL)	4 (12.9%)	13 (15.1%)	0.76
Vitamin K levels (0.13–1.50 µg/L)	0.64 ± 0.4	0.88 ± 0.8	0.52
Vitamin K deficiency (<0.13 µg/L)	0	3 (5.7%)	0.56
Vitamin B1 levels (2–7.2 µg/dL)	4.1 ± 1.3	3.9 ± 1.9	0.51
Vitamin B1 deficiency (<2 µg/dL)	0	3 (5.7%)	9.56
Vitamin B6 levels (23–173 nmol/L)	27.8 ± 21.5	25.6 ± 20.4	0.9
Vitamin B6 deficiency (<23 nmol/L)	17 (54.8%)	51 (61.4%)	0.53
Vitamin B9 levels (2–14.54 ng/mL)	7.1 ± 4.7	6.8 ± 4.2	0.88
Vitamin B9 deficiency (<2 ng/mL)	1 (4.3%)	4 (5.7%)	0.8
Vitamin B12 levels (150–695 pg/mL)	1076.6 ± 611.9	1058 ± 606.8	0.29
Vitamin B12 deficiency (<150 pg/mL)	0	0	1
Calcium (8.8–10.2 mg/dL)	9.3 ± 0.4	9.3 ± 0.5	0.57
Calcium deficiency (<8.8 mg/dL)	0	6 (7.5%)	0.13
Phosphorous (2.7–4.5 mg/dL)	3 ± 0.7	2.7 ± 0.6	0.58
Phosphorous deficiency (<2.7 mg/dL)	8 (28.6%)	33 (41.8%)	0.26
Magnesium (1.6–2.6 mg/dL)	1.9 ± 0.34	1.9 ± 0.41	0.89
Magnesium deficiency (<1.6 mg/dL)	3 (13%)	12 (16.9%)	0.66
Copper (70–140 µg/dL)	83.6 ± 31.2	98.4 ± 34.4	0.43
Copper deficiency (<70 µg/dL)	6 (20%)	12 (18.8%)	0.88
Iron (60–158 µg/dL)	87.4 ± 7.1	70.4 ± 53.6	0.84
Iron deficiency (<60 µg/dL)	13 (44.8%)	33 (39.3%)	0.6
Ferritin (30–400 ng/mL)	275.8 ± 323.6	418.7 ± 741.9	0.44
Ferritin deficiency (<30 ng/mL)	1 (3.7%)	4 (4.8%)	0.81
Zinc (68–120 µg/dL)	45.4 ± 15.9	44.8 ± 18.8	0.76
Zinc deficiency (<68 µg/dL)	27 (93.1%)	74 (89.2%)	0.54

Data are mean ± SD for quantitative variables and n (%) for qualitative variables. MELD: Model for end-stage liver disease; SBP: Spontaneous bacterial peritonitis; BMI: Body mass index; AKI: Acute kidney injury.

As for the clinical manifestations of EPI at home according to the clinical questionnaire, for the entire cohort (119 patients), 32.8% reported having diarrhea, 26.9% reported



steatorrhea and 12.6% reported having recurrent epigastric pain. There were no differences in the clinical EPI data among those with normal and low FE-1.

### 3.4. Micronutrient Deficiencies and Low Fecal Elastase

In the entire cohort of patients with decompensated cirrhosis, the most frequently found deficiencies were for fat-soluble vitamins: 91.6% of patients had a vitamin A deficiency and 94.4% had a vitamin D deficiency. With regard to water-soluble vitamins, 64.9% and 33.8% of patients had vitamin B6 and vitamin C deficiency, respectively. For trace elements, 84.9% had zinc deficiency, 38.7% had iron deficiency and 34.5% had phosphorus deficiency (Table 1).

There were no statistically significant differences in micronutrient deficiencies according to the presence of CP. We also did not find any statistically significant differences in micronutrient deficiencies among patients with normal or low fecal elastase indicative of EPI. We used a *t*-test for continuous variables. For categorical variables, Fisher's test was used when there were fewer than five categories for the variable in question, while we used the chi-squared test if there were five or more categories.

## 4. Discussion

This study is the first to be conducted in patients with an acute decompensation of liver disease and admitted to hospital during the assay, which makes the very-well-controlled collection of samples possible.

In our study, we found a prevalence of radiological CP of 9.2%, which is not insignificant but lower than expected. The prevalence of CP in patients with alcoholic liver disease has been described in a recent meta-analysis: 16.2% (95% CI 10.4–24.5) overall and 15.5% (95% CI 8.0–27.7) when data were limited to clinical studies [7].

The diagnosis of CP is usually made on the basis of clinical and radiological features. For the radiological diagnosis, CT, MRI or endoscopic ultrasound are used. CT and MRI have similar sensitivity (75% vs. 78%) and specificity (91% vs. 96%), whereas endoscopic ultrasound has a sensitivity of 81% and a specificity of 90% [20,22]. However, endoscopic ultrasound has the disadvantage of being an invasive test.

It should be taken into account that, of this 9.2% of patients with CP, not all of them present altered classical diagnostic tests. Specifically, 63.6% have a low FE-1 compared to 25.2% in patients with a normal pancreas ( $p = 0.02$ ).

In our study, none of the 11 patients with CP had been previously diagnosed with episodes of acute pancreatitis (neither acute pancreatitis alone nor recurrent acute pancreatitis). Additionally, only 2 of the 11 patients reported recurrent epigastric pain. Of the nine remaining patients, six presented recurrent abdominal discomfort that was not suggestive of pancreatic pathology, but rather was attributable to other etiologies (ascites, dyspepsia, irritable bowel syndrome, among others). The other three did not present any abdominal discomfort.

As for steatorrhea, it was only described in 4 of the 11 patients with CP and it was also described in 27% of patients with a normal pancreas. We believe that this can be justified since DLD patients usually present very liquid stools due to the use of laxatives and the active consumption of alcohol (present in more than 50%) that accelerates peristalsis. This is the reason why we think that steatorrhea would not be a useful sign to assess the presence or absence of EPI in DLD patients.

Regarding the patients with CP and DM, it should be remarked that 9 of the 11 patients had been diagnosed with DM prior to admission. Only the remaining two were diagnosed during hospital admission. In any case, it should be noted that, during admission, the vast majority presented a poor glycemic control with a markedly elevated insulin requirement. However, we cannot determine whether DM in these patients could be a complication of cirrhosis, secondary to pancreatic pathology, or due to other causes.

Additionally, several studies agree that male sex is an important risk factor for developing CP, as men with acute pancreatitis have been shown to have a higher risk of progression to CP than women [16,23]. In our study, of the patients with CP, 80% were men. In



addition, smoking accelerates the progression to CP and more advanced stages [24]. In our study, of the patients with CP, 60% were current smokers.

On the other hand, the prevalence of EPI in the general population is unknown. EPI is mostly associated with advanced stages of CP. Among patients with CP, 60–90% will develop EPI within 10–12 years from diagnosis [25]. Normally, patients with advanced CP are managed in tertiary centers, while patients with early CP are managed in primary care. It has been reported that the prevalence of EPI in these patients with early stage disease managed in primary care is around 18.7% [26].

In our study, a high percentage of DLD patients (26.9%) presented low FE-1—which is suggestive of EPI—for reasons other than CP. These findings suggest that FE-1 may not be an appropriate method to study EPI in patients with acute decompensation of liver disease and that CP may not explain all causes of EPI in these patients. It would therefore be advisable to search for other, less common causes of EPI in addition to CP, such as celiac disease, inflammatory bowel disease or cystic fibrosis, or find another diagnostic test with a lower false positive rate. The presence of EPI not attributable to CP could not be explained by diabetes mellitus, since there was a similar distribution of DM among those with low and normal fecal elastase values (31.3% vs. 36.8%,  $p = 0.66$ ).

Regarding the interpretation of results, concentrations of  $<200 \mu\text{g/g}$  are considered pathological and  $<100 \mu\text{g/g}$  are considered severe EPI. According to these definitions, we found that 34.5% of the patients with EPI fell into the severe category.

Moreover, we found a higher prevalence of low FE-1 in patients with CP than in patients without CP (21.9% vs. 5.1%,  $p = 0.013$ ). We did not find a significant difference in the prevalence of low FE-1 between the cohorts with alcoholic and non-alcoholic cirrhosis.

Taking these results into account, we could say that measuring FE-1 levels may help to identify a subset of DLD patients with a pancreatic pathology. However, it should be noted that low FE-1 values by themselves do not imply that DLD patients necessarily suffer from a pancreatic pathology.

In addition, in clinical practice, the co-occurrence of DLD and CP in the same patient is not very common. Actually, it seems that these are two entities with different etiopathogenesis and prognosis that share alcohol as a risk factor [6]. For this reason, some authors tried to identify other clinical factors responsible for the co-occurrence of DLD and CP.

Thus, Tan et al. conducted a cohort study and concluded that significant risk factors for CP in alcoholic liver disease patients included smoking and multiple bouts of acute pancreatitis [27].

Similarly, Chand et al. found that the number of pancreatitis recurrences was a significant factor associated with liver disease. Additionally, they showed that, for the same number of pancreatitis recurrences, the frequency of liver disease was 1.7 times significantly higher in patients with CP than in patients with recurrent pancreatitis who did not have CP ( $p < 0.0001$ ). Moreover, they found that 15% of patients with cirrhosis had common bile duct pathologies or obstruction of the duodenum. Then, they suggested to discuss the possibility of the involvement of the common bile duct as a mechanistic cause leading to liver disease. In the same way, they found that there were patients with non-alcoholic pancreatitis who developed cirrhosis and, therefore, may still need to be screened for liver disease [28].

Additionally, Lankisch et al. estimated that  $<5\%$  of those with high alcohol intake develop CP, which suggests that there are other predisposing factors in CP in addition to alcohol [3]. This correlates with our findings, since we found a prevalence of CP of 9.2% in a cohort of patients with mostly alcoholic liver disease.

These findings suggest that there is a low concurrence of CP and liver cirrhosis in the same patient and that these diseases evolve in different ways. These findings also correlate with the results found by Nakamura et al. [4]. They stated that CP and LC are associated with different lifestyle factors and that there is not an association between the severity of these two entities. Aparisi et al. [6] found an inverse correlation between indexes of pancreatic and liver function in the same patient, stating that the etiopathogenesis is different, although chronic alcoholism is a necessary factor in both.

In 2014, Rabih et al., using the  $^{13}\text{C}$ -mixed triglyceride breath test, found that a higher proportion of patients with chronic alcoholic liver disease had EPI compared with patients with chronic liver disease of any other etiology (55.2% vs. 16.7%,  $p < 0.001$ ) [29]. They also found that EPI was more common in patients without cirrhosis (70%) than in patients with cirrhosis (46.2%,  $p = 0.017$ ).

Aparisi et al. found a lower prevalence of EPI in patients with cirrhosis (7%) compared with asymptomatic alcoholic patients (14.8%) [6]. They assessed fecal elastase to rule out EPI. Hayakawa et al. reported a negative correlation between liver and pancreatic function in patients with ALC [30], and observed increased pancreatic secretion in patients with alcoholic liver disease.

It is worth noting, then, that although there is a variety of studies that try to shed light on the relationship and co-occurrence between CP and DLD, the evidence remains poor and some results are contradictory.

Another topic that should be discussed is that the presence of EPI did not correlate with micronutrient deficiency or severity of liver insufficiency. Joker-Jensen et al. analyzed the prevalence of micronutrient deficiencies in patients with CP [31]. They found that 22% of patients had vitamin D deficiency, 20% had zinc deficiency, 17% had magnesium deficiency, 10% had vitamin A deficiency and 7% had vitamin E deficiency. This is important because the prevalence of micronutrient deficiencies in our sample were much higher (94.4%, 84.9%, 12.6%, 91.6% and 15%, respectively) and is attributable to the decompensated liver disease, meaning that we could not assess the micronutrient deficiencies derived from EPI.

It is well-known that DLD patients present sarcopenia in relation to an imbalance between protein synthesis and breakdown, due to an increased catabolism and energy expenditure. Additionally, they have diminished vitamin reserves with respect to the general population, usually due to hepatic dysfunction, low dietary intake, low absorption and increased catabolism. In addition, malabsorption and maldigestion and the use of diuretics contribute to micronutrient deficiencies [32,33]. This is the reason why we cannot know if there is a percentage of nutrient deficit that could be attributed to a chronic pancreatic pathology in some DLD patients.

Regarding the limitations of our study, one aspect that should be taken into account is that the radiological criteria for CP are based on cohorts of patients with advanced pancreatic disease, so the existence of incipient disease in our patients cannot be completely excluded. Another issue worthy of comment is that we used CT and MRI to assess the radiological signs of CP. Had we used an invasive technique such as endoscopic ultrasound, we may have diagnosed more patients as it has a greater sensitivity, especially in earlier stages.

Another potential limitation of this study is the reliability of fecal elastase as a diagnostic test for EPI. EPI could be diagnosed through invasive methods, such as the secretin stimulation test, which has a higher sensitivity and specificity but requires the insertion of a tube into the small intestine to collect pancreatic secretions. In contrast, the fecal fat test is non-invasive but is very difficult to perform during hospital admission as it requires a specific diet and stool collection over a period of days. The major drawbacks of fecal elastase are its low sensitivity in the early stages of the disease and some possible false positives if the samples are of liquid consistency. As already described in the methods, we made sure loose or watery samples were discarded.

Finally, it should be borne in mind that the vast majority of our patients (92%) had alcoholic cirrhosis. Therefore, the findings may not be representative of other etiologies of liver disease.

In summary, there is little evidence of an association between pancreatic and hepatic function in patients with chronic alcohol consumption, especially those with cirrhosis. The latest evidence indicates that CP and LC are two distinct entities in terms of etiopathogenesis and outcomes, and that the only shared risk factor is alcohol.

More studies should be conducted to clarify this issue, especially with regard to the presence of incipient pancreatic disease in patients with liver cirrhosis.



## 5. Conclusions

In patients with DLD and admitted to hospital, we found a prevalence of CP of 9.2% and a prevalence of low fecal elastase suggesting EPI of 26.9%. Our findings reveal that FE-1 alone may not be a suitable method to assess EPI in patients with an acute decompensation of liver disease, and that CP may not explain all causes of EPI in these patients. Detecting co-existing pancreatic diseases may be important in a subset of patients with DLD, when FE-1 levels are significantly low, potentially suggestive of a pancreatic anomaly. The typical clinical manifestations of CP and EPI (recurrent epigastric pain, diabetes mellitus and steatorrhea) are not useful to discriminate which patients have CP in decompensated cirrhosis. Micronutrient deficiencies are very frequent in patients with decompensated liver cirrhosis and their presence does not indicate CP or IPE.

**Author Contributions:** conceptualization, J.S.-D. and M.M.; methodology, V.P.-D.; software, L.G.-L.; validation, M.V., C.S. and M.C.; formal analysis, L.G.-L.; investigation, G.L.-N.; resources, J.M.B. and M.S.; data curation, J.S.-D.; writing—original draft preparation, G.L.-N.; writing—review and editing, A.L.; visualization, J.F.-A.; supervision, J.S.-D. and M.M.; project administration, J.S.-D.; funding acquisition, G.L.-N. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received a 6.000€ grant (CIR2017) from Corporació Sanitària Parc Taulí in the modality “Encouraging initiation in clinical research”.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee of Parc Taulí Hospital (26 June 2017).

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

**Data Availability Statement:** The datasets generated and analyzed during the current study are not publicly available due to provisions of the written informed consent.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflicts of interest.

## References

- Durbec, J.P.; Sarles, H. Multicenter survey of the etiology of pancreatic diseases. Relationship between the relative risk of developing chronic pancreatitis and alcohol, protein and lipid consumption. *Digestion* **1978**, *18*, 337–350.
- Becker, U.; Deis, A.; Sorensen, T.I.; Gronbaek, M.; Borch-Johnsen, K.; Muller, C.F.; Schnohr, P.; Jensen, G. Prediction of risk of liver disease by alcohol intake, sex and age: A prospective population study. *Hepatology* **1996**, *23*, 1025–1029.
- Lankisch, P.G.; Lowenfels, A.B.; Maisonneuve, P. What is the risk of alcoholic pancreatitis in heavy drinkers? *Pancreas* **2002**, *25*, 411–412.
- Nakamura, Y.; Kobayashi, Y.; Ishikawa, A.; Maruyama, K.; Higuchi, S. Severe chronic pancreatitis and severe liver cirrhosis have different frequencies and are independent risk factors in male Japanese alcoholics. *J. Gastroenterol.* **2004**, *39*, 879–887.
- Ichihara, S.; Sato, M.; Kozuka, S. Prevalence of pancreatitis in liver diseases of various etiologies: An analysis of 107754 adult autopsies in Japan. *Digestion* **1992**, *51*, 86–94.
- Aparisi, L.; Sabater, L.; Del-Olmo, J.; Sastre, J.; Serra, M.A.; Campello, R.; Bautista, D.; Wassel, A.; Rodrigo, J.M. Does an association exist between chronic pancreatitis and liver cirrhosis in alcoholic subjects? *World J. Gastroenterol.* **2008**, *14*, 6171–6179.
- Singhvi, A.; Abromitis, R.; Althouse, A.D.; Bataller, R.; Arteel, G.E.; Yadav, D. Coexistence of alcohol-related pancreatitis and alcohol-related liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Pancreatology* **2020**, *20*, 1069–1077.
- O’Brien, S.J.; Omer, E. Chronic Pancreatitis and Nutrition Therapy. *Nutr. Clin. Pract.* **2019**, *34*, S13–S26.
- Narayanan, S.; Bhutiani, N.; Adamson, D.T.; Jones, C.M. Pancreatectomy, Islet Cell Transplantation, and Nutrition Considerations. *Nutr. Clin. Pract.* **2021**, *36*, 385–397.
- Perbtani, Y.; Forsmark, C.E. Update on the diagnosis and management of exocrine pancreatic insufficiency. *F1000Research* **2019**, *8*, 1991.
- Pham, A.; Forsmark, C. Chronic pancreatitis: Review and update of etiology, risk factors, and management. *F1000Research* **2018**, *17*, 607.
- Sikkens, E.C.; Cahen, D.L.; Koch, A.D.; Braat, H.; Poley, J.W.; Kuipers, E.J.; Bruno, M.J. The prevalence of fat-soluble vitamin deficiencies and a decreased bone mass in patients with chronic pancreatitis. *Pancreatology* **2013**, *13*, 238–242.
- Duggan, S.N.; Smyth, N.D.; Murphy, A.; Macnaughton, D.; O’Keefe, S.J.; Conlon, K.C. High prevalence of osteoporosis in patients with chronic pancreatitis: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2014**, *12*, 219–228.
- Vikesh, K.S.; Haupt, M.E.; Geller, D.E.; Hall, J.A.; Quintana Diez, P.M. Less common etiologies of exocrine pancreatic insufficiency. *World J. Gastroenterol.* **2017**, *23*, 7059–7076.



15. Ammann, R.W.; Buehler, H.; Muench, R.; Freiburghaus, A.W.; Siegenthaler, W. Differences in the natural history of idiopathic (nonalcoholic) and alcoholic chronic pancreatitis. A comparative long-term study of 287 patients. *Pancreas* **1987**, *2*, 368–377.
16. Xiao, A.Y.; Tan, M.L.; Wu, L.M.; Asrani, V.M.; Windsor, J.A.; Yadav, D.; Petrov, M.S. Global incidence and mortality of pancreatic diseases: A systematic review, meta-analysis, and meta-regression of population-based cohort studies. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* **2016**, *1*, 45–55.
17. Beharry, S.; Ellis, L.; Corey, M.; Marcon, M.; Durie, P. How useful is fecal pancreatic elastase I as a marker of exocrine pancreatic disease? *J. Pediatr.* **2002**, *141*, 84–90.
18. Lieb, J.G.; Draganov, P.V. Pancreatic function testing: Here to stay for the 21st century. *World J. Gastroenterol.* **2018**, *14*, 3149–3158.
19. Angeli, P.; Ginès, P.; Wong, F.; Bernardi, M.; Boyer, T.D.; Gerbes, A.; Moreau, R.; Jalan, R.; Sarin, S.K.; Piano, S. Diagnosis and management of acute kidney injury in patients with cirrhosis: Revised consensus recommendations of the International Club of Ascites. *Gut* **2015**, *64*, 531–537.
20. Edge, M.D.; Hoteit, M.; Patel, A.P.; Wang, X.; Baumgarten, D.A.; Cai, Q. Clinical significance of main pancreatic duct dilatation on computed tomography: Single and double duct dilatation. *World J. Gastroenterol.* **2007**, *13*, 1701–1705.
21. Loser, C.; Mollgaard, A.; Folsch, U.R. Faecal elastase I, a novel, highly sensitive, and specific tubeless pancreatic function test. *Gut* **1996**, *39*, 580–586.
22. Issa, Y.; Kampeneers, M.A.; van Santvoort, H.C.; Bollen, T.L.; Bipat, S.; Boermeester, M.A. Diagnostic performance of imaging modalities in chronic pancreatitis: A systematic review and meta-analysis. *Eur. Radiol.* **2017**, *27*, 3820–3844.
23. Sankaran, S.J.; Xiao, A.Y.; Wu, L.M.; Windsor, J.A.; Fosmark, C.E.; Petrov, M.S. Frequency of progression from acute to chronic pancreatitis and risk factors: A meta-analysis. *Gastroenterology* **2015**, *149*, 1490–1500.
24. Maisonneuve, P.; Lowenfels, A.B.; Müllhaupt, B.; Cavallini, G.; Lankisch, P.G.; Andersen, J.R.; DiMagno, E.P.; Andrén-Sandberg, A.; Domellöf, L.; Frulloni, L.; Ammann, L. Cigarette smoking accelerates progression of alcoholic chronic pancreatitis. *Gut* **2005**, *54*, 510–514.
25. Machicado, J.D.; Chari, S.T.; Timmons, L.; Tang, G.; Yadav, D. A population-based evaluation of the natural history of chronic pancreatitis. *Pancreatol.* **2018**, *18*, 39–45.
26. Beyer, G.; Habtezion, A.; Werner, J.; Lerch, M.M.; Mayerle, J. Chronic pancreatitis. *Lancet* **2020**, *396*, 499–512.
27. Tan, J.H.; Jin, Y.C.; Cao, R.C.; Zhou, L.; Zhang, G.W. Risk factors for the concomitant occurrence of alcoholic chronic pancreatitis and alcoholic liver cirrhosis: A 10-years cohort study at a tertiary hospital in China. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **2020**, *32*, 1229–1234.
28. Chand, S.K.; Pendharker, S.A.; Bharmal, S.H.; Pandol, S.J.; Petrov, M.S. Frequency and risk factors for liver disease following pancreatitis: A population-based cohort study. *Dig. Liv. Dis.* **2019**, *51*, 551–558.
29. Rabilh, S.A.; García-Agudo, R.; Legaz-Huidobro, M.L.; Ynfante-Ferrús, M.; González-Carro, P.; Pérez-Roldán, F.; Ruiz-Carrillo, F.; Tenías Burillo, J.M. Exocrine pancreatic insufficiency and chronic pancreatitis in chronic alcoholic liver disease. Coincidence or shared toxicity? *Pancreas* **2014**, *5*, 730–734.
30. Hayakawa, T.; Kondo, T.; Shibata, T.; Kitagawa, M.; Sakai, Y.; Sobajima, H.; Ishiguro, H.; Nakae, Y.; Kato, K. Exocrine pancreatic function in chronic liver diseases. *Am. J. Gastroenterol.* **1991**, *86*, 201–204.
31. Joker-Jensen, H.; Mathiasen, A.S.; Kohler, M.; Rasmussen, H.H.; Drewes, A.M.; Olesen, S.S. Micronutrient deficits in patients with chronic pancreatitis: Prevalence, risk factors and pitfalls. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **2020**, *32*, 1328–1334.
32. Cheung, K.; Lee, S.S.; Raman, M. Prevalence and mechanisms of malnutrition in patients with advanced liver disease, and nutrition management strategies. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2012**, *10*, 117–125.
33. Llibre-Nieto, G.; Lira, A.; Vergara, M.; Solé, C.; Casas, M.; Puig-Diví, V.; Solé, G.; Humanes, A.; Grau, L.; Barradas, J.M.; Miquel, M.; Sánchez-Delgado, J. Micronutrient deficiencies in patients with decompensated liver cirrhosis. *Nutrients* **2021**, *13*, 1249.

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



## **5. RESUM GLOBAL DE RESULTATS**

L'estudi realitzat va permetre establir les prevalences de dèficits de micronutrients (vitamines i oligoelements) en pacients que ingressen per descompensació de la CH. Alhora, va permetre quantificar la intensitat d'aquestes deficiències i establir una correlació entre les prevalences i la intensitat dels dèficits amb el grau d'insuficiència hepàtica, mesurada a través de l'índex *MELD* i de la classificació de *Child-Pugh*.

Es van incloure un total de 125 pacients amb CH descompensada de diverses etiologies. L'edat mitjana era  $62.6 \pm 10.3$  anys i un 77% eren homes. Un 79.2% de pacients presentaven una cirrosi d'etiologia alcohòlica, dels quals 57.4% presentaven un consum actiu. La majoria de pacients presentaven una disfunció hepàtica severa: només un 9.6% eren *Child-Pugh A*, mentre que un 56% i un 34.3% eren *Child-Pugh B* i *C*, respectivament. L'índex *MELD* era de  $16.2 \pm 6.3$  punts.

Concretament, es va detectar una elevada prevalença de dèficit de vitamina A (93.5%), vitamina D (94.5%) i zinc (85.6%). Havent exclòs els pacients que prenién suplementes de vitamina D, es va objectivar que menys de l'1% de la mostra presentava nivells òptims de vitamina D  $>30\text{ng/mL}$ , mentre que un 75.2% tenia un dèficit sever ( $<10\text{ng/mL}$ ).

La prevalença objectivada de dèficit de vitamina B6 i vitamina C va ser de 60.8% i 50.5%, respectivament, mentre que la prevalença de dèficit de vitamina E va ser de 15.4%. En menor mesura, es va detectar un dèficit de vitamina B1 en un 3.7% dels pacients i un dèficit de vitamina K, en un 3.1%. Cal destacar, que de tota la cohort, cap pacient va presentar un dèficit de vitamina B12.

Quant a la resta d'oligoelements, es va detectar una prevalença de dèficit de ferro i fòsfor de 38.4% i 34.4%, respectivament; mentre que el dèficit de coure va ser de 16.8% i el de magnesi, de 12.8%. La prevalença de dèficit d'àcid fòlic i calci va ser de 4.6% i 5.2%, respectivament.

No es van trobar diferències significatives dels nivells sanguinis de micronutrients segons l'edat, el sexe, el tipus de descompensació de la cirrosi, el consum actual d'alcohol, la presència de DM o l'índex de massa corporal (IMC). De la mateixa manera, no es van trobar diferències significatives segons l'etiologia de la cirrosi. Ara bé, donat que la majoria de pacients de la nostra mostra presentaven cirrosi d'etiologia alcohòlica, vam analitzar els dèficits de micronutrients en funció de l'etiologia tractant aquesta variable com a dicotòmica: etiologia alcohòlica (n=107) i no alcohòlica (n=18). D'aquesta manera vam trobar que els pacients amb CH d'etiologia alcohòlica presentaven concentracions sèriques significativament més baixes de vitamina A ( $p<0.001$ ), vitamina B12 ( $p=0.001$ ), vitamina E ( $p=0.01$ ), vitamina D ( $p<0.001$ ), coure ( $p=0.04$ ) i zinc ( $p=0.001$ ).

En relació a la funció hepàtica, vam objectivar que els pacients *Child-Pugh* B i C presentaven nivells sèrics significativament més baixos de vitamina A ( $p<0.0001$ ), zinc ( $p<0.0001$ ), vitamina E ( $p=0.01$ ) i magnesi ( $p=0.05$ ). A més, els pacients *Child-Pugh* C tenien concentracions sèriques més elevades de ferro ( $p=0.009$ ), ferritina ( $p=0.002$ ) i vitamina B12 ( $p<0.0001$ ) que els pacients *Child-Pugh* A i B.

De la mateixa manera, els pacients amb puntuació més elevada en l'índex *MELD*, presentaven nivells sèrics més baixos de vitamina A ( $p<0.0001$ ), vitamina E ( $p=0.001$ ), magnesi ( $p=0.01$ ) i zinc ( $p=0.02$ ) i valors més elevats de ferritina ( $p=0.002$ ) i de vitamina B12 ( $p<0.0001$ ).

D'altra banda, vam analitzar si els pacients amb consum actiu d'enol presentaven un perfil de dèficits de micronutrients diferent al dels pacients sense consum actiu. Vam trobar que els pacients amb consum actiu d'enol presentaven nivells més baixos de vitamina A ( $p=0.001$ ), vitamina E ( $p=0.02$ ) i vitamina D ( $p<0.0001$ ) i nivells més elevats de vitamina B12 ( $p=0.013$ ).

També vam analitzar si algun dèficit de micronutrient es correlacionava amb un augment del nombre d'infeccions al moment de l'ingrés. Vam trobar una associació

estadísticament significativa entre els nivells baixos de fòsfor i la presència d'infeccions (p=0.03)

El nostre estudi també va permetre establir la prevalença d'IPE i de PC radiològica en pacients ingressats per CH descompensada. Es van incloure un total de 119 pacients amb CH descompensada. L'edat mitjana era de  $62.4 \pm 10.2$  anys i un 78.2% eren homes. Un total de 110 pacients van sotmetre's a un estudi radiològic: 104 van fer-se un TC i 6, una RM. L'etiologia de la CH era alcohòlica en un 92% dels pacients, dels quals 58% presentaven un consum actiu. Un 44% dels pacients eren fumadors actius i un 35.3%, presentaven DM. Pel que fa a la descompensació de la malaltia hepàtica, un 9.2% de pacients es trobaven en *Child-Pugh A*, un 57.1 % en *Child-Pugh B* i un 33.6%, en *Child-Pugh C*. L'índex MELD era de  $15.9 \pm 6$  punts.

Dels 110 pacients que es van sotmetre a una exploració radiològica, un 9.2% va presentar criteris radiològics de PC. No es van trobar diferències significatives pel que fa a la prevalença de PC radiològica en pacients amb CH descompensada en relació a l'edat, gènere, tipus de descompensació de la CH, etiologia de la CH, severitat de la malaltia hepàtica, consum actiu d'alcohol, hàbit tabàquic actiu o presència de DM.

D'altra banda, els resultats de l'estudi van mostrar que 32 pacients (26.9%) presentaven dues mostres d' EF < 200µg/g, la qual cosa suggeria IPE. D'aquests, un 81.2% presentaven etiologia alcohòlica de la CH mentre que un 18.8% presentava una etiologia no alcohòlica.

Dins dels individus que presentaven criteris radiològics de PC, hi havia més pacients amb IPE respecte al grup sense criteris de PC: 21.9% vs. 5.1%, p = 0.0013. No es van trobar diferències significatives en relació al dolor epigàstric recurrent, diarrea, esteatorrea o deficiències de micronutrients. Tampoc es van trobar diferències significatives en la presència d'IPE en relació a l'edat, al gènere, al tipus de



descompensació de la CH, a l'etiologia de la CH, gravetat de la malaltia hepàtica, consum d'alcohol actiu, hàbit tabàquic actiu o presència de DM.

Pel que fa a les manifestacions clíniques d'IPE prèviament a l'ingrés, d'acord al qüestionari clínic, per a la cohort sencera (119 pacients), 32.8% van reportar presentar diarrea, 26.9% van reportar esteatorrea i un 12.6% referia dolor epigàstric recurrent. No es van trobar diferències significatives en les dades clíniques orientatives d'IPE entre els pacients amb EF baixa i EF normal.

Pel que fa als dèficits de micronutrients, en la cohort sencera de pacients amb CH descompensada, els dèficits més freqüents van ser els de vitamines liposolubles: un 91.6% dels pacients presentaven dèficit de vitamina A i un 94.4% presentaven dèficit de vitamina D. Quant a les vitamines hidrosolubles, 64.9% i 33.8% dels pacients presentaven dèficit de vitamina B6 i vitamina C, respectivament. Per acabar, pel que fa als oligoelements, 84.9% tenia dèficit de zinc, 38.7% presentava dèficit de ferro i 34.5% tenia dèficit de fòsfor.

Val a dir, però, que no es van trobar diferències estadísticament significatives pel que fa als dèficits de micronutrients en relació a la presència o absència de PC. Tampoc es van trobar diferències significatives en els dèficits de micronutrients entre els pacients amb EF baixa o EF normal, és a dir, amb presència o absència d'IPE.

## 6. RESUM GLOBAL DE LA DISCUSSIÓ

Les vitamines i els oligoelements tenen un paper molt important en múltiples processos metabòlics antioxidants, antiinflamatoris i d'apoptosi. Se sap que els dèficits d'aquests elements són molt freqüents en pacients amb CH, independentment de l'etiologia de la malaltia hepàtica.

El nostre estudi és el primer en oferir una visió global de la prevalença de dèficits de micronutrients (vitamines i oligoelements) en pacients amb CH descompensada. A més, es tracta de l'estudi de prevalença més ampli i més complet quant a l'avaluació dels dèficits de micronutrients en pacients amb malaltia hepàtica descompensada, independentment de si es troben en llista de trasplantament o no. Fins ara, els dèficits més estudiats i ben documentats en aquest tipus de pacients havien estat el de vitamina D i zinc.

Se sap que el dèficit de zinc pot ocórrer com a conseqüència de l'ús de diürètics o d'una ingesta pobra de proteïna animal (154-156). Els resultats del nostre estudi mostren una elevada prevalença – al voltant del 85% – de dèficit de zinc, que és similar a les troballes publicades prèviament per diversos autors (83-94%) (91,157,158). Al 1996, Pescovitz *et al.* van realitzar un estudi amb 34 pacients cirròtics en llista de trasplantament hepàtic i van trobar una prevalença de dèficit de zinc del 94% (157). Més recentment, al 2015, Sengupta *et al.* van trobar una elevada prevalença de dèficit de zinc (83%) en 163 pacients cirròtics (158). També van demostrar que el dèficit de zinc era significativament més sever en els pacients *Child-Pugh* B i C respecte aquells *Child-Pugh* A. Aquests resultats concorden amb els nostres: vam trobar una prevalença de dèficit de zinc de 85.6% i un dèficit més marcat en els pacients amb una malaltia hepàtica més avançada; amb unes concentracions mitjanes de zinc de 56, 45.5 i 35µg/dl en pacients *Child-Pugh* A, B i C, respectivament. Els pacients *Child-Pugh* C presentaven uns nivells sèrics de zinc significativament més baixos respecte els pacients *Child-Pugh* A i B ( $p < 0.0001$ ). Els

resultats eren similars quan consideràvem l'índex *MELD*: vam trobar una correlació entre els pacients amb puntuació més elevada en l'índex *MELD* i els nivells sèrics més baixos de zinc ( $p=0.02$ ).

Alguns autors han demostrat que el dèficit de vitamina D té implicacions molt importants en les malalties hepàtiques cròniques: es correlaciona amb la severitat de la malaltia i el grau de fibrosi i està associat amb pitjors resultats a llarg termini (78,159,160). Un estudi, realitzat per Anty *et al.*, que incloïa 88 pacients amb CH i que estaven hospitalitzats va detectar una prevalença de dèficit sever de vitamina D ( $<10\text{ng/ml}$ ) de 56.8% (161). També van descriure que les infeccions eren més freqüents en aquest grup que en els pacients amb nivells més elevats de vitamina D (54% vs. 29%,  $p=0.02$ ). Van concloure que el dèficit sever de vitamina D era un predictor d'infecció independentment de la classe *Child-Pugh*.

De forma similar, Buonomo *et al.* van trobar una prevalença de dèficit de vitamina D de 64% en un grup de 345 pacients, 50.27% dels quals presentaven un dèficit sever (162). També van descriure una associació entre el dèficit sever de vitamina D i una baixa supervivència, independentment de la classe *Child-Pugh*.

Aquestes resultats concorden amb els nostres: vam trobar una prevalença de dèficit de vitamina D ( $<20\text{ng/ml}$ ) de 94.5% i una prevalença d'insuficiència de vitamina D (20-30 $\text{ng/ml}$ ) de 99%. A més, 82 pacients (75.2%) presentaven un dèficit sever ( $<10\text{ng/ml}$ ). No obstant això, no vam trobar una correlació entre la intensitat del dèficit de vitamina D i els estadis més avançats de malaltia hepàtica, mesurat a través de la classificació de *Child-Pugh* i l'índex *MELD*.

Al 2013, Venu *et al.* van realitzar un estudi retrospectiu amb 63 pacients cirròtics en llista de trasplantament hepàtic i van reportar una elevada prevalença de dèficit de vitamina A i D (69.8% i 80.9%, respectivament). D'altra banda, només un 3.2% de pacients presentava dèficit de vitamina E (71).

En el nostre estudi en pacients cirròtics hospitalitzats, vam trobar una prevalença de dèficit de vitamina A de 93.5% i una prevalença de dèficit de vitamina E de 15.4%. El dèficit de vitamina K només es va observar en un 3.1%. Aquests resultats suggereixen que l'allargament del temps de protrombina (TP) en les malalties hepàtiques cròniques no és degut al dèficit de vitamina K sinó més aviat a la pròpia insuficiència hepàtica, ja que la gran majoria de pacients presentaven un TP allargat però només una minoria presentava dèficit objectivat de vitamina K. A més, el dèficit de vitamina K no va ser major en els subgrups de pacients amb consum actiu d'enol o amb nivells més baixos de prealbúmina.

De forma interessant, els pacients amb una funció hepàtica més deteriorada mesurada amb l'índex *MELD* presentaven nivells significativament més baixos de vitamina A ( $p < 0.0001$ ) i E ( $p = 0.001$ ). De la mateixa manera, vam trobar que els pacients amb malaltia hepàtica més descompensada (*Child-Pugh C*) també presentaven nivells significativament més baixos de vitamina A ( $p < 0.0001$ ) i E ( $p = 0.01$ ) que aquells amb una funció hepàtica més preservada (*Child-Pugh A i B*). Els nivells baixos de vitamina A podrien ser atribuïbles a una síntesi reduïda de prealbúmina i de proteïna lligadora del retinol (*RBP*) en el fetge. A més, la CH d'etiologia enòlica sol anar associada a dèficit de zinc, que pot contribuir a disminuir la síntesi de la *RBP* i, per tant, disminuir la mobilització de vitamina A (163).

Un punt que cal interpretar amb prudència és el dels nivells baixos de vitamina E, ja que aquests estan influenciats pel metabolisme de lipoproteïnes. D'aquesta manera, degut a concentracions baixes de colesterol i triglicèrids en aquests pacients, caldria calcular la fórmula  $\text{vitamina E} / (\text{colesterol} + \text{triglicèrids})$ , ja que reflecteix millor l'estat nutricional d'aquesta vitamina.

Quant a les vitamines hidrosolubles, vam trobar una prevalença de dèficit de vitamina B6 i C de 60.8% i 50.5%, respectivament. El dèficit de vitamina B1 va ser objectivat en un 3.7%, i cap dels pacients de l'estudi presentava dèficit de vitamina B12. De fet, el 74%

de pacients presentaven nivells sèrics de vitamina B12 per sobre del límit superior de la normalitat amb uns valors mitjans de 982pg/ml i un rang de 664-1542pg/ml. A més, vam trobar que els pacients *Child-Pugh* C presentaven nivells més elevats de vitamina B12 que els de classe *Child-Pugh* A i B ( $p < 0.0001$ ). Els resultats ven ser similars si utilitzàvem l'índex *MELD*: els pacients amb una puntuació més elevada en l'índex *MELD* tenien nivells més elevats de vitamina B12 ( $p < 0.0001$ ).

Els nostres resultats concorden amb els reportats per Sugihara *et al.* (164), que van trobar que els pacients amb cirrosi *Child-Pugh* C presentaven nivells més elevats de vitamina B12 que aquells amb classe A i B. Específicament, van trobar unes concentracions sèriques de  $1308 \pm 599$ pg/ml en els pacients *Child-Pugh* C,  $660 \pm 464$ pg/ml en els *Child-Pugh* B i  $784 \pm 559$ pg/ml en els *Child-Pugh* A ( $p = 0.029$ ). A més, van trobar que els valors més elevats de vitamina B12 estaven associats a un pitjor pronòstic.

Una troballa del nostre estudi que pot ser impactant és que la prevalença de dèficit de vitamina B12 va ser de 0% en una població de pacients amb CH majoritàriament d'etiologia enòlica. L'associació entre el dèficit de vitamina B12 i l'alcoholisme crònic és ben coneguda des de fa més de 40 anys (165,166). No obstant això, estudis més recents comparant pacients amb malaltia hepàtica crònica i subjectes sans, ambdós amb consum crònic d'alcohol, van trobar que el dany hepàtic es correlacionava amb nivells elevats de vitamina B12. Van concloure, doncs, que els nivells de vitamina B12 eren un bon indicador de la quantitat de dany hepatocitari produït per l'alcohol. Van proposar dos mecanismes que podrien explicar aquest fet: d'una banda, l'excés d'alliberació de vitamina B12 per part de les cèl·lules danyades i, d'altra banda, la recaptació disminuïda de vitamina B12 del torrent sanguini per part dels hepatòcits danyats (167,168).

En relació als oligoelements, la prevalença de dèficit de ferro i fòsfor va ser també elevada: 38.4% i 34.4%, respectivament. De forma interessant, però, vam trobar que els pacients *Child-Pugh* C presentaven nivells sèrics més elevats de ferro ( $p = 0.009$ ) i ferritina ( $p = 0.002$ ) que aquells amb *Child-Pugh* A i B. Vam trobar resultats similars quan vam

realitzar l'anàlisi en funció de l'índex *MELD*: els pacients amb una disfunció hepàtica més severa presentaven nivells més elevats de ferritina ( $p=0.002$ ). De fet, aquests resultats concorden amb diversos estudis realitzats en pacients amb malaltia hepàtica descompensada, que van demostrar una associació entre els nivells de ferritina i el pronòstic del pacient (169-171). Walker *et al.* van avaluar 191 candidats a trasplantament hepàtic i van reportar que presentar uns nivells sèrics de ferritina  $>200\mu\text{g/l}$  era un predictor independent de mortalitat als 6 i 12 mesos (170). De forma similar, Maiwall *et al.* van dur a terme un estudi amb 318 pacients amb CH descompensada i van trobar que els nivells de ferritina es correlacionaven amb la severitat de la descompensació hepàtica i amb mortalitat precoç de causa hepàtica, de forma independent de l'índex *MELD* (171). Van descriure un risc progressiu de mortalitat a mesura que els nivells de ferritina augmentaven, posteriorment la corba s'aplanava i augmentava de forma molt gradual per sobre de concentracions de  $500\mu\text{g/l}$ . En el nostre estudi, les concentracions mitjanes i els rangs van ser de 71 (12-774), 208.5 (10-2083) i 260 (12-4262) $\mu\text{g/l}$  pels pacients *Child-Pugh* A, B i C, respectivament.

Respecte al coure i al magnesi, vam detectar una prevalença de dèficits de 16.8% i 12.8%, respectivament. En la nostra cerca i revisió bibliogràfica, no vam trobar estudis que fessin referència a la prevalença de dèficit de coure i magnesi en pacients amb cirrosi o malaltia hepàtica crònica.

Alguns autors han reportat els beneficis de fer un cribratge de dèficits de magnesi i coure i suplementar amb aquests elements si es detecta una deficiència. Una revisió feta per Liu *et al.* va concloure que el dèficit de magnesi agreujava la CH i podria contribuir a la progressió cap a CHC (172). Afirmaven que la suplementació amb magnesi podia alentar la progressió de la malaltia hepàtica i disminuir la mortalitat associada. D'altra banda, Nangliya *et al.* van dur a terme un estudi amb 150 pacients cirròtics i 50 controls i van reportar que els nivells sèrics de magnesi, zinc i seleni estaven significativament disminuïts en els pacients amb CH en comparació amb els controls ( $p<0.001$ ) (173). En



el nostre estudi, vam trobar que els pacients amb malaltia hepàtica més avançada mesurat amb l'índex *MELD* presentaven concentracions més baixes de magnesi ( $p=0.01$ ). De forma similar, els pacients *Child-Pugh C* presentaven concentracions de magnesi inferiors als *Child-Pugh A* i *B* ( $p=0.05$ ).

Pel que fa al coure, Aigner *et al.* van dur a terme un estudi amb 120 pacients amb *MAFLD* i van concloure que hi havia una associació entre l'estat sèric del coure i l'homeòstasi del ferro, suggerint que una biodisponibilitat baixa de coure podria fer augmentar les reserves hepàtiques de ferro (174), i això podria contribuir a la progressió de la fibrosi hepàtica (175,176).

En el nostre estudi, la prevalença de dèficit de calci i àcid fòlic va ser de 4.6% i 5.2%, respectivament. Els valors de calci es van corregir tenint en compte els nivells d'albumina sèrica, per tal de no obtenir valors falsament disminuïts en casos d'hipoalbuminèmia.

Com és ben sabut, els pacients amb malaltia hepàtica desenvolupen una pèrdua de massa òssia que pot conduir a l'aparició de fractures no traumàtiques. És per això que Nackbandi va recomanar a partir del seu estudi que els metges haurien d'avaluar la densitat mineral òssia en aquests pacients independentment dels valors de calci sèric i haurien de suplementar amb vitamina D i calci per prevenir les fractures òssies i l'aparició d'osteoporosi (177).

Pel que fa a les limitacions del nostre estudi, la principal seria que els nivells de micronutrients no han estat corregits per l'estat inflamatori. La inflamació pot crear confusió a l'hora d'interpretar les concentracions dels micronutrients dels pacients i se sap que un dels elements clau de la fisiopatologia de la CH és la inflamació crònica sistèmica (178). No obstant això, aquesta inflamació crònica és difícil d'avaluar i quantificar. De fet, la majoria d'estudis de micronutrients i estat inflamatori realitzats fins ara només fan referència a la resposta inflamatòria aguda. Al 2017, investigadors del projecte Biomarkers Reflecting Inflammation and Nutritional Determinants of Anemia

(BRINDA) van publicar un model matemàtic per estimar la prevalença de dèficit de ferro i vitamina A en context d'inflamació aguda i crònica (179). Van suggerir que sense aquest ajust matemàtic, la deficiència de ferro podria estar infraestimada mentre que els dèficits de vitamina A i zinc podrien estar sobreestimats (179-181). Val a dir, però, que malgrat tota aquesta evidència científica, no queda clar que els resultats d'aquests estudis siguin aplicables als pacients amb CH. Així doncs, encara cal dur a terme molta recerca en aquest àmbit, especialment per avaluar els beneficis de la suplementació dels dèficits de micronutrients en pacients amb inflamació sistèmica crònica com serien els pacients amb CH.

La prevalença de dèficits de micronutrients en els pacients amb CH és tan elevada, que alguns autors recomanen determinar els nivells sèrics de magnesi, zinc, vitamina D i vitamina A cada 6 mesos (78,156). Nosaltres també creiem que és important analitzar el perfil de micronutrients en aquests pacients per poder donar-los suplementos quan sigui necessari el més aviat possible. Així mateix, la guia de nutrició en pacients amb malalties hepàtiques cròniques de la EASL (72) recomana que les deficiències de micronutrients detectades o clínicament sospitades s'haurien de suplementar d'acord a les recomanacions generals per a la pràctica clínica. Val a dir, però, que les manifestacions clíniques d'aquests dèficits solen ser inespecífiques i també podrien ser explicades per la pròpia malaltia hepàtica, pel que la sospita del dèficit podria passar fàcilment desapercebuda. Per exemple, els dèficits de zinc i vitamina A poden produir hiporèxia, caiguda del cabell, augment del nombre d'infeccions, irritabilitat, debilitat, nàusees i diarrea...com veiem, simptomatologia molt inespecífica.

Així doncs, donada l'elevada prevalença de dèficit de vitamina A, vitamina D i zinc detectades i la seguretat de la suplementació, seria raonable plantejar iniciar tractament substitutiu en el moment de l'ingrés - sense haver d'esperar el resultat de la determinació analítica que, a vegades, pot trigar setmanes - i continuar durant l'estada hospitalària,

afegint altres suplementos si es detecten altres dèficits. No obstant això, l'eficàcia d'aquesta estratègia hauria de ser avaluada en propers estudis.

Segons la literatura consultada, el nostre estudi es tractaria del primer que valora la morfologia i funció exocrina pancreàtiques en pacients hospitalitzats per descompensació de malaltia hepàtica, la qual cosa permet optimitzar i controlar rigorosament la recollida de mostres per tal d'obtenir resultats fiables.

Vam trobar una prevalença de PC radiològica de 9.2%, la qual no és insignificant però sí que és un valor més baix del que s'esperava. La prevalença de PC en pacients amb malaltia hepàtica d'etiologia enòlica ha estat descrita en un metanàlisi recent i era de 16.2% globalment (95% CI 10.4-24.5) i de 15.5% (95%CI 8.0-27.7) quan les dades es limitaven a estudis clínics (182).

El diagnòstic de PC sol realitzar-se basant-se en característiques clíniques i criteris radiològics. Pel diagnòstic radiològic, s'utilitzen les següents tècniques: TC, RM o USE. El TC i la RM tenen una similar sensibilitat (75% vs. 78%) i també especificitat (91% vs. 96%), mentre que la USE té una sensibilitat del 84% i una especificitat pràcticament del 100% (133,183,184). No obstant això, la USE té l'inconvenient de ser una tècnica invasiva, ja que es tracta d'un procediment endoscòpic, i també de requerir d'una sedació, amb els riscos que això comporta.

Un assumpte que cal tenir en compte és que d'aquest 9.2% de pacients amb PC radiològica (n=11), no tots presentaven alteració de la funció pancreàtica: específicament, un 63.6% presentava una EF baixa, enfront a un 25.2% en pacients amb pàncrees normal per imatge ( $p = 0.02$ ).

En el nostre estudi, cap dels pacients amb criteris radiològics de PC havia estat diagnosticat prèviament d'episodis de pancreatitis aguda (ni de pancreatitis aguda aïllada ni tampoc de pancreatitis aguda recurrent). A més, només 2 dels 11 pacients van referir haver tingut dolor epigàstric recurrent. Dels 9 pacients restants, 6 havien presentat

molèsties abdominals recurrents que no eren suggestives de patologia pancreàtica, sinó més aviat atribuïbles a altres etiologies (ascites, dispèpsia, síndrome del colon irritable, entre altres). Els altres 3 no havien presentat cap tipus de dolor ni molèstia abdominal.

Pel que fa a l'esteatorrea, només va ser descrita en 4 dels 11 pacients amb PC (36.4%) i també va ser descrita en un 27% dels pacients amb pàncrees normal. Aquestes troballes poden ser degudes al fet que els pacients amb CH descompensada solen presentar femtes líquides per l'ús de laxants i pel consum actiu d'alcohol – present en més del 50% dels pacients de l'estudi –, la qual cosa pot dificultar l'avaluació de la presència d'esteatorrea (i més per una persona no experta com seria el propi pacient). És per aquest motiu que pensem que l'esteatorrea no seria un signe útil per avaluar la presència o absència d'IPE en pacients amb CH descompensada.

Quant als pacients amb PC radiològica i DM, cal remarcar que 9 dels 11 pacients ja havien estat diagnosticats de DM prèviament i que només els 2 restants van ser diagnosticats durant l'ingrés hospitalari. De totes maneres, caldria ressaltar que, durant l'ingrés, la gran majoria de pacients van presentar un mal control glucèmic amb un requeriment elevat d'insulina. Tot i així, no podem determinar si la DM en aquests pacients seria una complicació de la cirrosi, secundària a la patologia pancreàtica o una combinació de les dues coses.

D'altra banda, diversos estudis conclouen que el sexe masculí és un important factor de risc pel desenvolupament de PC, ja que els homes amb pancreatitis aguda tenen un risc de progressió a PC més elevat que les dones (127,128). En el nostre estudi, dels pacients amb criteris radiològics de PC, 80% eren homes. A més, també se sap que el fet de fumar accelera la progressió cap a PC i també cap a estadis més avançats (129). En el nostre estudi, dels pacients amb PC, 60% eren fumadors actius.

Pel que fa a la IPE, la seva prevalença en la població general és desconeguda i sobretot està associada amb els estadis més avançats de la PC. Es calcula que entre els pacients

amb PC, hi hauria un 60-90% que desenvoluparan IPE dins dels pròxims 10-12 anys des del diagnòstic de la malaltia pancreàtica (130). Normalment, els pacients amb PC avançada fan seguiment a centres terciaris mentre que els pacients amb PC en estadis precoços de la malaltia poden fer seguiment a centres d'atenció primària. Alguns autors han reportat que la prevalença d'IPE en aquests pacients amb PC en estadis precoços es troba al voltant d'un 18.7% (131).

En el nostre estudi, un elevat percentatge de pacients amb CH descompensada (26.9%) presentaven una EF baixa. Com ja s'ha comentat anteriorment, les concentracions d'EF <200µg/g són considerades patològiques i, per tant, suggestives d'IPE, i les <100µg/g indicarien severitat de la IPE. D'acord amb aquestes definicions, en el nostre estudi vam trobar que un 34.5% dels pacients amb EF baixa presentaven una IPE greu.

Aquest percentatge d'EF baixa és substancialment superior a la prevalença detectada de PC radiològica (9.2%), la qual cosa es podria explicar per dos motius. En primer lloc, l'EF podria no ser un bon mètode per estudiar la presència d'IPE en els pacients amb CH descompensada – tot i la rigorositat en la recollida de mostres fecals – i valdria la pena cercar altres mètodes diagnòstics amb una menor taxa de falsos positius. En segon lloc, la PC podria no ser la causa d'IPE en tots els casos en els pacients amb CH descompensada i caldria descartar altres etiologies menys freqüents com serien la malaltia celíaca, la malaltia inflamatòria intestinal, la DM o – més improbable – la fibrosi quística.

Val a dir, però, que aquests casos en què la IPE no pot ser atribuïda a la PC tampoc ho podria ser a la DM, ja que la distribució de DM era similar entre els pacients que presentaven EF baixa i normal (31.3% vs. 36.8%, p=0.66).

Tenint en compte aquests resultats, doncs, podríem dir que mesurar l'EF podria ajudar a identificar un subgrup de pacients amb CH descompensada que presenten patologia

pancreàtica. Ara bé, cal remarcar que el fet de presentar valors baixos d'EF en aquests pacients no implica necessàriament que tinguin una patologia pancreàtica.

Com era esperable, en el nostre estudi, vam trobar una prevalença d'EF baixa més elevada en els pacients amb PC radiològica respecte els pacients sense PC (21.9% vs. 5.1%,  $p=0.013$ ). Quan es va comparar la prevalença d'EF baixa entre les cohorts de cirrosi d'etiologia alcohòlica i la de cirrosi d'etiologia no alcohòlica no es van evidenciar diferències estadísticament significatives.

Pel que fa a la pràctica clínica, és cert que la coincidència de PC i CH descompensada en el mateix pacient no és gaire freqüent. De fet, sembla que, encara que les dues patologies comparteixen l'alcohol com a factor causal, es tractaria de dues entitats amb pronòstic i etiopatogènia diferents (150). És per aquest motiu que alguns autors han intentat identificar altres factors clínics que podrien ser responsables de la coincidència de CH descompensada i PC. Així doncs, Tan *et al.* van dur a terme un estudi de cohorts que va concloure que l'hàbit de fumar i múltiples episodis de pancreatitis aguda eren factors de risc significatius per a desenvolupar PC en pacients amb CH d'etiologia alcohòlica (185).

De forma similar, Chand *et al.* van trobar que el nombre de recurrències de pancreatitis aguda era un factor de risc significatiu associat a la presència de malaltia hepàtica. A més, van mostrar que, pel mateix nombre de recurrències de pancreatitis, la freqüència d'aparició de malaltia hepàtica era 1.7 vegades més elevada en els pacients amb PC respecte els que no presentaven PC ( $p<0.0001$ ). També van objectivar que un 15% dels pacients amb CH presentava patologia del conducte biliar comú o obstrucció del duodè, per la qual cosa van suggerir la possible implicació del conducte biliar comú com una causa mecànica secundària a la PC que podria conduir a CH. A més, van trobar que hi havia pacients amb PC no alcohòlica que desenvolupaven CH, de manera que van suggerir la necessitat d'un cribratge de malaltia hepàtica en aquests pacients (186).



D'altra banda, Lankisch *et al.* van estimar que <5% dels pacients amb consum excessiu d'alcohol desenvolupen PC, la qual cosa suggereix que hi ha altres factors implicats a part d'aquest consum d'alcohol en el desenvolupament de la patologia pancreàtica (147). Aquest fet es correlaciona amb les nostres troballes, ja que el nostre estudi mostra una prevalença de PC de 9.2% en una cohort de pacients que majoritàriament presenta CH per un consum excessiu d'alcohol.

Tots aquests resultats suggereixen que hi ha una baixa coincidència de PC i CH en el mateix pacient i que aquestes dues entitats tenen evolucions i pronòstic diferents. Aquestes troballes també concorden amb els resultats de Nakamura *et al.* (148), que conclouen que la PC i la CH estan associades amb diferents factors de risc – encara que tots ells relacionats amb l'estil de vida – i que no hi ha una associació entre la severitat d'ambdues malalties. Aparisi *et al.* (150) van trobar una correlació inversa entre les proves de funció pancreàtica i hepàtica en els pacients afectes de PC o CH d'etiologia alcohòlica, conclouent que les dues malalties tenen una etiopatogènia i una evolució diferents, encara que comparteixin l'alcohol com a principal factor de risc.

Al 2014, Rabih *et al.*, van realitzar un estudi de casos i controls en pacients amb malaltia hepàtica crònica d'etiologia alcohòlica i no alcohòlica per avaluar la presència de PC i d'IPE. Van incloure 129 pacients amb hepatopatia d'etiologia alcohòlica (83 en fase de CH) i 25 amb hepatopatia no alcohòlica. Utilitzant la USE com a prova diagnòstica, amb els criteris de Wiersema, van objectivar una prevalença de PC de 44% en els pacients amb malaltia hepàtica alcohòlica enfront a un 4.16% en els pacients amb malaltia hepàtica de diferent etiologia ( $p < 0.001$ ). Quant a la IPE, van utilitzar el test d'alè amb  $^{13}\text{C}$ -MTG com a prova diagnòstica i van trobar que els pacients amb malaltia hepàtica d'etiologia alcohòlica presentaven una major prevalença en comparació als pacients amb hepatopatia de qualsevol altra etiologia (55.2% vs. 16.7%,  $p < 0.001$ ). A més, van objectivar que la IPE era més freqüent en pacients amb malaltia hepàtica no cirròtica respecte els pacients amb CH ja establerta (70% vs. 46.2%,  $p = 0.017$ ) (187).

Aparisi *et al.* van trobar resultats similars utilitzant l'EF com a prova diagnòstica: van trobar una prevalença d'IPE menor en els pacients amb CH d'etiologia alcohòlica (7%) respecte els pacients amb alcoholisme crònic asimptomàtics (14.8%) (150). A més, Hayakawa *et al.* van objectivar una correlació negativa entre la funció hepàtica i pancreàtica dels pacients amb CH d'etiologia alcohòlica, observant una secreció pancreàtica augmentada en aquests pacients (188).

Val la pena destacar, doncs, que tot i que hi ha diversos estudis que intenten esclarir la relació i coincidència entre la PC i la CH i que sembla ser que la coexistència és baixa, l'evidència científica és encara escassa i calen estudis amb metodologies científiques més sòlides i proves diagnòstiques més sensibles.

D'altra banda, un altre assumpte que cal comentar és que la presència d'IPE no es correlaciona amb el dèficit de micronutrients ni amb la severitat de la malaltia hepàtica. Joker-Jensen *et al.* van analitzar la prevalença de dèficits de micronutrients en els pacients amb PC i van trobar que un 22% presentava dèficit de vitamina D; un 20%, dèficit de zinc; un 17%, dèficit de magnesi; un 10%, dèficit de vitamina A i un 17%, dèficit de vitamina E (189). Això és important perquè la prevalença de dèficits de micronutrients en la nostra mostra era molt superior: 94.4%, 84.9%, 12.6%, 91,6% i 15%, respectivament. Aquestes prevalences tan superiors podem atribuir-les a la malaltia hepàtica descompensada, per la qual cosa probablement amb el nostre estudi no vam poder avaluar els dèficits de micronutrients derivats de la pròpia IPE.

Com és ben sabut, els pacients amb CH descompensada presenten sarcopènia per un desequilibri entre la síntesi i la destrucció de proteïnes, degut a un augment del catabolisme i de la despesa energètica global. A més, aquests pacients presenten unes menors reserves de vitamines en relació a la població general degut a la disfunció hepàtica, a una baixa ingesta dietètica, a una menor absorció i maldigestió de nutrients i al ja esmentat augment catabòlic. Se sap, a més, que l'ús de diürètics també contribueix als dèficits de micronutrients que presenten aquests pacients (70,190). És per aquest

motiu que aquests pacients ja presenten una elevada prevalença de dèficits de micronutrients per la pròpia malaltia hepàtica, per la qual cosa en el nostre estudi no es van trobar diferències significatives quan es van comparar les prevalències d'aquests dèficits entre els grups amb PC i sense i entre els grups amb IPE i sense.

Pel que fa a les limitacions d'aquest estudi, un aspecte que cal tenir en compte és que els criteris radiològics de PC estan basats en cohorts de pacients amb malaltia pancreàtica avançada, per la qual cosa la presència de malaltia incipient o lleu en els nostres pacients no pot ser completament descartada. En aquest sentit, el fet d'haver utilitzat proves no invasives com el TC i la RM per avaluar els criteris de PC ha fet que probablement s'hagin diagnosticat menys pacients que si haguéssim utilitzat la USE, la qual presenta una major sensibilitat global, però especialment en els estadis més precoços.

Una altra limitació potencial del nostre estudi és la sensibilitat i especificitat de l'EF com a prova diagnòstica d'IPE. La IPE també podria ser diagnosticada a través de mètodes invasius, com per exemple el test d'estimulació amb secretina-colecistoquinina, que presenta una major sensibilitat i especificitat però com a contrapartida requereix de la inserció d'una sonda fins a l'intestí prim per a la recollida de les secrecions pancreàtiques. D'altra banda, la quantificació de greix fecal en femtes és una prova no invasiva que també presenta major sensibilitat i especificitat que l'EF però és difícil dur-lo a terme a la pràctica clínica habitual, ja que requereix una dieta específica rica en greixos durant 5 dies i una recollida de totes les femtes durant 72h. L'inconvenient principal de l'EF és la seva baixa sensibilitat en els estadis precoços de la malaltia, i també la presència de possibles falsos positius si les mostres són de consistència líquida. Com ja s'ha comentat anteriorment en la metodologia del nostre estudi, vam assegurar-nos de descartar les mostres que no fossin de consistència sòlida.

Finalment, una darrera limitació d'aquest estudi és que la gran majoria dels pacients (92%) presentaven CH d'etiologia alcohòlica, per la qual cosa les troballes no serien representatives d'altres causes de CH.

Per resumir, podríem dir que els dèficits de micronutrients són molt freqüents en els pacients amb CH descompensada. Específicament, les deficiències més prevalents són les de vitamina D, vitamina A i zinc i, en menys mesura, les de vitamina B6 i vitamina C. A més, la gravetat de la malaltia hepàtica es correlaciona amb nivells més baixos de magnesi, zinc, vitamina A i vitamina E i amb nivells més elevats de vitamina B12 i ferritina. Aquests resultats posen de manifest la necessitat de realitzar més estudis dirigits a avaluar l'eficàcia de la suplementació de micronutrients en aquests pacients i objectivar-ne l'impacte en el pronòstic de la malaltia hepàtica.

Respecte a la recerca realitzada quant a la morfologia i funció exocrina del pàncrees, podríem dir que hi ha poca evidència sobre la relació i la coincidència de PC i CH en els pacients amb alcoholisme crònic i que més aviat es tractaria de dues entitats amb etiopatogènia i pronòstic diferents. El nostre estudi, en concret, ens permet concloure que l'EF per si sola no seria un bon mètode per fer el diagnòstic d'IPE en pacients amb CH descompensada i també que la PC no seria la única causa que justificaria la IPE en aquests pacients. L'EF sí que seria útil per detectar un subgrup de pacients amb CH descompensada que potencialment podria presentar malaltia pancreàtica i que, per tant, caldria estudiar més específicament. A més, hem objectivat que els clàssics símptomes de PC i IPE no són útils per distingir quins pacients amb CH descompensada podrien presentar coexistència de malaltia pancreàtica.



## **7. CONCLUSIONS**

- La prevalença de dèficit de micronutrients en pacients amb CH descompensada és molt elevada: els dèficits més prevalents en aquesta població són els de vitamina D (94.5%), vitamina A (93.5%) i zinc (85.6%).
- La severitat de la malaltia hepàtica – mesurada a través de la classificació de Child-Pugh i de l'índex *MELD* – es correlaciona amb nivells més baixos de magnesi, zinc, vitamina A i vitamina E i amb nivells més elevats de vitamina B12 i ferritina.
- La prevalença de PC radiològica en els pacients amb CH descompensada, majoritàriament d'etiologia enòlica, és de 9.2%.
- La prevalença d'EF baixa – troballa suggestiva d'IPE – en els pacients amb CH descompensada, sobretot d'etiologia enòlica, és elevada (26.9%) i no en tots els casos és secundària a la presència de PC, tot i que existeix una relació estadísticament significativa entre la presència de PC i els nivells baixos d'EF.
- L'administració de suplementes de vitamina A, vitamina D i zinc estaria justificada en els pacients amb CH descompensada. Caldria realitzar estudis dirigits a avaluar l'impacte d'aquesta intervenció en el pronòstic de la malaltia hepàtica.





## **8. FUTURES LÍNIES D'INVESTIGACIÓ**

- Valoració de l'eficàcia de suplementació de micronutrients en pacients amb CH descompensada i el seu impacte en el pronòstic de la malaltia hepàtica.
- Avaluació de la prevalença de dèficit de micronutrients ajustat per inflamació en pacients amb malalties amb inflamació sistèmica crònica com és la CH.
- Avaluació de la presència de malaltia pancreàtica incipient en pacients amb CH a través de tècniques d'alta sensibilitat com és la USE.
- Valoració de l'eficàcia del tractament d'IPE en pacients amb CH descompensada i el seu impacte en el pronòstic de la malaltia hepàtica.



## **9. BIBLIOGRAFIA**

1. Zhou WC, Zhang QB, Quiao L. Pathogenesis of liver cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(23):7312-24.
2. Elsharkway AM, Oakley F, Mann DA. The role and regulation of hepatic stellate cell apoptosis in reversal of liver fibrosis. *Apoptosis* 2005; 10:927-39.
3. Friedman SL. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. The cellular basis of hepatic fibrosis. Mechanisms and treatment strategies. *N Engl J Med.* 1993; 328:1828-35.
4. Lakner AM, Steuerwald NM, Walling TL, Ghosh S, Li T, McKillop IH, Russo MW, Bonkovsky HL, Schrum LW. Inhibitory effects of microRNA 19b in hepatic stellate cell-mediated fibrogenesis. *Hepatology.* 2012; 56: 300-10.
5. Oakley F, Meso M, Iredale JP, Green K, Marek CJ, Zhou X, May MJ, Millward-Sadler H, Wright MC, Mann DA. Inhibition of inhibitor of kappaB kinases stimulates hepatic stellate cell apoptosis and accelerated recovery from rat liver fibrosis. *Gastroenterology* 2005; 128:108-20.
6. Kolios G, Valatas V, Kouroumalis E. Role of Kupffer cells in the pathogenesis of liver disease. *World J Gastroenterol.* 2006; 12:7413-20.
7. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest.* 2005; 115:209-18.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Chronic Liver Disease and cirrhosis. Accessed May 27; 2014.
9. Asrani SK, Kamath PS. Natural history of cirrhosis. *Curr Gastroenterol Rep.* 2013; 15:308-13.
10. Asrani SK, Kamath PS, Pedersen R, Sauver JS, Yawn BP, Therneau TM, et al. Liver related mortality in the US is underestimated. *Hepatology* 2010; 52(4):408.

11. Manos MM, Leyden WA, Murphy RC, Terrault NA, Bell BP. Limitations of conventionally derived chronic liver disease mortality rates: results of a comprehensive assessment. *Hepatology* 2008; 47(4):1150-7.
12. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet* 2008; 371(9615):838-851.
13. Digestive diseases in the United States. Epidemiology and impact. NIDDK, Bethesda MC. 1994. NIH Publication No.94-1447.
14. National Center for Health Statistics. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, Hyattsville, MD 2005. Series 13.
15. Lv GC, Yao JM, Yang YD, Zheng L, Sheng JF, Chen Y, Li LJ. Efficacy of combined therapy in patients with hepatitis B virus-related decompensated cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2013; 19: 3481-86.
16. Liaw YF, Leung N, Kao JH, Piratvisuth T, Gane E, Han KH, Guan R, Lau GK, Locarnini S. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2008 update. *Hepatol Int.* 2008; 2:263-83.
17. Naveau S, Perlemuter G, Balian A. Epidemiology and natural history of cirrhosis. *Rev Prat.* 2005; 55:1527-32.
18. Di Bisceglie AM. Natural history of hepatitis C: its impact on clinical management. *Hepatology.* 2000; 31: 1014-18.
19. Innes HA, Hutchinson SJ, Barclay S, Cadzow E, Dillon JF, Fraser A, Goldberg DJ, Mills PR, McDonald SA, Morris J, et al. Quantifying the fraction of cirrhosis attributable to alcohol among chronic hepatitis C virus patients: implications for treatment cost-effectiveness. *Hepatology.* 2013; 57:451-60.
20. Ramos-Rincon JM, Pinargote-Celorio H, de Mendoza C, Ramos-Belinchón C, Barreiro P, Gómez-Gallego F, Corral O, Soriano V. Hepatitis C hospitalizations in Spain and impact of new curative antiviral therapies. *J Viral Hepat.* 2022; 29(9):777-84.

21. Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection-natural history and clinical consequences. *N Engl J Med.* 2004; 350:1118-29.
22. Wu SJ, Yang YH, Tsuneyama K, Leung PS, Illarionov P, Gershwin ME, Chuang YH. Innate immunity and primary biliary cirrhosis: activated invariant natural killer T cells exacerbate murine autoimmune cholangitis and fibrosis. *Hepatology.* 2011; 53:915-25.
23. Selmi C, Bowlus CL, Gershwin ME, Coopel RL. Primary biliary cirrhosis. *Lancet* 2011; 377:1600-09.
24. Deutsch M, Emmanuel T, Koskinas J. Autoimmune hepatitis or Wilson's disease, a clinical dilemma. *Hepat Mon.* 2013; 13:e7872.
25. Poupon R, Chazouilleres O, Corpechot C, Chrétien Y. Development of autoimmune hepatitis in patients with typical primary biliary cirrhosis. *Hepatology.* 2006; 44:85-90.
26. Britton RS, Brown KE. Genetic hemochromatosis and Wilson's disease: role for oxidant stress? *Hepatology.* 1995; 21:1195-97.
27. Olynyk JK, Tinder D, Ramm GA, Britton RS, Bacon BR. Hereditary hemochromatosis in the post-HFE era. *Hepatology.* 2008; 48:991-1001.
28. Camaschella C. Treating iron overload. *N Engl J Med.* 2013; 368:2325-27.
29. Dowling D. Screening for Wilson's disease in acute liver failure: a comparison of currently available diagnostic tests. *Hepatology.* 2009; 50:329.
30. Lazo M, Hernaez R, Bonekamp S, Kamel IR, Brancati FL, Guallar E, Clark JM. Non-alcoholic fatty liver disease and mortality among US adults: prospective cohort study. *BMJ.* 2011; 343:d6891.
31. García-Álvarez A, Serra-Majem L, Ribas-Barba L, et al. Obesity and overweight trends in Catalonia, Spain (1992-2003): Gender and socio-economic determinants. *Public Health Nutr.* 2007; 10:1368-78.



32. Conn H, Atterbury C. Schiff L, Schiff E, editors. Diseases of the Liver. 7th Edition. Lippincott Company, Philadelphia. 1993; 875-934.
33. Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology* 2006; 43:99-112.
34. Sharma S, Khalili K, Nguyen GC. Non-invasive diagnosis of advanced fibrosis and cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(45):16820-30.
35. Poynard T, Munteanu M, Imbert-Bismut F, Charlotte F, Thabut D, Le Calvez S, Messous D, Thibault V, Benhamou Y, Moussalli J, Ratziu V. Prospective analysis of discordant results between biochemical markers and biopsy in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem.* 2004; 50:1344-55.
36. Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2003; 38:1449-57.
37. Goldstein NS, Hastah F, Galan MV, Gordon SC. Fibrosis heterogeneity in nonalcoholic steatohepatitis and hepatitis C virus needle core biopsy specimens. *Am J Clin Pathol.* 2005; 123:382-87.
38. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pylsopoulos NT, Feng ZZ, Reddy KR, Schiff ER. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol.* 2002; 97:2614-18.
39. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. The French METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology.* 1994; 20:15-20.
40. Carrión JA, Navasa M, Buti M, Torras X, Xiol X, Vergara M, Planas R, Solà R, Forns X. Elastografía hepática. Documento de posicionamiento de la Societat Catalana de Digestologia. *Gastroenterol Hepatol.* 2011; 34(7):504-510.

41. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. Liver biopsy. *Hepatology*. 2009; 49:1017-44.
42. Berzigotti A, França M, Martí-Aguado D, Martí-Bonmatí L. Imaging biomarkers in liver fibrosis. *Radiologia* 2018; 60(1):74-84.
43. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, Lok ASF. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38:518-526.
44. Abraldes JG, Bureau C, Stefanescu H, Augustin S, Ney M, Blasco H, Procopet B, Bosch J, Genesca J, Berzigotti A; Anticipate investigators. Noninvasive tools and risk of clinically significant portal hypertension and varices in compensated cirrhosis: The “Anticipate” study. *Hepatology* 2016; 64(6):2173-84.
45. De Franchis R, Bosch J, Garcia-Tsao G, Reiberger T, Ripoll C, Baveno II Faculty. Baveno VII – Renewing consensus in portal hypertension. *J Hepatol*. 2022; 76(4):959-974.
46. You MW, Kim KW, Pyo J, Huh J, Kim HJ, Lee SJ, A meta-analysis for the diagnostic performance of transient elastography for clinically significant portal hypertension. *Ultrasound Med Biol*. 2017; 43:59-68.
47. Calès P, Veillon P, Konaté A, Mathieu E, Ternisien C, Chevailler A, Godon A, Gallois Y, Joubaud F, Hubert-Fouchard I, Oberti F, Réaud S, Hunault G, Mauriat F, Lunel-Fabiani F. Reproducibility of blood tests of liver fibrosis in clinical practice. *Clin. Biochem*. 2008; 41:10-8.
48. D’Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol*. 2006; 44(1):217-31.

49. Fleming KM, Aithal GP, Card TR, West J. All-cause mortality in people with cirrhosis compared with the general population: a population-based cohort study. *Liver Int.* 2012; 32(1):79-84.
50. Jepsen P, Ott P, Andersen PK, Sorensen HT, Vilstrup H. Clinical course of alcoholic liver cirrhosis: a Danish population-based cohort study. *Hepatology.* 2010; 51(5):1675-82.
51. Gines P, Quintero E, Arroyo V, Teres J, Bruguera M, Rimola A, et al. Compensated cirrhosis: natural history and prognostic factors. *Hepatology.* 1987; 7(1):122-8.
52. Flemig KM, Aithal GP, Card TR, West J. The rate of decompensation and clinical progression of disease in people with cirrhosis: a cohort study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010; 32(11-12): 1343-50.
53. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet.* 2008; 371(9615):838-51.
54. Ripoll C, Groszmann R, Garcia-Tsao G, Grace N, Burroughs A, Planas R, et al. Hepatic venous pressure gradient predicts clinical decompensation in patients with compensated cirrhosis. *Gastroenterology.* 2007; 133(2):481-8.
55. Ripoll C, Lastra P, Rincon D, Catalina V, Banares R. Comparison of MELD, HVPG, and their changes to predict clinically relevant endpoints in cirrhosis. *Scand J Gastroenterol.* 2012; 47(2):204-11.
56. Ripoll C, Banares R, Rincon D, Catalina MV, Lo Iacono O, Salcedo M. Influence of hepatic venous pressure gradient on the prediction of survival of patients with cirrhosis in the MELD Era. *Hepatology.* 2005; 42(4):793-801.
57. Moitinho E, Escorsell A, Bandi JC, Salmeron JM, Garcia-Pagan JC, Rodes J, et al. Prognostic value of early measurements of portal pressure in acute variceal bleeding. *Gastroenterology.* 1999; 117(3):626-31.

58. Abraldes JG, Villanueva C, Banares R, Aracil C, Catalina MV, Garcia-Pagan JC, et al. Hepatic venous pressure gradient and prognosis in patients with acute variceal bleeding treated with pharmacologic and endoscopic therapy. *J Hepatol.* 2008; 48(2):229-36.
59. Wells CK, Feinstein AR, Walter SD. A comparison of multivariate mathematical methods for predicting survival-III. Accuracy of predictions in generating and challenge sets. *J Clin Epidemiol.* 1990; 43:361-72.
60. Abraldes JG, Tarantino I, Turnes J, Garcia-Pagan JC, Rodes J, Bosch J. Hemodynamic response to pharmacological treatment of portal hypertension and long-term prognosis of cirrhosis. *Hepatology.* 2003; 37(4):902-8.
61. Albillos A, Banares R, Gonzalez M, Ripoll C, Gonzalez R, Catalina MV, et al. Value of the hepatic venous pressure gradient to monitor drug therapy for portal hypertension: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2007; 102(5):1116-26.
62. Bureau C, Metivier S, Peron JM, Selves J, Robic MA, Gourrad PA, et al. Transient elastography accurately predicts presence of significant portal hypertension in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008; 27(12):1261-8.
63. Lemoine M, Katsahian S, Ziol M, Nahon P, Ganne-Carrie N, Kazemi F, et al. Liver stiffness measurement as a predictive tool of clinically significant portal hypertension in patients with compensated hepatitis C virus or alcohol-related cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008; 1102-10.
64. Castera L, Le Bail B, Roudot-Thoraval F, Bernard PH, Foucher J, Merrouche W, et al. Early detection in routine clinical practice of cirrhosis and oesophageal varices in chronic hepatitis C: comparison of transient elastography (FibroScan) with Standard laboratory tests and non-invasive scores. *J Hepatol.* 2009; 50(1):59-68.

65. Robic MA, Procopet B, Metivier S, Peron JM, Selves J, Vinel JP, et al. Liver stiffness accurately predicts portal hypertension related complications in patients with chronic liver disease: a prospective study. *J Hepatol.* 2011; 55(5):1017-24.
66. Klibansky DA, Mehta SH, Curry M, Nasser I, Challies T, Afdhal NH. Transient elastography for predicting clinical outcomes in patients with chronic liver disease. *J Viral Hepat.* 2012; 19(2):e184-93.
67. Kalaitzakis, E.; Simrén, M.; Olsson, R.; Henfridsson, P.; Hugosson, I.; Bengtsson, M.; Björnsson, E. Gastrointestinal symptoms in patients with liver cirrhosis: Associations with nutritional status and health-related quality of life. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2006; 10:1464–1472.
68. Campillo, B.; Richardet, J.P.; Scherman, E.; Bories, P.N. Evaluation of nutritional practice in hospitalized cirrhotic patients: Results of a prospective study. *Nutrition* 2003; 19: 515–521.
69. Englesbe, M.J.; Patel, S.P.; He, K.; Lynch, R.J.; Schaubel, D.E.; Harbaugh, C.; Holcombe, S.A.; Wang, S.C.; Segev, D.L.; Sonnenday, C.J. Sarcopenia and mortality after liver transplantation. *J. Am. Coll. Surg.* 2010; 211: 271–278.
70. Cheung, K.; Lee, S.S.; Raman, M. Prevalence and Mechanisms of Malnutrition in Patients with Advanced Liver Disease, and Nutrition Management Strategies. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2012; 10:117–125.
71. Venu, M.; Martin, E.; Saeian, K.; Gawrieh, S. High prevalence of vitamin A deficiency and vitamin D deficiency in patients evaluated for liver transplantation. *Liver Transplant.* 2013; 19:627–633.
72. Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines on nutrition in chronic liver disease. *J. Hepatol.* 2019; 70:172–193.

73. Trautwein, C.; Possienke, M.; Schlitt, H.-J.; Boker, K.H.W.; Horn, R.; Raab, R.; Manns, M.P.; Brabant, G. Bone density and metabolism in patients with viral hepatitis and cholestatic liver diseases before and after liver transplantation. *Am. J. Gastroenterol.* 2000; 95:2343–2351.
74. Stokes, C.S.; Volmer, D.A.; Grünhage, F.; Lammert, F. Vitamin D in chronic liver disease. *Liver Int.* 2013; 33:338–352.
75. Finkelmeier, F.; Kronenberger, B.; Zeuzem, S.; Piiper, A.; Waidmann, O. Low 25-hydroxyvitamin D levels are associated with infections and mortality in patients with cirrhosis. *PLoS ONE* 2015; 10.
76. Putz-Bankuti, C.; Pilz, S.; Stojakovic, T.; Scharnagl, H.; Pieber, T.R.; Trauner, M.; Obermayer-Pietsch, B.; Stauber, R.E. Association of 25-hydroxyvitamin D levels with liver dysfunction and mortality in chronic liver disease. *Liver Int.* 2012; 32:845–851.
77. Stokes, C.S.; Krawczyk, M.; Reichel, C.; Lammert, F.; Grünhage, F. Vitamin D deficiency is associated with mortality in patients with advanced liver cirrhosis. *Eur. J. Clin. Invest.* 2014; 44:176–183.
78. Koop, A.H.; Mousa, O.Y.; Pham, L.E.; Corral-Hurtado, J.E.; Pungpapong, S., Keaveny, A.P. An argument for vitamin D, A, and zinc monitoring in cirrhosis. *Ann. Hepatol.* 2018; 17:920–932.
79. Toche P. Visión panorámica del sistema immune. *Rev Med Clin Condes.* 2012; 23(4):446-57.
80. Arteh J, Narra S, Nair S. Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease. *Dig Dis Sci.* 2010; 55:2624-8.
81. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:1689-96.

82. Iruzubieta P, Teran A, Crespo J, Fabrega E. Vitamin D deficiency in chronic liver disease. *World J Hepatol* 2014; 6:901-15.
83. Wang TJ. Vitamin D and cardiovascular disease. *Annu. Rev. of Med.* 2016; 67(1):261-72.
84. Clugston RD, Blaner WS. The adverse effects of alcohol on vitamin A metabolism. *Nutrients* 2012; 4:356-71.
85. Debray D, Kelly D, Houwen R, Strandvik B, Colombo C. Best practice guidance for the diagnosis and management of cystic fibrosis-associated liver disease. *J Cyst Fibros* 2011; 10(2):29-36.
86. Herlong HF, Russell RM, Maddrey WC. Vitamin A and zinc therapy in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1981; 1:348-51.
87. Huang Z, Liu Y, Qi G, Brand D, Zheng SG. Role of vitamin A in the immune system. *J Clin Med* 2018; 7(9):258.
88. Mora JR, Iwata M, von Adrian UH. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat Rev Immunol.* 2008; 8(9):685-98.
89. Aguilar RP, Genta S, Oliveros L, Anzulovich A, Gimenez MS, Sanchez SS. Vitamin A deficiency injures liver parenchyma and alters the expression of hepatic extracellular matrix. *J Appl Toxicol* 2009; 29:214-22.
90. Peres WA, Chaves GV, Goncalves JC, Ramalho A, Coelho HS. Vitamin A deficiency in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. *Br J Nutr* 2011; 106:1724-31.
91. Teriaky A, Mosli M, Chandok N, Al-Judaibi B, Marotta P, Qumosani K. Prevalence of fat-soluble vitamin (A, D and E) and zinc deficiency in patients with cirrhosis being assessed for liver transplantation. *Acta Gastroenterol Belg.* 2017; 80(2): 237-41.



92. Abbott-Johnson W, Kerlin P, Clague A, Johnson H, Cuneo R. Relationships between blood levels of fat-soluble vitamins and disease etiology and severity in adults awaiting liver transplantation. *J Gastroenterol. Hepatol.* 2011; 26:1402-10.
93. Arria AM, Tarter RE, Warty V, Van Thiel DH. Vitamin E deficiency and psychomotor dysfunction in adults with primary biliary cirrhosis. *Am. J. Clin. Nutr.* 1990; 52:383-90.
94. Bell H, Bjoraeboe A, Eidsvoll B, et al: Reduced concentration of hepatic alpha tocopherol in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Alcohol Alcohol.* 1992; 27:39-46.
95. Sokol R, Heubi J, Lannaccone ST, Bove KE, Balisteri WF. Vitamin E deficiency with normal serum vitamin E concentrations in children with chronic cholestasis. *N Engl J Med.* 1984; 310(19):1209-12.
96. Von Herbay A, de Groot H, Hegi U, Stremmel W, Strohmeyer G, Sies H. Low vitamin E content in plasma of patients with alcoholic liver disease, hemochromatosis and Wilson's disease. *J Hepatol.* 1994; 120:41-46.
97. Turnham DI, Davies JA, Crump BJ, Situnayake RD, Davis M. The use of different lipids to express serum tocopherol: Lipid ratios for the measurement of vitamin E status. *Ann Clin Biochem.* 1986; 23:514-520.
98. Davies T, Kelleher J, Lososwsky M. Interrelation of serum lipoprotein and tocopherol levels. *Clin Chim Acta.* 1968; 24:431-436.
99. Look MP, Reichel C, von Falkenhausen M, Hahn C, Stockinger K, von Bergmann K, Rao GS, Spengler U, Sauerbruch T. Vitamin E status in patients with liver cirrhosis: normal or deficient? *Metabolism* 1999; 48:86-91.
100. Houglum K, Brenner D, Chojkier M. D-Alpha-tocopherol inhibits collagen alpha 1(1) gene expression in cultured human fibroblasts. *J Clin Invest.* 1991; 87:2230-35.

101. Parola M, Muraca R, Dianzani I, Barrera G, Leonarduzzi G, Bendinelli P, Piccoletti R, Poli G. Vitamin E dietary supplementation inhibits transforming growth factor beta 1 gene expression in the rat liver. *FEBS Lett.* 1992; 208:267-70.
102. Pietrangelo A, Gualdi R, Casalgrandi G, Montosi G, Ventura E. Molecular and cellular aspects of iron-induced hepatic cirrhosis in rodents. *J Clin Invest.* 1995; 96: 1824-1831.
103. Harrison, S.A., Torgerson, S.; Hayashi, P., Ward, J.; Schenker, S. Vitamin E and Vitamin C Treatment Improves Fibrosis in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis. *Am. J. Gastroenterol.* 2003; 98:2485–2490.
104. Amitrano L, Guardascione MA, Brancaccio V, Balzano A. Coagulation disorders in liver disease. *Semin Liver Dis.* 2002; 22(1):83-96.
105. Bémeur, C.; Butterworth, R.F. Nutrition in the management of cirrhosis and its neurological complications. *J. Clin. Exp. Hepatol.* 2014; 4:141–150.
106. Gammoh, N.Z.; Rink, L. Zinc in infection and inflammation. *Nutrients* 2017;9,624.
107. Himoto, T.; Masaki, T. Associations between zinc deficiency and metabolic abnormalities in patients with chronic liver disease. *Nutrients* 2018;10: 88.
108. Paternostro R, Kapzan L, Mandorfer M, Schwarzer R, Benedikt S, Viveiros A, Bauer D, Ferlitsch M, Zoller H, Trauner M, Ferlitsch A. Anemia and iron deficiency in compensated and decompensated cirrhosis: Prevalence and impact on clinical outcomes. *J Gastroenterol Hepatol.* 2020; 35(9):1619-27.
109. Cohen-Hagai K, Feldman D, Turani-Feldman T, Hadary R, Lotan S, Kitay-Cohen Y. Magnesium deficiency and minimal hepatic encephalopathy among patients with compensated liver cirrhosis. *Isr Med Assoc J.* 2018; 20(9):533-38.
110. Whitcomb DC, Lehman GA, Vasileva G, et al. Pancrelipase delayed-release capsules (CREON) for exocrine pancreatic insufficiency due to chronic pancreatitis or

pancreatic surgery: A double-blind randomized trial. *Am J Gastroenterol.* 2010; 105(10):2276-86.

111. Pezzilli R, Morselli Labate AM, Ceciliato R, et al. Quality of life in patients with chronic pancreatitis. *Dig Liv Disease.* 2005; 37(3):191-9.

112. Perbtani Y, Forsmark CE. Update on the diagnosis and management of exocrine pancreatic insufficiency. *F1000Res.* 2019; 8:F1000 Faculty Rev-1991.

113. Söderström L, Rosenblad A, Thors Adolfsson E, et al. Malnutrition is associated with increased mortality in older adults regardless of the cause of death. *Br J Nutr.* 2017; 117(4):532-40.

114. Vikesh KS, Haupt ME, Geller DE, Hall JA, Quintana Diez PM. Less common etiologies of exocrine pancreatic insufficiency. *World J Gastroenterol.* 2017; 23(39):7059-76.

115. Vaquero Raya EC. Pancreatitis crónica: más allá del alcohol. *Gastroenterol Hepatol.* 2012; 35(8):577-584.

116. Yadav D, Whitcomb DC. The role of alcohol and smoking in pancreatitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2010; 7(3):131-45.

117. Perbtani Y, Forsmark CE. Update on the diagnosis and management of exocrine pancreatic insufficiency. *F1000Res.* 2019; 26:8.F1000 Faculty Rev-1991.

118. Pham A, Forsmark C. Chronic pancreatitis: review and update of etiology, risk factors, and management. *F1000Res.* 2018; 17:7.F1000 Faculty Rev-607.

119. Sikkens EC, Cahen DL, Koch AD, Braat H, Poley JW, Kuipers EJ, Bruno MJ. The prevalence of fat-soluble vitamin deficiencies and a decreased bone mass in patients with chronic pancreatitis. *Pancreatology.* 2013;13(3):238-42.

120. Duggan SN, Smyth ND, Murphy A, Macnaughton D, O'Keefe SJ, Conlon KC. High prevalence of osteoporosis in patients with chronic pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2014;12(2):219-28.
121. LaRusch J. and Whitcomb DC. Genetics of pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol*. 2011; 27(5):467-74.
122. Ooi CY, Gonska T, Durie PR, Freedman SD. Genetic testing in pancreatitis. *Gastroenterology*. 2010; 138(7):2202-6.
123. Tinto A, Lloyd DA, Kang Y, Majeed A, Ellis C, Williamson RC, Maxwell JD. Acute and chronic pancreatitis – diseases on the rise: a study of hospital admissions in England 1989/1990-1999/2000. *Aliment Pharmacol Ther*. 2000; 16:2097-2105.
124. Domínguez-Muñoz JE, Lucendo A, Carballo LF, Iglesias-García J, Tenías JM. A Spanish multicenter study to estimate the prevalence and incidence of chronic pancreatitis and its complications. *Rev Esp Enferm Dig* 2014; 106:239-45.
125. Capurso G, Archibugi L, Pasquali P, et al. Prevalence of chronic pancreatitis: results of a primary care physician-based population study. *Dig Liver Dis* 2017; 49:535-39.
126. Wang LW, Li ZS, Li SD, Jin ZD, Zou DW, Chen F. Prevalence and clinical features of chronic pancreatitis in China: a retrospective multicenter analysis over 10 years. *Pancreas* 2009; 38:248-54.
127. Xiao AY, Tan ML, Wu LM, Asrani VM, Windsor JA, Yadav D, Petrov MS. Global incidence and mortality of pancreatic diseases: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression of population-based cohort studies. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2016; 1(1):45-55.
128. Sankaran SJ, Xiao AY, Wu LM, Windsor JA, Fosmark CE, Petrov MS. Frequency of progression from acute to chronic pancreatitis and risk factors: a meta-analysis. *Gastroenterology* 2015; 149:1490-500.

129. Maisonneuve P, Lowenfels AB, Müllhaupt B, Cavallini G, Lankisch PG, Andersen JR, DiMagno EP, Andrén-Sandberg A, Domellöf L, Frulloni L, Ammann L. Cigarette smoking accelerates progression of of alcoholic chronic pancreatitis. *Gut* 2005; 54:510-4.
130. Machicado JD, Chari ST, Timmons L, Tang G, Yadav D. A population-based evaluation of the natural history of chronic pancreatitis. *Pancreatology*. 2018; 18(1):39-45.
131. Beyer G, Habtezion A, Werner J, Lerch MM, Mayerle J. Chronic pancreatitis. *Lancet* 2020;396(10249):499-512.
132. Issa Y, Kempeneers MA, van Santvoort HC, Bollen TL, Bipat S, Boermeester MA. Diagnostic performance of imaging modalities in chronic pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *Eur Radiol*. 2017; 27:3820-44.
133. Dominguez-Munoz JE, Drewes AM, Lindkvist B, Ewald N, Czako L, Rosendhal J, Löhr JM, HaPanEU/UEG Working Group. Recommendations from the United European Gastroenterology evidence-based guidelines for the diagnosis and therapy of chronic pancreatitis. *Pancreatology* 2018; 18(8):847-54.
134. Takasaki Y, Ishii S, Fujisawa T, Ushio M, Takahashi S, Yamagata W, Ito K, Suzuki A, Ochiai K, Tomishima K, et al. Endoscopic ultrasonography findings of early and suspected early chronic pancreatitis. *Diagnostics* 2020; 10(12):1018.
135. Ammann RW, Buehler H, Muench R, Freiburghaus AW, Siegenthaler W. Differences in the natural history of idiopathic (nonalcoholic) and alcoholic chronic pancreatitis. A comparative long-term study of 287 patients. *Pancreas*. 1987;2(4):368-77.
136. Luaces-Regueira M, Iglesias-García J, Lindkvist B, Castiñeira-Alvariño M, Nieto-García L, Lariño-Noia J, Domínguez Muñoz JE. Smoking as a risk factor for complications in chronic pancreatitis. *Pancreas*. 2014;43(2):275-80.

137. Raphael KL, Chawla S, Kim S, Keith CG, Propp DR, Chen ZN, Woods KE, Keilin SA, Cai Q, Willingham FF. Pancreatic insufficiency secondary to tobacco exposure: a controlled cross-sectional evaluation. *Pancreas*. 2017;46(2):237-43.
138. Capurso G, Traini M, Piciocchi M, Signoretti M, Arcidiacono PG. Exocrine pancreatic insufficiency: prevalence, diagnosis, and management. *Clin Exp Gastroenterol*. 2019;21(12):129-39.
139. Lieb JG, Draganov PV. Pancreatic function testing: here to stay for the 21st century. *World J Gastroenterol*. 2018;14(20):3149-58.
140. Beharry S, Ellis L, Corey M, Marcon M, Durie P. How useful is fecal pancreatic elastase 1 as a marker of exocrine pancreatic disease? *J Pediatr*. 2002;141(1):84-90.
141. In brief: pancreatic enzyme replacement. *Med Lett Drugs Ther*. 2017; 59(1531):170.
142. de la Iglesia-García D, Huang W, Szatmary P, Baston-Rey I, Gonzalez-Lopez J, Prada-Ramallal G, Mukherjee R, Nunes QM, Dominguez-Muñoz JE, Sutton R, NIHR Pancreas Biomedical Research Unit Patient Advisory Group. Efficacy of pancreatic enzyme replacement therapy in chronic pancreatitis: systematic review and meta-analysis. *Gut* 2017; 66(8):1474-1486.
143. Durbec JP, Sarles H. Multicenter survey of the etiology of pancreatic diseases. Relationship between the relative risk of developing chronic pancreatitis and alcohol, protein and lipid consumption. *Digestion* 1978; 18:337-50.
144. Becker U, Deis A, Sorensen TI, Gronbaek M, Borch-Johnsen K, Muller CF, Schnohr P, Jensen G. Prediction of risk of liver disease by alcohol intake, sex and age: a prospective population study. *Hepatology* 1996; 23:1025-29.
145. Lankisch PG, Lowenfels AB, Maisonneuve P. What is the risk of alcoholic pancreatitis in heavy drinkers? *Pancreas* 2002; 25:411-12.

146. Seitz HK, Bataller R, Cortez-Pinto H, Gao B, Gual A, Lackner C, Mathurin P, Mueller S, Szabo, Tsukamoto H. Alcoholic liver disease. *Nat Rev Dis Primers* 2018; 4(1):16.
147. Mann RE, Smart RG, Govoni R. The epidemiology of alcoholic liver disease. *Alcohol Research & Health*. 2003; 27(3):209-219.
148. Nakamura Y, Kobayashi Y, Ishikawa A, Maruyama K, Higuchi S. Severe chronic pancreatitis and severe liver cirrhosis have different frequencies and are independent risk factors in male Japanese alcoholics. *J Gastroenterol*. 2004; 39:879-87.
149. Ichihara S, Sato M, Kozuka S. Prevalence of pancreatitis in liver diseases of various etiologies: an analysis of 107754 adult autopsies in Japan. *Digestion* 1992; 51:86-94.
150. Aparisi L, Sabater L, Del-Olmo J, Sastre J, Serra MA, Campello R, Bautista D, Wassel A, Rodrigo JM. Does an association exist between chronic pancreatitis and liver cirrhosis in alcoholic subjects? *World J Gastroenterol*. 2008; 14(409):6171-79.
151. Sakai T. Pancreatic exocrine function in patients with chronic liver disease. *Kurume Medical Journal*. 1998; 45:181-185.
152. García-Pugés AM. Función pancreática en la cirrosis hepática [Tesis doctoral]. Barcelona: Universidad de Barcelona. 1981. Recuperado a partir de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=245596>.
153. Ros E, García-Pugés, Reixach M, Cusó E, Rodés J. Fat digestion and exocrine pancreatic function in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 1984; 87(1):180-7.
154. Mangray S, Zweit J, Puri P. Zinc deficiency in cirrhosis: micronutrient for thought? *Dig. Dig. Sci*. 2015; 60:2868-70.
155. McClain C, Vatsalya V, Cave M. Role of zinc in the development/progression of alcoholic liver disease. *Curr. Treat Options Gastroenterol*. 2017; 15:285-95.
156. Tandon P, Raman M, Mourtzakis M, Merli M. A practical approach to nutritional screening and assessment in cirrhosis. *Hepatology* 2017; 65:1044-57.



157. Pescovitz MD, Mehta PL, Jindal RM, Milgrom ML, Leapman SB, Filo RS. Zinc deficiency and its repletion following liver transplantation in humans. *Clin. Transplant.* 1996; 10:256-60.
158. Sengupta S, Wroblewski K, Aronsohn A, Reau N, Reddy KG, Jensen D, Te H. Screening for zinc deficiency in patients with cirrhosis: when should we start? *Dig. Dis. Sci.* 2015; 60:3130-35.
159. Malham M, Jørgensen SP, Ott P, Agnholt J, Vilstrup H, Borre M, Dahlerup JF. Vitamin D deficiency in cirrhosis relates to liver dysfunction rather than aetiology. *World J Gastroenterol.* 2011; 17:922-25.
160. Jamil Z, Arif S, Khan A, Durrani AA, Yaqoob N. Vitamin D deficiency and its relationship with Child-Pugh class in patients with chronic liver diseases. *J Clin Transl. Hepatol.* 2018; 6:1-6.
161. Anty R, Tonohouan M, Ferrari-Panaia P, Piche T, Pariente A, Anstee QM, Gual P, Tran A. Low levels of 25-hydroxyvitamin D are independently associated with the risk of bacterial infection in cirrhotic patients. *Clin Transl Gastroenterol.* 2014;5.
162. Buonomo AR, Scotto R, Zappulo E, Nerilli M, Pinchera B, Perruolo G, Formisano P, Nappa S, Gentile I. Severe vitamin D deficiency increases mortality among patients with liver cirrhosis regardless of the presence of HCC. *In vivo* 2019; 33:177-82.
163. Leo MA, Lieber CS. Alcohol, vitamin A, and beta-carotene: adverse interactions, including hepatotoxicity and carcinogenicity. *Am J Clin Nutr.* 1999; 69:1071-85.
164. Sugihara T, Koda M, Okamoto T, Miyoshi K, Matono T, Oyama K, Hosho K, Okano JI, Isomoto H, Murawaki Y. Falsely elevated serum vitamin B12 levels were associated with the severity and prognosis of chronic viral liver disease. *Yonago Acta Med.* 2017; 60:31-39.

165. Halsted CH. B-vitamin dependent methionine metabolism and alcoholic liver disease. *Clin Chem Lab Med.* 2013; 51:457-65.
166. Levy CM, Cardi L, Frank O, Gellene R, Baker H. Incidence and significance of hypovitaminemia in a randomly selected municipal hospital population. *Am J Clin Nutr.* 1965; 17:259-71.
167. Kazimierska E, Czestochowska E. Serum homocysteine, vitamin B12 and folic acid concentrations in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Pol Merkur Lek.* 2003; 15:140-43.
168. Cylwik B, Czygier M, Daniluk M, Chrostek L, Szmitowski M. Vitamin B12 concentration in the blood of alcoholics. *Pol Merkur Lek.* 2010; 28:122-25.
169. Oikonomou T, Goulis I, Soulaïdopoulos S, Karasmani A, Doumtsīs P, Tsioni K. High serum ferritin is associated with worse outcome of patients with decompensated cirrhosis. *Ann Gastroenterol.* 2017; 30:217-24.
170. Walker NM, Stuart KA, Ryan RJ, Desai S, Saab S, Nicol JA, Fletcjer LM, Crawford DH. Serum ferritin concentration predicts mortality in patients awaiting liver transplantation. *Hepatology* 2010; 51:1683-91.
171. Maiwall R, Kumar S, Chaudhary AK, Maras J, Wani Z, Kumar C, Rastogi A, Bihari C, Vashist C, Sarin SK. Serum ferritin predicts early mortality in patients with decompensated cirrhosis. *J Hepatol.* 2014; 61:43-50.
172. Liu M, Yang H, Mao Y. Magnesium and liver disease. *Ann Transl Med.* 2019; 7:578.
173. Nangliya V, Sharma A, Yadav D, Sunder S, Nijhawan S, Mishra S. Study of trace elements in liver cirrhosis patients and their role in prognosis of disease. *Biol Trace Elem Res.* 2015; 165:35-40.
174. Aigner E, Theurl I, Haufe H, Seifert M, Hohla F, Scharinger L, Stickel F, Mourlane F, Weiss G, Datz C. Copper availability contributes to iron perturbations in human nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2008; 135:680-88.

175. Mehta KJ, Farnaud SJ, Sharp PA. Iron and liver fibrosis: mechanistic and clinical aspects. *World J Gastroenterol.* 2019; 25:521-38.
176. Antonucci L, Porcu C, Iannucci G, Balsano C, Barbaro B. Non-alcoholic fatty liver disease and nutritional implications: special focus on copper. *Nutrients* 2017; 9:1137.
177. Nakhbandi IA. Osteoporosis and fractures in liver disease: Relevance, pathogenesis and therapeutic implications. *World J Gastroenterol.* 2014; 20:9427-38.
178. Dirchwolf M, Ruf AE. Role of systemic inflammation in cirrhosis: from pathogenesis to prognosis. *World J Hepatol.* 2015; 7:1974-81.
179. Namaste SM, Aaron GJ, Varadhan R, Peerson JM, Suchdev S, BRINDA Working Group. Methodologic approach for the Biomarkers Reflecting Inflammation and Nutritional Determinants of Anemia (BRINDA) project. *Am J Clin Nutr.* 2017; 106:333-47.
180. Diana A, Haszard JJ, Purnamasari DM, Nurulazmi I, Luftimas DE, Rahmania S, Nugraha GI, Erhardt J, Gibson RS, Houghton L. Iron, zinc, vitamin A and selenium status in a cohort of Indonesian infants after adjusting for inflammation using several different approaches. *Br J Nutr.* 2017; 118:830-39.
181. Namaste SM, Ou J, Williams AM, Young MF, Yu EX, Suchdev S. Adjusting iron and vitamin A status in settings of inflammation: A sensitivity analysis of Biomarkers Reflecting Inflammation and Nutritional Determinants of Anemia (BRINDA) approach. *Am J Clin Nutr.* 2019; 112:458-67.
182. Singhvi A, Abromitis R, Althouse AD, Bataller R, Arteel GE, Yadav D. Coexistence of alcohol-related pancreatitis and alcohol-related liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Pancreatology.* 2020; 20:1069-77.
183. Edge MD, Hoteit M, Patel AP, Wang X, Baumgarten DA, Cai Q. Clinical significance of main pancreatic duct dilatation on computed tomography: Single and double duct dilatation. *World J Gastroenterol.* 2007; 13:1701-05.

184. Irisawa A, Shibukawa G, Abe Y, Nikaido A, Inbe K, Hoshi K. Endosonographic diagnosis of chronic pancreatitis. *J Gastroint Dig Syst.* 2013; S2:005.
185. Tan JH, Jin YC, Cao RC, Zhou L, Zhang GW. Risk factors for the concomitant occurrence of alcoholic chronic pancreatitis and alcoholic liver cirrhosis: A 10-years cohort study at a tertiary hospital in China. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2020; 32:1229-34.
186. Chand SK, Pendharker SA, Bharmal SH, Pandol SJ, Petrov MS. Frequency and risk factors for liver disease following pancreatitis: A population-based cohort study. *Dig. Liv. Dis.* 2019; 51:551-558.
187. Rabih SA, García-Agudo R, Legaz-Huidobro ML, Ynfante-Ferrús M, González-Carro P, Pérez-Roldán F, Ruiz-Carrillo F, Tenías Burillo JM. Exocrine pancreatic insufficiency and chronic pancreatitis in chronic alcohol liver disease. Coincidence or shared toxicity? *Pancreas* 2014; 5:730-734.
188. Hayakawa T, Kondo T, Shibata T, Kitagawa M, Sakai Y, Sobajima H, Ishiguro H, Nakae Y, Kato K. Exocrine pancreatic function in chronic liver diseases. *Am. J. Gastroenterol.* 1991; 86:201-204.
189. Joker-Jensen H, Mathiasen AS, Kohler M, Rasmussen HH, Drewes AM, Olesen SS. Micronutrient deficits in patients with chronic pancreatitis: Prevalence, risk factors and pitfalls. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2020; 32:1328-34.
190. Llibre-Nieto G, Lira A, Vergara M, Solé C, Casas M, Puig-Diví V, Solé G, Humanes A, Grau L, Barradas JM, Miquel M, Sánchez-Delgado J. Micronutrient deficiencies in patients with decompensated liver cirrhosis. *Nutrients* 2021; 13:1249.