



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.



**Universitat Autònoma  
de Barcelona**

**LA FATIGA A LA MALALTIA INFLAMATÒRIA INTESTINAL**

**Tesi doctoral realitzada i presentada per:**

**Diana Horta Sangenís**

**Per a optar al títol de Doctora**

**Directors: Xavier Calvet Calvo, Albert Villoria Ferrer i Maria Esteve Comas**

**Tutor: Xavier Calvet Calvo**

Programa de Doctorat en Medicina

Departament de Medicina. Facultat de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

Sabadell, 2021



## AGRAÏMENTS

En primer lloc, agrair a tot el Servei de Digestiu de l'Hospital Universitari Parc Taulí, on vaig realitzar la meva residència en Aparell Digestiu. És el centre on m'he format tan a nivell professional com a nivell personal, rodejada de grans professionals, companys i amics. A tots ells i als residents que m'han acompanyat (Quim, Luigi, Salva, Alberto, Alba) per compartir molts bons moments al llarg de la residència. Gràcies també a l'Eduard Brunet per ajudar-me amb tràmits burocràtics.

Al Dr. Xavier Calvet, tutor i director de la tesi doctoral, referent en investigació. Pel seu acompanyament i suport. Fa fàcils els moments difícils i transmet entusiasme i motivació amb la investigació.

Al Dr. Albert Villoria, la oportunitat de rotar amb ell – que em va encantar- uns mesos al servei de Digestiu i per la seva ajuda a codirigir la tesi doctoral, a part de gran persona.

A la Dra. Maria Esteve, codirectora i cap de servei de Digestiu de l'Hospital Universitari Mútua de Terrassa pel seu suport i consells valuosos. És una cap de servei lluitadora i gran professional clínica i investigadora.

D'altra banda, agrair a tots els companys del Servei de Digestiu de l'Hospital Universitari Mútua de Terrassa; on hi porto treballant des de la finalització de la residència. Gràcies pel bon ambient i pel suport.

A infermeria d'ambdós hospitals que són sempre imprescindibles per desenvolupar la nostra feina. En especial a la Meritxell Sánchez per la seva ajuda amb el primer estudi i a les infermeres d'hepatologia Anna Agustí i Mari Fernández.

Als acupuntors i metges Marcelo Tegiacchi, Susana García i Dario García per ensenyar-me que la medicina complementària també pot ser útil quan s'empra adequadament.

A Guillermo Quintàs, Marta Moreno i Julia Kuligowski del LEITAT Technological Center València per la seva gran ajuda amb la metodologia en metabolòmica i els seus coneixements en aquest àmbit.

A la Maria José Ramírez per la seva ajuda tots aquests mesos. Gràcies!

Finalment, a la meva família; a la meva mare pel seu suport incondicional, al meu pare i l'Alfredo. Als meus fans incondicionals: el meu marit Santi i al meu fill Aleix per donar-me alegria sempre. I també a tots als qui ja no hi són però sempre hi seran. Gràcies.



## ABREVIATURES

- AA: Àcid araquidònic
- ABHD4: Abhidrolasa que conté el domini 4, N-Acil fosfolipasa B
- ACP: Anàlisi de components principals
- BFI: Brief Fatigue Inventory
- CDAI: Crohn's disease activity index
- CEP: Colangitis esclerosant primària
- CU: Colitis Ulcerosa
- DHA: Àcid docosahexaenoic
- EAc: Electroacupuntura
- EOR: Espècies reactives d'oxigen
- ESL: Esfingolípid
- ESM: Esfingomielinasa
- FACIT-FS: Functional assessment of chronic illness therapy-fatigue subscale
- FIS: Fatigue impact scale
- FQ: Fatigue Questionnaire
- FSS: Fatigue Severity Scale
- GLTP: Proteïna de transferència de glucòlids
- IBD-F: Inflammatory bowel disease fatigue
- LCAT: Lecitina-colesterol aciltransferasa
- LC-MS: Cromatografia líquida-espectrometria de masses
- MAC: Medicina alternativa i/o complementària
- MC: Malaltia de Crohn
- MeSH: Medical Subjects Heading
- MFI-20: Multidimensional fatigue inventory
- MII: Malaltia inflamatòria intestinal
- PC: Fosfatidilcolines
- PFS: Piper Fatigue Scale
- QC: Control de qualitat
- ShEAc: Electroacupuntura sham
- SM: Esfingomielines
- WL: Wait-list, llista d'espera





## ÍNDEX

Resum .....	11
Summary .....	13
1. Introducció .....	16
1.1. Malaltia inflamatòria intestinal .....	16
1.1.1. Aspectes clínics .....	16
1.1.1.1. Malaltia de Crohn .....	16
1.1.1.2. Colitis Ulcerosa .....	19
1.1.1.3. Diagnòstic diferencial .....	21
1.1.2. Ús de medicina complementària a la MII .....	22
1.1.3. L'acupuntura a la MII .....	23
1.1.3.1. Definició .....	23
1.1.3.2. Estudis controlats i aleatoritzats amb acupuntura ..	24
1.1.3.3. Fisiopatologia de l'efecte de l'acupuntura a la MII ..	28
1.2. Fatiga a la MII .....	30
1.2.1. Definició .....	30
1.2.2. Prevalença de la fatiga a la MII .....	31
1.2.3. Sistemes d'avaluació de la fatiga a la MII .....	35
1.2.4. Fisiopatologia .....	40
1.2.5. Factors de risc .....	45
1.2.6. Tractament .....	46
1.3. Lipidèmica a la MII .....	49
2. Hipòtesi .....	56
3. Objectius .....	58
4. Compendi de publicacions .....	60

4.1. Primera publicació .....	60
4.2. Segona publicació .....	70
5. Resum global dels resultats .....	83
6. Resum global de la discussió .....	101
7. Conclusions .....	108
8. Línies de futur .....	110
9. Bibliografia .....	112



## RESUM

La fatiga a la malaltia inflamatòria intestinal (MII) és un símptoma molt freqüent, fins i tot en absència d'activitat clínica. La fatiga afecta a la qualitat de vida dels pacients que la pateixen i no es disposa d'un tractament eficaç. L'acupuntura és efectiva en el tractament de pacients amb fatiga per altres malalties cròniques, però fins a l'actualitat no s'ha avaluat la seva eficàcia en el tractament de la fatiga associada a la MII.

La fisiopatologia de la fatiga és multifactorial i complexa i el seu diagnòstic és subjectiu. Disposar de biomarcadors podria ser útil per caracteritzar als pacients, però fins ara no se n'han identificat. En el cas de que es detectes, mitjançant lipidòmica, un perfil lipídic específic associat a astènia crònica, podria ser una eina útil, tant per disposar d'un biomarcador, com per ajudar a explicar la seva patogènia. Aquests aspectes no s'han avaluat fins a l'actualitat.

Els estudis pilot, que componen aquesta tesis doctoral, pertanyen a una mateixa línia d'investigació i estudien diversos aspectes de la fatiga en la MII.

El primer estudi és un estudi aleatoritzat, simple cec, per avaluar l'efecte de l'electroacupuntura (EAc) comparat amb l'acupuntura sham (ShEAc) i un grup control de no intervenció en pacients amb MII quiescent i fatiga. El segon és un estudi pilot que analitza el perfil lipídic dels pacients amb MII i fatiga.

Els resultat del primer estudi mostren que tant l'EAc com la ShEAc es van associar a una millora de la fatiga reflectida en un increment de les puntuacions del qüestionari de fatiga FACIT-FS. En el cas de l'EAc, l'increment va ser de 9,5 punts (95% CI: 6,8-12,3,  $p < 0,001$ ), mentre que en el cas de ShEAc, l'increment va ser de 5,5 punts (95% CI: 2,7-9,7,  $p = 0,015$ ). En canvi, el grup de no intervenció no va presentar canvis significatius ( $p = 0,34$ ). No hi hagueren diferències observades entre els grups amb tractament amb EAc i ShEAc ( $p = 0,168$ ). Això suggereix que l'acupuntura és eficaç, però en bona part per efectes inespecífics de la punció i/o per efecte placebo.

A més, també s'avaluà l'efecte de l'EAc en la qualitat de vida, la depressió i ansietat. L'EAc s'associà significativament a una milloria de la qualitat de vida

amb un increment de 5,1 punts (95% CI: 3,6-17,6,  $p = 0,006$ ) del qüestionari IBDQ-9; una milloria de la depressió, amb una disminució de 8,9 punts (95%CI: 4-1,8,  $p = 0,002$ ) del qüestionari de Beck, i una milloria de l'ansietat amb una disminució de 10,6 punts (95%CI: 3,6-17,6,  $p = 0,006$ ) del qüestionari d'ansietat de Hamilton.

D'altra banda, en el segon estudi vàrem observar que el perfil lipídomic mostrà canvis en els lípids associats a fatiga i MII. En els pacients amb fatiga s'observà un descens en els nivells de fosfatidilcolines, plasmanils, esfingomielines, lisofosfatidilcolines, fosfatidiletanolamines, fosfatidilinositols, fosfatidilserines i eicosanoides.

També s'observà una alteració del metabolisme de l'àcid araquidònic ( $p < 0,003$ ), dels glicerofosfolípids ( $p < 0,05$ ) i dels esfingolípidos ( $p < 0,05$ ). A la xarxa d'interacció entre proteïnes i metabòlits, s'observaren 42 proteïnes entre les que destacaren l'abhidrolasa que conté el domini 4, N-Acil fosfolipasa B (ABHD4), la proteïna de transferència de glucòlids (GLTP) i la lecitina-colesterol aciltransferasa (LCAT).

## SUMMARY

Fatigue is a very common symptom in inflammatory bowel disease (IBD) even in the absence of clinical activity. Fatigue has an effect on patient quality of life and there is a lack of effective treatment. Acupuncture is effective in patients with fatigue and other chronic diseases. Nowadays, its effectiveness in treating IBS-associated fatigue has not been evaluated.

The pathophysiology of fatigue is multifactorial and complex and its diagnosis is subjective. Fatigue biomarkers would be useful in characterizing patients. So far, however, biomarkers have not been detected. In the event that a specific lipid profile is detected, lipidomics could be a useful tool to identify a biomarker and to help explain fatigue pathogenesis. To date, these aspects have not been evaluated.

The pilot studies that perform this doctoral thesis belong to the same line of research, studying various aspects of fatigue.

The first study was a randomized, single-blind study to evaluate the effect of electroacupuncture (EAc) compared to sham acupuncture (ShEAc) and a non-intervention control group in patients with quiescent IBD and fatigue. The second study analyses the lipid profile of patients with IBD and fatigue.

The results of the first study show that both EAc and ShEAc were associated with an improvement in fatigue observed in an increase in FACIT-FS fatigue questionnaire scores. In the case of EAc, the increase was 9.5 points (95%CI: 6.75-12.3,  $p < 0.001$ ), while in the case of ShEAc the increase was 5.46 points (95%CI: 2.7-9.7,  $p = 0.015$ ). However, the non-intervention group showed no significant changes ( $p = 0.34$ ). There were no differences between the EAc and ShEAc groups ( $p = 0.168$ ). These results suggest that acupuncture was effective, but largely due to nonspecific puncture effects and / or placebo effects.

Moreover, the effect of EAc on quality of life, depression, and anxiety was evaluated. EAc was significantly associated with an improvement in quality of life with a 5.1 point increase (95% CI: 3.6–17.6,  $p = 0.006$ ) on the IBDQ-9 questionnaire; an improvement in depression, with a decrease of 8.9 points (95% CI: 4-1.8,  $p = 0.002$ ) of the Beck questionnaire, and an improvement in anxiety

with a decrease of 10.6 points (95% CI: 3.6-17.6,  $p = 0.006$ ) from the Hamilton anxiety questionnaire.

On the other hand, in the second study we observed that the lipidomic profile showed changes in lipids associated with fatigue and IBD. Decreased levels of phosphatidylcholines, plasmalogen, sphingomyelins, lysophosphatidylcholines, phosphatidylethanolamines, phosphatidylinositols, phosphatidylserines, and eicosanoids were observed in patients with fatigue.

Alteration of arachidonic acid metabolism ( $p < 0.003$ ), glycerophospholipids ( $p < 0.05$ ) and sphingolipids ( $p < 0.05$ ) was also observed. In the protein-metabolite interaction network, 42 proteins were observed, including ABDH4, GLTP and LCAT.





# **1. INTRODUCCIÓ**

## **1.1 MALALTIA INFLAMATÒRIA INTESTINAL**

La malaltia inflamatòria intestinal (MII) engloba un conjunt de malalties cròniques d'etiologia poc coneguda que produeixen lesions d'extensió i afectació variable al tub digestiu. La seva evolució pot alternar períodes d'activitat (brot, recidiva o recurrència) amb períodes d'inactivitat (remissió). Dins l'espectre de la MII ens referim bàsicament a la Malaltia de Crohn (MC) i a la Colitis Ulcerosa (CU).

La fisiopatologia de la MII és força desconeguda tot i que es creu que hi ha una interacció entre factors genètics, ambientals, immunològics i microbians (microbiota intestinal). A nivell genètic s'han descobert 163 gens/locus que predisposen a la MII. Pel que fa als factors ambientals, l'únic factor relacionat tant amb l'aparició de MC, com amb una pitjor evolució (més requeriments de fàrmacs i més necessitat de cirurgia) és el tabaquisme. La MII és més prevalent en països desenvolupats i zones urbanes i el pic d'incidència de la malaltia es troba a la segona i tercera dècada (tot i que pot presentar-se a qualsevol edat).

Es tracta de malalties immunomediades, en les que el sistema immune innat reconeix antígens presents a la llum intestinal de manera anòmala produint un desequilibri entre factors proinflamatoris i antiinflamatoris. Cal recordar que en els individus sans existeix un estat d'inflamació controlada fisiològica amb fenòmens de tolerància enfront d'antígens de la microbiota intestinal i la dieta.

### **1.1.1 ASPECTES CLÍNICS**

#### **1.1.1.1 MALALTIA DE CROHN**

La MC pot afectar qualsevol localització del tracte digestiu (des de la boca fins a l'anus). Tot i que tradicionalment sol afectar l'intestí prim distal i el colon proximal, fins a un 15% dels casos poden presentar lesions al tracte gastrointestinal superior. L'ús de noves tècniques d'imatge i endoscòpiques, ha permès millorar el diagnòstic de la MII amb afectació del tracte gastrointestinal superior. L'afectació inflamatòria és transmural i pot ser discontinua, presentant zones de mucosa sana interlesional. Degut a que la inflamació afecta a tota la paret es

poden presentar complicacions com abscessos, fístules, estenosis i lesions perianals. (1)

La classificació de Montreal (taula 1) ens permet classificar la MC segons l'edat al diagnòstic (A, *Age*), el patró de comportament de la malaltia (B, *Behaviour*) i la seva localització (L, *Location*). Si hi ha afectació perianal, s'afegeix la lletra <<p>> a la categoria de patró de comportament. No obstant, aquesta classificació no és estàtica i pot variar ja que, per exemple, el patró inflamatori crònic pot progressar a estenosis i/o fístules. La classificació de la malaltia en el diagnòstic i durant el seguiment ens permetrà optimitzar el tractament.

Taula 1. Classificació de Montreal de la Malaltia de Crohn (2)

Edat al diagnòstic (A): <ul style="list-style-type: none"><li>- A1: ≤16 anys</li><li>- A2: 17 a 40 anys</li><li>- A3: &gt; 40 anys</li></ul>
Patró clínic (B): <ul style="list-style-type: none"><li>- B1: Inflamatori</li><li>- B2: Estenosant</li><li>- B3: Fistulitzant</li></ul> Si hi ha afectació perianal s'indica amb la lletra <<p>> (B1p; B2p; B3p)
Localització (L): <ul style="list-style-type: none"><li>- L1: Íleum terminal</li><li>- L2: Còlon</li><li>- L3: Ileo-còlica</li><li>- L4: Tracte digestiu superior</li></ul> Si hi ha afectació del tracte digestiu superior s'afegeix a qualsevol de les anteriors (ex: L1+L4; L2+L4; L3+L4).

La clínica de la MC varia molt en funció de la localització, el patró de comportament i la presència o no de manifestacions extraintestinals. El dolor abdominal (tipus còlic o suboclusiu) i la diarrea crònica són els símptomes predominants. Hi pot haver símptomes sistèmics com pèrdua de pes, febre o astènia; en alguns casos, emissió de sang i moc i en cas d'estenosis, les

nàusees i els vòmits poden ser els símptomes predominants. Els pacients poden presentar malaltia perianal i perineal com fissures, fístules i abscessos. Tota aquesta simptomatologia variarà també en funció de l'activitat i la gravetat de la malaltia.

Es poden utilitzar diferents índexs d'activitat a la MC com el CDAI (Crohn's disease activity index) que diferencia entre malaltia inactiva (CDAI <150), lleu (150-220), moderada (221-450) i greu (>450). No obstant, a la pràctica clínica, s'utilitza sovint l'índex de Harvey-Bradshaw (HBI) perquè és més senzill de calcular; diferencia entre malaltia lleu (< 6 punts), moderada (6-12 punts) i greu (> 12 punts) (taula 2). (2)

Taula 2. Índex de Harvey Bradshaw (5)

Variables	Punts
1. Estat general	0 Molt bo 1 Regular 2 Dolent 3 Molt dolent 4. Dolentíssim
2. Dolor abdominal	0 No 1 Lleuger 2 Moderat 3 Intens
3. N <sup>o</sup> de deposicions líquides diàries (n punts)	
4. Massa abdominal	0 No 1 Dubtosa 2 Definida 3 Definida i dolorosa
5. Complicacions (un punt per cada complicació)	1 Artràlgia 1 Uveïtis 1 Eritema nodós 1 Aftes 1 Pioderma gangrenós 1 Fístula anal 1 Altres fístules 1 Abscessos

### 1.1.1.2 COLITIS ULCEROSA

La CU afecta exclusivament el colon i la inflamació es limita a la capa mucosa.

La classificació de Montreal permet classificar en tres categories la CU segons la seva localització:

- Proctitis (I1): malaltia limitada al recte
- Colitis esquerra (I2): afectació distal a l'angle esplènic

- Colitis extensa/pancolitis (I3): afectació proximal a l'angle esplènic

La clínica varia segons el grau d'activitat i extensió de la malaltia. Les manifestacions clíniques principals són la diarrea amb sang i moc, la urgència defecatòria i el dolor abdominal. L'afectació rectal pot comportar tenesme, urgència i emissió de sang. La proctitis o afectació exclusiva del recte, pot presentar rectorràgia, tenesme, urgència i incontinència. Quan els pacients presenten un brot moderat o greu poden aparèixer símptomes sistèmics (febre, anorèxia i afectació de l'estat general). (3)

Els índexs d'activitat de la CU ens poden ajudar a establir un pronòstic i optimitzar el tractament. Un dels índexs més utilitzats és el de Truelove-Witts, que ha estat adaptat a la classificació de Montreal (taula 3).

Taula 3. Classificació de Montreal (4)

Gravetat	Símptomes
Remissió (S0)	Absència de símptomes
Lleu (S1)	≤4 deposicions/dia (+/- sang) Sense febre ni afectació de l'estat general Marcadors inflamatoris normals
Moderada (S2)	4-6 deposicions/dia (+/- sang) Afectació lleu de l'estat general Elevació moderada marcadors inflamatoris
Greu (S3)  * Qualsevol d'aquests o tots	≥6 deposicions/dia (sang) Taquicàrdia (FC ≥ 90 bpm) Febre (37,5°C) * Anèmia (Hb 10,5g/dl) * Afectació de l'estat general*

### 1.1.1.3 DIAGNÒSTIC DIFERENCIAL.

El diagnòstic diferencial entre la MC i la CU pot ser senzill quan hi ha afectació de l'intestí prim o del tracte gastrointestinal superior. No obstant, quan l'afectació és exclusivament còlica, en un 10-15% dels casos no és possible fer el diagnòstic diferencial. En aquest cas parlem de colitis indeterminada o inclassificada.

Clàssicament, ens podem ajudar de les següents característiques clíniques, endoscòpiques i histològiques per a establir el diagnòstic diferencial.

Taula 4. Característiques de la Colitis Ulcerosa i la Malaltia de Crohn

Característiques clíniques	Colitis Ulcerosa	Malaltia de Crohn
Rectorràgia	Freqüent	Poc freqüent
Emissió de moc o pus	Freqüent	Poc freqüent
Afectació de budell prim	Mai	Molt freqüent
Obstrucció intestinal	Excepcional	Freqüent
Massa abdominal inflamatòria	Excepcional	Freqüent
Manifestacions extraintestinals	Freqüent	Freqüent
Fístules i malaltia perianal	Rar	Freqüent
Característiques endoscòpiques		
Úlceres superficials	Freqüent	Poc freqüent
Úlceres profundes	Poc freqüent	Freqüent
Afectació contínua i difusa	Freqüent	Poc freqüent
Afectació del recte	Quasi sempre	Poc freqüent
Característiques histològiques		
Inflamació transmural	No	Sí

Distorsió arquitectura de criptes	Freqüent	Poc freqüent
Criptitis i abscessos de criptes	Més freqüent	Menys freqüent
Granulomes	Mai	Poc freqüent
Fissures	Rarament	Molt freqüent

### 1.1.2. ÚS DE MEDICINA COMPLEMENTÀRIA A LA MII

La medicina alternativa i/o complementària (MAC) –segons el Medical Subjects Heading (MeSH)- engloba el conjunt de teràpies, tractaments o pràctiques que no es consideren part de la pràctica mèdica al·lopàtica convencional.

Les teràpies s'anomenen 'complementàries' quan s'utilitzen juntament amb els tractaments convencionals i 'alternatives' quan s'utilitzen en lloc del tractament convencional.

Moltes d'aquestes teràpies han estat emprades durant segles per a tractar múltiples símptomes i malalties cròniques a països orientals com la medicina tradicional xinesa. En la darrera dècada ha augmentat l'interès i l'ús de la medicina complementària i alternativa al món occidental. (5)

Entre un 30-50% dels pacients amb MII refereixen haver emprat medicina alternativa en alguna ocasió. (6-8) No obstant, pocs pacients ho expressen al seu digestòleg habitual per por a una resposta negativa, incomprensió i/o desconexença. D'aquí en deriva la importància que els metges rebéssim una formació acadèmica en aquestes teràpies per millorar la comunicació, coneixement d'aquestes pràctiques i que els pacients les puguin emprar de manera segura i mai com a una alternativa al tractament convencional. (9)

Hi ha diversos motius per l'ús de MACs entre els pacients amb MII. Els factors associats a un ús de MACs són el sexe femení (7,8,10), un nivell educacional superior (7,10), haver presentat efectes secundaris als tractaments convencionals (6,11), l'ús de corticoides a llarg termini (12), l'ús de MACs per part d'amics i/o parents i presentar una malaltia de llarga evolució (11,13). No

sembla que hi hagi diferències en quan a l'ús de MACs entre els pacients amb MC i CU.

La MAC inclou productes d'herboristeria o fitoteràpia, suplementes dietètics, oli de peix, vitamines, probiòtics, massatges, quiropràctica, relaxació, reflexologia, hipnoteràpia, homeopatia, sanació, meditació, dietes i acupuntura i/o moxibustió, entre d'altres.

El tipus de MAC emprada varia en funció de la localització geogràfica. Per exemple, a Califòrnia els pacients utilitzen més suplementes nutricionals (14), al Regne Unit productes d'herboristeria i/o fitoteràpia (15), a Noruega i Alemanya més homeopatia (7,16) i al Canadà massatges. (8)

La majoria d'informació de que disposem sobre l'ús de MACs en els pacients amb MII vénen d'estudis d'enquestes. L'evidència científica dels efectes de la MAC és de baixa qualitat donat que hi ha pocs assajos controlats aleatoritzats. A més, sovint és molt difícil o impossible elaborar un placebo vàlid o cegar els pacients en front d'intervencions psicològiques o acupuntura, etc. Aquesta és una important limitació de la majoria d'estudis. (9,17)

### **1.1.3. L'ACUPUNTURA A LA MII**

#### **1.1.3.1. DEFINICIÓ**

##### **Acupuntura**

És una teràpia de la medicina tradicional xinesa que data de més de 3000 anys. A l'acupuntura tradicional contemporània, s'introdueixen agulles metàl·liques fines a punts del cos predeterminats (acupoints) manualment. Hi ha diverses modalitats d'acupuntura com l'electroacupuntura, la moxibustió, l'acupressió, etc.

##### **Electroacupuntura**

En aquesta variant, s'utilitza un estimulador elèctric que genera estímuls elèctrics sobre les agulles col·locades. És la tècnica que s'empra majoritàriament a estudis clínics donat que s'ha observat un major efecte a nivell del sistema nerviós central i és més consistent i reproduïble que l'acupuntura tradicional. (18-19)



## Electroacupuntura transcutània

S'empra estimulació elèctrica per mitjà d'uns elèctrodes de superfície sense necessitat de col·locar agulles. Per tant, és una tècnica no invasiva i més ben acceptada pels pacients.

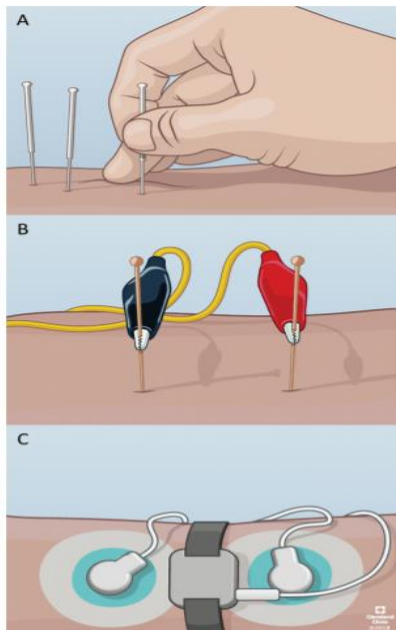
## Moxibustió

En aquesta variant, s'aplica calor sobre els 'acupoints' cremant 'moxa' (la planta Artemisa, que es premsa en forma de pur o es mol fins convertir-la en pols per cremar). Es pot combinar amb l'acupuntura tradicional. (20)

## Acupuntura sham

Ens referim a acupuntura sham quan parlem d'acupuntura placebo. Les agulles es col·loquen en punts del cos que no es consideren meridians o 'acupoints'.

Figura 1. Tipus d'acupuntura



A, Acupuntura tradicional. B, Electroacupuntura. C, Electroacupuntura transcutània. Reimprès amb permís de Oxford Academy, extret de Song G et al, Inflamm Bowel Dis, 2019 (21)

### 1.1.3.2. ESTUDIS CONTROLATS I ALEATORITZATS AMB ACUPUNTURA

En una revisió sistemàtica, Ji et al (22) van detectar 43 assaigs clínics - 42 per a CU i un per a MC- que van utilitzar acupuntura i/o moxibustió per induir la

remissió clínica a la MII activa. Només tres estudis eren d'alta qualitat; la majoria tenia una mostra insuficient i diferien significativament en quan al mètode d'acupuntura utilitzat. En qualsevol cas, d'aquests 43 estudis, 10 estudis que incloïen pacients amb CU, comparaven l'acupuntura i/o la moxibustió amb la sulfasalazina oral. Un metaanàlisi d'aquests 10 estudis va demostrar que l'acupuntura i la moxibustió eren superiors a la sulfasalazina oral, basant-se en diversos indicadors com ara les manifestacions clíniques, resultats de laboratori i troballes a la colonoscòpia. No obstant, aquests resultats han de ser considerats amb precaució tenint en compte les limitacions esmentades anteriorment.

D'altra banda, un altre revisió de 63 estudis randomitzats i controlats (58 en xinès i només 5 en anglès) avaluà l'efecte de l'acupuntura i/o moxibustió a 5404 pacients amb CU. Els estudis diferien en quan a les tècniques de la medicina tradicional xinesa aplicades (en alguns casos, combinaven acupuntura i moxibustió amb el tractament convencional i en d'altres, aplicaven diferents tipus d'acupuntura i moxibustió soles o combinades). Els autors van concloure que hi ha una gran heterogeneïtat i manca d'estandardització en quan al mètode diagnòstic de la CU, les intervencions i els criteris d'eficàcia entre els diferents estudis. (23)

Al metanàlisi de Lee et al, s'inclogueren cinc estudis randomitzats i controlats que comparaven l'efecte de la moxibustió amb el tractament convencional a pacients amb CU (tres estudis comparaven la moxibustió vs. sulfasalazina i dos estudis la moxibustió vs. sulfasalazina associada a altres tractaments). Tots els estudis eren de baixa qualitat. El metaanàlisi va mostrar que la moxibustió era lleugerament millor que la mesalazina a dosis de 4 grams al dia ( $n = 407$ ;  $RR = 1.24$ ,  $95\% CI = 1.11$  a  $1.38$ ;  $p < 0.0001$ ; heterogeneïtat  $I^2 = 16\%$ ). (24)

Joos et al, van realitzar dos assaigs controlats aleatoritzats amb un disseny metodològicament rigorós (un per a CU i un altre per a MC) comparant l'acupuntura tradicional i la moxibustió versus l'acupuntura sham o simulada. En ambdós assajos, l'acupuntura real va ser superior a l'acupuntura sham per a disminuir l'activitat de la malaltia. L'acupuntura real i l'acupuntura sham també van augmentar la qualitat de vida i el benestar subjectiu dels pacients amb MII, tot i que les diferències no van ser significatives. (25-26)

Taula 5. Estudis controlats i aleatoritzats d'acupuntura i/o moxibustió en pacients amb MII publicats en llengua anglesa.

Estudi i any	Intervenció	Pacients	Objectiu primari	Resultats objectiu primari
Joos et al, 2004 (25)	Acupuntura i moxibustió 10 sessions de 30 min cadascuna durant 4 setmanes Vs. acupuntura sham. Avaluació a les 12 setmanes	n= 51 MC lleu a moderada (CDAI entre 150-350) Tractament (n=27), placebo (n= 24)	Disminució en el CDAI score.	Disminució del CDAI score de $250 \pm 51$ a $163 \pm 56$ al grup tractament vs. $220 \pm 42$ a $181 \pm 46$ al grup placebo (p = 0,003)
Joos et al, 2006 (26)	Acupuntura i moxibustió 10 sessions de 30 min cadascuna durant 5 setmanes vs. acupuntura sham. Avaluació a les 16 setmanes	n= 29 CU lleu a moderada (CAI 4-10 punts) Tractament (n=15), placebo (n= 14)	Disminució en el CAI score	Disminució del CAI score de $8 \pm 3,7$ a $4,2 \pm 2,4$ al grup tractament vs. $6,5 \pm 3,4$ a $4,8 \pm 3,9$ al grup placebo (p=0,048)
Bao et al, 2014 (27)	Acupuntura i moxibustió 36 sessions durant 12	n= 77 MC lleu a moderada (CDAI entre 151-350)	Disminució CDAI score	Disminució CDAI score de $108 \pm 60$ al grup tractament vs. $32 \pm 46$ al grup control (p < 0,0001)

	setmanes vs. moxibustió i acupuntura superficial. Avaluació a les 12 i 24 setmanes	Tractament (n=40), control (n=37)		
Shang et al, 2015 (28)	Acupuntura i moxibustió 6 sessions / setmana durant 12 setmanes vs. mesalazina 4g/dia 12 setmanes. Avaluació al finalitzar tractament	n= 60 MC lleu a moderada (CDAI entre 150-450) Acupuntura i moxibustió (n=30), mesalazina (n=30)	Expressió de les proteïnes de les unions estretes de les cèl·lules epitelials intestinals	Disminució similar de les característiques histològiques de la MC en els dos grups. Augment de l'expressió de la proteïna de les unions estretes i del mRNA de ZO1 a les mostres intestinals del grup acupuntura vs. mesalazina (p=0,047)
Zhao et al, 2015 (29)	Acupuntura i moxibustió 36 sessions durant 12 setmanes vs. moxibustió i acupuntura superficial. Avaluació al finalitzar tractament	n= 20 MC lleu a moderada (CDAI entre 151-350) Tractament (n=10), control (n=10)	Disminució CDAI score	Disminució CDAI score de 111,1 ± 54,7 al grup tractament vs. 40,5 ± 31,3 (p=0,002)

CAI, Colitis Activity Index; CDAI, Crohn's disease activity index

### 1.1.3.3. FISIOPATOLOGIA DE L'EFECTE DE L'ACUPUNTURA A LA MII

#### Resposta immunològica

Estudis fisiopatològics amb un petit nombre de subjectes han mostrat que l'acupuntura indueix canvis en les citocines pro i antiinflamatòries i en les cèl·lules reguladores T circulants. (9) Per exemple, a l'estudi de Zhao et al, observaren una disminució dels nivells d'IL17 i un augment de les cèl·lules T reguladores circulants al grup de MC lleu a moderada aleatoritzat a acupuntura i moxibustió respecte al grup control. (29) D'altra banda, a l'estudi de Zhou et al, observaren una disminució de la citoquina IL-8 i la molècula d'adhesió intercel·lular 1 (ICAM-1) a pacients amb CU que realitzaren moxibustió. (30) En un altre estudi amb rates amb CU, el grup aleatoritzat a rebre electroacupuntura presentà una disminució de la interleuquina inflamatòria IL-1 $\beta$  i un augment de la citoquina anti-inflamatòria IL-4. (31) En altres estudis amb models animals de CU l'ús d'acupuntura i moxibustió, produeix una disminució dels nivells de IL-1 $\beta$ , IL-6 i TNF- $\alpha$ , promovent l'apoptosi dels neutròfils. (32-33)

#### Microbiota

A la MII sembla que hi pot haver una disbiosi microbiana intestinal respecte a la que trobaríem a un budell sa. Aquestes alteracions poden comportar una activació de la resposta del sistema immune, una disfunció epitelial i un augment de la permeabilitat de la mucosa. (34-35)

En diversos estudis s'ha avaluat l'efecte de l'acupuntura i/o moxibustió a la microbiota de models animals amb MII. Per exemple, en models de rates amb colitis experimental s'observà que la moxibustió a curt termini (7 dies) augmentava els nivells de *Firmicutes* i disminuïa els nivells de *Bacteroidetes* i *Proteobacteria*. (36) Un altre estudi amb rates i colitis induïda, la moxibustió disminuïa els nivells d'*Escherichia coli* i *Bacteroides fragilis* i augmentava els de *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*. (37) Finalment, emprant electroacupuntura a rates amb colitis s'observà un augment de *Lachnospiraceae bacterium* i *Lactobacillus* juntament amb una disminució de *Clostridium bifermentans*. (38)

## **Modulació de la barrera intestinal**

La barrera epitelial gastrointestinal és important a la MII per mantenir l'homeòstasi immune. A l'estudi de Shang et al, s'inclogueren 60 pacients amb MC amb activitat lleu i moderada i es van aleatoritzar a rebre tractament amb acupuntura combinada amb moxibustió o tractament amb mesalazina 4 grams al dia. En el grup que havia rebut acupuntura i moxibustió, s'observà un augment de l'expressió de la proteïna de les unions estretes i del mRNA de la proteïna de la zònula ocludens-1 de les unions estretes (ZO-1), ocludina i claudina-1 a les biòpsies intestinals (28). En dos altres estudis amb models animals d'isquèmia-reperfusió intestinal, s'observà que amb l'electroacupuntura hi havia un augment de l'expressió de ZO-1 juntament amb una disminució de la permeabilitat intestinal. (39-40)

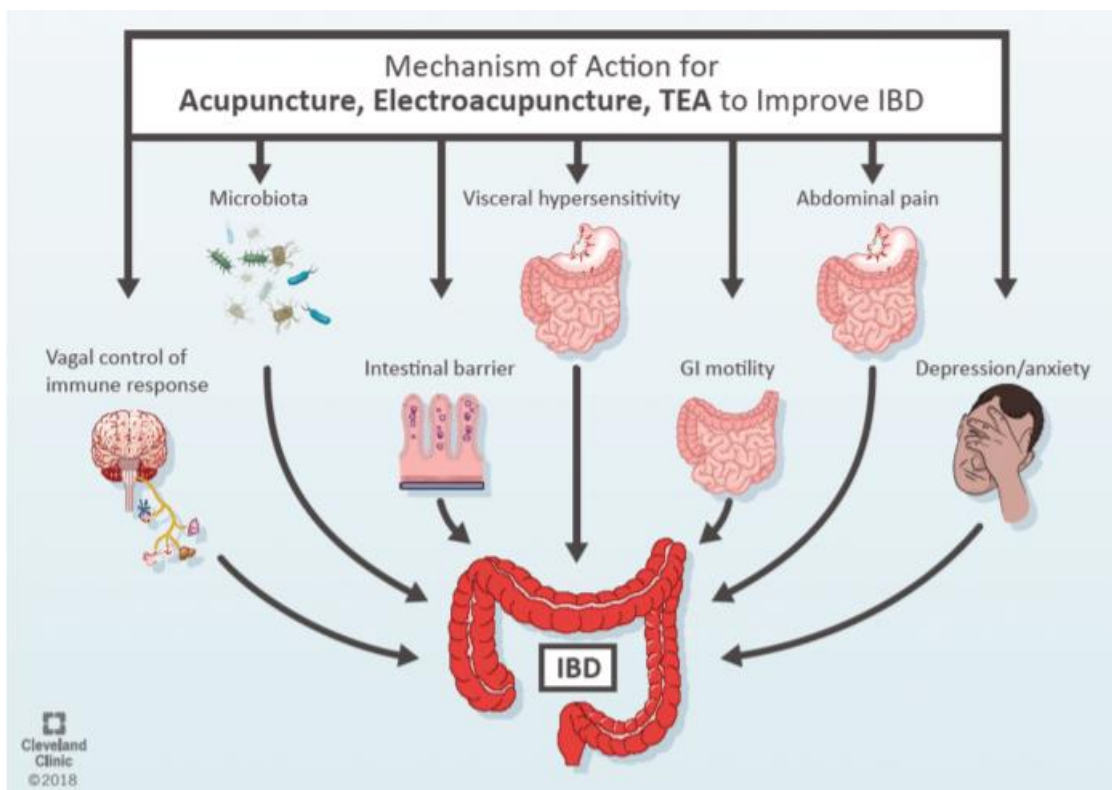
## **Inhibició del dolor**

Una de les manifestacions clíniques més freqüents a la MII és el dolor abdominal. L'acupuntura pot ser útil per millorar el dolor inflamatori, neuropàtic o visceral associat a diferents patologies que cursen amb dolor. (21) Hi ha diversos estudis que han mostrat una milloria del dolor amb l'acupuntura donat que aquesta pot modular diversos neurotransmissors, neuropèptids i citoquines per mitjà de les vies perifèrica i espinal. (41-43)

## **Canvis cerebrals**

Darrerament, ha crescut l'interès per la disfunció de l'eix cerebral-intestí en el desenvolupament i la progressió de la MII. L'hipocamp pot afectar el tracte gastrointestinal a través del nervi vague, el sistema immune i l'eix hipotàlem-pituïtària-adrenal. (44) S'han observat canvis estructurals i funcionals a l'hipocamp de pacients amb MC respecte a controls sans. (45) Un estudi publicat al 2017 avaluà els canvis funcionals per ressonància magnètica cerebral en pacients amb MC abans i després de rebre electroacupuntura. En aquest estudi, conclogueren que l'electroacupuntura podia modular la funció cerebral per mitjà de la xarxa aferent homeostàtica de processament que participa en la regulació de la sensació visceral, del dolor i de les emocions. (46)

Figura 2. Possibles mecanismes d'acció de l'acupuntura a la MII.



Reimprès amb permís de Oxford Academy, extret de Song G et al, Inflamm Bowel Dis, 2019 (21)

## 1.2. FATIGA A LA MII

### 1.2.1. DEFINICIÓ

Un dels problemes principals en l'avaluació de la fatiga és la falta d'una definició estandarditzada. A més, a les malalties cròniques la fatiga pot existir com una entitat única i no només ser part d'una comorbiditat psicològica.

Segons el MeSH, la fatiga és l'estat de cansament després d'un període d'esforç, sigui mental i/o físic, caracteritzat per una disminució de la capacitat de treball i una disminució de l'eficiència per respondre als estímuls.

No obstant, la fatiga és un símptoma multidimensional que podem definir com “una sensació persistent aclaparadora de cansament, esgotament o debilitat que pot afectar la capacitat de treball físic i/o mental”. (47) El seu impacte s'ha associat a una pitjor qualitat de vida (48), depressió (49), ansietat i trastorns del son. (50)

Aquest aspecte de multidimensionalitat es pot observar en la següent taula (Taula 6). Cada pacient pot presentar un o varis components de la fatiga (51-52)

Taula 6. Multidimensionalitat de la fatiga

<p><b>1. Físic</b></p> <p>Subjectiu: cansament, debilitat o incapacitat percebuda per iniciar o completar tasques.</p> <p>Objectiu: disminució mesurable de l'activitat física i/o rendiment amb l'activitat repetida o perllongada.</p> <p><b>2. Cognitiu</b></p> <p>Subjectiu: dificultat per concentrar-se, pensar amb claredat.</p> <p>Objectiu: disminució mesurable de la funció cognitiva o del rendiment per mitjà de proves repetides / prolongades.</p> <p><b>3. Afectiu</b></p> <p>Subjectiu només: estat d'ànim baix, disminució de la motivació, absència d'energia.</p>
---

### 1.2.2. PREVALENÇA DE LA FATIGA A LA MII

No hi ha gaires estudis que avaluïn com a objectiu primari la seva prevalença a la MII. A més, les taxes de prevalença de fatiga descrites a la MII són força variables. Això es pot atribuir a que no són estudis homogenis en el mètode d'avaluació de la fatiga, les característiques de la MII i la població estudiada.

En la taula 7 es presenten els principals estudis de prevalença de la fatiga en pacients amb MII per ordre cronològic:



Taula 7. Resultats de la revisió bibliogràfica dels principals estudis de prevalença de la fatiga en pacients amb MII.

Estudi	Any	Objectiu primari	Participants (n)	Avaluació de la fatiga	Prevalença fatiga
Minderhoud et al (53)	2003	Avaluar la prevalença i la gravetat de fatiga en pacients amb MII en remissió	MC (n=56), CU (n=33)	MFI-20	41% en pacients en remissió
Bjornsson et al (54)	2004	Avaluar la fatiga en pacients amb CEP en comparació amb CU en remissió i controls sans	MII (n=151) (no especifiquen tipus)	FIS	48% en CU en remissió
Minderhoud et al (55)	2007	Efecte de l' Infiximab sobre la fatiga en relació amb els nivells de citocines	MC que inicien Infiximab o placebo (n=14)	MFI-20	86% en MC activa
Graff et al (56)	2011	Avaluar la fatiga i factors biològics i psicològics en pacients ambulatoris amb MII	MC (n=162), CU (n=156)	MFI-20	72% en malaltia activa, 30% en malaltia en remissió
Jelsness-Jørgensen, et al (57)	2011	Avaluar la prevalença de fatiga en pacients ambulatoris amb MII	MC 48, CU 92	FQ	29% MC 22% CU

Römkens et al (58)	2011	Avaluar la prevalença de fatiga en pacients ambulatoris amb MII	MII (n=172)	PFS	64% prevalença general, 75% malaltia activa i 40% en remissió
Singh et al (59)	2011	Avaluar símptomes i esdeveniments estressants durant un any en pacients ambulatoris amb MII	MII (n=704)	Una única qüestió sobre fatiga	54% MC 33% CU
Bager et al (50)	2012	Avaluar la prevalença i determinants de fatiga en pacients amb MII	MC (n=251), CU (n=174)	MFI-20	44% prevalença general 57% pacients amb MII activa i 29% en remissió
Graff et al (60)	2013	Determinar el curs i factors que contribueixen a la fatiga a la MII.	MII (n=312)	MFI-20	42-76% en malaltia activa i 21-37% en inactiva
Cohen et al (61)	2014	Avaluar la prevalença a la MC i CU de recent diagnòstic en adults i nens	MII (n=220)	FACIT-FS	26,4% prevalença general 53% MC i 33% CU actives 24% MC i 19% CU en remissió.
Van Langenberg, et al (62)	2014	Avaluar la prevalença fatiga a la MC	MC (n=181)	FIS	57% en MC
Villoria et al (49)	2017	Determinar la relació de factors biològics i psicològics amb la fatiga a	MC (n=127), CU (n=50)	FACIT-FS	54%

		la MII ambulatoris en remissió que rebien immunosupressors i/o biològics			
Willet et al (63)	2017	Avaluar la càrrega global de la MII	MC (n=721), CU (n=462)	FACIT-FS	47,4% prevalença general 48,9% en MC 37,1% en CU
Aluzaitte et al (64)	2018	Avaluar la prevalença i factors de risc de fatiga a la MII	MC (n=70) (MC activa n=49, remissió n=21), CU (n=43) (CU activa n=21, remissió n=22)	BFI MFI-20	59.2– 83.7% en MC activa i 42.9–95.2% en CU activa 14.3–71.4% en MC en remissió i en 22.7–54.5% UC en remissió
Jonefjäll, et al (65)	2018	Avaluar la prevalença i factors de risc de fatiga a la CU	CU activa (n=133), CU en remissió (n=155)	MFI-20	40%
Chavarría et al (66)	2019	Avaluar la prevalença i factors de risc de fatiga a la MII	MC (n=332), CU (n=212)	FSS FIS	41%

CEP, colangitis esclerosant primària; BFI, Brief Fatigue Inventory; FACIT-FS, Functional assessment of chronic illness therapy-fatigue subscale; FIS, fatigue impact scale; FQ, Fatigue Questionnaire; FSS, Fatigue Severity Scale; MFI-20, Multidimensional fatigue inventory; PFS, Piper Fatigue Scale.

Segons els resultats anteriors, podem dir que la prevalença de la fatiga a la MII és freqüent donat que d'un 44 % a un 86% dels pacients amb MII activa i d'un 22% a un 41% amb MII quiescent, presenten fatiga. (67)

### **1.2.3. SISTEMES D'AVALUACIÓ DE LA FATIGA A LA MII**

L'avaluació de la fatiga és difícil donada la manca d'una definició estandarditzada, la multidimensionalitat de la fatiga i la heterogeneïtat a la bibliografia dels sistemes d'avaluació emprats per avaluar-la. L'escala o eina ideal ha de presentar diverses característiques: que sigui comprensible, un temps acceptable per a completar-la (mitja de 10 minuts), contingut, criteris de validació, consistència interna, estabilitat, sensibilitat als canvis, viabilitat i que sigui reproduïble. (68) Fins a data d'avui, s'han descrit unes 252 escales diverses per tal d'avaluar i/o quantificar la fatiga a la població general o en altres malalties cròniques. (69) Algunes escales avaluen la fatiga en una dimensió, mentre que d'altres, l'avaluen amb diverses dimensions (física, social i mental).

L'escala més utilitzada en els anteriors estudis és la Multidimensional Fatigue Inventory (MFI) que si bé és una escala multidimensional i ha estat validada en pacients amb altres malalties cròniques i població general, no ha estat validada a la MII. No obstant, en la majoria dels estudis no es justifica el motiu d'utilitzar una escala concreta ni es descriu el tipus de fatiga avaluada. (67)

Taula 8. Eines i/o escales d'avaluació de la fatiga.

Escala	Tipus de fatiga que avalua	Definició de fatiga	Està validada a la MII?
BFI (70)	General transitòria (24 hores)	> 4 punts fatiga moderada > 6 punts fatiga severa	No
FACIT-FS (71)	General	< 40 punts fatiga	Sí (71)
FIS (72)	Física, cognitiva, psicosocial	A major puntuació major fatiga. Màxima fatiga 160 punts	No
FQ (73)	Física, mental, transitòria i crònica	≥ 4 punts	Sí (57)
FSS (74)	General	≥ 5 punts	No
IBD-F	General	1-10 punts fatiga lleu-moderada, 11-20 punts fatiga severa A major puntuació major fatiga	Sí (75)
MFI-20 (76)	Física, mental, general, disminució de l'activitat i de la motivació,	A major puntuació major fatiga	No, però utilitzada a molts estudis de fatiga amb MII
PFS (77)	Física i mental	A major puntuació major fatiga	No

BFI, Brief Fatigue Inventory; FACIT-FS, ; Functional assessment of chronic illness therapy-fatigue subscale; FIS, fatigue impact scale; FQ, Fatigue Questionnaire; FSS, Fatigue Severity Scale; IBD-F, Inflammatory bowel disease fatigue; MFI-20, Multidimensional fatigue inventory; PFS, Piper Fatigue Scale.

## Fatigue Questionnaire (FACIT-FS)

El qüestionari FACIT-FS és l'únic validat per a pacients amb MII i s'ha demostrat que és un instrument fiable per a mesurar la fatiga en la MII. A més, també s'ha validat per a la població general i per a múltiples malalties cròniques. Consta de 40 ítems dividits en cinc subescales: benestar físic, benestar social / familiar, benestar emocional, benestar funcional i la subescala de fatiga (FACIT-FS). El FACIT-FS recopila 13 preguntes amb cinc respostes possibles, de 0 (molta fatiga) a 4 (no fatiga). La puntuació de cada subescala és la suma dels valors codificats dels diversos ítems. La puntuació oscil·la entre 0 i 52 punts; una puntuació baixa representa una major fatiga, de manera que un augment del valor del FACIT-FS denota una millora. (71) La remissió de fatiga es defineix com una puntuació FACIT-FS de més de 40 punts, mentre que un augment en la puntuació FACIT-FS de tres punts o més indica una millora de la fatiga, d'acord amb estudis previs de validació. (78-79) Aquest qüestionari s'ha traduït a 48 idiomes fet que permet comparar diverses poblacions i cultures.

Taula 9. Fatigue Questionnaire (FACIT-FS) Versió 4

Encercli o marqui un número per línia per indicar la seva resposta tal com s'aplica als darrers 7 dies. Gens (0) Una mica (1) Quelcom (2) Molt (3) Moltíssim (4)	
Em sento esgotat/da	0 1 2 3 4
Sento debilitat a tot el cos	0 1 2 3 4
Em sento decaigut/da	0 1 2 3 4
Em sento cansat/da	0 1 2 3 4
Tinc dificultat per començar les coses perquè estic cansat/da	0 1 2 3 4
Tinc dificultat per acabar les coses perquè estic cansat/da	0 1 2 3 4
Tinc energia	0 1 2 3 4
Sóc capaç de fer les meves activitats habituals (ex: treballar, anar a l'escola, fer la compra)	0 1 2 3 4
Necessito dormir durant el dia	0 1 2 3 4
Estic massa cansat/da per menjar	0 1 2 3 4
Necessito ajuda per fer les meves activitats habituals	0 1 2 3 4

Estic frustrat/da perquè estic massa cansat/da per fer les coses que vull fer	0 1 2 3 4
He de limitar les meves activitats socials degut al cansament	0 1 2 3 4

### Fatigue questionnaire (FQ)

El Fatigue Questionnaire inclou 14 ítems que avaluen la intensitat dels símptomes relacionats amb la fatiga. Cada element es classifica en una escala de Likert de 4 punts (0 "millor que l'habitual", 1 "no més que l'habitual", 2 "pitjor que l'habitual", 3 "molt pitjor que l'habitual"). La puntuació és la suma de totes les puntuacions dels diferents elements (rang 0–42). Un mètode de puntuació alternatiu utilitza un sistema de resposta bimodal que dicotomitza les puntuacions Likert (0, 0, 1, 1), donant un rang de puntuació de 0 a 14. Quan s'utilitza el format de resposta bimodal, la fatiga es defineix amb un punt de tall de 4 o superior. Aquesta escala ha estat validada únicament en una població de pacients noruecs amb MII. La consistència interna del FQ és lleugerament superior a la del FACIT-FS (Cronbach's alpha 0,89 vs.0,96). (57,80)

Taula 10. Fatigue Questionnaire (FQ)

1. Do you have problems with tiredness?	0 1 2 3
2. Do you need to rest more?	0 1 2 3
3. Do you feel sleepy or drowsy?	0 1 2 3
4. Do you have problems starting things?	0 1 2 3
5. Do you start things without difficulty but get weak as you go on?	0 1 2 3
6. Are you lacking in energy?	0 1 2 3
7. Do you have less strength in your muscles?	0 1 2 3
8. Do you feel weak?	0 1 2 3
Mental symptoms	
9. Do you have difficulty concentrating?	0 1 2 3
10. Do you have problems thinking clearly?	0 1 2 3
11. Do you make slips of the tongue when speaking?	0 1 2 3
12. Do you find it more difficult to find the correct word?	0 1 2 3
13. How is your memory?	0 1 2 3

14. Have you lost interest in the things you used to do? 0	0 1 2 3
--	---------

### Inflammatory bowel disease fatigue (IBD-F)

Aquesta escala es va desenvolupar al 2014 en pacients amb MII del Regne Unit. No obstant, només s'ha validat externament en una cohort de població general danesa (81) i no hi ha dades en altres malalties cròniques. L'IBD-F inclou cinc preguntes sobre la freqüència i la gravetat de la fatiga en el moment actual, seguides de 30 preguntes sobre l'experiència i l'impacte de la fatiga en les activitats del dia a dia i una tercera part amb qüestions obertes. Les preguntes tenen un caràcter genèric i la resposta és numèrica. En el primer bloc, les respostes comprenen de 0 (no fatiga) a 4 (fatiga severa) i en el segon bloc de 0 (en cap moment) a 4 (sempre). (75)

Taula 11. Inflammatory bowel disease fatigue (IBD-F)

<ol style="list-style-type: none"> <li>1. What is your fatigue level right NOW?</li> <li>2. What was your HIGHEST fatigue level in the past two weeks?</li> <li>3. What was your LOWEST fatigue level in the past two weeks?</li> <li>4. What was your AVERAGE fatigue level in the past two weeks?</li> <li>5. How much of your waking time have you felt fatigued in the past two weeks?</li> </ol>
<p>Results:</p> <p>0 You do not have fatigue</p> <p>1-10 You have slight to moderate fatigue and we suggest you seek medical advice</p> <p>11-20 You have severe fatigue and we suggest you seek medical advice</p>
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. I had to nap during the day because of fatigue</li> <li>2. Fatigue stopped me from going out to social events</li> <li>3. I was not able to go to work or college because of fatigue</li> <li>4. My performance at work or education was affected by fatigue</li> <li>5. I had problems concentrating because of fatigue</li> <li>6. I had difficulty motivating myself because of fatigue</li> <li>7. I could not wash and dress myself because of fatigue</li> <li>8. I had difficulty with walking because of fatigue</li> <li>9. I was unable to drive as much as I need to because of fatigue</li> </ol>



10. I was not able to do as much physical exercise as I wanted to because of fatigue
11. I had difficulty continuing with my hobbies/interests because of fatigue
12. My emotional relationship with my partner was affected by fatigue
13. My sexual relationship with my partner was affected by fatigue
14. My relationship with my children was affected by fatigue
15. I was low in mood because of fatigue
16. I felt isolated because of fatigue
17. My memory was affected because of fatigue
18. I made mistakes because of fatigue
19. Fatigue made me irritable
20. Fatigue made me frustrated
21. I got words mixed up because of fatigue
22. Fatigue stopped me from enjoying life
23. Fatigue stopped me from having a fulfilling life
24. My self-esteem was affected by fatigue
25. Fatigue affected my confidence
26. Fatigue made me feel unhappy
27. I had difficulties sleeping at night because of fatigue
28. Fatigue affected my ability to do all my normal household activities
29. I had to ask others for help because of fatigue
30. Quality of my life was affected by fatigue

**Results:**

0 Fatigue has no effect on your daily activities

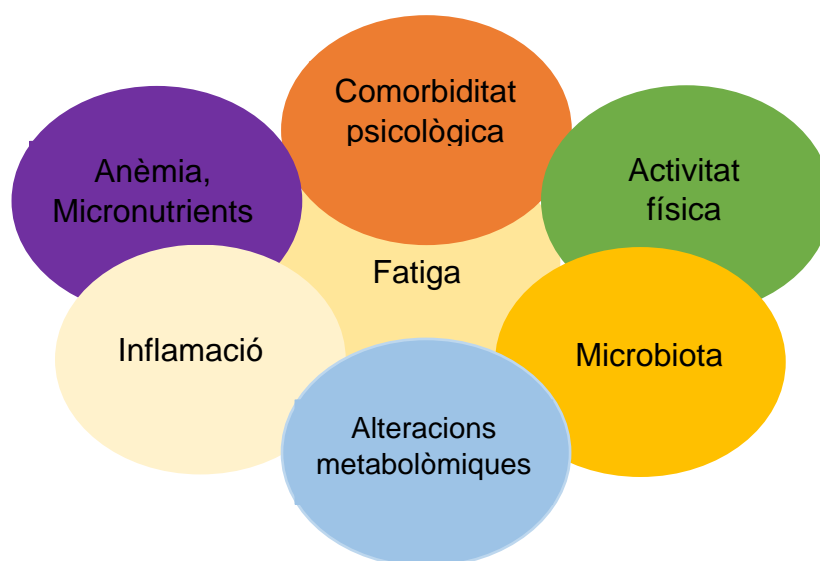
1-60 Fatigue has a moderate effect on your daily activities and we would suggest you seek medical advice

61-120 Fatigue has a severe effect on your daily activities and we would suggest you seek medical advice

#### **1.2.4. FISIOPATOLOGIA**

És difícil establir les causes o mecanismes de la fatiga. Donada la seva multidimensionalitat, diversa prevalença i evolució, s'han proposat diferents teories que explicarem a continuació. (82)

Figura 3. Multidimensionalitat de la fatiga.



Adaptat de Borren N et al, Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019 (82)

### **Estat pro-inflamatori**

Una teoria postula que en els pacients amb fatiga hi ha un estat pro-inflamatori subclínic caracteritzat per una elevació dels nivells de citoquines circulants i que aquestes, influeixen en l'eix hipotàlem-pituïtària-adrenal desencadenant una secreció de cortisol. Per exemple, en pacients amb càncer de mama s'ha observat que la presència de polimorfismes d'un sol nucleòtid a IL-6, TNF i IL-1 $\beta$  s'associa a més fatiga. (82,83)

En els pacient amb MII i fatiga els resultats publicats fins a l'actualitat són contradictoris. Vogelaar et al., observaren un augment de les interleuquines IL-12, IL-10, TNF i IFN- $\gamma$  i una disminució de IL-6 en els pacients amb MII quiescent i fatiga respecte dels pacients amb MII quiescent sense fatiga. (84) Borren et al, per contra no observaren un augment de les citoquines pro-inflamatòries als pacients amb MII quiescent i fatiga però sí una disminució de IL-2 i del factor estimulant del creixement de colònies de granulòcits en els pacients amb MII quiescent i fatiga respecte dels que no presentaven fatiga. (85) Villoria et al, en canvi, no observaren diferències en els pacients amb fatiga i sense fatiga pel que fa a les citocines IL-5, IL-8 i IL-12. (49)

## **Anèmia i dèficits nutricionals**

Fins a un 14-19% dels pacients amb MII presenten anèmia i un 20-54% presenten dèficit de ferro. (86). Un dels símptomes principals de l'anèmia és l'astènia. No obstant, en els pacients amb MII i fatiga no queda clar el grau de relació entre l'anèmia i la fatiga, donat que els resultats publicats fins a data d'avui són contradictoris. A un estudi amb 707 pacients ambulatoris s'observà que l'anèmia s'associava de manera independent a més fatiga en els pacients amb CU però no en els pacients amb MC. (87) A un altre estudi amb 140 pacients en remissió i MII lleu-moderada els nivells d'hemoglobina es relacionaren de manera independent amb fatiga crònica. (57)

En canvi a un estudi amb 425 pacients amb MII ambulatoris no es trobà cap relació entre l'anèmia o el dèficit de ferro amb una major puntuació de fatiga. (50) A la cohort de Manitoba, amb 230 pacients, tampoc van trobar relació entre els nivells d'hemoglobina o els dipòsits de ferro amb la fatiga. (56)

D'altra banda, s'han descrit dèficits de micronutrients, minerals i vitamines a la MII, ja sigui per malabsorció, post-cirurgia o per baixa ingesta. Alguns d'aquests dèficits (vitamina D, B12, àcid fòlic, etc) poden causar fatiga. (88) No obstant, en els estudis publicats no s'ha trobat una associació entre el dèficit d'aquests micronutrients i la fatiga a la MII. (89,49)

## **Comorbiditat psicològica**

La prevalença de depressió, ansietat i trastorns del son a la MII és del 27%, 32% i 47%, respectivament. Els símptomes de depressió, ansietat i insomni es poden manifestar com a fatiga i és difícil de diferenciar respecte a la fatiga associada a la MII. En alguns estudis s'ha observat una associació entre la depressió, l'ansietat i una baixa qualitat de vida amb la fatiga a la MII. (90-91)

## **Activitat física**

S'ha descrit que pacients amb MC quiescent presenten una menor massa muscular en comparació amb controls sans. Aquest fet pot comportar una disminució de l'activitat física resultant amb fatiga. (92) D'altra banda, l'exercici físic pot alliberar mioquines, que poden induir un efecte anti-inflamatori. (82) En un estudi de Vogelaar et al, els pacients amb MII quiescent i fatiga presentaren

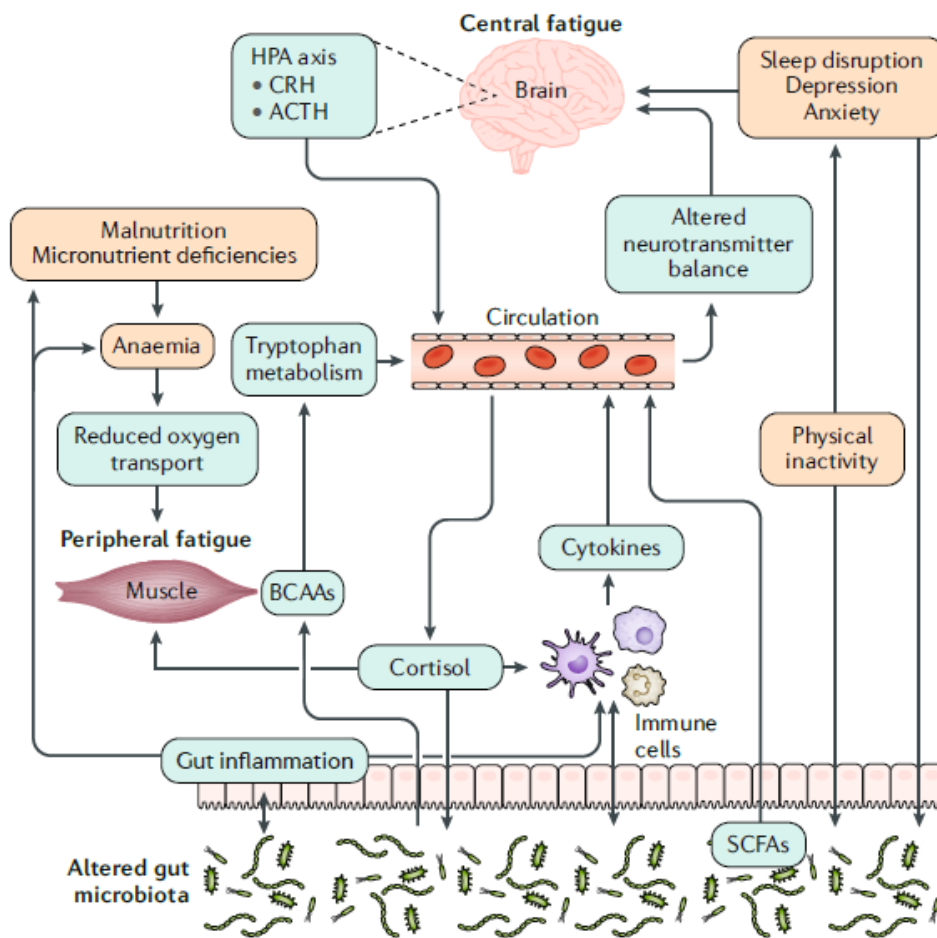
una pitjor condició física i una menor activitat física en comparació amb pacients amb MII no fatigats. (92) En un altre estudi amb 158 pacients amb MII diagnosticada en els 18 mesos previs, s'observà que fins a un terç d'aquests pacients havien disminuït la seva activitat física habitual i que aquest fet era més freqüent a la CU. (93)

### **Microbiota**

Com ja s'ha comentat anteriorment, a la MII hi ha una disbiosi microbiana intestinal, és a dir, una disminució de la quantitat de bacteries intestinals beneficioses (*Bacteroides fragilis*, *Faecalibacterium prausnitzii* i *Roseburia*) i un augment de les pro-inflamatòries (*Escherichia coli* i *Enterobacteriaceae*). (82) A més, hi ha evidències que hi ha una comunicació entre el sistema nerviós central i el cervell (a través de l'eix intestí-cervell) i que la disbiosi pot ser causa de fatiga; aquesta creença es basa en un estudi realitzat en pacients amb fatiga crònica on s'observà una menor diversitat bacteriana fecal respecte dels controls sans. (94,82) D'altra banda, uns nivells elevats d'immunoglobulina A (IgA) i d'IgM contra els lipopolisacàrids enterobacterians suggereix que hi ha un augment de la permeabilitat intestinal. S'ha observat també en pacients amb fatiga crònica un augment dels nivells d'IgA que es relacionen amb el grau de fatiga. (95,82)

A la figura 4 es representa la comunicació bidireccional entre el sistema nerviós central i la microbiota intestinal per mitjà de diverses vies directes i indirectes. Aquestes vies són la via inflamatòria (citoquines), la metabolòmica (triptòfan, aminoàcids de cadena ramificada i àcids grassos de cadena curta) i l'endocrina (cortisol).

Figura 4. Comunicació bidireccional entre el sistema nerviós central i la microbiota intestinal.



Reimprès amb permís de Nature Reviews, extret de Borren N et al, Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019 (82)

### Alteracions metabòliques

Fins a l'actualitat, no s'havien realitzat estudis que avaluessin si hi havia alteracions metabòliques relacionades amb la fatiga en pacients amb MII. Únicament hi ha un abstract de Borren et al, en el qual inclogueren 87 pacients amb MII quiescent. Observaren diferències en els nivells de 15 metabòlits circulants entre els pacients fatigats i no fatigats. A més, hi havia diferències entre ambdós grups respecte a tres vies: el metabolisme de pirimidina (família de molècules dels nucleòtids), la síntesis d'aminoàcids de cadena ramificada (que poden estar implicats en la síntesi de neurotransmissors en el cervell) i el metabolisme de glioxilat i dicarboxilat. (85)

### 1.2.5. FACTORS DE RISC

Hi ha diversos estudis que han avaluat els factors de risc relacionats amb la fatiga. L'activitat de la malaltia sembla associar-se a nivells més alts de fatiga, (48,60,96). No obstant, alguns estudis suggereixen que l'activitat de la MII no s'associa a la presència de fatiga. (66,54,67) Aquestes diferències poden ser explicades per la diferent manera d'avaluar la fatiga i el grau d'activitat de la MII. En tot cas, la prevalença de la fatiga segueix sent alta fins i tot quan la malaltia està en remissió.

Tot i que no hi ha una causa que expliqui aquesta associació, el sexe femení també s'ha associat a fatiga. (49,87,96)

A l'estudi de Chavarría et al., amb 544 pacients amb MII inclosos, s'observà que les manifestacions extraintestinals articulars s'associaven significativament a fatiga; probablement perquè els pacients presenten dolor articular i aquest, s'associa a la presència de fatiga (66). A l'estudi de Villoria et al., també observaren que els pacients amb símptomes articulars presentaven més fatiga, encara que la associació no va ser estadísticament significativa, possiblement per la mostra menor de pacients. (49)

Malgrat l'anèmia i els dipòsits de ferro baixos poden ser una causa de fatiga, en diversos estudis no han vist una associació estadísticament significativa amb la fatiga. No obstant, a la majoria d'aquests estudis s'inclogueren pacients amb anèmies lleus (Hemoglobina al voltant de 11g/dL) i en els que l'anèmia probablement s'hauria desenvolupat lentament, permetent que els pacients s'adaptessin a aquests nivells d'hemoglobina. (66,50,97)

El tractament sistèmic amb corticoides també s'ha associat a fatiga, fet que fa pensar que pugui estar en relació amb el grau d'activitat de la malaltia. (48,66) Els corticoides poden produir insomni i la fatiga pot ser un efecte secundari directe del tractament amb aquests fàrmacs.

L'ansietat i la depressió s'han associat a la fatiga a la MII. (54,98,80) En un estudi amb 182 pacients amb MII s'observà que els factors emocionals i de comportament i les percepcions negatives de fatiga s'associaven a la fatiga. (48)

En aquests casos és difícil establir si l'ansietat i la depressió són causa o conseqüència.

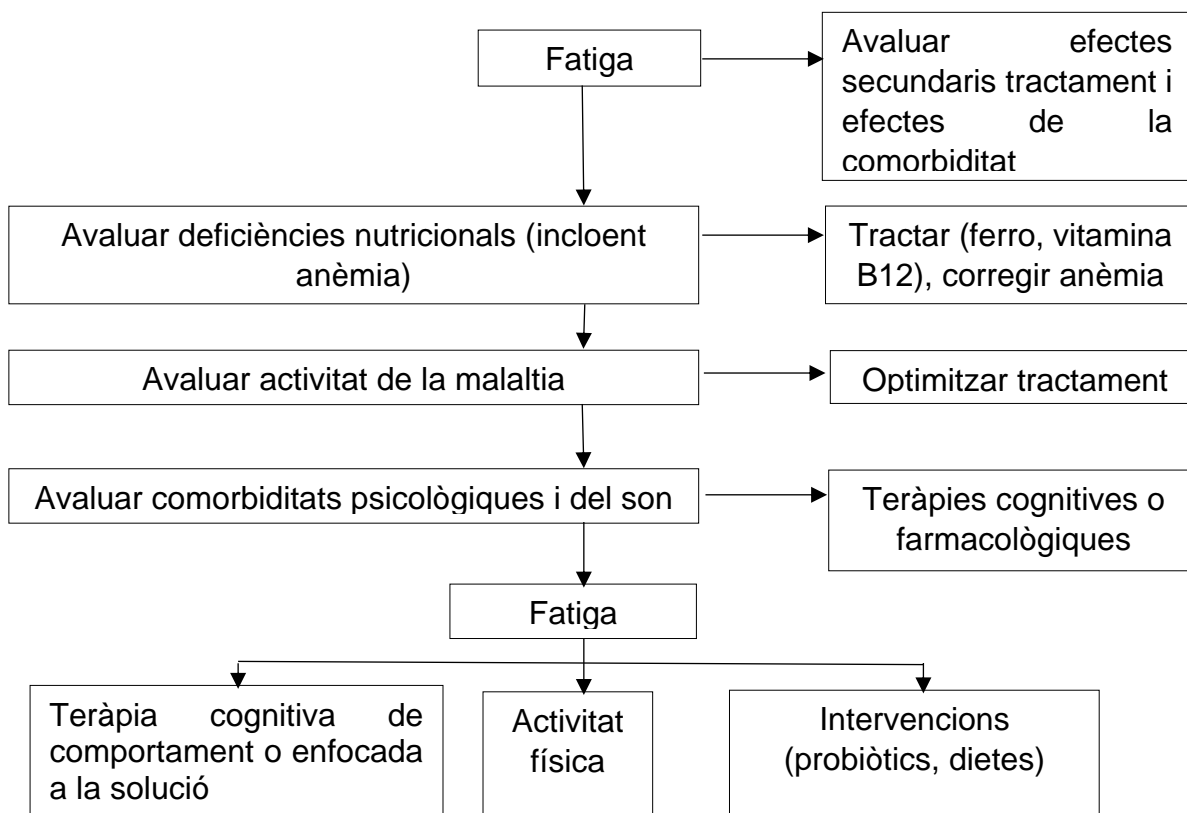
Finalment, factors personals com estar a l'atur, dificultats econòmiques o tenir un mal suport social poden contribuir a la fatiga. (67)

### 1.2.6. TRACTAMENT

Donat que hi ha una manca de coneixement respecte a la vertadera fisiopatologia de la fatiga a la MII i a la seva multidimensionalitat, és difícil establir un tractament efectiu. Fins a l'actualitat, hi ha pocs estudis aleatoritzats i controlats que avaluin un tractament o teràpia per a la fatiga en pacients amb MII com a objectiu primari i no hi ha un tractament clarament eficaç.

S'ha proposat el següent algoritme pel maneig de la fatiga, tot i la poca evidència científica existent fins al moment.

Figura 5. Algoritme pel maneig de la fatiga a la MII.



Adaptat de Borren N et al, Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019 (82)

Segons la fisiopatologia comentada anteriorment, dividirem els possibles tractaments per a la fatiga a la MII.

### **Tractament mèdic:**

No queda clar si el grau d'activitat de la MII pot influenciar en la fatiga segons l'evidència científica actual. Tot i així, hi ha estudis que han intentat avaluar si els tractaments immunomoduladors o biològics poden contribuir a una milloria d'aquesta. Per exemple, a un estudi recent amb 326 pacients (206 MC, 120 CU) que iniciaven tractament biològic (144 anti-TNF, 129 vedolizumab, 63 ustekinumab) hi havia 61% (n=198) dels pacients amb fatiga basal. D'aquests 198 pacients fatigats, 86 (70%), 55 (63%) i 44 (61%) es van mantenir fatigats a les setmanes 14, 30 i 54 respectivament. La remissió clínica s'associà a una menor probabilitat de presentar fatiga persistent. Tot i això, malgrat aconseguir la remissió, el 35%, el 30% i el 28% dels pacients van experimentar fatiga persistent a les setmanes 14, 30 i 54, respectivament. (96) En un altre estudi amb només 14 pacients amb MC inicialment tractats amb placebo i 15 dies després amb infliximab i un seguiment de quatre setmanes, s'observà una milloria de la fatiga amb ambdós tractaments. No obstant, amb el placebo la fatiga va recidivar als 14 dies mentre que l'efecte de l'infliximab sobre la fatiga perdurà quatre setmanes. (55) L'ús d'infliximab en un estudi controlat amb placebo a 83 pacients amb MC activa, millorà la qualitat de vida i disminuï la fatiga i la depressió a les quatre setmanes de tractament. (99) L'adalimumab també es demostrà efectiu en disminuir els nivells de fatiga (FACIT-FS basal 23,5 punts vs. 36,8 punts a la setmana 56 post-tractament  $p < 0,05$ ) (100). No obstant, a l'estudi de Villoria et al, s'observà que els pacients que rebien tractament amb anti-TNF en remissió clínica presentaven major fatiga que els que rebien immunosupressors. (49)

### **Teràpies cognitives:**

La psicoteràpia pot presentar un efecte beneficiós en els pacients amb fatiga i MII. En un estudi comparant la gestió de l'estrès dirigida professionalment, la



gestió d'estrès autodirigida i el tractament mèdic convencional, es va observar que la gestió d'estrès autodirigida millorava les puntuacions de fatiga respecte al tractament convencional. (101) En un altre estudi on es comparava la teràpia centrada en la solució versus el tractament habitual en 98 pacients amb MC quiescent, es va demostrar que la teràpia enfocada a la solució tenia un efecte beneficiós significatiu en la gravetat de la fatiga, que es va mantenir fins a sis mesos. (102)

### **Activitat física:**

Hi ha pocs estudis avaluant l'efecte de l'activitat física en pacients amb MII. En un estudi pilot amb 36 pacients amb MC aleatoritzats a entrenament d'interval d'alta intensitat versus entrenament continu d'intensitat moderada versus un grup control, s'observà una milloria de les puntuacions del IBD-F en ambdós grups d'exercici als sis mesos. (103) Langenberg et al, observaren a través d'una enquesta, que l'exercici regular millorava la fatiga física en pacients amb MC. (62) En una altra enquesta amb 918 pacients a la Gran Bretanya, el 72% dels pacients referien que l'exercici els feia sentir millor i un 12% presentaven un augment dels nivells d'energia. (104)

### **Dieta i probiòtics:**

Donada la possibilitat que la microbiota exerceixi un paper en la fisiopatologia de la fatiga a la MII, els probiòtics i les dietes podrien ser una estratègia per al seu tractament. Pel que fa a la dieta, només hi ha un metanàlisi que va incloure pocs estudis i amb vèries limitacions (n=319 pacients amb MII), en el que s'observà que la dieta FODMAP (baixa en oligosacàrids fermentables, disacàrids, monosacàrids i poliols) millorava els símptomes gastrointestinals així com la fatiga. (105) Respecte dels probiòtics, no hi ha estudis avaluant el seu efecte en pacients amb fatiga i MII. No obstant, s'ha vist en estudis amb models animals, una milloria de la fatiga crònica amb suplementació amb *Lactobacillus acidophilus*, així com una milloria de la fatiga després de dues setmanes de suplementació amb probiòtics en pacients amb fatiga crònica. (106,107)

### **Suplementació amb micronutrients:**

En un estudi aleatoritzat i controlat en pacients amb fatiga i MII, la suplementació de vitamina B12 durant vuit setmanes no demostrà una milloria de la fatiga. (108) En canvi, a una enquesta amb 379 pacients, la suplementació habitual amb vitamina B s'associà inversament amb la fatiga física. (62) Finalment, a un estudi aleatoritzat i controlat amb placebo, la tiamina via oral a dosis altes s'associà a una milloria a la fatiga a la MII. (109)

### **Altres tractaments:**

En una revisió Cochrane, en la que es van incloure quatre estudis comparant l'ús d'antidepressius versus placebo o tractament habitual, no es van poder obtenir conclusions donada l'heterogeneïtat dels estudis. (110)

Els flavonoids - molècules polifenòliques hidroxilades abundants a les plantes, verdures, fruites, vi i el te que tenen una activitat antioxidant- podrien ser una futura estratègia a estudiar en pacients amb MII i fatiga. Fins a l'actualitat, hi ha diversos estudis amb models animals que mostren un efecte beneficiós dels flavonoids. (111) Finalment, en un estudi amb 50 pacients amb MC aleatoritzats a prendre AndoSan™ (del bolet *Agaricus blazei* Murill) versus placebo durant 21 dies, no s'observaren diferències significatives en el percentatge de fatiga. (112)

## **1.3. LIPIDÒMICA A LA MII**

La metabolòmica és la part de la ciència que estudia els metabòlits – molècules de baix pes senzilles- que hi ha a mostres biològiques o a un organisme. Hi ha infinitat de metabòlits als fluids o teixits dels éssers vius que estan implicats en diverses funcions i en possibles patologies. A més, els metabòlits poden ser potencials biomarcadors i podrien ser útils com a marcadors pronòstics. Exemples de metabòlits són els aminoàcids, cetones, àcids grassos, nucleòsids, esterols, etc. (113,114)

El lipidoma o perfil lipídic d'una cèl·lula és un espectre de masses que indica la composició i abundància de lípids que conté. La lipidòmica estudia i caracteritza els lípids cel·lulars i les seves funcions a l'organisme. Per detectar el conjunt de

lípidis i molècules amb les que interactuen, s'empra una espectrometria de masses coneguda com a nano-ESI-MS/MS. Aquesta eina permet detectar a les mostres biològiques, una gran varietat d'espècies de lípidis, de manera ràpida, fiable i sensible.

Coneixem diverses funcions dels lípidis: estructural en les biomembranes, de reserva energètica i reguladora. Les bales lipídiques o 'lipid rafts' són subestructures de les membranes cel·lulars que es troben a la membrana plasmàtica i tenen múltiples funcions implicades en la senyalització cel·lular, l'anclatge de proteïnes, resposta a patògens, el transport de membrana, etc. Per aquest motiu, poden haver diverses malalties relacionades amb un defecte dels lípidis.

S'ha suggerit que el metabolisme lipídic i de senyalització pot contribuir a la fisiopatologia de la MII, donat que poden estar implicats en la inflamació i en un augment de la permeabilitat de la membrana (115).

Fins a l'actualitat, s'han publicat diversos estudis encaminats a identificar el perfil lipídomic a la MII.

Taula 12. Estudis identificant perfil lipídomic a la MII

Estudi	Participants (n)	Mostres biològiques	Tècnica	Resultats
Su Guan et al 2020 (116)	MII (n=95; MC 91/ CU 4), controls (n=51). Validació en MII (n=30 MC), controls (n=30)	Plasma	UPLC-QTOF-MS	Canvis significatius en l'expressió de deu metabòlits lipídics* entre sans i MII. Relacionats amb biosíntesis d'àcids biliars, àcid araquidònic, esfingolípids i glicerofosfolípids.
Fan et al 2015 (115)	MII (n=40; MC 24/ CU 16), controls (n=84)	Plasma	LC-ESI-MS/MS	Les espècies de lípids pertanyents a èters i plasmalògens van canviar significativament en pacients amb MC en comparació amb els controls. Només 5 espècies de lípids diferien significativament entre la CU i els controls.
Iwatani S et al 2020 (117)	MII (n=40; MC 20/ CU 20), controls (n=10)	Plasma	UPLC-ESI-MS/MS	Perfil lipídic difereix entre MII i controls. Nivells fosfatidilserina alterats a la MC activa.

J Diab et al 2019 (118)	CU naïve (n = 21), CU en remissió (n = 12), controls (n = 14)	Biòpsies de mucosa de colon	GC-TOF-MS	Variacions significatives entre grups en la composició de fosfatidilcolina, ceramida i esfingomielina.
Bazarganipour et al 2019 (119)	CU (n=98), controls (n=25)	Plasma i biòpsies de mucosa de colon	LC-MS/MS	A la mucosa de còlon inflammat es va reduir la síntesi de esfingolípid de novo, mentre que es van augmentar les lactosilceramides. Els esfingolípid plasmàtics, els àcids grassos lliures, els lisos-PC i els triacilglicerols van canviar significativament a la CU en comparació amb els controls sans.
J Diab et al 2019 (120)	CU naïve (n=15), CU remissió (n=5), controls (n=10)	Biòpsies mucosa colon	GC-TOF-MS	El debut de la CU s'associa amb un augment dels nivells de $\omega$ -6oxilipines i disminució dels nivells de $\omega$ -3endocannabinoides
Masoodi et al 2013 (121)	CU recidivant de pacients ambulatoris (n=54)	Biòpsies mucosa colon	LC-MS/MS	Nivells de PGE2, PGD2, TXB2, 5-HETE, 11-HETE, 12-HETE i 15-HETE es van elevar significativament a la mucosa inflamada i es van correlacionar amb la gravetat de la inflamació.

Eehalt et al 2004 (122)	CU (n=11), MC (n=7), controls (n=21)	Biòpsies mucosa rectal	Nano-ESI-MS/MS	Significativament menys PC i liso-PC en pacients amb CU inactiva en comparació amb MC i controls.
Braun et al 2009 (123)	CU (n=21), MC (n=10), controls (n=29)	Biòpsies mucosa colon	Nano-ESI-MS/MS	Menors nivells de PC a CU vs. MC i controls. Pacients amb CU, presenten un augment del grau de saturació de residus d'àcids grassos de PC i una proporció més alta de liso-PC respecte a PC; independent de l'activitat malaltia.
Santorù et al 2017 (124)	CU (n=82), MC (n=50), controls (n=51)	Femta	GC-MS i LC- QTOF-MS	Les amines biogèniques, els aminoàcids i els lípids estaven significativament augmentats a la MII, mentre que dues vitamines del grup B, estaven disminuïdes a la MII respecte dels controls.
Scoville et al 2018 (125)	CU (n=20), MC (n=20), controls (n=20)	Sèrum	UPLC-MS/MS	Diversos metabòlits relacionats amb el cicle dels lípids, aminoàcids i àcids tricarboxílics alterats significativament en MC. En canvi, només 5 metabòlits disminuïts a la CU respecte controls.
Murgia et al 2018 (126)	CU (n=78), MC (n= 50), controls (n=60)	Plasma	LC-TOF-MS	Canvis significatius en PC, liso-PC i àcids grassos.

				També variacions en els nivells d'èsters de colesterol i glicerofosfolípids.
--	--	--	--	--

\* àcid palmític, 7alfa, 25-dihidroxicolesterol, 20hidroxieicosatetraenoic (HETE) -d6, (+/-) àcid 5,6-epoxi-eicosatrienoic (EpETrE), àcid docosahexaenoic (DHA), àcid 9-heptadecilènic, lactucaxantina,  $\alpha$ - carotè, àcid traumàtic i neoquassí.

MII, Malaltia Inflamatòria Intestinal; MC, Malaltia Crohn; CU, Colitis ulcerosa; UPLC-QTOF-MS, Ultra-performance líquid chromatography Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometric; LC/ESI-MS/MS, Liquid Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometric; GC-TOF-MS, Gas chromatography time-of-flight mass spectrometry; LC-MS/MS, Liquid chromatography–mass spectrometry; PGE2, prostanglandines ; TX, tromboxà; HETE, hydroxi-6(E),8(Z),11(Z),14(Z)-àcid eicosatetraenoic; PC, fosfatidilcolina; lisoPC, liso-fosfatidilcolines; Nano-ESI-MS/MS, espectrometria de masses en tàndem de ionització per nanoelectrospray.





## **2. HIPÒTESI**

La fatiga a la MII és freqüent i persisteix malgrat aconseguir la remissió clínica fins i tot en els pacients amb remissió clínica. L'ús de medicina alternativa i/o complementària és freqüent en aquests pacients. No hi ha un tractament efectiu per a la fatiga a la MII i hi ha pocs estudis que avaluïn un tractament o teràpia per a la fatiga en pacients amb MII com a objectiu primari. L'acupuntura s'ha emprat com a tractament per a la fatiga en altres malalties cròniques i pot ser un tractament eficaç per a la fatiga en pacients amb MII.

La valoració de la fatiga és subjectiu i hi ha una necessitat de biomarcadors per a realitzar un diagnòstic objectiu. El metabolisme lipídic i de senyalització juga un paper important en la inflamació i pot estar alterat a la MII. La lipidòmica pot ser útil per identificar de manera no invasiva biomarcadors en els pacients amb fatiga i MII.



### **3. OBJECTIUS**

#### **Objectiu principal**

1) Avaluar l'eficàcia de l'electroacupuntura versus l'acupuntura sham en comparació amb un grup control en el tractament de la fatiga en pacients amb MII quiescent.

#### **Objectius secundaris**

2) Avaluar l'efecte de l'electroacupuntura versus l'acupuntura sham en comparació amb un grup control en la qualitat de vida, depressió i ansietat en pacients amb fatiga i MII quiescent.

3) Identificar un fenotip metabòlic lipidòmic associat a fatiga en pacients amb MII quiescent.



## **4. COMPENDI DE PUBLICACIONS**

### **4.1. PRIMERA PUBLICACIÓ**

Horta, D; Lira, A; Sanchez-Lloansi, M; Villoria, A; Teggiachi, M; García-Rojo, D; García-Molina, S; Figuerola, A; Esteve, M; Calvet, X. A Prospective Pilot Randomized Study: Electroacupuncture vs. Sham Procedure for the Treatment of Fatigue in Patients With Quiescent Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis* 2020; 26:484-492. doi: 10.1093/ibd/izz091.

doi: 10.1093/ibd/izz091.

doi: 10.1093/ibd/izz091.

doi: 10.1093/ibd/izz091.



doi: 10.1093/ibd/izz091.

doi: 10.1093/ibd/izz091.

doi: 10.1093/ibd/izz091.

doi: 10.1093/ibd/izz091.

doi: 10.1093/ibd/izz091.

doi: 10.1093/ibd/izz091.

#### **4.2. SEGONA PUBLICACIÓ**

Horta, D; Moreno-Torres, M, Ramírez-Lázaro, MJ; Lario, S; Kuligowski, J; Sanjuan-Herráez, JD; Quintas, G; Villoria, A; Calvet, X. Analysis of the Association between Fatigue and the Plasma Lipidomic Profile of Inflammatory Bowel Disease Patients. *J. Proteome Res* 2021, 20, 1, 381–392. doi: 10.1021/acs.jproteome.0c00462







doi: 10.1021/acs.jproteome.0c00462

doi: 10.1021/acs.jproteome.0c00462

doi: 10.1021/acs.jproteome.0c00462

doi: 10.1021/acs.jproteome.0c00462

doi: 10.1021/acs.jproteome.0c00462

doi: 10.1021/acs.jproteome.0c00462

doi: 10.1021/acs.jproteome.0c00462



doi: 10.1021/acs.jproteome.0c00462

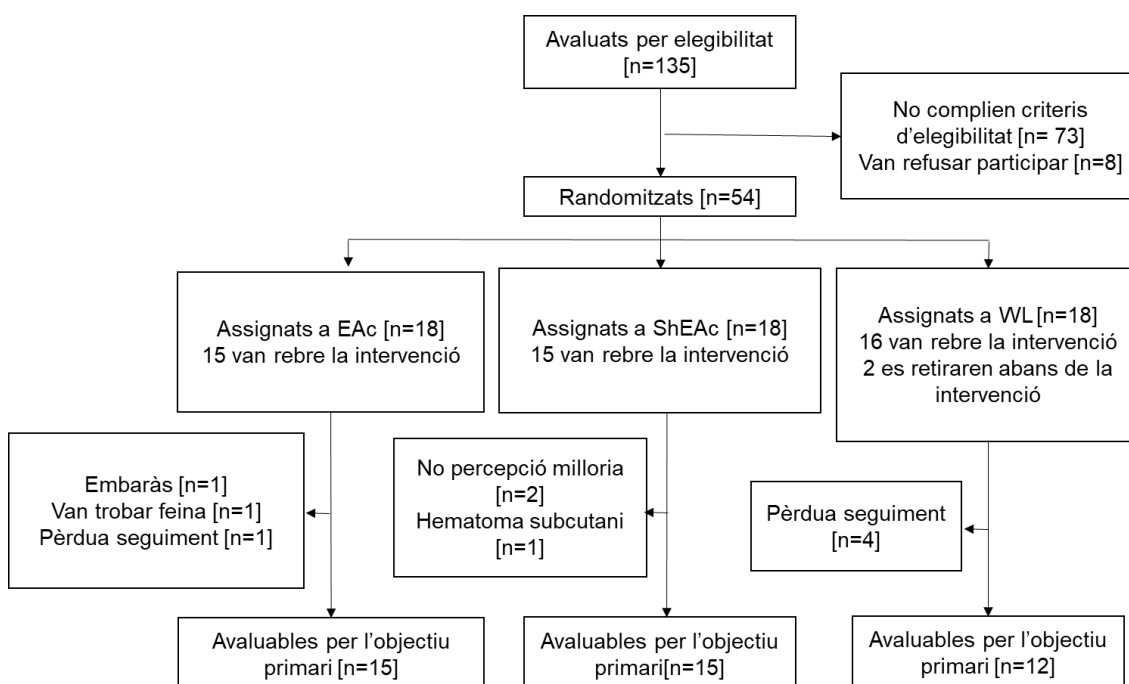
doi: 10.1021/acs.jproteome.0c00462

doi: 10.1021/acs.jproteome.0c00462

## 5. RESUM GLOBAL DELS RESULTATS

4.1 En el primer estudi d'aquesta tesi es van avaluar 135 participants, dels quals 127 van acceptar participar en l'estudi (Figura 6). D'aquests pacients, només 54 van complir els criteris d'elegibilitat. Els participants van ser aleatoritzats a electroacupuntura (EA) (n = 18), acupuntura Sham (ShEA) (n = 18) i grup llista d'espera (WL) (n = 18). Quaranta-dos pacients (77,8%) van completar l'estudi, 15 (83,3%) del grup EA, 15 (83,3%) del grup ShEA i 12 (66,6%) del grup WL. La taxa d'abandonament global va ser del 22,2%. Els motius de l'abandonament van ser embaràs (n=1), feina (n=1), no milloria amb l'acupuntura (n=2), hematoma amb l'acupuntura (n=1) i pèrdua de seguiment (n=5). Aquests 42 pacients van completar els qüestionaris post-tractament i es van avaluar per l'objectiu principal.

Figura 6. Diagrama de flux dels pacients



Les característiques basals van ser comparables entre els grups d'estudi (Taula 13). L'edat mitjana era de 42 anys i el 65,3% eren dones. La majoria dels pacients tenien MC (88,5%) i una durada mitjana de la MII de 10,8 anys. En pacients amb MC, la mitjana de l'índex Harvey-Bradshaw va ser de  $3,2 \pm 1,4$  i en pacients amb CU la puntuació mitjana de l'índex de Mayo va ser de  $1,6 \pm 1,5$ .

Taula 13. Característiques basals dels pacients de cada grup

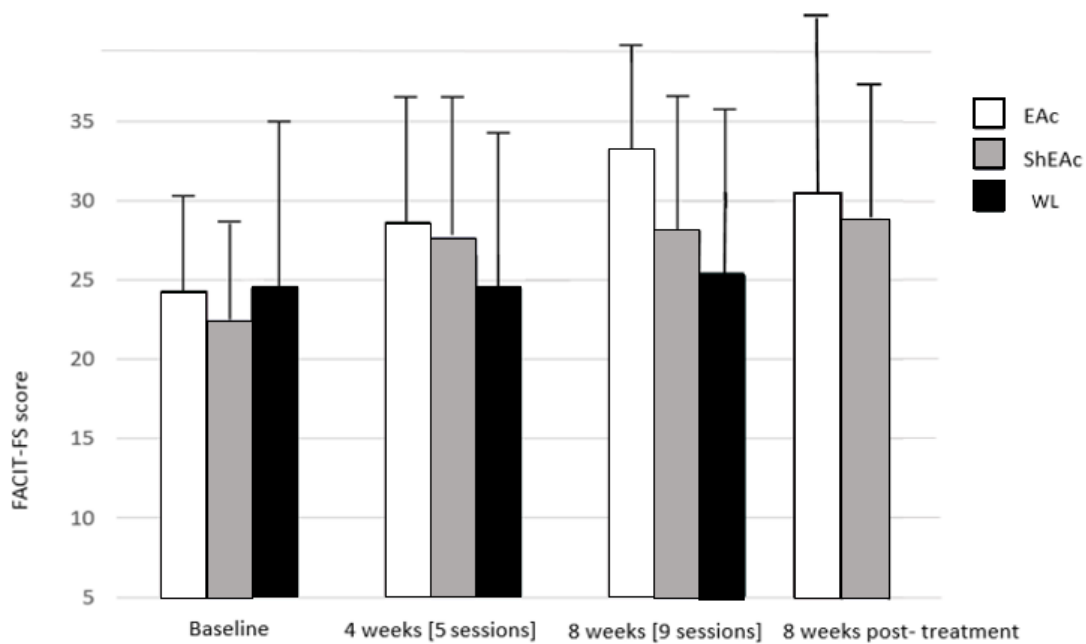
	EAc n=18	ShEAc n=18	WL n=16	Total n=52	p
Dona	55,5%	72,2%	68,7%	65,3%	ns
Edat (mitjana $\pm$ desviació estàndard)	44,6 $\pm$ 12,1	38,6 $\pm$ 8,3	42,6 $\pm$ 10,7	41,9 $\pm$ 10,6	ns
Malaltia Crohn	94,4%	94,4%	75%	88,5%	ns
Temps des de diagnòstic (mitjana $\pm$ desviació estàndard)	10,6 $\pm$ 4,8	11,4 $\pm$ 5,4	10,5 $\pm$ 4,7	10,8 $\pm$ 4,9	ns
Fumadors	50%	22,2%	25%	32,7%	ns
Tractaments					ns
- 5-ASA	5,5%	16,6%	12,5%	11,5%	
- Tiopurines	38,8%	33,3%	37,5%	36,5%	
- Metrotexate	0%	5,5%	6,2%	3,8%	
- Infliximab	27,7%	11,1%	25%	21,1%	
- Adalimumab	16,6%	33,3%	25%	25%	
- No tractament	27,7%	27,7%	18,7%	25%	
Harvey-Bradshaw (mitjana $\pm$ desviació estàndard)	3,5 $\pm$ 1,4	3,2 $\pm$ 1,6	2,7 $\pm$ 1,2	3,2 $\pm$ 1,4	ns
Mayo (mitjana $\pm$ desviació estàndard)	1	2	1,6 $\pm$ 2,08	1,6 $\pm$ 1,5	ns

Pel que fa als canvis en la puntuació del qüestionari FACIT-FS, després de completar nou sessions (a les vuit setmanes de l'inici del tractament), la puntuació FACIT-FS va millorar significativament tant en el grup d'EAc (9,53 punts, IC del 95%: 6,75-12,3,  $p < 0,001$ ) com en el grup ShEAc (5,46 punts, IC del 95%: 2,7- 9,7,  $p = 0,015$ ). Al grup WL, no hi va haver canvis significatius en la puntuació FACIT-FS (0,75 punts, IC del 95%: -0,9-2,4,  $p = 0,339$ ). La diferència

de la millora entre els grups EAc i ShEAc a les vuit setmanes de l'inici del tractament no va assolir la significació estadística ( $p = 0,168$ ). Tant EAc com en el grup ShEAc, les puntuacions de fatiga van millorar significativament en comparació amb el grup WL ( $p = 0,01$  i  $0,04$  respectivament).

La puntuació FACIT-FS, a més, es va mantenir significativament més alta (és a dir, menys fatiga) que el valor previ al tractament a les vuit setmanes després d'haver finalitzat el tractament tant en el grup EAc (7,66 punts, IC del 95%: 4,13-11,1,  $p < 0,001$ ) com en el grup ShEAc (6,26 punts, IC del 95%: 0,51-12,0,  $p = 0,035$ ). La diferència entre grups no va ser significativa ( $p = 0,660$ ) (Figura 7, Taula 14).

Figura 7. Valors de FACIT-FS segons els grups de tractament en els diversos períodes d'avaluació de l'estudi.



Barres d'error indiquen desviació standard.

Taula 14. Canvis en la puntuació de fatiga en els diferents punts de temps de l'estudi

Grup	Canvis de basal a les 4 setmanes (5 sessions)	Canvis de basal a les 8 setmanes (9 sessions)	Canvis de basal a les 8 setmanes post-tractament
EAc	4,27 ± 5,2*	9,53 ± 5 <sup>c</sup>	7,66 ± 6,3 <sup>c</sup>
Sham	5,17 ± 6,1*	5,46 ± 7,6*	6,26 ± 10,3*
WL	0,33 ± 3,1	0,75 ± 2,6	

Canvis en l'objectiu primari FACIT-FS (mitjana ± desviació standard), \*p < 0,05 †p < 0,01 °p < 0.001 per la comparació intragrup, valors de p per a la comparació entre grups.

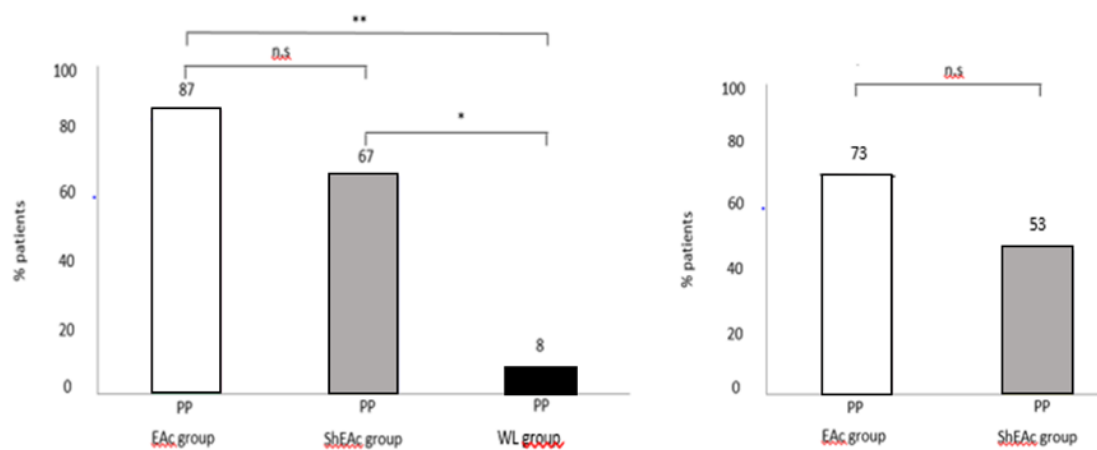
S'observà remissió de la fatiga (FACIT-FS superior a 40 punts al final del tractament) en 5 pacients (27,7%) del grup EAc, 2 pacients (11,1%) del grup ShEAc i cap pacient del grup WL (p = ns). L'anàlisi per protocol va mostrar taxes de remissió de fatiga del 33,3%, 13,3% i 0% respectivament (p = 0,063).

Respecte a l'avaluació de l'eficàcia de l'acupuntura a la fatiga, a l'anàlisi per protocol s'observaren millores significatives de fatiga (puntuació FACIT-FS ≥ 4 punts) en 13 pacients del grup EAc (86,6%), 10 del grup ShEAc (66,6%) i un del grup WL (8,3%) a les vuit setmanes des de l'inici del tractament (p <0,001) (Figura 8). L'anàlisi per intenció de tractar va mostrar una millora (puntuació FACIT-FS ≥ 4 punts) en un 72,2% dels pacients del grup EAc, un 55,5% en el grup ShEAc i en un 6,25% en el grup WL (p <0,01).

Figura 8. Percentatges de pacients amb millora de la fatiga (FACIT-FS  $\geq 4$  punts) a la novena sessió i 8 setmanes post-tractament.

a) 8 setmanes (9 sessions)

b) 8 setmanes post-tractament



\*p < 0,01; \*\* p < 0,001; ns, no significant; PP, anàlisi per-protocol

Pel que fa a l'avaluació de l'eficàcia de l'acupuntura en la qualitat de vida mitjançant el qüestionari IBDQ-9, a les vuit setmanes de l'inici, la qualitat de vida va millorar significativament al grup EAc (5,1 punts, IC del 95%: 3,6-17,6, p = 0,006), però no al grup ShEAc (0,9 punts, IC del 95%: -1,3-3,3, p = 0,389) ni al grup WL (0,3 punts (IC del 95%: -0,7-1,3, p = 0,518). Les diferències entre EAc i ShEAc (p = 0,034) i entre els grups EAc i WL (p = 0,020) van ser significatives. La millora de l'IBDQ-9 es va mantenir vuit setmanes després del tractament en el grup EAc (4,9 punts, IC del 95%: 1,5-8,4, p < 0,008) respecte al valor basal (Taula 15).

Respecte de l'avaluació de l'eficàcia de l'acupuntura en la depressió mitjançant l'inventari de depressió de Beck, les puntuacions de depressió van millorar significativament en comparació a les basals en tots els grups: EAc (8,9 punts, IC del 95%: 4-13,8, p = 0,002); ShEAc (2,6 punts, IC del 95%: 0,1-5,2, p = 0,040); WL (4,2 punts, IC del 95%: 0,8-7,6, p = 0,018). Els pacients del grup EAc van mostrar augments més grans en les puntuacions de l'inventari de depressió de Beck que els pacients del grup ShEAc i la diferència va ser estadísticament significativa (p = 0,039); No obstant, la diferència entre EAc i WL no va ser significativa (p = 0,222). Les millores en les puntuacions de l'inventari de depressió de Beck en els grups EAc i ShEAc van durar fins al final del seguiment



(8 setmanes després del tractament): EAc: 8,6 punts (IC del 95%: 3,5-13,6, p = 0,003); ShEAc: 5,9 punts (IC del 95%: 1,4-2,8, p = 0,001) (Taula 15).

També es va avaluar l'eficàcia de l'acupuntura en l'ansietat mitjançant l'escala d'ansietat de Hamilton. L'ansietat va millorar significativament després del tractament al grup EAc (10,6 punts, IC del 95%: 3,6-17,6, p = 0,006) i al grup ShEAc (6,8 punts, IC del 95%: 4,4-9,1, p < 0,001) però no en el grup WL (0,9 punts, IC del 95%: 0,8 -2,6, p = 0,272). Les diferències entre grups no van ser significatives (EAc vs ShEAc p = 0,686; EAc vs WL p = 0,304). La millora de les puntuacions de l'escala d'ansietat de Hamilton en els grups EAc i ShEAc es va mantenir fins al final del seguiment: EAc (9,8 punts, IC del 95%: 2,3-17,3, p = 0,014 vs. basal) i grup ShEAc (7,2 punts, IC del 95%: 4,0-10,3, p <0,001 vs. basal) (Taula 15).

Taula 15. Resultats dels objectius secundaris

Mesures dels resultats	Grup	Canvis del basal a les 4 setmanes (5 sessions)	Canvis del basal a les 8 setmanes (9 sessions)
IBDQ-9	EAc	3,3 ± 5,0*	5,1 ± 5,6**
	ShEAc	2,0 ± 4,3	0,9 ± 4,2
	WL	0,1 ± 2,6	0,3 ± 1,6
BDI	EAc	7,0 ± 9,3**	8,9 ± 8,8**
	ShEAc	3,3 ± 4,7*	2,6 ± 4,5*
	WL	3,0 ± 6,5	4,2 ± 5,3*
HAM-A	EAc	8,3 ± 12,1*	10,6 ± 12,6**
	ShEAc	5,8 ± 6,8**	6,8 ± 4,2***
	WL	0,9 ± 3,3	0,9 ± 2,7

\*p < 0,05 \*\*p < 0,01 \*\*\* p < 0,001 per la comparació intra-grup IBDQ-9, qualitat de vida; BDI, Beck Depression Index; HAM-A, Hamilton Anxiety Rating Scale

Respecte dels esdeveniments adversos, només es van informar de dos episodis (2/54, 3,7%). Un pacient del grup ShEAc va presentar un petit hematoma

subcutani durant l'acupuntura (a les quatre setmanes de l'inici del tractament, després de la cinquena sessió) i es va retirar de l'estudi. Un altre pacient va presentar una lipotímia durant la primera sessió d'acupuntura simulada, però va continuar el tractament sense més complicacions. No hi va haver altres esdeveniments adversos greus.

4.2 En el segon estudi d'aquesta tesi, es van incloure 47 pacients amb MII. A un estudi anterior es va observar que la fatiga s'associava significativament al gènere, a la MC (respecte a la CU) i a l'índex de massa corporal. No es van observar diferències (valors  $p > 0,05$ ) en aquestes variables entre pacients fatigats i no fatigats. Per aquest motiu, aquestes variables van ser excloses com a factors de confusió en aquest estudi (Taula 16).

Taula 16. Característiques clíniques i demogràfiques dels pacients inclosos

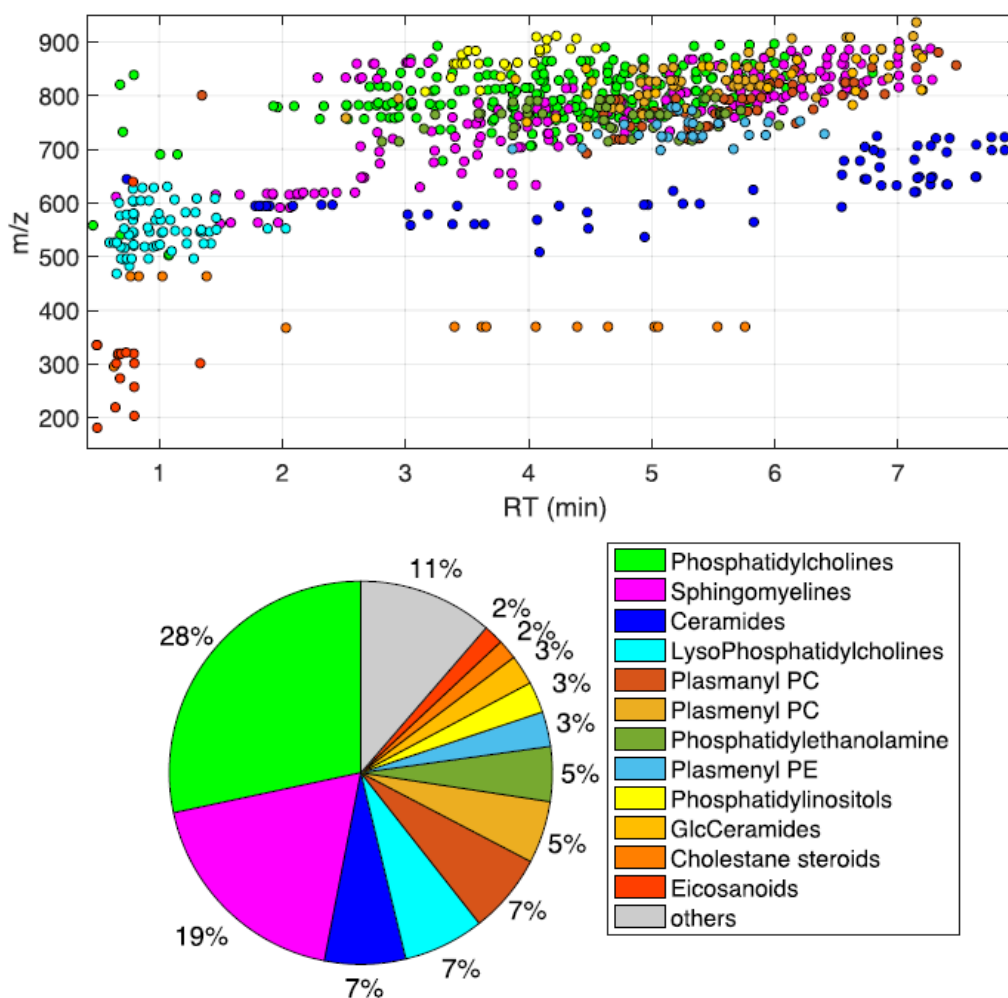
	MII n= 47		MC n= 27		CU n= 20	
	Fatiga n=23	No fatiga n=24	Fatiga n=14	No fatiga n=13	Fatiga n=9	No fatiga n=11
Dona (%)	60,8	54,1	57,1	53,8	66,6	54,5
Edat (anys) ( $\bar{x} \pm SD$ )	37 $\pm$ 12	38 $\pm$ 10	37 $\pm$ 12	34 $\pm$ 8	37 $\pm$ 14	42 $\pm$ 11
Anys durada malaltia ( $\bar{x}$ , mediana $\pm$ rang interquartil)	9, 6, (1-40)	9, 6, (2-18)	8, 7, (2-19)	8, 7, (3-15)	10, 5, (1-40)	9, 8, (2-18)
Fumadors (%)	39,1	41,6	42,8	53,8	33,3	27,2
IL-12 pg/ml ( $\bar{x} \pm SD$ )	7 $\pm$ 18	0,5 $\pm$ 1,5	3,4 $\pm$ 6,1	0	12,7 $\pm$ 29,3	1,1 $\pm$ 0,6
IL-5 pg/ml ( $\bar{x} \pm SD$ )	0,9 $\pm$ 1,8	0,9 $\pm$ 3,7	1,2 $\pm$ 2,2	1,5 $\pm$ 5,3	0,4 $\pm$ 0,7	0,3 $\pm$ 0,1
IL-8 pg/ml ( $\bar{x} \pm SD$ )	1 $\pm$ 2	1,7 $\pm$ 2,6	0,5 $\pm$ 1,0	1,9 $\pm$ 3,2	2,0 $\pm$ 2,1	1,7 $\pm$ 2,0
Índex massa corporal ( $\bar{x} \pm$ SD)	25 $\pm$ 5	25 $\pm$ 5	26 $\pm$ 6	26 $\pm$ 6	24 $\pm$ 3	24 $\pm$ 3
Puntuació fatiga ( $\bar{x} \pm SD$ )	23 $\pm$ 6	46 $\pm$ 7	22 $\pm$ 6	44 $\pm$ 9	24 $\pm$ 5	48 $\pm$ 3

( $\bar{x} \pm SD$  mitjana  $\pm$  desviació estàndard)

No diferències significatives en les diverses variables entre grups ( $p > 0,05$ )

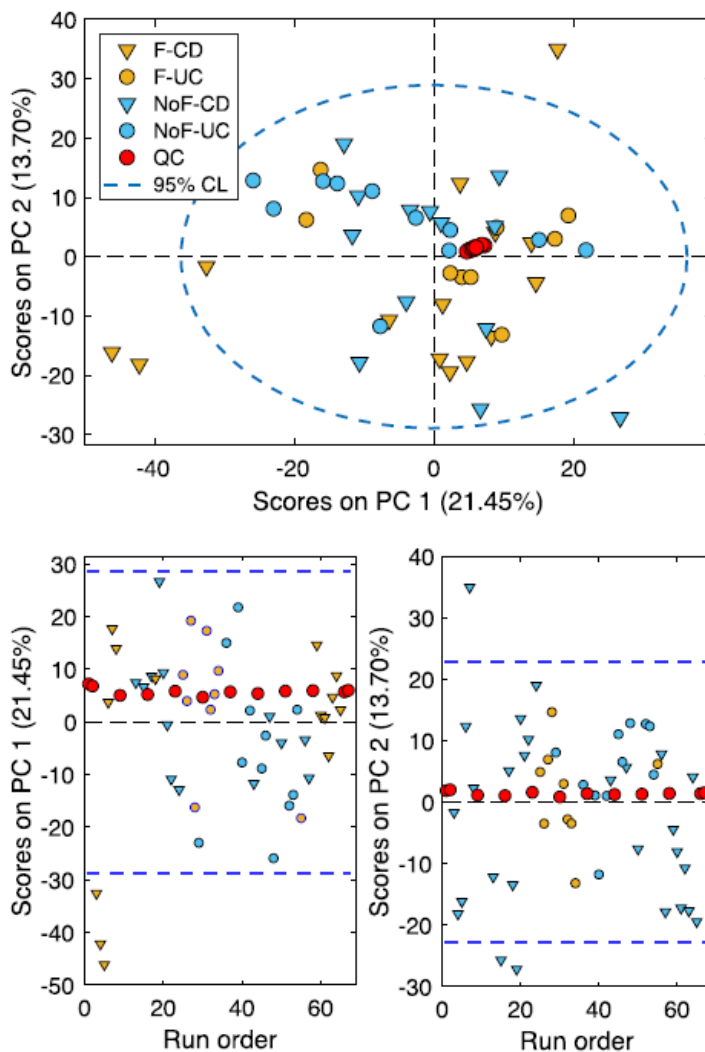
Les subclasses de lípids obtingudes en els conjunts de dades ESI + i ESI – s’observen a la figura 9. Les classes amb un major nombre de lípids anotats van ser les glicerofosfocolines, els esfingolípid (ESL), els glicerofosfolípids i les glicerofosfoetanolamines amb fosfatidilcolines (PC), les esfingomielines (SM), les ceramides i les lisofosfatidilcolines, representant el 77% de les 952 característiques anotades a la cromatografia líquida-espectrometria de masses (LC-MS) (483 i 469 mesurades per ESI + i ESI –, respectivament).

Figura 9. Distribució de les característiques i classes obtingudes a la cromatografia líquida-espectrometria de masses (superior) i diagrama de sectors amb els percentatges relatius de les característiques i subclasses obtingudes (inferior).



L'anàlisi de components principals (ACP) es va utilitzar per a una avaluació inicial de les tendències del conjunt de dades com s'observa a la figura 10.

Figura 10. El model ACP dels gràfics de puntuació explica el 35% de totes les variacions. La distribució aleatòria de les puntuacions de PC1 i PC2 del control de qualitat (QC) es replica en funció de l'ordre d'injecció, i l'estreta agrupació dels QCs a la puntuació PC1-PC2 va donar suport a l'estabilitat instrumental durant tota l'anàlisi. Els gràfics de puntuació d'ACP van mostrar una elevada superposició entre els pacients amb fatiga i els pacients no fatigats, independentment del tipus de MII, i també entre els pacients amb MII amb o sense fatiga; fet que indica que ni el tipus de malaltia ni la presència de fatiga eren les principals causes de variació en les dades.

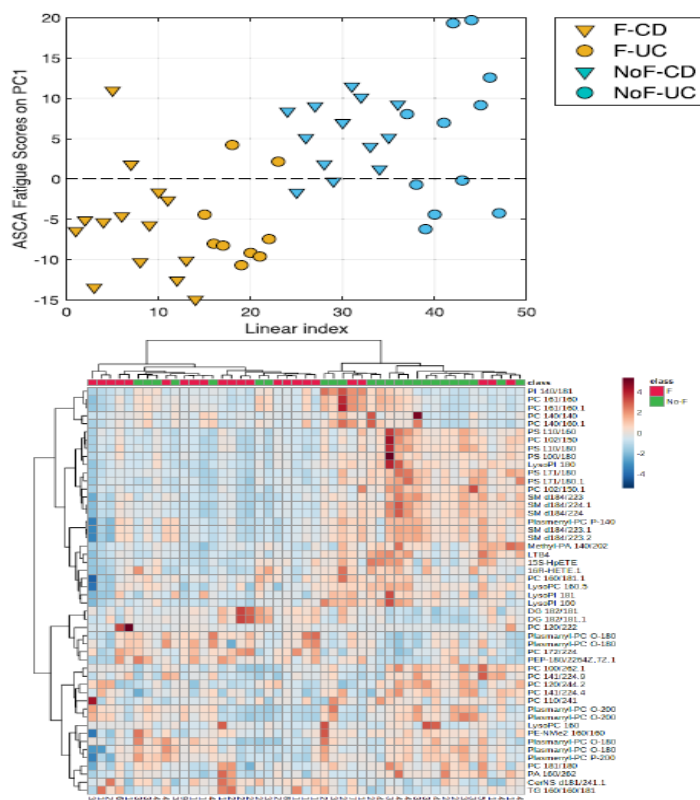


L'anàlisi simultània de components ANOVA (ASCA) es va utilitzar per quantificar la quantitat de variació relacionada amb el tipus de malaltia (és a dir, CU / MC),

fatiga (sí / no) i la seva interacció amb els perfils metabòlics (Figura 11). ASCA proporciona un ANOVA multivariant aplicant una anàlisi de components simultània a cadascun dels efectes modelats per un ANOVA. (127) En aquest estudi, el model ANOVA incloïa interaccions bidireccionals de dos factors:  $X = \text{Mitjana} + \text{malaltia} \times \text{fatiga} + \text{fatiga} \times \text{fatiga} + E$ . Els resultats van revelar que la part dominant de la variació no estava relacionada amb els dos factors considerats (fatiga i malaltia) ni la seva interacció. No obstant això, els resultats van mostrar petites contribucions de fatiga (valor  $p = 0,05$ ) i cap efecte per a la "malaltia" o la interacció entre malaltia i fatiga.

En aquest model, s'observà l'efecte associat a la fatiga, anteriorment emmascarat per altres fonts de variabilitat (per exemple, variació entre individus) a l'ACP inicial.

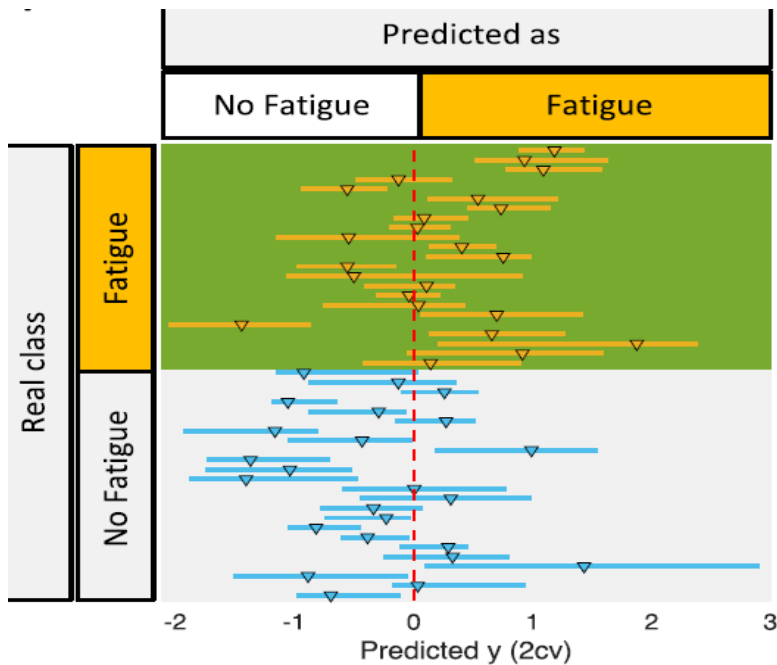
Figura 11. Puntuacions ASCA PC1 del factor fatiga (superior) i mapa de calor visualitzant-se els 50 biomarcadors que major discriminen Xfatigue (inferior)



Files: Característiques LC-MS; columnes: mostres. Verd: pacients amb fatiga; vermell: pacients sense fatiga. Diagrama de color: indica la intensitat de les característiques a la LC-MS: blau: més baixa intensitat; vermell: més alta intensitat.

Per valorar l'associació de fatiga i el perfil lipídomic en pacients amb MII es va realitzar un anàlisi discriminant mínims quadrats supervisat (PLS-DA) per avaluar la separació de classes entre els pacients fatigats i no fatigats amb MII i per a la identificació d'un fenotip metabòlic associat a la fatiga. Es va seleccionar una estratègia de doble validació encreuada (2CV) per al desenvolupament de models i per avaluar-ne la precisió de generalització (128) (Figura 12).

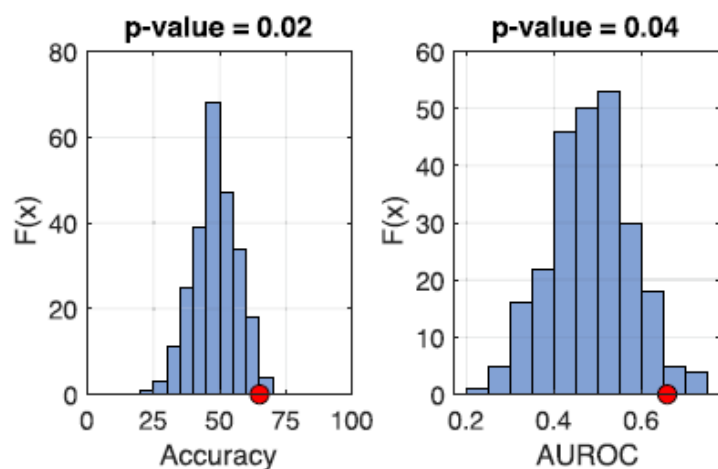
Figura 12. Valors predits de 2CV-PLSDA per a la classificació de mostres recollides en pacients amb MC i CU (precisió de classificació-CV = 67%, AUROC-CV = 0,68) i discriminar entre els pacients amb fatiga i no fatiga.



La significació estadística (valors  $p < 0,05$ ) de la discriminació de pacients fatigats es va realitzar amb proves de permutació mitjançant 250 permutacions.(129)

La figura 13 mostra els histogrames de les distribucions de referència nul·les de la precisió de classificació i les estimacions AUROC obtingudes mitjançant etiquetes de classe assignades aleatòriament, i els valors mitjans obtinguts mitjançant etiquetes de classes reals.

Figura 13. Resultats de la prova de permutació per a l'avaluació de la discriminació PLS – DA entre pacients amb fatiga i sense fatiga representats a la figura 12 mitjançant la precisió de la classificació i l'AUROC.

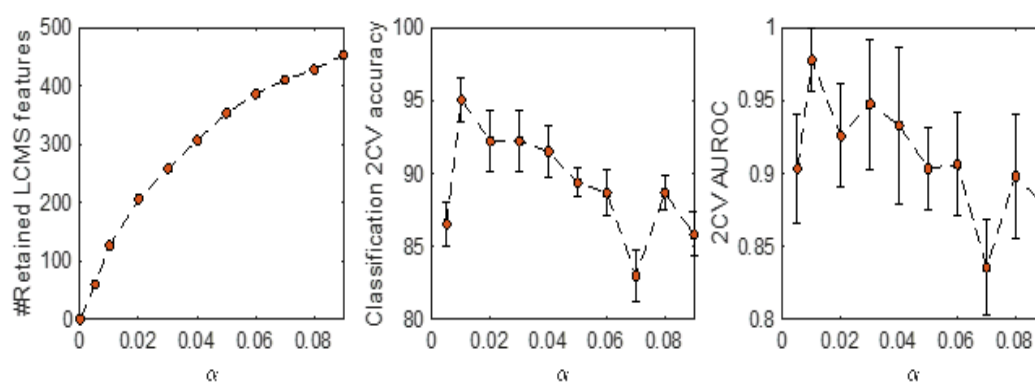


L'avaluació de la separació de classes entre fatigats i no fatigats es va dur a terme per separat per a pacients amb CU i MC, mitjançant una validació encreuada deixant-ne un fora (CV) de baixa a causa de les mides de mostra limitades (20 CU i 27 MC). Els resultats obtinguts van indicar una millor discriminació de la fatiga en pacients amb MC (precisió de classificació-CV = 74%, AUROC-CV = 0,80, valors p de prova de permutació < 0,05) respecte a CU (precisió de classificació-CV = 67%, AUROC-CV = 0,62, valors p de prova de permutació > 0,05). No obstant això, a causa de la mida limitada de les mostres i de l'alta variabilitat interindividual esperada, és difícil estimar la importància d'aquesta diferència o proporcionar una interpretació biològicament rellevant dels resultats. Es va utilitzar una combinació de mètodes complementaris univariants i multivariants (130) per a la identificació de metabòlits associats a la fatiga a la MII. La primera estratègia va consistir en una selecció de característiques basada en dades en els models PLS-DA mitjançant el vector de regressió PLS-DA mitjà estimat a partir del conjunt de models de PLS-DA construïts mitjançant etiquetes de classe real ( $\beta_{\text{true}}$ ) i el conjunt de 250 vectors de regressió mitjana del conjunt de models PLS-DA construïts amb etiquetes de classe permutades aleatòriament com a distribució nul·la ( $\beta_{\text{perm}}$ ). (131) Una característica LC-MS es va etiquetar com a associada a la fatiga si el seu valor en el vector  $\beta_{\text{true}}$  no pertanyia a la distribució dels valors  $\beta_{\text{perm}}$  del metabòlit considerat. El nivell de confiança es va seleccionar empíricament mitjançant



l'anàlisi de l'evolució de les estimacions de rendiment de la classificació, en funció del nivell de confiança en una sèrie de models que s'utilitzen mitjançant l'eliminació cap enrere de funcions amb valors  $p < \alpha$ , fins que no s'exclou cap altra característica. Es va seleccionar un nivell de confiança = 0,02 basat en els resultats representats a la figura 14, que permeten seleccionar 205 funcions LC-MS, incloses PC, SM, plasmenils-PE, plasmanils-PC, LysoPC i ceramides (Taula 17).

Figura 14. Evolució del nombre de trets retinguts. Precisió de classificació CV i valors d'AUROC en funció del llindar seleccionat per a la selecció de les característiques.



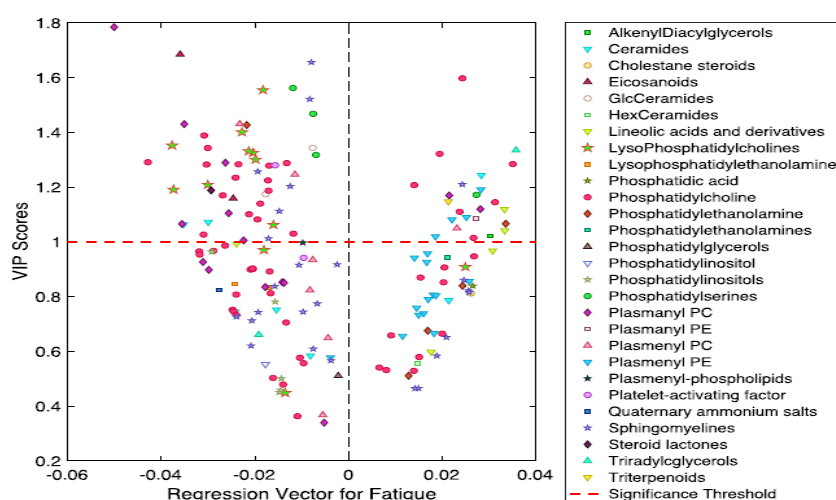
Taula 17. Subclasses de les característiques anotades seleccionades com a discriminants al model PLS-DA o pel t-test.

subclass	PLS-DA (b+)	PLS-DA (b-)	t-test (N <sup>+</sup> )	t-test (N <sup>-</sup> )
phosphatidylcholine	17	35	7	24
plasmanyl PC	2	12	7	5
lysophosphatidylcholines	1	11	1	11
plasmanyl PE	16	1	4	0
phosphatidylserines	1	3	1	7
plasmanyl PC	1	6	2	3
phosphatidylethanolamine	4	1	0	0
phosphatidylinositols	0	5	0	0
lysophosphatidylethanolamine	0	2	0	1
phosphatidylinositol	0	1	0	1
phosphatidylglycerols	0	1	0	0
sphingomyelins	8	17	1	13
ceramides	2	5	1	0
GlcCeramides	0	2	0	2
ceramidesamide-1-phosphates	0	0	0	1
HexCeramides	1	0	0	0
eicosanoids	0	2	0	7
linoleic acids and derivatives	4	1	0	0
triradylglycerols	1	1	1	0
diglycerides	0	0	2	0
alkenyl diacylglycerols	1	0	0	0
phosphatidylethanolamines	1	0	0	2
cholestane steroids	1	0	0	1
steroid lactones	0	1	0	1
plasmanyl PE	1	0	0	0
platelet-activating factor	0	2	0	1
lysophosphatidylinositol	0	0	0	3
triterpenoids	1	0	1	0
plasmanyl-phospholipids	0	1	0	0
phosphatidic acid	1	0	0	0
quaternary ammonium salts	0	1	0	0

Les característiques seleccionades es van dividir entre les que mostren una associació estadísticament significativa positiva o negativa amb la fatiga ( $b^+$  o  $b^-$ ), segons el signe del seu valor al model PLS-DA o segons la relació entre els valors mitjans de fatiga versus no fatiga.

La figura 15 mostra les puntuacions VIP i els valors vectorials de regressió PLS-DA de cada característica en un model desenvolupat amb les característiques LC-MS seleccionades i 3 variables latents.

Figura 15. Valors de les característiques discriminants conservades al PLS – DA després de la selecció de funcions i les seves puntuacions VIP corresponents.

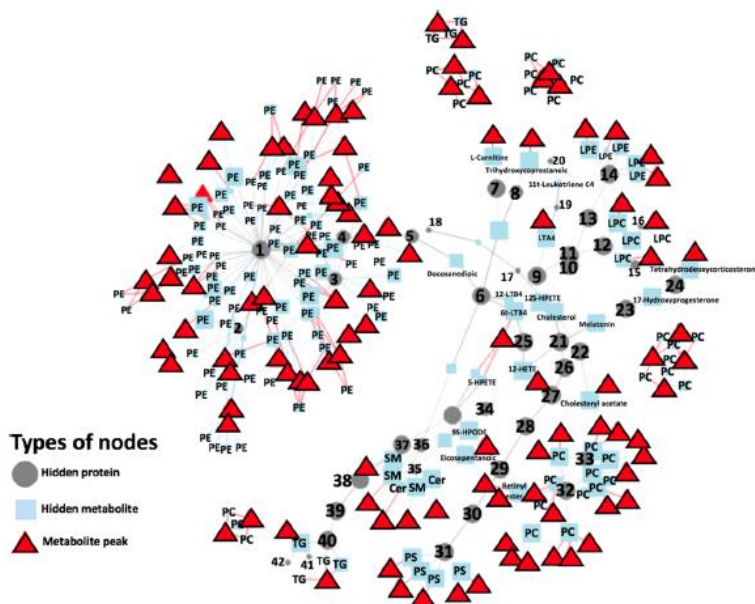


La segona estratègia per a la identificació de trets discriminants va consistir en proves  $t$  univariants realitzades per comprovar la hipòtesi nul·la que les dades dels grups de fatiga i no fatiga provenien de mostres aleatòries independents amb mitjanes iguals amb variacions desconegudes i desiguals. Els resultats van identificar 111 (12% del total de les característiques anotades) per a les quals la prova  $t$  va rebutjar la hipòtesi nul·la al nivell de significació predeterminat del 5% (vegeu la taula 17). Les dues estratègies van identificar un total de 251 característiques LC-MS úniques que van indicar que les diferències més grans en els perfils lipídòmics dels pacients fatigats es van associar a glicerofosfolípids, esfingolípids i acils grassos. Tanmateix, els conjunts de característiques seleccionades com a discriminants van mostrar una superposició limitada i només 65 d'elles van ser seleccionades com a discriminants per prova  $t$  i PLS-DA, incloent glicerofosfolípids, glicerofosfolípids, esfingolípids i glicerofosfoetanolamines.

Respecte a l'anàlisi de vies, per tal d'extreure més informació, es va utilitzar el problema d'optimització combinatòria denominat Prize collecting steiner per a l'anàlisi integrativa de metabolòmica no dirigida (PIUMet) (132) per a l'anàlisi del conjunt de 251 característiques anotades classificades com a discriminants per almenys una de les estratègies esmentades.

A la xarxa d'interaccions proteïna-proteïna i proteïna-metabòlit inferides per PIUMet es combinaren 104 característiques de LC-MS amb 165 metabòlits a la xarxa PPMI (Figura 16). PIUMet va identificar una xarxa que connectava 104 pics LC-MS (41%) mitjançant proteïnes i metabòlits ocults. L'anàlisi de les vies mitjançant els metabòlits inclosos a la xarxa va indicar una desregulació del metabolisme de l'àcid araquidònic (valor  $p < 0,003$ ) i dels glicerofosolípids (valor  $p < 0,05$ ) i de la via dels esfingolípids (valor  $p < 0,05$ ). La xarxa d'interacció proteïna-metabòlit mostrava interaccions entre metabòlits i proteïnes relacionats funcionalment, mostrant 42 proteïnes associades a la malaltia (és a dir, proteïnes ocultes a la xarxa), incloses ABHD4, GLTP, ATRX, EPT1, LCAT, LRAT i ALOX5.

Figura 16. Xarxa d'interaccions proteïna-proteïna i proteïna-metabòlit inferides per PIUMet, utilitzant el subconjunt de 180 funcions seleccionades com a discriminants.



Proteïnes observades: 1, ABHD4; 2, EPT1; 3, NAPEPLD; 4, CSNK2B; 5, ADH5; 6, CYP4F2; 7, SLCO1B1; 8, ABCB11; 9, LTA4H; 10, ALOX12; 11, MCC; 12, PAFAH1B2; 13, ITGB4; 14, ENPP2; 15, PLA2G7; 16,

PFAFH2; 17, ABCA1; 18, PISD; 19, LTC4S; 20, SLCO1B3; 21, POR; 22, SOAT1; 23, CYP1B1; 24, AKR1C1; 25, CYP4F12; 26, FANCC; 27, FANCE; 28, FANCD2; 29, BRCA2; 30, RAD51; 31, ATRX; 32, LRAT; 33, LCAT; 34, CYP4B1; 35, GM2A; 36, GLTP; 37, MAPKAP2; 38, HSPB1; 39, CRYAB; 40, APOC2; 41, PLIN4; and 42, AGPAT9.



## 6. RESUM GLOBAL DE LA DISCUSSIÓ

La fatiga a la MII és freqüent. Entre un 44 i un 86% de pacients amb MII activa i un 22 a un 41% amb malaltia inactiva presenten fatiga. (67) A més, entre un 30-50% dels pacients amb MII refereixen haver emprat medicina alternativa i/o complementària en alguna ocasió. (6,7,8)

El sistema d'avaluació de la fatiga és complicat donada la multidimensionalitat de la fatiga i la heterogeneïtat dels sistemes d'avaluació emprats per avaluar-la. (66) En ambdós estudis vam emprar el qüestionari FACIT-FS ja que és l'únic validat per a pacients amb MII, s'ha demostrat que és fiable i s'ha validat a la població general i en múltiples malalties cròniques. (71)

No hi ha un tractament efectiu per a la fatiga a la MII, degut a una manca de coneixement respecte a la seva fisiopatologia i a una manca d'estudis aleatoritzats i controlats que avaluin un tractament per a la fatiga en pacients amb MII.

El primer estudi neix a propòsit d'un cas d'una pacient amb MII i fatiga que va millorar amb acupuntura i de la voluntat de realitzar un estudi emprant medicina complementària d'una manera científica i rigorosa. Aquest és el primer estudi aleatoritzat i controlat avaluant EAc pel tractament de la fatiga a la MII. Els resultats del nostre primer estudi suggereixen que tan l'EAc com la ShEAc milloren les puntuacions de fatiga comparat amb el grup que no realitza tractament. Malgrat no haver trobat una diferència significativa entre ambdós grups -probablement per una mida de la mostra inicial baixa i pèrdues de pacients que varen abandonar el tractament- hi havia una tendència a la milloria en el grup EAc.

Al nostre estudi, els pacients van millorar en les puntuacions de fatiga després de realitzar nou sessions durant vuit setmanes de tractament. L'eficàcia fou del 86,6% al grup EAc i del 66,6% al grup ShEAc. Els efectes de la intervenció perduraren fins a vuit setmanes després d'haver finalitzat el tractament. No obstant, desconeixem si aquest efecte persisteix més enllà de les vuit setmanes i quins resultats haguérem obtingut si s'haguessin realitzat més o menys sessions. A més, és una teràpia complementària viable (un 94% dels pacients

van acceptar participar i un 83,3% van finalitzar l'estudi) i amb pocs efectes secundaris.

La qualitat de vida es veu afectada en els pacients amb MII i fatiga (80,48,87). En el nostre estudi varen demostrar que l'EAc millorà les puntuacions en qualitat de vida respecte als altres grups de tractament.

Els resultats del primer estudi corroboren els d'altres estudis anteriorment publicats. Tot i que la fatiga no es va avaluar directament, Joos et al, (25-26) trobaren que l'acupuntura (ja fos tradicional o sham) millorava l'activitat de la malaltia, la qualitat de vida i el benestar general en pacients amb MII. No obstant, els estudis de Joos inclogueren pacients amb MII activa i exclogueren pacients que rebien teràpies immunomoduladores o biològiques, per tant qualsevol comparació entre els seus i els nostres resultats s'ha de fer amb precaució.

És difícil establir el motiu de la milloria d'aquests pacients. Hi ha estudis que mostren que l'acupuntura pot reduir citocines proinflamàtores (TNF- $\alpha$ , IL-6 i IL-8) (133,33) i augmentar l'expressió de les antiinflamàtores (IL-4 i IL-10). (134,31) D'altra banda, s'ha de tenir en compte que en altres estudis aleatoritzats i controlats amb teràpies no farmacològiques (psicoteràpies per maneig de l'estrès i per ajudar a solucionar problemes) també obtingueren resultats positius. (101) (102) Per tant, l'efecte 'placebo' pot explicar part dels resultats.

Una limitació important en els estudis aleatoritzats i controlats amb acupuntura és la manca de consens pel que fa a l'acupuntura sham. En els diversos mètodes existents (introduint agulles d'acupuntura real a punts de 'no acupuntura' o utilitzant agulles no penetrants) podria induir efectes inespecífics que contribuïssin a una milloria. (135,136) En el nostre estudi vam emprar la primera opció utilitzant les mateixes agulles que en el grup d'EAc. D'altra banda, una altra limitació de l'estudi és la mostra petita de pacients i el nombre de pacients que no van finalitzar el tractament (22%).

Encara que no es realitzà un estudi de costos i s'haurien de realitzar més estudis en aquesta direcció, creiem que l'EAc podria ajudar a reduir exploracions innecessàries i reduir els costos indirectes derivats de la fatiga. Hi ha alguns sistemes sanitaris, com l'alemany, que inclou l'acupuntura pel tractament de patologies específiques com la lumbàlgia. (137)

Donat que hi ha una manca de tractaments eficaços, poques alternatives i una bona acceptació per part dels pacients, es podria considerar l'ús de l'acupuntura a la pràctica clínica com a tractament complementari a la fatiga a la MII. S'haurien de realitzar nous estudis aleatoritzats i controlats amb una major mostra per a confirmar els nostres resultats.

D'altra banda, hi ha una manca de biomarcadors pel diagnòstic de la fatiga a la MII. La valoració de la fatiga és complexa degut a la seva multidimensionalitat i subjectivitat. Han sorgit noves tècniques en el camp de l'espectrometria de masses (EM) i la bioinformàtica que permeten recuperar, caracteritzar i analitzar grans quantitats de dades i identificar metabòlits. Aquesta investigació d'alt rendiment, permet descobrir nous biomarcadors. Entre les diferents molècules que es poden identificar a la EM es troben els metabòlits, proteïnes i lípids.

Diversos estudis han mostrat un perfil lipídomic divers en pacients amb MC i CU (115,116,138,139). El segon estudi pilot, és el primer estudi emprant lipídica en pacients amb MII amb i sense fatiga.

Els resultats del segon estudi indiquen que el perfil lipídomic plasmàtic dels pacients amb MII i fatiga presentaven alteracions significatives, respecte als pacients sense fatiga. Els pacients amb fatiga presentaren nivells disminuïts de fosfatidilcolines, lisofosfatidilcolines, esfingomielines, fosfatidiletanolamines, fosfatidilinositols, fosfatidilserines i eicosanoides.

A més, s'observà alteracions en el metabolisme de l'àcid araquidònic, dels glicerofosfolípids i esfingolípids (ESL), suggerint una associació entre les vies lipídiques i la fatiga i que podria influir en la simptomatologia diversa en la MC i CU (140).

Els ESL són lípids bioactius que contribueixen a la formació de membranes, a la disposició de basses lipídiques i a regular diverses funcions cel·lulars com la senyalització cel·lular, la secreció i l'endocitosi. (141-142) A les malalties inflamatòries, existeix una interacció bidireccional entre els ESL i la producció d'oxidants. Aquesta interacció regula el brot i la propagació de l'estrès oxidatiu. D'una banda, l'augment de les espècies reactives d'oxigen (EOR), la disminució de les defenses antioxidants i l'activació de la òxid nítric sintasa (ONS) o la



NADPH oxidasa poden afavorir la transferència d'ESL complexos en productes hidrolítics bioactius com ceramides, esfingosina i fosfat d'esfingosina-1. D'altra banda, alguns ESL poden alterar el transport d'electrons a nivell mitocondrial, augmentant la producció de EOR (143). Entre els diferents ESL, el metabolisme de l'esfingomielina és interessant perquè les ceramides, els productes hidrolítics directes de l'esfingomielina i l'esfingosina-1-P són importants en la immunitat, la inflamació i els trastorns inflamatoris (144).

La família de l'esfingomielinasa (SMA) és un grup d'enzims que hidrolitzen l'esfingomielina a ceramida i fosfocolina. S'ha descrit un augment de l'activitat esfingomielinasa en resposta a l'estrès oxidatiu i la inflamació. Tenint en compte els efectes de l'activitat oxidant sobre la funció contràctil del múscul esquelètic, els nivells d'ESL poden influir en la força muscular i afavorir la fatiga(145-146). Altres dades reforcen aquesta hipòtesis, ja que s'ha observat que l'exposició de SMA recombinant deprimeix la força isomètrica dels feixos de fibres dels diaframes de models murins (147). Els nostres resultats evidencien una disminució significativa del nivell de SM al grup de fatiga, fet que suggereix que l'activitat de la SMA podria augmentar en aquests pacients, resultant en nivells més alts de ceramides que poden induir estrès oxidatiu i fatiga. La ceramida Cer (d18: 1/24: 1) sembla que augmenta en el grup de fatiga. Les ceramides poden ser sintetitzades per altres vies, incloent la participació de certs microorganismes i citocines. Els bacteris gramnegatius també activen la SMA en els macròfags (148).

La lecitina-colesterol aciltransferasa (LCAT) és una proteïna secretora produïda principalment al fetge. És un enzim responsable de l'esterificació del colesterol a la superfície de les lipoproteïnes, particularment a les lipoproteïnes d'alta densitat (HDL); així com de la síntesi de la majoria dels èsters de colesterol en plasma humà. També és un component crític de la via del transport invers del colesterol des dels teixits perifèrics al fetge per la seva excreció. La SMA també inhibeix de manera fisiològica LCAT. Caldria realitzar un anàlisi quantitatiu addicional de les ceramides, concentracions d'esfingomielina i dels productes derivats de l'estrès oxidatiu per estudiar aquestes hipòtesis.

D'altra banda, a la xarxa d'interacció inferida proteïna-metabòlit s'observà que la proteïna GLTP s'associà a la fatiga. GLTP catalitza la transferència intermembrana de diversos glicoesfingolípid. Actualment, hi ha un debat sobre si GLTP in vivo funciona com a transportador intermembrana dels glicoesfingolípid o com a sensor d'homeòstasi metabòlica dels ESL (149-150). GLTP s'ha descrit que pot regular la homeòstasi dels ESL, observant-se un augment de la síntesis de GlcCer i una disminució de la síntesi d'esfingomieline (151). Aquests resultats recolzen que els nivells d'expressió de GLTP en els pacients fatigats puguin contribuir a l'alteració en el metabolisme dels ESL. També s'ha observat un paper de la GLTP en la mielinització neuronal de ratolins(152). Donat que el grau de mielinització al sistema nerviós s'ha associat a la síndrome de fatiga crònica (153) i que els ESL són components de la mielina; els pacients amb MII i fatiga podrien presentar una alteració en l'expressió de GLTP.

Els glicerofosfolípids són els components principals de les membranes cel·lulars i actuen com a llocs d'unió de proteïnes intracel·lulars i intercel·lulars. Són molècules bioactives en processos de transducció de senyals i un important dipòsit d'energia (154). Diverses malalties cròniques es caracteritzen per un dany oxidatiu i també enzimàtic de la membrana cel·lular, provocant una pèrdua de la funció cel·lular. Per exemple, el dany oxidatiu als fosfolípids de les membranes mitocondrials provoca la pèrdua del potencial transmembrana, del transport d'electrons i la generació de molècules d'alta energia. S'ha observat una alteració dels nivells de glicerofosfolípids en pacients amb MII i síndrome de fatiga crònica a diversos estudis (155). De fet, s'han realitzat assajos clínics amb l'ús de suplementos orals que contenen fosfolípids de membrana i antioxidants, resolent la disfunció mitocondrial i reduint la fatiga dels pacients (156). Aquesta evidència recolza les troballes al nostre estudi on s'observa una associació entre la disminució dels glicerofosfolípids i la fatiga.

L'àcid araquidònic (AA) és un àcid gras poliinsaturat de vint carbonis amb quatre dobles enllaços, present als fosfolípids de les membranes cel·lulars i que els confereix flexibilitat. L'AA representa el 10-20% del contingut de fosfolípids en el múscul esquelètic (157). Els eicosanoids i els isoprostans són molècules

oxigenades bioactives derivades de la peroxidació de l'AA. S'ha observat en diversos estudis un metabolisme anormal de l'AA (158) i nivells elevats d'isoprostans a la orina de pacients amb MII (159). Aquestes molècules són de gran importància en la senyalització cel·lular i el sistema immune. 65 L'AA pot originar-se bé del consum d'aliments que contenen àcid linoleic (omega 6), bé de l'aport endògen de l'anandamina (endocannabinoide) (160). L'AA pot modular la inflamació directament o a través dels eicosanoids. De fet, el dèficit d'AA i d'àcid docosahexaenoic (DHA) pot afectar les membranes cel·lulars, fent que aquestes siguin menys flexibles, pertorbant els receptors de membrana i alterant la senyalització cel·lular. En un estudi previ realitzat en pacients amb síndrome de fatiga crònica s'observa una disminució dels nivells d'AA i de DHA a les cèl·lules sanguínies; indicant una alteració de l'estrès oxidatiu (161).

Al nostre estudi, malgrat no haver detectat l'AA, s'observà una regulació descendent dels eicosanoids als pacients amb fatiga. A més, a la xarxa d'interacció proteïna-metabòlit s'observà que la proteïna ABHD4 s'associà a malaltia. L'ABHD4 és una lisofosfolipasa involucrada en la via metabòlica de síntesis, degradació i oxidació de l'anandamina, aport endògen de l'AA (162). Aquests resultats suggereixen que una expressió alterada de l'ABHD4 als pacients amb MII i fatiga poden afectar l'anandamina i consegüentment els nivells d'AA amb una disminució dels nivells d'eicosanoids (163).

Aquest segon estudi és un estudi exploratori amb resultats preliminars. Malgrat haver emprat una validació creuada per evitar resultats massa optimistes, aquestes hipòtesis s'haurien de validar externament en futurs estudis amb mostres més grans. L'anàlisi del lipidoma és un repte. L'ús de detectors de masses amb tàndem (MS-MS) ens ha permès analitzar un gran nombre de metabòlits en diverses concentracions i propietats químiques diverses. No obstant, sovint no proporciona prou informació per permetre una caracterització precisa de les estructures químiques. A més, hi ha diversos metabòlits rellevants (com l'AA, isoprostans, esfingosines, etc) que no hem pogut detectar pel tipus de processament i baixes concentracions a les mostres. En un futur s'hauran de realitzar nous estudis dirigits a l'anàlisi de lípids concrets per avaluar aquestes hipòtesis.



## 7. CONCLUSIONS

1. L'electroacupuntura pot oferir una milloria de la fatiga en els pacients amb MII quiescent i els seus efectes poden perdurar fins a vuit setmanes després del tractament. Donat que hi ha una manca de tractaments eficaços, poques alternatives i una bona acceptació per part dels pacients, es podria considerar l'ús de l'acupuntura a la pràctica clínica com a tractament complementari a la fatiga a la MII.
2. L'electroacupuntura pot contribuir a la milloria de la qualitat de vida en els pacients amb fatiga i MII quiescent.
3. L'electroacupuntura no millora l'ansietat ni la depressió en els pacients amb MII quiescent i fatiga.
4. Els pacients amb fatiga i MII quiescent presenten un perfil lipidòmic diferent dels pacients sense fatiga. Presenten una disminució dels nivells de fosfatidilcolines, lisofosfatidilcolines, esfingomielines, fosfatidiletanolamines, fosfatidilinositols, fosfatidilserines i eicosanoides, a més d'una desregulació del metabolisme de l'àcid araquidònic, dels glicerofosfolípids i esfingolípids. Diverses proteïnes com l'ABDH4, la GLTP i LCAT interaccionen amb metabòlits en els pacients amb fatiga i MII.
5. L'ús de lipidòmica pot ser un primer pas a ampliar el coneixement de la fatiga en els pacients amb MII.



## **8. LÍNIES DE FUTUR**

Amb els resultats de la present tesis doctoral, les futures línies d'investigació es podrien centrar en els següents escenaris:

- Valorar l'ús de l'electroacupuntura com a tractament complementari en pacients amb fatiga i MII en estudis aleatoritzats i controlats incloent un major nombre de pacients.

- Realitzar nous estudis amb major mida mostral per tal de validar els canvis en el perfil lipídomic dels pacients amb fatiga i MII, a més de realitzar estudis dirigits quantificant els diversos metabòlits associats a fatiga.





## 9. BIBLIOGRAFIA

1. Baumgart DC, Sandborn WJ. Seminar Crohn's disease. *Lancet*. 2012;
2. Sostegni R, Daperno M, Scaglione N, Lavagna A, Rocca R, Pera A. Review article: Crohn's disease: Monitoring disease activity. In: *Alimentary Pharmacology and Therapeutics, Supplement*. 2003.
3. Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, Peyrin-Biroulet L, Colombel J-F. Seminar Ulcerative colitis. *Lancet*. 2017;
4. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott IDR, Bernstein CN, Brant SR, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol*. 2005;
5. Burgmann T, Rawsthorne P, Bernstein CN. Predictors of alternative and complementary medicine use in inflammatory bowel disease: Do measures of conventional health care utilization relate to use? *Am J Gastroenterol*. 2004;
6. Rawsthorne P, Shanahan F. An international survey of the use and attitudes regarding alternative medicine by patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 1999;
7. Opheim R, Hoivik ML, Solberg IC, Moum B. Complementary and alternative medicine in patients with inflammatory bowel disease: The results of a population-based inception cohort study (IBSEN). *J Crohn's Colitis*. 2012;
8. Rawsthorne P, Clara I, Graff LA, Bernstein KI, Carr R, Walker JR, et al. The Manitoba Inflammatory Bowel Disease Cohort Study: A prospective longitudinal evaluation of the use of complementary and alternative medicine services and products. *Gut*. 2012;
9. Cheifetz AS, Gianotti R, Lubert R, Gibson PR. Complementary and Alternative Medicines Used by Patients With Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. 2017;
10. Koning M, Ailabouni R, Gearry RB, Frampton CMA, Barclay ML. Use and predictors of oral complementary and alternative medicine by patients with

- inflammatory bowel disease: A population-based, case-control study. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2013.
11. Mountifield R, Andrews JM, Mikocka-Walus A, Bampton P. Doctor communication quality and Friends' attitudes influence complementary medicine use in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2015;
  12. Langhorst J, Anthonisen IB, Steder-Neukamm U, Lüdtkke R, Spahn G, Michalsen A, et al. Amount of systemic steroid medication is a strong predictor for the use of complementary and alternative medicine in patients with inflammatory bowel disease: Results from a German national survey. *Inflamm Bowel Dis*. 2005;
  13. Fernández A, Barreiro-de Acosta M, Vallejo N, Iglesias M, Carmona A, González-Portela C, et al. Complementary and alternative medicine in inflammatory bowel disease patients: Frequency and risk factors. *Dig Liver Dis*. 2012;
  14. Wong AP, Clark AL, Garnett EA, Acree M, Cohen SA, Ferry GD, et al. Use of complementary medicine in pediatric patients with inflammatory bowel disease: Results from a multicenter survey. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009;
  15. L. L, D.S. R. Review article: Complementary and alternative therapies for inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;
  16. Joos S, Rosemann T, Szecsenyi J, Hahn EG, Willich SN, Brinkhaus B. Use of complementary and alternative medicine in Germany - A survey of patients with inflammatory bowel disease. *BMC Complement Altern Med*. 2006;
  17. Lin SC, Cheifetz AS. The use of complementary and alternative medicine in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol*. 2018;
  18. Napadow V, Makris N, Liu J, Kettner NW, Kwong KK, Hui KKS. Effects of electroacupuncture versus manual acupuncture on the human brain as measured by fMRI. *Hum Brain Mapp*. 2005;
  19. Hsieh CL, Lin JG, Li TC, Chang QY. Changes of pulse rate and skin

- temperature evoked by electroacupuncture stimulation with different frequency on both zusanli acupoints in humans. *Am J Chin Med*. 1999;
20. Deng H, Shen X. The mechanism of moxibustion: Ancient theory and modern research. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2013;
  21. Song G, Fiocchi C, Achkar JP. Acupuncture in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2019;
  22. Ji J, Lu Y, Liu H, Feng H, Zhang F, Wu L, et al. Acupuncture and moxibustion for inflammatory bowel diseases: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2013.
  23. Ji J, Huang Y, Wang XF, Ma Z, Wu HG, Im H, et al. Review of clinical studies of the treatment of ulcerative colitis using acupuncture and moxibustion. *Gastroenterology Research and Practice*. 2016.
  24. Lee DH, Kim JI, Lee MS, Choi TY, Choi SM, Ernst E. Moxibustion for ulcerative colitis: A systematic review and meta-analysis. *BMC Gastroenterol*. 2010;
  25. Joos S, Brinkhaus B, Maluche C, Maupai N, Kohnen R, Kraehmer N, et al. Acupuncture and moxibustion in the treatment of active Crohn's disease: A randomized controlled study. *Digestion*. 2004;
  26. Joos S, Wildau N, Kohnen R, Szecsenyi J, Schuppan D, Willich SN, et al. Acupuncture and moxibustion in the treatment of ulcerative colitis: a randomized controlled study. *Scand J Gastroenterol*. 2006;
  27. Bao CH, Zhao JM, Liu HR, Lu Y, Zhu YF, Shi Y, et al. Randomized controlled trial: Moxibustion and acupuncture for the treatment of Crohn's disease. *World J Gastroenterol*. 2014;
  28. Shang HX, Wang AQ, Bao CH, Wu HG, Chen WF, Wu LY, et al. Moxibustion combined with acupuncture increases tight junction protein expression in Crohn's disease patients. *World J Gastroenterol*. 2015;
  29. Zhao C, Bao C, Li J, Zhu Y, Wang S, Yang L, et al. Moxibustion and Acupuncture Ameliorate Crohn's Disease by Regulating the Balance

- between Th17 and Treg Cells in the Intestinal Mucosa. Evidence-based Complement Altern Med. 2015;
30. Zhou EH, Liu HR, Wu HG, Shi Z, Zhang W, Zhu Y, et al. Down-regulation of protein and mRNA expression of IL-8 and ICAM-1 in colon tissue of ulcerative colitis patients by partition-herb moxibustion. *Dig Dis Sci*. 2009;
  31. Yan J, Zhang H, Chen CT, Yang QY, Liao WF, Chen PG. Effects of electroacupuncture at Shangjuxu (ST 37) on interleukin-1 $\beta$  and interleukin-4 in the ulcerative colitis model rats. *J Tradit Chinese Med*. 2009;
  32. Wu HG, Gong X, Yao LQ, Zhang W, Shi Y, Liu HR, et al. Mechanisms of acupuncture and moxibustion in regulation of epithelial cell apoptosis in rat ulcerative colitis. *World J Gastroenterol*. 2004;
  33. Wu HG, Liu HR, Tan LY, Gong YJ, Shi Y, Zhao TP, et al. Electroacupuncture and moxibustion promote neutrophil apoptosis and improve ulcerative colitis in rats. *Dig Dis Sci*. 2007;
  34. Sartor RB. Microbial Influences in Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. 2008;
  35. Nishida A, Inoue R, Inatomi O, Bamba S, Naito Y, Andoh A. Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Clinical Journal of Gastroenterology*. 2018.
  36. Qi Q, Liu YN, Jin XM, Zhang LS, Wang C, Bao CH, et al. Moxibustion treatment modulates the gut microbiota and immune function in a dextran sulphate sodium-induced colitis rat model. *World J Gastroenterol*. 2018;
  37. Wang XM, Lu Y, Wu LY, Yu SG, Zhao BX, Hu HY, et al. Moxibustion inhibits interleukin-12 and tumor necrosis factor alpha and modulates intestinal flora in rat with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol*. 2012;
  38. Hou TS, Han XX, Yang Y, Zhao JL, Ren YD, Yu SG, et al. [Effect of electroacupuncture intervention on enteric microecology in ulcerative colitis rats]. *Zhen Ci Yan Jiu*. 2014;
  39. Hu S, Du MH, Luo HM, Wang H, Lv Y, Ma L, et al. Electroacupuncture at Zusanli (ST36) prevents intestinal barrier and remote organ dysfunction

- following gut ischemia through activating the cholinergic anti-inflammatory-dependent mechanism. *Evidence-based Complement Altern Med.* 2013;
40. Hu S, Zhao ZK, Liu R, Wang H Bin, Gu CY, Luo HM, et al. Electroacupuncture activates enteric glial cells and protects the gut barrier in hemorrhaged rats. *World J Gastroenterol.* 2015;
  41. Hou T, Xiang H, Yu L, Su W, Shu Y, Li H, et al. Electroacupuncture inhibits visceral pain via adenosine receptors in mice with inflammatory bowel disease. *Purinergic Signal.* 2019;
  42. Zhang F, Wu L, Zhao J, Lv T, Hu Z, Weng Z, et al. Neurobiological Mechanism of Acupuncture for Relieving Visceral Pain of Gastrointestinal Origin. *Gastroenterology Research and Practice.* 2017.
  43. Liao HY, Hsieh CL, Huang CP, Lin YW. Electroacupuncture Attenuates Induction of Inflammatory Pain by Regulating Opioid and Adenosine Pathways in Mice. *Sci Rep.* 2017;
  44. Lathe R. Hormones and the hippocampus. *Journal of Endocrinology.* 2001.
  45. C.H. B, P. L, H.R. L, L.Y. W, Y. S, W.F. C, et al. Alterations in brain grey matter structures in patients with Crohn's disease and their correlation with psychological distress. *J Crohn's Colitis.* 2015;
  46. Bao C, Wang D, Liu P, Shi Y, Jin X, Wu L, et al. Effect of electroacupuncture and moxibustion on brain connectivity in patients with crohn's disease: A resting-state fMRI study. *Front Hum Neurosci.* 2017;
  47. Shen J, Barbera J, Shapiro CM. Distinguishing sleepiness and fatigue: Focus on definition and measurement. *Sleep Medicine Reviews.* 2006.
  48. Artom M, Czuber-Dochan W, Sturt J, Murrells T, Norton C. The contribution of clinical and psychosocial factors to fatigue in 182 patients with inflammatory bowel disease: a cross-sectional study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017;
  49. Villoria A, García V, Dosal A, Moreno L, Montserrat A, Figuerola A, et al. Fatigue in out-patients with inflammatory bowel disease: Prevalence and predictive factors. *PLoS One.* 2017;

50. Bager P, Befrits R, Wikman O, Lindgren S, Moum B, Hjortswang H, et al. Fatigue in out-patients with inflammatory bowel disease is common and multifactorial. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012;
51. Echteld MA, Passchier J, Teunissen S, Claessen S, de Wit R, van der Rijt CCD. Multidimensional fatigue and its correlates in hospitalised advanced cancer patients. *Eur J Cancer.* 2007;
52. Van Langenberg DR, Gibson PR. Systematic review: Fatigue in inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics.* 2010.
53. Minderhoud IM, Oldenburg B, Van Dam PS, Van Berge Henegouwen GP. High prevalence of fatigue in quiescent inflammatory bowel disease is not related to adrenocortical insufficiency. *Am J Gastroenterol.* 2003;
54. Björnsson E, Simren M, Olsson R, Chapman RW. Fatigue in patients with primary sclerosing cholangitis. *Scand J Gastroenterol.* 2004;
55. I.M. M, M. S, B. O. Crohn's disease, fatigue, and infliximab: Is there a role for cytokines in the pathogenesis of fatigue? *World J Gastroenterol.* 2007;
56. Graff LA, Vincent N, Walker JR, Clara I, Carr R, Ediger J, et al. A population-based study of fatigue and sleep difficulties in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;
57. Jelsness-Jørgensen LP, Bernklev T, Henriksen M, Torp R, Moum BA. Chronic fatigue is more prevalent in patients with inflammatory bowel disease than in healthy controls. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;
58. Römkens TEH, van Vugt-van Pinxteren MWJ, Nagengast FM, van Oijen MGH, de Jong DJ. High prevalence of fatigue in inflammatory bowel disease: A case control study. *J Crohn's Colitis.* 2011;
59. Singh S, Blanchard A, Walker JR, Graff LA, Miller N, Bernstein CN. Common Symptoms and Stressors Among Individuals With Inflammatory Bowel Diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2011;
60. Graff LA, Clara I, Walker JR, Lix L, Carr R, Miller N, et al. Changes in Fatigue Over 2 Years Are Associated With Activity of Inflammatory Bowel

- Disease and Psychological Factors. Clin Gastroenterol Hepatol. 2013;
61. Cohen BL, Zoëga H, Shah SA, Leleiko N, Lidofsky S, Bright R, et al. Fatigue is highly associated with poor health-related quality of life, disability and depression in newly-diagnosed patients with inflammatory bowel disease, independent of disease activity. Aliment Pharmacol Ther. 2014;
  62. Van Langenberg DR, Gibson PR. Factors associated with physical and cognitive fatigue in patients with Crohn's disease: A cross-sectional and longitudinal study. Inflamm Bowel Dis. 2014;
  63. Williet N, Sarter H, Gower-Rousseau C, Adrianjafy C, Olympie A, Buisson A, et al. Patient-reported Outcomes in a French Nationwide Survey of Inflammatory Bowel Disease Patients. J Crohns Colitis. 2017;
  64. Aluzaitė K, Al-Mandhari R, Osborne H, Ho C, Williams M, Sullivan M-M, et al. Detailed Multi-Dimensional Assessment of Fatigue in Inflammatory Bowel Disease. Inflamm Intest Dis. 2018;
  65. Jonefjäll B, Simrén M, Lason A, Öhman L, Strid H. Psychological distress, iron deficiency, active disease and female gender are independent risk factors for fatigue in patients with ulcerative colitis. United Eur Gastroenterol J. 2018;
  66. Chavarría C, Casanova MJ, Chaparro M, Barreiro-de Acosta M, Ezquiaga E, Bujanda L, et al. Prevalence and Factors Associated With Fatigue in Patients With Inflammatory Bowel Disease: A Multicentre Study. J Crohn's Colitis. 2019;
  67. Czubier-Dochan W, Ream E, Norton C. Review article: Description and management of fatigue in inflammatory bowel disease. Alimentary Pharmacology and Therapeutics. 2013.
  68. Cella DF, Tulsky DS, Gray G, Sarafian B, Linn E, Bonomi A, et al. The functional assessment of cancer therapy scale: Development and validation of the general measure. J Clin Oncol. 1993;
  69. Hjollund NH, Andersen JH, Bech P. Assessment of fatigue in chronic disease: A bibliographic study of fatigue measurement scales. Health and

Quality of Life Outcomes. 2007.

70. Mendoza TR, Wang XS, Cleeland CS, Morrissey M, Johnson BA, Wendt JK, et al. The rapid assessment of fatigue severity in cancer patients: Use of the brief fatigue inventory. *Cancer*. 1999;
71. Tinsley A, MacKlin EA, Korzenik JR, Sands BE. Validation of the Functional Assessment of Chronic Illness Therapy-Fatigue (FACIT-F) in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;
72. Fisk JD, Ritvo PG, Ross L, Haase DA, Marrie TJ, Schlech WF. Measuring the functional impact of fatigue: Initial validation of the fatigue impact scale. *Clin Infect Dis*. 1994;
73. Chalder T, Berelowitz G, Pawlikowska T, Watts L, Wessely S, Wright D, et al. Development of a fatigue scale. *J Psychosom Res*. 1993;
74. Krupp LB, Larocca NG, Muir Nash J, Steinberg AD. The fatigue severity scale: Application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Arch Neurol*. 1989;
75. Czuber-Dochan W, Norton C, Bassett P, Berliner S, Bredin F, Darvell M, et al. Development and psychometric testing of inflammatory bowel disease fatigue (IBD-F) patient self-assessment scale. *J Crohn's Colitis*. 2014;
76. Smets EMA, Garssen B, Bonke B, De Haes JCJM. The multidimensional Fatigue Inventory (MFI) psychometric qualities of an instrument to assess fatigue. *J Psychosom Res*. 1995;
77. Piper BF, Dibble SL, Dodd MJ, Weiss MC, Slaughter RE, Paul SM. The revised Piper Fatigue Scale: psychometric evaluation in women with breast cancer. *Oncol Nurs Forum*. 1998;
78. Cella D, Eton DT, Lai JS, Peterman AH, Merkel DE. Combining anchor and distribution-based methods to derive minimal clinically important differences on the Functional Assessment of Cancer Therapy (FACT) anemia and fatigue scales. *J Pain Symptom Manage*. 2002;
79. Cella D, Yount S, Sorensen M, Chartash E, Sengupta N, Grober J. Validation of the Functional Assessment of Chronic Illness Therapy Fatigue



- Scale relative to other instrumentation in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2005;
80. Jelsness-Jørgensen LP, Bernklev T, Henriksen M, Torp R, Moum BA. Chronic fatigue is associated with impaired health-related quality of life in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;
  81. Bager P, Vestergaard C, Juul T, Dahlerup JF. Population-based normative data for the inflammatory bowel disease fatigue scale–IBD-F. *Scand J Gastroenterol*. 2018;
  82. Borren NZ, van der Woude CJ, Ananthakrishnan AN. Fatigue in IBD: epidemiology, pathophysiology and management. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2019.
  83. Bower JE, Ganz PA, Irwin MR, Castellon S, Arevalo J, Cole SW. Cytokine genetic variations and fatigue among patients with breast cancer. *J Clin Oncol*. 2013;
  84. Vogelaar L, de Haar C, Aerts BRJ, Peppelenbosch MP, Timman R, Hanssen BE, et al. Fatigue in patients with inflammatory bowel disease is associated with distinct differences in immune parameters. *Clin Exp Gastroenterol*. 2017;
  85. Borren NZ, Goel G, Lassen K, Devaney K, Cleland T, Garber J, et al. Fatigue in Quiescent Inflammatory Bowel Disease is Associated with Low GM-CSF Levels and Metabolomic Alterations. *Gastroenterology*. 2017;
  86. Testa A, Rispo A, Romano M, Riegler G, Selvaggi F, Bottiglieri E, et al. The burden of anaemia in patients with inflammatory bowel diseases. *Dig Liver Dis*. 2016;
  87. Romberg-Camps MJL, Bol Y, Dagnelie PC, Hesselink-Van De Kruijs MAM, Kester ADM, Engels LGJB, et al. Fatigue and health-related quality of life in inflammatory bowel disease: Results from a population-based study in the Netherlands: The IBD-South Limburg cohort. *Inflamm Bowel Dis*. 2010;
  88. Alkhoury RH, Hashmi H, Baker RD, Gelfond D, Baker SS. Vitamin and mineral status in patients with inflammatory bowel disease. *J Pediatr*

- Gastroenterol Nutr. 2013;
89. Frigstad SO, Høivik ML, Jahnsen J, Cvancarova M, Grimstad T, Berset IP, et al. Fatigue is not associated with Vitamin D deficiency in inflammatory bowel disease patients. *World J Gastroenterol*. 2018;
  90. Norton C, Czuber-Dochan W, Bassett P, Berliner S, Bredin F, Darvell M, et al. Assessing fatigue in inflammatory bowel disease: Comparison of three fatigue scales. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;
  91. Huppertz-Hauss G, Høivik ML, Jelsness-Jørgensen LP, Opheim R, Henriksen M, Høie O, et al. Fatigue in a population-based cohort of patients with inflammatory bowel disease 20 years after diagnosis: The IBSEN study. *Scand J Gastroenterol*. 2017;
  92. Vogelaar L, Van Den Berg-Emons R, Bussmann H, Rozenberg R, Timman R, Van Der Woude CJ. Physical fitness and physical activity in fatigued and non-fatigued inflammatory bowel disease patients. *Scand J Gastroenterol*. 2015;
  93. Gatt K, Schembri J, Katsanos KH, Christodoulou D, Karmiris K, Kopylov U, et al. Inflammatory bowel disease [IBD] and physical activity: A study on the impact of diagnosis on the level of exercise amongst patients with IBD. *J Crohn's Colitis*. 2019;
  94. Nagy-Szakal D, Williams BL, Mishra N, Che X, Lee B, Bateman L, et al. Fecal metagenomic profiles in subgroups of patients with myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome. *Microbiome*. 2017;
  95. Maes M, Mihaylova I, Leunis JC. Increased serum IgA and IgM against LPS of enterobacteria in chronic fatigue syndrome (CFS): Indication for the involvement of gram-negative enterobacteria in the etiology of CFS and for the presence of an increased gut-intestinal permeability. *J Affect Disord*. 2007;
  96. Borren NZ, Tan W, Colizzo FP, Luther J, Garber JJ, Khalili H, et al. Longitudinal Trajectory of Fatigue With Initiation of Biologic Therapy in Inflammatory Bowel Diseases: A Prospective Cohort Study. *J Infect Dis*. 2019;

97. Goldenberg BA, Graff LA, Clara I, Zarychanski R, Walker JR, Carr R, et al. Is iron deficiency in the absence of anemia associated with fatigue in inflammatory bowel disease? *Am J Gastroenterol*. 2013;
98. Banovic I, Gilibert D, Cosnes J. Crohn's disease and fatigue: Constancy and co-variations of activity of the disease, depression, anxiety and subjective quality of life. *Psychol Heal Med*. 2010;
99. Lichtenstein GR, Bala M, Han C, DeWoody K, Schaible T. Infliximab improves quality of life in patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2002;
100. Loftus E V., Feagan BG, Colombel JF, Rubin DT, Wu EQ, Yu AP, et al. Effects of adalimumab maintenance therapy on health-related quality of life of patients with Crohn's disease: Patient-reported outcomes of the CHARM trial. *Am J Gastroenterol*. 2008;
101. García-Vega E, Fernandez-Rodriguez C. A stress management programme for Crohn's disease. *Behav Res Ther*. 2004;
102. Vogelaar L, Van't Spijker A, Timman R, Van Tilburg AJP, Bac DJ, Vogelaar T, et al. Fatigue management in patients with IBD: A randomised controlled trial. *Gut*. 2014;
103. Tew GA, Leighton D, Carpenter R, Anderson S, Langmead L, Ramage J, et al. High-intensity interval training and moderate-intensity continuous training in adults with Crohn's disease: A pilot randomised controlled trial. *BMC Gastroenterol*. 2019;
104. Chan D, Robbins H, Rogers S, Clark S, Poullis A. Inflammatory bowel disease and exercise: results of a Crohn's and Colitis UK survey. *Frontline Gastroenterol*. 2014;
105. Zhan Y le, Zhan Y an, Dai S xue. Is a low FODMAP diet beneficial for patients with inflammatory bowel disease? A meta-analysis and systematic review. *Clin Nutr*. 2018;
106. Sullivan Å, Nord CE, Evengård B. Effect of supplement with lactic-acid producing bacteria on fatigue and physical activity in patients with chronic

- fatigue syndrome. *Nutr J*. 2009;
107. Singh PK, Chopra K, Kuhad A, Kaur IP. Role of *Lactobacillus acidophilus* loaded floating beads in chronic fatigue syndrome: Behavioral and biochemical evidences. *Neurogastroenterol Motil*. 2012;
  108. Scholten AM, Vermeulen E, Dhonukshe-Rutten RAM, Verhagen T, Visscher A, Olivier A, et al. Surplus vitamin B12 use does not reduce fatigue in patients with Irritable Bowel Syndrome or inflammatory bowel disease: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Clin Nutr ESPEN*. 2018;
  109. Bager P, Hvas CL, Rud CL, Dahlerup JF. Randomised clinical trial: high-dose oral thiamine versus placebo for chronic fatigue in patients with quiescent inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2020;
  110. Mikocka-Walus A, Prady SL, Pollok J, Esterman AJ, Gordon AL, Knowles S, et al. Adjuvant therapy with antidepressants for the management of inflammatory bowel disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;
  111. Salaritabar A, Darvishi B, HadjiakhoonDi F, Manayi A, Sureda A, Nabavi SF, et al. Therapeutic potential of flavonoids in inflammatory bowel Disease: A comprehensive review. *World Journal of Gastroenterology*. 2017.
  112. Therkelsen SP, Hetland G, Lyberg T, Lygren I, Johnson E. Effect of the Medicinal *Agaricus blazei* Murill-Based Mushroom Extract, AndoSan™, on Symptoms, Fatigue and Quality of Life in Patients with Crohn's Disease in a Randomized Single-Blinded Placebo Controlled Study. *PLoS One*. 2016;
  113. Dawiskiba T, Deja S, Mulak A, Zabek A, Jawień E, Pawełka D, et al. Serum and urine metabolomic fingerprinting in diagnostics of inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol*. 2014;20(1):163–74.
  114. Idle JR, Gonzalez FJ. *Metabolomics*. Cell Metabolism. 2007.
  115. Fan F, Mundra PA, Fang L, Galvin A, Moore XL, Weir JM, et al. Lipidomic profiling in inflammatory bowel disease: Comparison between ulcerative colitis and Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2015;

116. Guan S, Jia B, Chao K, Zhu X, Tang J, Li M, et al. UPLC-QTOF-MS-Based Plasma Lipidomic Profiling Reveals Biomarkers for Inflammatory Bowel Disease Diagnosis. *J Proteome Res.* 2020;
117. Iwatani S, Iijima H, Otake Y, Amano T, Tani M, Yoshihara T, et al. Novel mass spectrometry-based comprehensive lipidomic analysis of plasma from patients with inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2020;
118. Diab J, Hansen T, Goll R, Stenlund H, Ahnlund M, Jensen E, et al. Lipidomics in Ulcerative Colitis Reveal Alteration in Mucosal Lipid Composition Associated with the Disease State. *Inflamm Bowel Dis.* 2019;
119. Bazarganipour S, Hausmann J, Oertel S, El-Hindi K, Brachtendorf S, Blumenstein I, et al. The Lipid Status in Patients with Ulcerative Colitis: Sphingolipids are Disease-Dependent Regulated. *J Clin Med.* 2019;
120. Diab J, Al-Mahdi R, Gouveia-Figueira S, Hansen T, Jensen E, Goll R, et al. A Quantitative Analysis of Colonic Mucosal Oxylipins and Endocannabinoids in Treatment-Naïve and Deep Remission Ulcerative Colitis Patients and the Potential Link with Cytokine Gene Expression. *Inflamm Bowel Dis.* 2019;
121. Masoodi M, Pearl DS, Eiden M, Shute JK, Brown JF, Calder PC, et al. Altered Colonic Mucosal Polyunsaturated Fatty Acid (PUFA) Derived Lipid Mediators in Ulcerative Colitis: New Insight into Relationship with Disease Activity and Pathophysiology. *PLoS One.* 2013;
122. Eehalt R, Wagenblast J, Erben G, Lehmann WD, Hinz U, Merle U, et al. Phosphatidylcholine and lysophosphatidylcholine in intestinal mucus of ulcerative colitis patients. A quantitative approach by nanoelectrospray-tandem mass spectrometry. *Scand J Gastroenterol.* 2004;
123. Braun A, Treede I, Gotthardt D, Tietje A, Zahn A, Ruhwald R, et al. Alterations of phospholipid concentration and species composition of the intestinal mucus barrier in ulcerative colitis: A clue to pathogenesis. *Inflamm Bowel Dis.* 2009;
124. Santoru ML, Piras C, Murgia A, Palmas V, Camboni T, Liggi S, et al. Cross

- sectional evaluation of the gut-microbiome metabolome axis in an Italian cohort of IBD patients. *Sci Rep*. 2017;
125. Scoville EA, Allaman MM, Brown CT, Motley AK, Horst SN, Williams CS, et al. Alterations in lipid, amino acid, and energy metabolism distinguish Crohn's disease from ulcerative colitis and control subjects by serum metabolomic profiling. *Metabolomics*. 2018;
  126. Murgia A, Hinz C, Liggi S, Denes J, Hall Z, West J, et al. Italian cohort of patients affected by inflammatory bowel disease is characterised by variation in glycerophospholipid, free fatty acids and amino acid levels. *Metabolomics*. 2018;
  127. Smilde AK, Jansen JJ, Hoefsloot HCJ, Lamers RJAN, van der Greef J, Timmerman ME. ANOVA-simultaneous component analysis (ASCA): A new tool for analyzing designed metabolomics data. *Bioinformatics*. 2005;
  128. Smit S, van Breemen MJ, Hoefsloot HCJ, Smilde AK, Aerts JMFG, de Koster CG. Assessing the statistical validity of proteomics based biomarkers. *Anal Chim Acta*. 2007;
  129. Rubingh CM, Bijlsma S, Derks EPPA, Bobeldijk I, Verheij ER, Kochhar S, et al. Assessing the performance of statistical validation tools for megavariable metabolomics data. *Metabolomics*. 2006;
  130. Saccenti E, Hoefsloot HCJ, Smilde AK, Westerhuis JA, Hendriks MMWB. Reflections on univariate and multivariate analysis of metabolomics data. *Metabolomics*. 2014.
  131. Bijlsma S, Bobeldijk I, Verheij ER, Ramaker R, Kochhar S, Macdonald IA, et al. Large-scale human metabolomics studies: A strategy for data (pre-) processing and validation. *Anal Chem*. 2006;
  132. Pirhaji L, Milani P, Leidl M, Curran T, Avila-Pacheco J, Clish CB, et al. Revealing disease-associated pathways by network integration of untargeted metabolomics. *Nat Methods*. 2016;
  133. Tian L, Huang YX, Tian M, Gao W, Chang Q. Downregulation of electroacupuncture at ST36 on TNF- $\alpha$  in rats with ulcerative colitis. *World*

- J Gastroenterol. 2003;
134. De Macedo Goes ACA, Pinto FMM, Fernandes GC, Barbosa JS, Correia ES, Ribeiro RA, et al. Electroacupuncture ameliorates experimental colitis induced by TNBS through activation of interleukin-10 and inhibition of iNOS in mice. *Acta Cir Bras.* 2014;
  135. Zhu D, Gao Y, Chang J, Kong J. Placebo acupuncture devices: Considerations for acupuncture research. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine.* 2013.
  136. Chaput de Saintonge DM, Herxheimer A. Harnessing placebo effects in health care. *Lancet.* 1994;
  137. Haake M, Müller HH, Schade-Brittinger C, Basler HD, Schäfer H, Maier C, et al. German Acupuncture Trials (GERAC) for chronic low back pain: Randomized, multicenter, blinded, parallel-group trial with 3 groups. *Arch Intern Med.* 2007;
  138. Tefas C, Ciobanu L, Tanțău M, Moraru C, Socaciu C. The potential of metabolic and lipid profiling in inflammatory bowel diseases: A pilot study. *Bosn J Basic Med Sci.* 2020;
  139. Tefas C, Socaciu C, Moraru C, Tanțău M. Lipidomic signatures of colonic inflammatory bowel diseases: A pilot study. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases.* 2019.
  140. Clark JE, Fai Ng W, Watson S, Newton JL. The aetiopathogenesis of fatigue: Unpredictable, complex and persistent. *Br Med Bull.* 2016;
  141. Simons K, Van Meer G. Lipid Sorting in Epithelial Cells. *Biochemistry.* 1988;
  142. Ogretmen B, Hannun YA. Biologically active sphingolipids in cancer pathogenesis and treatment. *Nature Reviews Cancer.* 2004.
  143. Nikolova-Karakashian MN, Reid MB. Sphingolipid metabolism, oxidant signaling, and contractile function of skeletal muscle. *Antioxidants and Redox Signaling.* 2011.

144. MacEyka M, Spiegel S. Sphingolipid metabolites in inflammatory disease. *Nature*. 2014.
145. Kobzik L, Reid MB, Bredt DS, Stamler JS. Nitric oxide in skeletal muscle. *Nature*. 1994;
146. Reid MB, Khawli FA, Moody MR. Reactive oxygen in skeletal muscle. III. Contractility of unfatigued muscle. *J Appl Physiol*. 1993;
147. Ferreira LF, Moylan JS, Gilliam LAA, Smith JD, Nikolova-Karakashian M, Reid MB. Sphingomyelinase stimulates oxidant signaling to weaken skeletal muscle and promote fatigue. *Am J Physiol - Cell Physiol*. 2010;
148. Bryan PF, Karla C, Edgar Alejandro MT, Sara Elva EP, Gemma F, Luz C. Sphingolipids as Mediators in the Crosstalk between Microbiota and Intestinal Cells: Implications for Inflammatory Bowel Disease. *Mediators of Inflammation*. 2016.
149. Brown RE, Mattjus P. Glycolipid transfer proteins. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2007.
150. Kjellberg MA, Mattjus P. Glycolipid Transfer Protein Expression Is Affected by Glycosphingolipid Synthesis. *PLoS One*. 2013;
151. Tuuf J, Mattjus P. Human glycolipid transfer protein-Intracellular localization and effects on the sphingolipid synthesis. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids*. 2007;
152. Yang F, Guan Y, Feng X, Rolfs A, Schlüter H, Luo J. Proteomics of the corpus callosum to identify novel factors involved in hypomyelinated Niemann-Pick Type C disease mice. *Mol Brain*. 2019;
153. Barnden LR, Crouch B, Kwiatek R, Burnet R, Del Fante P. Evidence in chronic fatigue syndrome for severity-dependent upregulation of prefrontal myelination that is independent of anxiety and depression. *NMR Biomed*. 2015;
154. Van Meer G, Voelker DR, Feigenson GW. Membrane lipids: Where they are and how they behave. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2008.



155. Germain A, Ruppert D, Levine SM, Hanson MR. Metabolic profiling of a myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome discovery cohort reveals disturbances in fatty acid and lipid metabolism. *Mol Biosyst.* 2017;
156. Nicolson GL, Ash ME. Lipid Replacement Therapy: A natural medicine approach to replacing damaged lipids in cellular membranes and organelles and restoring function. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes.* 2014.
157. Smith GI, Atherton P, Reeds DN, Mohammed BS, Rankin D, Rennie MJ, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids augment the muscle protein anabolic response to hyperinsulinaemia-hyperaminoacidaemia in healthy young and middle-aged men and women. *Clin Sci.* 2011;
158. Stenson WF. The universe of arachidonic acid metabolites in inflammatory bowel disease: Can we tell the good from the bad? *Current Opinion in Gastroenterology.* 2014.
159. Cracowski JL, Bonaz B, Bessard G, Bessard J, Anglade C, Fournet J. Increased urinary F2-isoprostanes in patients with Crohn's disease. *Am J Gastroenterol.* 2002;
160. Brash AR. Arachidonic acid as a bioactive molecule. *Journal of Clinical Investigation.* 2001.
161. Liu Z, Wang D, Xue Q, Chen J, Li Y, Bai X, et al. Determination of fatty acid levels in erythrocyte membranes of patients with chronic fatigue syndrome. *Nutr Neurosci.* 2003;
162. Lee HC, Simon GM, Cravatt BF. ABHD4 regulates multiple classes of N - acyl phospholipids in the mammalian central nervous system. *Biochemistry.* 2015;
163. Maccarrone M. Metabolism of the endocannabinoid anandamide: Open questions after 25 years. *Frontiers in Molecular Neuroscience.* 2017.

