



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

SECRETARÍA DE SALUD DEL DISTRITO FEDERAL
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN MEDICINA INTERNA

**“ Concordancia entre Marcadores Séricos y la Fibrosis Hepática
en Pacientes con Enfermedad Hepática Crónica ”**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA
PRESENTADO POR JUAN ANTONIO SUÁREZ CUENCA
PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA**

DIRECTOR DE TESIS

Dra. Nayeli Gabriela. Jiménez Saab

ASESORES DE TESIS

**Dr. Gerardo Sánchez Hernández
Dr. Roberto Espinosa Soriano
Dr. Rolando Efraín Hernández Muñoz**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatorias y Agradecimientos

A Yeli por todos los momentos que te robé, y que no puedo regresarte pero si compensarte.

Por todos los días que luchaste por nuestros dos retoños y yo no estuve contigo, con nosotros, con ustedes ; solamente al otro lado del teléfono.

Por ser una excelente mujer que nunca, o casi nunca, me reprocha mi dispersión.

Puedes estar segura de que ha valido el esfuerzo, y por eso dedico a ti este trabajo por ser artífice de su feliz culminación y de los estudios que lo respaldan.

Muchas gracias Yeli, sin tu cariño mi historia sería distinta.

Tabla de contenido

Portada

Índice

Introducción

Hipótesis

Objetivos

Material y métodos

Diseño

Resultados

Discusión

Conclusiones

Referencias bibliográficas

Anexos

Palabras clave: Marcadores séricos, enfermedad hepática crónica, fibrosis hepática, diagnóstico no invasivo.

Resumen

La presencia de progresión fibrótica en el daño hepático crónico se interpreta como una condición más severa de la enfermedad y peor pronóstico por sus complicaciones. La determinación de marcadores séricos es una alternativa no invasiva para estimar la presencia de fibrosis hepática en el paciente con hepatopatía crónica. En este trabajo se incluyó a 100 pacientes: 40 pacientes con fibrosis hepática leve-moderada, 40 pacientes con fibrosis hepática severa y 20 controles sanos. La etiología del daño hepático crónico fue heterogénea. Se determinó la concordancia de los marcadores séricos: índice de Forns, índice edad/plaquetas, calificación discriminante de cirrosis e índice APRI ($[(AST / \text{límite normal alto}) / \text{Plaquetas}] \times 100$), con la fibrosis hepática demostrada histológicamente, así como su relación con la evolución clínica hospitalaria. Se encontró que los marcadores séricos mostraron una concordancia débil con la presencia de fibrosis hepática demostrada histológicamente ($\kappa < 0.3$, índice de Forns e índice Edad / Plaquetas). Sin embargo, al utilizar valores de corte ajustados para la población estudiada e integrar la información de otras evaluaciones no invasivas, la correlación de los marcadores con la fibrosis hepática se incrementó discretamente ($\kappa > 0.4$), y adquirió significado clínico respecto a las complicaciones y pronóstico hospitalario, superando a la calificación de Child-Pugh en este último aspecto. Los resultados de este estudio sugieren la necesidad de evaluar nuevos marcadores no invasivos, adecuados para población y etiologías específicas de daño hepático.

Palabras clave: Marcadores séricos, enfermedad hepática crónica, fibrosis hepática, diagnóstico no invasivo.

Introducción

Antecedentes

El hígado es la glándula más grande con la que cuenta el organismo, con un peso promedio en el adulto es de 1800 gramos en el hombre, y 1400 gramos en la mujer; constituyendo de 1.8% a 3.1% del peso corporal en la mayoría de los individuos. Entre sus principales funciones se encuentran la regulación del metabolismo de carbohidratos, lípidos, proteínas y la eliminación de sustancias tóxicas. El parénquima hepático está formado por distintas poblaciones celulares que proveen las características morfológicas y funcionales únicas de este órgano. Los hepatocitos constituyen un 70%-80% de todas las células. Las células estelares hepáticas (también conocidas como lipocitos, células de Ito o células de almacén lipídico) no son tan abundantes en número; sin embargo, tienen un papel clave en la regulación de la matriz extracelular. Las poblaciones restantes se forman por células de Kupffer, células endoteliales, células del epitelio biliar, células ovas y células de Pitt (1).

El resto del tejido libre de células, constituye aproximadamente el 20% del volumen hepático y está constituido por la matriz extracelular. Este componente hepático es una estructura biológica compleja y no sólo un esqueleto físico, ya que modula procesos como la adhesión celular, migración, diferenciación, reparación y desarrollo; actuando como un agonista de fase sólida, y cuyas proteínas interactúan con receptores celulares o secuestran y liberan citocinas, por lo que el daño tisular puede inducir su liberación. Este evento puede ser la señal inicial para el proceso de reparación del tejido, antes de la activación de las células en el hígado y/o la llegada de células inflamatorias (2). La proteína más abundante de la matriz extracelular es la colágena, constituyendo el 25-30% de todas las proteínas matriciales, y su cantidad en el hígado es de 5.5 ± 1.6 mg / gr de tejido hepático. Podemos encontrar colágenas en sus variedades genéticas I (33%), III (33%), V (7-10%), y las colágenas no fibrilares (tipo membrana basal) IV, VI y XIV (1-2%). Además de la colágena, también podemos encontrar componentes no colagénicos como fibronectina, laminina, elastina, proteoglicanos, glucosaminoglucanos, agua y minerales (3)

Un punto crucial dentro del proceso de la fibrogénesis hepática es el equilibrio entre el depósito de la matriz extracelular y su retiro. De hecho, el metabolismo de la matriz extracelular es un proceso muy dinámico, influenciado por factores que contribuyen a su producción y otros que regulan su degradación.

Para entender mejor los mecanismos fisiológicos que mantienen la estructura y función del hígado, se puede considerar a este órgano como un microambiente, en el que cada población celular o componente de la matriz extracelular, son elementos importantes que se mantienen constantes e interactúan para alcanzar la homeostasis; logrando la conservación morfológica y funcional del tejido hepático. Además los metabolitos, citocinas, y factores de crecimiento producidos en el hígado y fuera de él, regulan la expresión de genes, controlan la proliferación celular y el metabolismo de la matriz extracelular, siendo eventos locales los responsables de la regulación final del ecosistema, y en menor medida los eventos sistémicos (1-3).

Este microambiente cuenta con mecanismos homeostáticos que restauran la estructura y función del tejido hepático en presencia de estímulos nocivos que la amenacen. Es decir, en caso de que algún(os) estímulo(s) cause(n) el desequilibrio de metabolitos, citocinas y factores de crecimiento que mantienen el microambiente; afectando así la comunicación célula-célula o célula-matriz, y promoviendo la instauración de un nuevo estado adaptativo en todo el órgano (4).

La respuesta hepática adaptativa puede clasificarse en dos categorías principales: 1) aquella que previene mayor daño ocasionado por el estímulo nocivo y 2) aquella que promueve la división celular y la curación del tejido después de la lesión. La respuesta es diferente dependiendo del estímulo o daño, aunque los factores que determinan dichas respuestas no están bien esclarecidos en la actualidad. Frente a una lesión aguda, intensa o que destruya muchas células; la disminución de la capacidad funcional del hígado, las citocinas y factores de crecimiento, inducirán la regeneración hepática.

Sin embargo, el daño pequeño, repetitivo y crónico provoca la pérdida de la homeostasis, y que los mecanismos para restaurarla sean insuficientes, conduciendo a la fibrosis o cirrosis observables en el hígado enfermo. En la mayoría de los casos de fibrosis progresiva y cirrosis es posible observar una combinación ambas respuestas.

La naturaleza del estímulo dañino (genético, metabólico, infeccioso, inmunológico, colestásico, alcohólico o inducido por tóxicos), así como la intensidad y duración del estímulo (meses o años) son factores determinantes de fibrosis hepática. Además, las características genotípicas y fenotípicas del individuo también influyen en la respuesta fibrógena (3,5)

Los mecanismos que originan el depósito anormalmente excesivo de matriz extracelular son variados, encontrando como características más o menos constantes las siguientes: 1) daño tisular que frecuentemente se debe a estrés oxidativo, 2) activación y movilización de células inflamatorias que liberan citocinas reguladoras de la respuesta pro-fibrógena como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF beta1), el factor de crecimiento epidermoide (EGF), el factor de crecimiento fibroblástico (FGF) endotelina-1 (ET-1) y factores quimiotácticos de células inflamatorias, 3) activación y proliferación de células efectoras conocidas como “células estelares hepáticas” en respuesta a las citocinas, incrementando la biosíntesis de colágena y al mismo tiempo producen otras citocinas que amplifican la respuesta, y 4) la liberación de colagenasas y su regulación por inhibidores específicos, cuya interacción contribuye a los procesos de progresión de la fibrosis hepática, al inducir la remodelación de la matriz extracelular (6).

Cabe señalar que el proceso fibrógeno también puede activarse en ausencia de inflamación evidente; esto es, mediante la alteración de la homeostasis, ya que varias poblaciones celulares hepáticas se ven dañadas, lo cual provoca un desequilibrio en las citocinas, factores de crecimiento, y metabolitos.

De forma similar, la acumulación de metales como el hierro o el cobre pueden alterar el equilibrio ecológico, explicando así que enfermedades como la hemocromatosis y la enfermedad de Wilson puedan conducir a cirrosis en ausencia de daño hepatocelular evidente (7).

La fisiopatología de la fibrosis hepática está relacionada a la etiología de daño hepático subyacente. Por ejemplo, los mecanismos patogénicos que actúan en el daño hepático por alcohol involucran el desarrollo de hígado graso, la liberación de citocinas mediadas por la endotoxemia portal resultante de la permeabilidad intestinal incrementada, el estrés oxidativo derivado del metabolismo del etanol, y la activación de las células de Kupffer y producción de TNF alfa. El resultado es la activación de las células estelares hepáticas que aumentan las señales fibrogénicas e inflamatorias (8,9).

Tradicionalmente se ha descrito a la fibrosis hepática como un proceso patológico progresivo que involucra múltiples eventos celulares y moleculares, que culminan en el depósito excesivo de proteínas en la matriz extracelular. Cuando este proceso se combina con una regeneración y reparación poco eficientes, hay una mayor distorsión de la arquitectura hepática y el resultado final es la cirrosis (10). En la fibrosis hepática se observa un aumento de tres a cinco veces en los componentes colagénicos y no colagénicos de la matriz, llegando a contener hasta seis veces más colágena y proteoglicanos que en el órgano sano, y hasta diez ó más veces en la cirrosis. Se ha observado una tasa elevada de síntesis de colágena, debido en parte a un incremento en la actividad de la enzima prolil-hidroxilasa, y una disminución de la enzima prolil-oxidasa, que favorecen o disminuyen respectivamente la disponibilidad de prolina, que es necesaria para la producción de esta proteína.

Además, ocurre un desequilibrio en el tipo colágena depositada, cambiando la de tipo membrana basal (no fibrilar), por una de tipo intersticial (fibrilar). Predomina la producción de colágena tipo I, seguida por las de tipo III, IV y V. También adquieren una distribución distinta. Dentro de los componentes no colagénicos, los incrementos involucran principalmente a proteoglicanos y glucoproteínas como fibronectina, laminina y tenascina.

Paralelamente al aumento en la producción de componentes de matriz extracelular, existe una inhibición de los mecanismos de degradación que se asocia a una progresión de la fibrosis (7,11).

El desarrollo de la fibrosis hepática es un proceso secuencial que inicia desde la fibrosis mínima que se limita al espacio porta, y continúa hacia una fibrosis más extensa con septos que se expanden al parénquima hepático y que pueden formar puentes entre dos espacios porta.

Finalmente, esta evolución termina en la formación de nódulos cirróticos completos. Este tipo de progresión puede tomar años o décadas para desarrollarse completamente; es por ello que en los pacientes con daño hepático crónico, la definición precisa de la etapa de fibrosis hepática es el parámetro más importante para evaluar el riesgo de progresión. Esto es particularmente cierto para aquellos pacientes con enfermedad de hígado graso por consumo de alcohol, o independiente de alcohol y hepatitis virales crónicas, quienes se mantienen en una fase compensada y no tienen datos clínicos o de laboratorio de cirrosis hepática (12).

En cuanto a la capacidad funcional del hígado cirrótico, la adaptación a su nuevo metabolismo ocasiona que varias pruebas de funcionamiento hepático resulten alteradas respecto al hígado sano. Un ejemplo es la disminución de la función mitocondrial debido en parte al bajo número de mitocondrias, la alteración de su metabolismo, y la depresión del estado energético. Otra función afectada en el hígado cirrótico es la detoxificación, estudiada a través del verde de indocianina y aminopirina. Además, varias vías metabólicas se ven alteradas, lo cual se refleja en signos como hipoglicemia, hipoalbuminemia, hipocolesterolemia, fluctuaciones en el nivel sérico de aminotransferasas, y en procesos patológicos como la disminución de capacidad regenerativa del hígado cirrótico (13-15).

En general, la enfermedad hepática crónica y cirrosis son causas importantes de morbilidad y mortalidad, con una prevalencia mundial de 200 millones de casos, y se estima un incremento progresivo hasta triplicar su valor en el año 2020 (16).

La epidemiología de la cirrosis hepática presenta diferencias significativas dependiendo del sexo, grupo étnico y situación geográfica.

En el 2005 se estimó que en México hubo una prevalencia de 1.023% de pacientes con enfermedad hepática crónica y cirrosis, calculando que 1,055,162 enfermos eran individuos de ambos sexos mayores de 25 años, con una mortalidad en población general de 5.7% estimada durante el año inmediato anterior, ubicándose dentro de las cinco primeras causas de mortalidad que mostraba un pico de frecuencia entre los 35 y 55 años de edad (17), por lo que se considera un problema de salud pública a nivel nacional y mundial (18).

Algunas de las complicaciones que presentan los pacientes con enfermedad hepática y cirrosis son insuficiencia hepática crónica acompañada de ascitis (81%), hemorragia de tubo digestivo (15 a 68%), encefalopatía hepática (37%) e ictericia (33%). Frecuentemente, estas complicaciones son causa de ingreso en los hospitales del país, y tienen efecto negativo en la sobrevida de los pacientes (3-7), además de generar altos costos hospitalarios (19-21). De acuerdo a su historia natural, la enfermedad hepática crónica se acompaña del riesgo siempre latente de desarrollar fibrosis hepática que puede progresar hacia cirrosis, lo que complica la evolución de los pacientes con daño hepático crónico. Por ejemplo, dado que el grado de fibrosis hepática se relaciona con la severidad de la hipertensión portal (22), los pacientes cirróticos frecuentemente se someten a endoscopia para detectar tempranamente várices esofágicas, que son críticas para la prevención de la hemorragia variceal (23), y su demostración se considera necesaria para hacer recomendaciones preventivas o establecer un manejo más agresivo de la progresión fibrótica (24).

Dentro de un concepto dinámico de la enfermedad, la presencia de fibrosis se debe interpretar como la progresión del daño hepático, que denota un peor pronóstico. En este respecto, se conoce que los pacientes con antecedentes de etilismo crónico desarrollan fibrosis a largo plazo; sin embargo, 10-20% de ellos desarrollan fibrosis rápidamente progresiva, lo cual traduce un daño hepático acelerado y mayor riesgo de mortalidad debido a complicaciones de origen hepático.

Por esta razón, el clínico requiere información precisa del grado de fibrosis hepática ya que se ha propuesto como un parámetro primordial que permite evaluar el carácter progresivo de la enfermedad, la clasificación del riesgo, la estimación del pronóstico, y es de utilidad en la elección de la terapéutica más adecuada para cada paciente (12).

En la clínica, se observa cierta correlación entre las manifestaciones de insuficiencia hepática crónica y la presencia de fibrosis; sin embargo, dicha asociación puede ser confusa en algunos casos. De acuerdo a las series reportadas, hasta un tercio de pacientes con cirrosis hepática pueden cursar sin datos clínicos evidentes de insuficiencia hepática, limitando la demostración de fibrosis a la realización de biopsia hepática (25).

También se han utilizado algunas clasificaciones pronósticas de severidad y mortalidad en pacientes con insuficiencia hepática crónica (p. ej. clasificación de Child-Pugh y clasificación del Modelo de Estadio Final de Enfermedad Hepática "MELD score" (por sus siglas en inglés); sin embargo, no es posible predecir el riesgo que tiene un paciente de progresar hacia fibrosis hepática (24) o presentar complicaciones por insuficiencia hepática crónica a partir de la utilización de estas clasificaciones (26).

El análisis histológico por biopsia hepática es el estándar de oro para determinar fibrosis hepática (24). En la práctica clínica las indicaciones de biopsia hepática son: a) situaciones clínicas complejas o hallazgos anormales en pruebas de función hepática sin diagnóstico establecido, b) seguimiento de pacientes con enfermedad hepática crónica, c) evaluación de pacientes con hepatitis B o C (presencia de fibrosis, actividad inflamatoria, respuesta a tratamiento, etc.), d) ictericia inexplicable o presencia de lesiones focales, e) descompensación del paciente con hepatopatía y f) seguimiento de pacientes trasplantados.

Las patologías que con mayor frecuencia llevan a la realización de biopsia hepática son: hepatopatía por alcohol y virus de la hepatitis B y C, tumores hepáticos primarios o metastásicos, problemas metabólicos como hiperlipidemia, diabetes mellitus y obesidad. En un trabajo de investigación nacional, los pacientes con hepatitis alcohólica y cirrosis hepática por alcohol representaron 18.3% (27).

En pacientes con enfermedad hepática crónica la biopsia contribuye a precisar el diagnóstico sobre la base de datos clínicos y de laboratorio. Este grupo de pacientes constituye el 38% de los casos en los que se indica biopsia hepática seguido por cáncer metastásico 34%, enfermedad hepática aguda 13% y hepatocarcinoma 3%.

La biopsia hepática es un método invasivo relativamente seguro, que a nivel nacional e internacional se realiza de forma más o menos rutinaria en los servicios de Medicina Interna y Gastroenterología (28,29) ya sea con el paciente hospitalizado o de forma ambulatoria. De acuerdo a series nacionales, las complicaciones se presentan en el 0.5%-1.4%, y la gran mayoría se resuelven mediante la administración de analgésicos a dosis bajas, y en muy pocos casos (0.55%) se presentan hemorragias menores que no ameritan intervención quirúrgica. La elección de la técnica para biopsia se realiza sobre la base del estado de coagulación del paciente, presencia de ascitis, cirrosis hepática o de lesiones ocupativas.

La utilización de sedación, anestesia local, tipo de aguja (Tru-cut o Menghini) y su realización guiada por ultrasonido son medidas que se utilizan para disminuir el dolor y las complicaciones del procedimiento, además no se han reportado complicaciones fatales (27).

Basados en los datos histológicos obtenidos en la biopsia, se han propuesto varios sistemas de calificación para evaluar la actividad inflamatoria, así como la cantidad y tipo de fibrosis en el hígado, como el índice de Knodell (1981), la calificación de Ishak (1994) y el sistema de calificación de METAVIR (1994).

Estos sistemas de calificación se evalúan 4 parámetros: necrosis periportal, daño al parénquima, inflamación portal y fibrosis. Sin embargo, se ha observado que algunos grados de fibrosis no es conveniente utilizarlos como un método de rutina para el diagnóstico, evaluación y supervisión de la enfermedad en la práctica clínica (12).

Sin embargo este procedimiento diagnóstico también presenta algunas limitaciones en la práctica clínica como la necesidad de personal técnicamente entrenado para tomar la biopsia, y su limitada capacidad para evaluar progresión fibrótica, ya que la biopsia hepática solamente proporciona una imagen estática de la arquitectura hepática dentro de un proceso dinámico como es el daño hepático crónico (30).

Actualmente, una alternativa atractiva a la biopsia hepática es la estimación no invasiva del daño hepático, fibrosis y complicaciones hepáticas. Los estudios de imagen constituyen un método para estimar la extensión de la fibrosis hepática.

Estos incluyen a) la elastografía transitoria, que se basa en el ultrasonido y ondas elásticas de baja frecuencia y amplitud, cuya velocidad de propagación se relaciona directamente con la elasticidad tisular, b) resonancia magnética nuclear espectroscópica, que mediante el uso de P^{31} permite detectar la concentración de metabolitos activos que se correlacionan con el estadio de fibrosis hepática, y c) análisis óptico de imágenes de tomografía computada, que mediante un software de visualización interpolada aplicado a imágenes del hígado sin contraste en escala monótona es capaz de discriminar 5 grados de fibrosis, dibuja un mapa de distribución de la fibrosis y calcula la media ponderada. Estos métodos implican altos gastos económicos y su precisión diagnóstica es similar a la de otras estimaciones no invasivas de fibrosis hepática.

En la última década, se han propuesto distintos marcadores séricos de fibrosis (31) que se basan en la determinación de proteínas asociadas al estímulo nocivo en las células hepáticas y el depósito de matriz extracelular. Varios estudios se han dedicado a investigar estos marcadores no invasivos capaces de proporcionar información precisa acerca de la actividad de fibrogénesis hepática y el estadio de fibrosis en pacientes con enfermedad hepática crónica, potencialmente progresiva.

Las características ideales de tal marcador serían: a) su sensibilidad y especificidad para fibrosis hepática, b) su reproducibilidad, c) la evaluación del estadio de fibrosis, actividad fibrogénica y carecer de influencia por co-morbilidades, d) vida media conocida, e) vía de eliminación conocida.

En general se han seguido dos abordajes distintos. Respecto al primero, varios estudios han evaluado marcadores “directos” de fibrogénesis, por ejemplo parámetros bioquímicos, medibles en sangre periférica interpretados como la expresión directa del depósito o retiro de MEC en el hígado. Estos marcadores de fibrosis hepática incluyen varias glicoproteínas (hialuronato, laminina, glicoproteína de cartílago humano 39 (YKL-40), la familia de colágenas (pro-peptido de colágena tipo III, IV y su dominio 7s), las colagenasas y sus inhibidores (metaloproteinasas y los inhibidores titulares de metaloproteinasas), así como varias citocinas relacionadas con el proceso fibrogénico (TGF-beta1, TNF-alfa).

Las aplicaciones potenciales de tales marcadores parecen bastante interesantes e innovadoras, ya que podrían ser utilizadas para estatificar la fibrosis hepática, y al mismo tiempo evaluar más adecuadamente la velocidad de fibrogénesis con un valor pronóstico más relevante y vigilar la eficacia de la respuesta a tratamientos antifibróticos. Sin embargo, una de las limitaciones principales para su uso clínico es que no están disponibles en todos los hospitales. El ácido hialurónico ha resultado un marcador muy versátil, ya que muestra alta correlación con fibrosis en varios tipos de daño hepático como hepatitis C, hepatitis B, enfermedad de hígado graso por consumo de alcohol y también correlaciona con el grado de hipertensión portal. En general cuenta una buena precisión para diferenciar entre la fibrosis no significativa de la cirrosis (32) y además al combinarse con alfa-2-macroglobulina, TIMP-1, AST o albúmina aumenta su precisión diagnóstica.

El segundo abordaje es más sencillo y consiste en tomar parámetros únicos o una combinación de datos hematológicos o bioquímicos “indirectos” que reflejen el estadio de enfermedad hepática, y evaluar/comparar su precisión diagnóstica. Este abordaje, que frecuentemente utiliza pruebas séricas rutinarias, ha permitido la identificación de grupos de marcadores capaces de definir el estadio de fibrosis hepática con una precisión muy similar a la de los marcadores directos más sofisticados y complejos. Su capacidad diagnóstica se ha investigado en todas las formas etiológicas de enfermedad hepática crónica, incluyendo la hepatitis por virus C y B, enfermedad de hígado graso por alcohol e independiente de alcohol y estrato-hepatitis.

Los marcadores indirectos son simples y sencillos, y como ejemplos se encuentran el índice aspartato / alanino aminotransferasa (AAR) (33), que fue aplicado por primera vez para evaluar la enfermedad hepática no alcohólica, y un resultado superior a 1 mostró una fuerte asociación con cirrosis hepática. El índice combinado de AST con cuenta plaquetaria (APRI) para detectar cirrosis (34) puede predecir la ausencia de fibrosis significativa (estadios F0-F1, APRI < 0.5) o presencia de fibrosis significativa (F3-F4, APRI > 1.5) (35).

El índice de Forns (36) combina las variables edad, gamma-glutamyl-transpeptidasa (GGT), conteo plaquetario y colesterol sérico, y fue diseñado como un modelo para evaluar fibrosis asociada hepatitis viral crónica. Este índice es capaz de identificar 50% de los pacientes con fibrosis sin formación de septos (F0-F1), y descartar la fibrosis significativa (F3-F4) con un 96% de seguridad, evitando así la realización de una biopsia hepática percutánea en más de un tercio de los pacientes.

Aunque los marcadores séricos han demostrado tener una sensibilidad y especificidad en general aceptable para predecir progresión fibrótica (37-39) y algunas complicaciones hepáticas (40-42); los estudios sugieren que la capacidad diagnóstica de los distintos marcadores séricos varían en función de factores poblacionales como: 1) la genética poblacional, 2) la prevalencia de la enfermedad, 3) la causa del daño hepático (nótese que la mayoría de estudios se han enfocado a la hepatitis viral), con escasa información de otras causas, y 4) las condiciones sanitarias e incluso el nivel de desarrollo del país (43,44). Además, se ha sugerido la posibilidad de combinar diferentes métodos de diagnóstico no invasivo (44A). Pese a ello, no existe algún estudio latinoamericano para discutir tales postulados.

Planteamiento del problema

Las enfermedades hepáticas son un problema de salud en México, ubicándose dentro de las primeras cinco causas de muerte, y generando grandes costos para el paciente y los hospitales del país.

Aunque la biopsia hepática es el método más sensible y específico para hacer el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad hepática por alcohol, es un método invasivo que requiere de personal entrenado para realizarla, y no permite una evaluación dinámica de la enfermedad. Los marcadores séricos de fibrosis hepática son una alternativa no invasiva que han demostrado tener valor predictivo en el diagnóstico y pronóstico de fibrosis hepática; sin embargo, su capacidad como herramienta diagnóstica presenta variaciones que dependen de las características de la población, sin que exista algún estudio de este tipo a nivel nacional o en Latinoamérica. Tal información tendría un gran valor descriptivo a nivel internacional, además de brindar la posibilidad de una mejor evaluación de nuestra población de pacientes con daño hepático crónico y sus complicaciones sin necesidad de tomar biopsia, ya que son causa frecuente de internamiento en nuestros hospitales.

Pregunta de investigación

¿Los marcadores séricos de fibrosis hepática son útiles para evaluar el grado de fibrosis histológica en pacientes con insuficiencia hepática crónica, en la población mexicana atendida en los hospitales de la Secretaría de Salud del Distrito Federal?

Justificación

Se estima que en E.U. el desvío económico para hospitalizaciones por hepatopatías es de 3.8 billones de dólares anuales (45), en Europa es de 6.6 a 59.9 millones de euros (46,47)

En México no existen muchos estudios que analicen el costo económico de la enfermedad hepática, sin embargo se estima que se requieren \$ 206 millones de dólares para la evaluación y seguimiento de complicaciones, sin contar el tiempo de hospitalización (48).

Dentro de la historia natural de la hepatopatía crónica, la presencia de fibrosis se interpreta como la progresión del daño hepático, asociándose con mayor riesgo de complicaciones y un peor pronóstico. En la práctica clínica, la biopsia hepática es el mejor método para evaluar la presencia de fibrosis hepática; sin embargo, es un procedimiento invasivo, con riesgos menores controlables si lo realiza alguien con suficiente entrenamiento.

El uso de marcadores séricos de fibrosis hepática tiene la ventaja de ser un método no invasivo, sencillo, de menor costo, que pudieran tener sensibilidad, especificidad y valores predictivos aceptables para la presencia fibrosis hepática y en menor medida predice algunas complicaciones hepáticas. El diagnóstico no invasivo de la fibrosis hepática representa un área de estudio con varias posibilidades de investigación y aplicación potencial en las situaciones clínicas observadas habitualmente en nuestro medio hospitalario. Es razonable anticipar que los marcadores no invasivos se convertirán en una herramienta en la práctica clínica; sin embargo la implementación de estas pruebas en la evaluación de la enfermedad hepática crónica se espera que reduzca la necesidad de biopsias hepáticas, aunque no necesariamente la reemplace.

A nivel nacional no existe algún estudio en el que se utilicen marcadores séricos para predecir fibrosis; además de que la literatura internacional de marcadores séricos en el daño hepático de etiología heterogénea es muy escasa. La concordancia entre marcadores séricos y fibrosis hepática demostrada por biopsia en la población mexicana, tendría un gran valor descriptivo. Por otro lado, plantea la posibilidad de una mejor evaluación de los pacientes con daño hepático crónico, en base a la estimación del riesgo dentro de un concepto dinámico de enfermedad.

Hipótesis

a) Nula (H0):

No existe concordancia entre los marcadores séricos y la fibrosis hepática evaluada histológicamente, en los pacientes con insuficiencia hepática crónica.

b) Alternativa (H1):

Existe concordancia entre los marcadores séricos y la fibrosis hepática evaluada histológicamente, en los pacientes con insuficiencia hepática crónica.

Objetivos

a) General:

Determinar la concordancia entre los marcadores séricos y la severidad de la fibrosis hepática evaluada histológicamente, en pacientes con enfermedad hepática crónica.

b) Específicos:

- I. Determinar los marcadores séricos, utilizando:
 - a) valores de corte de acuerdo a los estudios previos.
 - b) valores de corte y variables adicionales, de acuerdo a la población estudiada.
2. Obtener el diagnóstico histológico en el hígado.
3. Determinar la concordancia entre los valores de marcadores séricos y el diagnóstico histológico de la fibrosis hepática.
4. Evaluar el significado clínico de los marcadores séricos.

Material y métodos

a) Diseño o tipo de estudio:

Estudio transversal analítico, comparativo

b) Definición de variables

- Conceptual
- Operativa

NOMBRE DE LA VARIABLE	FUENTE	DEFINICIÓN		ESCALA DE MEDICIÓN	CALIFICACIÓN
		Conceptual	operativa		
DAÑO HEPÁTICO Y FIBROSIS	Biopsia hepática	Modificación en la histología normal del hígado, incluyendo el grado de fibrosis.	La misma	Cualitativa ordinal	<p>* Evaluación METAVIR</p> <p><i>F0 = sin fibrosis</i> <i>F1 = fibrosis portal sin septos</i> <i>F2 = algunos septos</i> <i>F3 = varios septos sin cirrosis</i> <i>F4 = cirrosis</i></p> <p>También cambios necro-inflamatorios: <i>A0 = sin actividad</i> <i>A1 = actividad leve</i> <i>A2 = actividad moderada</i> <i>A3 = actividad severa.</i></p>
CALIFICACION DE CHILD-PUGH	Cálculo basado en la suma de puntos de acuerdo al valor de otras variables (bilirrubina sérica total, albúmina sérica, tiempo de protrombina o INR, ascitis y encefalopatía)	Grado de severidad de insuficiencia hepática y expectativa de vida a 1 y 2 años.	La misma	Cualitativa ordinal (A,B,C)	<p>* Bilirrubina sérica total: <i>menos de 2mg/dl = 1 punto</i> <i>2-3mg/dl = 2 puntos</i> <i>más de 3 mg/dl = 3 puntos</i></p> <p>* Albúmina sérica: <i>más de 3.5 mg/dl = 1 punto</i> <i>3.5-2.8 mg/dl = 2 puntos</i> <i>menos de 2.8mg/dl = 3 puntos</i></p> <p>* Prolongación del TP (INR): <i>menos de 4 seg. (<1.7) = 1 punto</i> <i>4-6 seg. (1.7-2.3) = 2 puntos</i> <i>más de 6 seg. (> 2.3) = 3 puntos</i></p> <p>* Ascitis: <i>ausente clínicamente = 1 punto.</i> <i>controlada con tx.médico = 2 puntos</i> <i>severa o refractaria = 3puntos</i></p> <p>* Encefalopatía: <i>Sin encefalopatía = 1 punto</i> <i>Encefalopatía G I-II = 2 puntos</i> <i>Encefalopatía G III-IV = 3 puntos</i></p> <p>Calificación A = 5-6 puntos; enfermedad bien compensada, sobrevida 100% y 85% a uno y dos años respectivamente.</p> <p>Calificación B = 7-9; compromiso funcional significativo, sobrevida 81% y 57% a uno y dos años respectivamente.</p> <p>Calificación C = 10-15; enf. descompensada, sobrevida 45% y 35% a uno y dos años.</p>
MARCADOR SERICO (INDICE DE FORNS)	Fórmula que incluye valores de conteo plaquetario, gamaglutamiltranspeptidasa, edad y colesterol	Marcador sérico de fibrosis que toma en cuenta el conteo plaquetario, GGT, edad y colesterol. Muestra alto valor predictivo positivo y negativo para fibrosis hepática	La misma	Cualitativa nominal dicotómica	<p>* CALIFICACIÓN DE FORNS</p> $7.811 - [3.131 \times \ln(\text{conteo plaq})] + [0.781 \times \ln \text{GGT}] + 3.467 \times [\ln(\text{edad})] - 0.014 \times \text{colesterol}$ <p><i>Menos de 4.21 sugiere ausencia de fibrosis, y más de 6.9 sugiere fibrosis.</i></p>

NOMBRE DE LA VARIABLE	FUENTE	DEFINICIÓN		ESCALA DE MEDICIÓN	CALIFICACIÓN
		Conceptual	operativa		
MARCADOR SERICO (CALIFICACIÓN DISCRIMINANTE DE CIRROSIS)	Índice basado en la relación del valor de conteo plaquetario, el cálculo ALT/AST y el valor de INR	Marcador sérico de fibrosis que toma en cuenta el conteo plaquetario, el índice ALT/AST y la tasa internacional normalizada de coagulación. Muestra especificidad para descartar fibrosis hepática	La misma	Cuantitativa (0-11)	<p>* CALIFICACIÓN DISCRIMINANTE DE CIRROSIS</p> <p>CONTEO PLAQUETARIO (num. plaq/ml)</p> <ul style="list-style-type: none"> - más de 340 = 0 puntos - 339 - 280 = 1 punto - 279 - 220 = 2 puntos - 219 - 160 = 3 puntos - 159 - 100 = 4 puntos - 99 - 40 = 5 puntos - menos de 40 = 6 puntos <p>ÍNDICE ALT /AST</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mas de 1.7 = 0 puntos - 1.7 - 1.2 = 1 punto - 1.19 - 0.6 = 2 puntos - Menos de 0.6 = 3 puntos <p>TASA INTERNACIONAL NORMALIZADA (INR)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Menos de 1.1 = 0 puntos - 1.1 - 1.4 = 1 punto - Más de 1.4 = 2 puntos <p><i>La calificación es la suma de puntos y un valor de 8 ó más puntos sugiere fibrosis.</i></p>
MARCADORES SÉRICOS QUE INCLUYEN TRANSAMINASAS Y CONTEO PLAQUETARIO	Índices basados en diferentes relaciones del valor de transaminasas séricas y conteo plaquetario INDICE APRI INDICE EDAD / PLAQUETAS	Marcadores séricos de fibrosis que toman en cuenta el valor de transaminasas, conteo plaquetario y edad. Pueden predecir la presencia y en ocasiones progresión de fibrosis en el hígado	La misma	Cuantitativa (índices APRI y edad/plaq)	<p>* Índice APRI</p> <ul style="list-style-type: none"> - [(AST / límite normal alto) / Plaquetas] X 100 - menor de 0.5 = sin fibrosis - 0.5-1.5 = sugiere fibrosis leve - igual o mayor 1.5 = sugiere progresión <p>* Índice edad plaquetas</p> <p>EDAD</p> <ul style="list-style-type: none"> - Edad menor 30 años = 0 puntos - Edad 30 - 39 años = 1 punto - Edad 40 - 49 años = 2 puntos - Edad 50 - 59 años = 3 puntos - Edad 60 - 69 años = 4 puntos - Edad mayor 70 años = 5 puntos <p>CONTEO DE PLAQUETAS (Número por ml)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Más de 225 = 0 puntos - 224 - 200 = 1 punto - 199 - 175 = 2 puntos - 174 - 150 = 3 puntos - 149 - 125 = 4 puntos - Menos de 125 = 5 puntos <p><i>La calificación es la suma de edad y plaquetas (0-10) y sugiere fibrosis más de 6.</i></p>
EVALUACIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA POR ULTRASONIDO	Ultrasonido abdominal con especial atención en las características hepáticas	Calificación otorgada en base a hallazgos ultrasonográficos relacionados con la fibrosis y el daño hepático	La misma	Cuantitativa ordinal (1-6)	<p>1= aumento de ecogenicidad hepática, mayor que la renal.</p> <p>2= borramiento de los vasos intrahepáticos y el diafragma.</p> <p>3= pérdida de ecogenicidad en los segmentos posteriores del hígado</p> <p>4= disminución de ecogenicidad diafragma debido a la ecogenicidad hepática.</p> <p>5= ecotextura rugosa con patrón puntiforme, diafragma preservado,</p> <p>6= contorno irregular o parênq. Nodular</p>

Selección de la muestra.

Criterios de inclusión

1. Edad entre 18 y 80 años.
2. Insuficiencia hepática de cualquier origen y severidad, de acuerdo a la clasificación de Child-Pugh.

Criterios de no inclusión

1. Pacientes cuyo motivo de hospitalización incluya inestabilidad hemodinámica o síndrome hepatorenal.
2. Consumo de medicamentos anticoagulantes durante el último mes.

Criterios de interrupción

Aumento en el número de complicaciones previas a la biopsia hepática, por encima de la frecuencia esperada.

- a) encefalopatía hepática
- b) hemorragia de tubo digestivo alto
- c) inestabilidad hemodinámica
- d) síndrome hepatorenal

Criterios de exclusión o eliminación

Aparición de complicaciones como:

- Retiro voluntario del estudio
- Obtención de muestras biológicas no útiles para evaluación

Tipo de muestreo

Pacientes con insuficiencia hepática ingresados de forma consecutiva al Servicio de Medicina Interna del Hospital Xoco (más del 90% de pacientes). Eventualmente se incluyeron pacientes de los H.G. de Balbuena y Ticomán (aprox. 10%).

Cálculo del tamaño de muestra

Fórmula para cálculo de tamaño de muestra en estudios transversales

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2})^2 (p(1-p))}{d^2}$$

Referencia 49
Mejía-Aranguré JA et al.
Bol Med Hosp Infant Mex 1995;52:381.

donde:

n = cálculo del tamaño de muestra.

$Z_{\alpha/2}$ = valor Z del error alfa con una confianza de 95%, asignando a alfa = 0.05

p = prevalencia poblacional esperada para el evento en estudio (de acuerdo a reportes previos).

d = diferencia entre el valor de prevalencia poblacional esperada y el error aceptable.

Aplicación de la fórmula con datos propios

La prevalencia de pacientes con fibrosis severa y cirrosis es de 18.5%, y la menor diferencia de prevalencias entre los diferentes estadios de fibrosis es de 15.3% (24). La prevalencia de pacientes con fibrosis estadio F3 y F4 es de 31.7% y la menor diferencia de prevalencias entre los diferentes estadios de fibrosis es de 11.5% (31). Se promediaron las prevalencias poblacionales esperadas de acuerdo a estudios previos. También se promedió la diferencia entre el valor esperado de prevalencia y el error aceptable.

Promedio de prevalencia poblacional esperada con fibrosis severa = 25%

Prom. de diferencia entre el valor esperado de prevalencia y el error aceptable = 13.4%

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.25 (1-0.25))}{(0.134)^2} \quad n = \frac{0.7203}{0.0179} = \boxed{40.24}$$

Procedimientos

PACIENTES. Se incluyó a pacientes con insuficiencia hepática crónica ingresados en el Servicio de Medicina Interna del Hospital de Xoco, y eventualmente se incluyó a pacientes de los Hospitales de Balbuena y Ticomán. A su ingreso se obtuvo la historia clínica y exploración física con especial atención a las manifestaciones de insuficiencia hepática y descompensaciones como ascitis, encefalopatía y tinte icterico.

PROCEDIMIENTOS. Dentro de las primeras 24 horas de su ingreso se tomaron exámenes de laboratorio que incluyeron biometría hemática, pruebas de funcionamiento hepático y perfil de lípidos. Durante la primera semana de internamiento, los pacientes con estabilidad hemodinámica y sin riesgo significativo de complicaciones (hemodinámicas, hemorrágicas, infecciosas, etc) se sometieron a una biopsia hepática percutánea con aguja tipo "tru-cut", previas medidas de asepsia, antisepsia y anestesia local, además de la guía ultrasonográfica (con apoyo profesional del servicio de Gastroenterología, Hospital Juárez de México e imagenología H. G. Xoco). La muestra se fijó inmediatamente en formaldehído 10% y se envió a patología, donde se incluyó en parafina y se realizaron cortes que se tiñeron con tricrómico de Masson para evaluar fibrosis hepática de acuerdo a la calificación de METAVIR.

Se calcularon los siguientes marcadores de fibrosis hepática: **Índice de Forns**= $7.811 - [3.131 \times \ln(\text{conteo plaquetario})] + [0.781 \times \ln \text{GGT}] + 3.467 \times [\ln(\text{edad})] - 0.014 \times \text{colesterol}$; **índice edad-plaquetas (E/P)**= suma de puntos: edad <30 años=0 puntos, 30-39 años=1 punto, 40-49 años=2 puntos, 50-59 años=3 puntos, 60-69 años=4 puntos, >70 años=5 puntos, conteo plaquetario >225=0 puntos, 224-200=1 punto, 199-175=2 puntos, 174-150=3 puntos, 149-125=4 puntos, <125=5 puntos; **calificación discriminante de cirrosis (CDC)** = suma de puntos: conteo plaquetario >340=0 puntos, 339-280=1 punto, 279-220=2 puntos, 219-160=3 puntos, 159-100=4 puntos, 99-40=5 puntos, <40=6 puntos, ALT/AST >1.7=0 puntos, 1.7-1.2= 1 punto, 1.19-0.6=2 puntos, <0.6=3 puntos, INR<1.1=0 puntos, 1.1-1.4=1 punto, >1.4=2 puntos; **índice APRI**=[(AST / límite normal alto)/Plaquetas]X100.

También se realizaron modificaciones de estos marcadores, optimizando los valores de corte de acuerdo al mejor punto de discriminación de fibrosis, evaluado mediante curvas ROC. Además, se conformó un marcador mixto que incluye la evaluación de ultrasonido hepático, denominado: **marcador + USG** = *(Índice de Forns x albúmina) + (calificación de ultrasonido / 10)*. *Calificación de Ultrasonido: 1= aumento de ecogenicidad hepática, mayor que la renal, 2=borramiento de los vasos intrahepáticos y el diafragma, 3=pérdida de ecogenicidad en los segmentos posteriores del hígado, 4) disminución de ecogenicidad del diafragma, debido a la hiperecogenicidad hepática, 5=ecotextura rugosa con patrón puntiforme, diafragma preservado, 6=contorno irregular o parénquima nodular.*

Una vez calculados los marcadores no invasivos, se estimó su concordancia con el grado de fibrosis histológica.

Finalmente, se evaluó el significado clínico de los marcadores no invasivos, a través de curvas ROC (por sus siglas en inglés “Receiving Operating Characteristic”, *Curvas Receptora de Característica Operacional*) de complicaciones clínicas asociadas y la necesidad de tratamiento adicional.

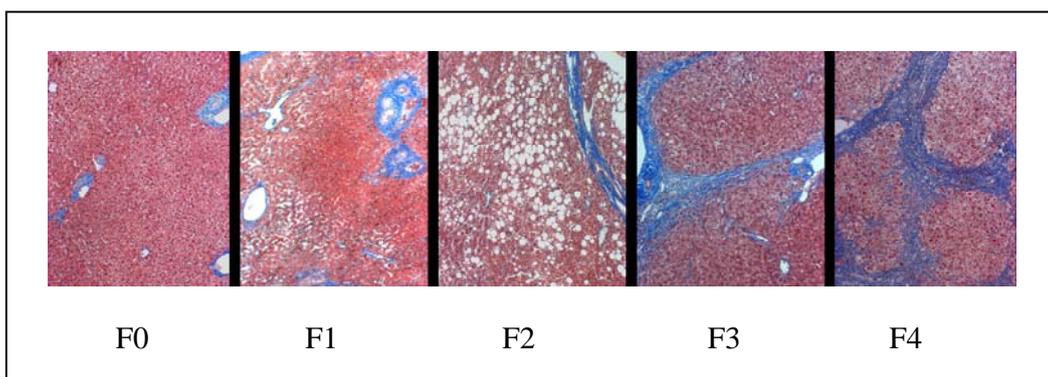
Plan de análisis estadístico, modelo matemático que se aplicará

Para la descripción estadística de los resultados se utilizará media y desviación estándar. Para el análisis estadístico se utilizará prueba de T de student, concordancia de Cohen, sensibilidad, especificidad y curvas ROC. Se considerará una significancia estadística cuando $p \leq 0.05$.

Resultados

En el estudio se incluyeron a 100 pacientes, que se dividieron en tres grupos de acuerdo al grado de fibrosis hepática. En la figura 1 se muestran micrografías representativas de los diferentes estadios de fibrosis hepática encontrados.

Figura 1. Estadios de fibrosis hepática



De acuerdo a la severidad de la fibrosis hepática, el primer grupo se formó de pacientes en estadio leve-moderado ($n=40$). El segundo grupo de pacientes con evidencia de fibrosis hepática avanzada ($n=40$). En grupo control incluyó a pacientes con sobrepeso y obesidad, pero sin evidencia de fibrosis hepática ($n=20$). Tabla 1.

Tabla 1. Análisis Poblacional

VARIABLE &	Control Sin fibrosis ($n=20$)	Fibrosis leve-moderada ($n=40$)	Fibrosis avanzada ($n=40$)
Género (♂ / ♀)	7 / 13	20 / 20	17 / 23
Edad (años)	44.7 ± 12.8	46.2 ± 15.8	54.9 ± 16.2 */**
IMC (kg/m^2)	30.1 ± 4.8 *	24.4 ± 5.92 *	26.9 ± 5.35
ESTANCIA HOSPITAL (días)	4.40 ± 2.97	6.44 ± 6.53	7.80 ± 7.78

*Resultados expresados como media ± desviación estándar T student:
Diferencia estadísticamente significativa (*) vs control sin fibrosis, y (**) vs fibrosis leve-moderada.
IMC = Índice de Masa Corporal.*

Grupo de fibrosis hepática leve-moderada (estadios F1-F2). La causa que condicionaba el daño hepático fue abuso de alcohol ($n=14$), síndrome metabólico y esteatosis ($n=6$) asociación con neoplasia hepática ($n=3$) y extrahepática ($n=3$) y daño colestásico o ausencia de causa aparente ($n=14$). Cinco pacientes mostraron evidencia clínica de insuficiencia hepática.

Grupo de fibrosis hepática en fase avanzada (estadios F3-F4). El daño hepático se relacionó con abuso de alcohol ($n=17$), síndrome metabólico y esteatosis ($n=7$), asociación con neoplasia extrahepática ($n=3$) y daño colestásico o ausencia de causa aparente ($n=13$). Diez pacientes contaban con evidencia clínica de insuficiencia hepática.

Grupo control. Las causas por las que se les realizó biopsia hepática fueron cirugía abdominal con toma de muestra por apariencia anormal del hígado, a juicio del cirujano ($n=6$), padecimientos vesiculares ($n=5$) y co-morbilidad con síndrome metabólico y sospecha de hígado graso ($n=9$).

Determinación de los marcadores séricos. Se calculó los marcadores séricos: índice de Forns, índice E/P, CDC e índice APRI, considerando los valores de corte reportados en otros estudios (“marcadores originales”), para el hígado normal (F0), la fibrosis leve-moderada (F1-F2), así como la fibrosis severa y cirrosis (F3-F4)

Análisis de Concordancia de Cohen (κ). La concordancia entre los “marcadores originales” con el grado de fibrosis hepática no alcanzó la $\kappa=0.3$. Los marcadores con mejor concordancia fueron el índice de Forns y el índice Edad / Plaquetas ($\kappa=0.28\pm 0.078$; IC95% 0.12-0.43 y $\kappa=0.22\pm 0.082$; IC95% 0.067-0.39, respectivamente). (tabla 2).

Tabla 2. Concordancia entre marcadores no invasivos y fibrosis hepática *

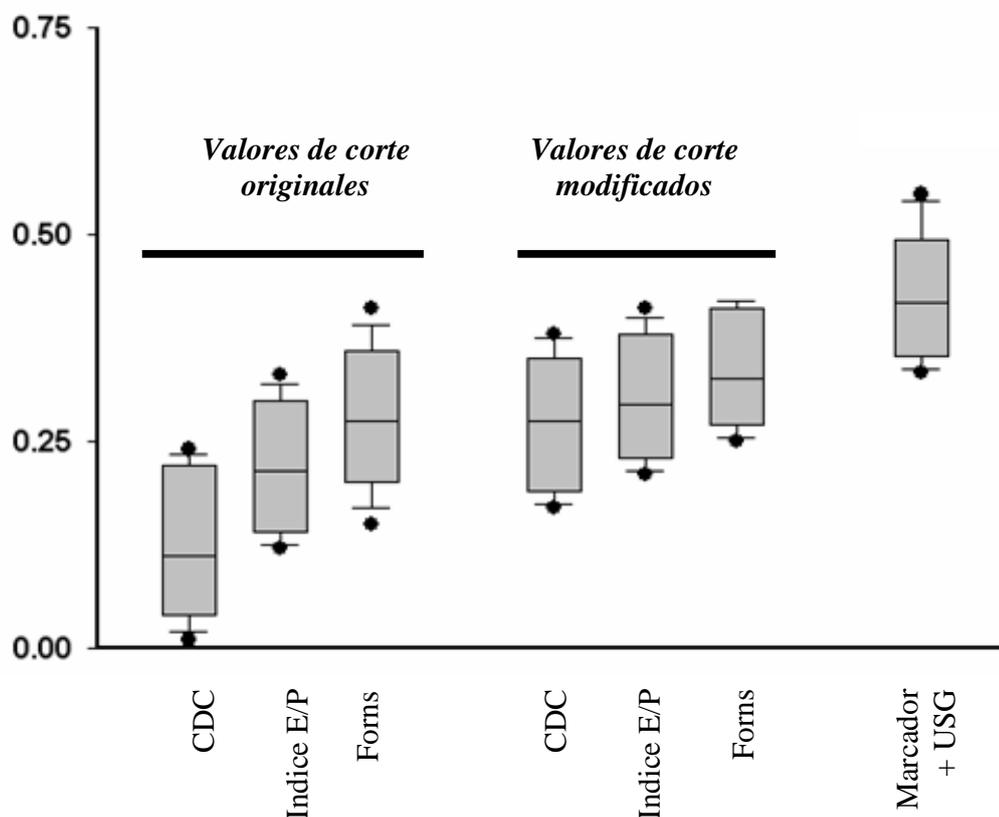
MARCADOR		Número			K (IC 95%)
		F0	F1-F2	F3-F4	
Forns	< 4.2	6	3	4	0.28 (0.128 – 0.434)
	4.2 - 6.9	11	20	7	
	> 6.9	3	17	29	
Índice E / P	< 2	7	6	4	0.22 (0.066 – 0.387)
	2 - 6	12	25	17	
	> 6	1	9	19	
CDC	< 2	3	4	2	0.11 (0.0 – 0.328)
	2 - 8	16	34	30	
	> 8	1	2	8	
APRI	< 0.5	9	19	15	0.11 (0.0 – 0.265)
	0.5-1.5	8	25	14	
	> 1.5	3	6	11	

κ = Concordancia de Cohen.

* Se consideraron las variables F0(control sin fibrosis) vs F1-F2 (fibrosis leve-moderada) vs F3-F4 (fibrosis avanzada).
Índice E/P = Índice Edad/Plaq, CDC = Calif. discriminante de cirrosis,
APRI [(AST / límite normal alto)/Plaquetas]X100.

Al determinar los mismos marcadores, con valores de corte ajustados para la población estudiada (“marcadores modificados”), y agregar un marcador que incluye la calificación de ultrasonido (“marcador+USG”), la concordancia mejoró discretamente, logrando una $\kappa = 0.34$, siendo los marcadores con mejor concordancia el índice de Forns, el índice Edad / Plaquetas y la calificación de CDC ($\kappa = 0.34 \pm 0.076$; IC95% 0.19-0.49, $\kappa = 0.31 \pm 0.080$; IC95% 0.15-0.46 y $\kappa = 0.27 \pm 0.080$; IC95% 0.11-0.43, respectivamente) (figura 2). Con la inclusión de la calificación del ultrasonido en el “marcador+USG”, la concordancia alcanzó $\kappa = 0.43 \pm 0.075$ (IC95% 0.32-0.62). (figura 2).

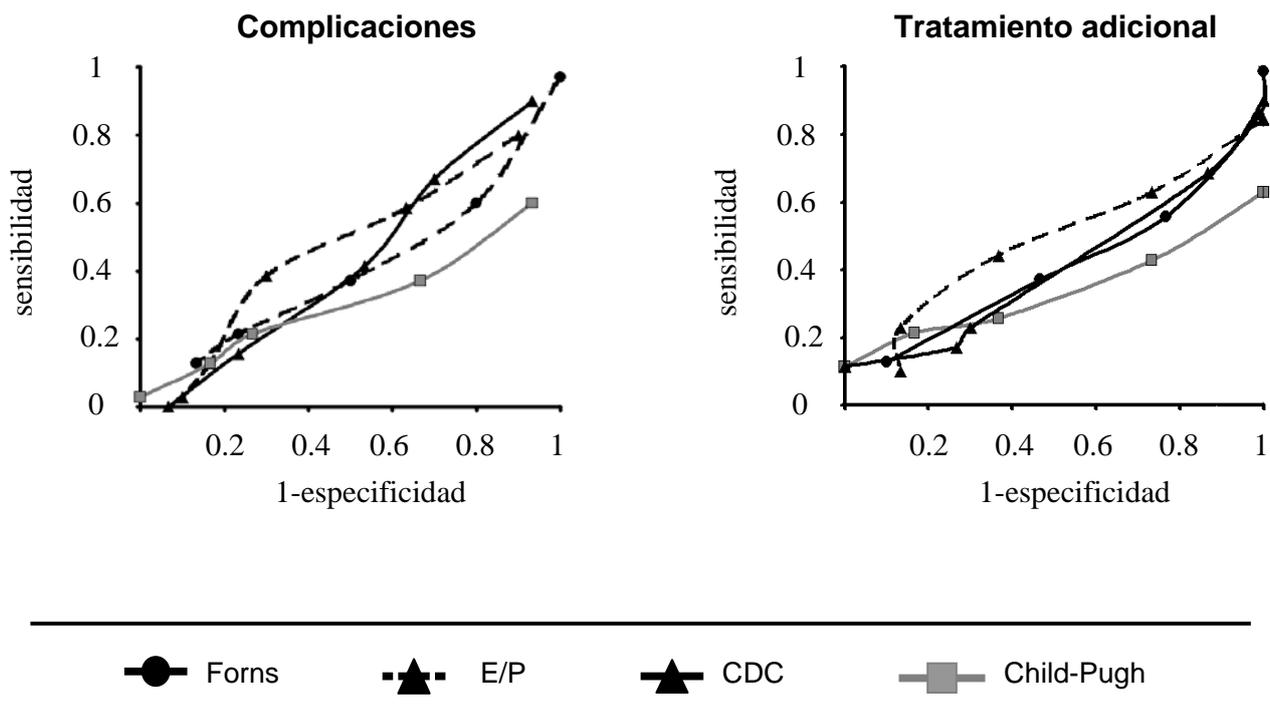
Figura 2. Concordancia entre marcadores séricos, originales y modificados, con la fibrosis hepática *



* Se consideraron las variables F0(control sin fibrosis) vs F1-F2 (fibrosis leve-moderada) vs F3-F4 (fibrosis avanzada).
 Índice E/P = Índice Edad/Plaquetas, CDC = Calif. discriminante de cirrosis,
 Marcador+USG= (Índice de Forns x albúmina) + (calificación de ultrasonido / 10).

Adicionalmente, para evaluar el significado clínico de los marcadores séricos, se obtuvieron la sensibilidad (S) y especificidad (E) de cada uno en relación a las complicaciones (CDC S70,E67; E/P S63,E58; Forns S93,E85, Marcador+USG S80E60) y el requerimiento de tratamiento adicional (CDC S86,E68; E/P S73,E62; Forns S99,E85, Marcador+USG S90E64) durante la hospitalización. También se generaron curvas ROC de cada marcador y se compararon con la calificación de Child-Pugh (complicaciones S66E37; manejo adicional S73E42) (figura 3).

Figura 3. Curvas ROC de complicaciones y requerimiento de tratamiento adicional, durante la hospitalización



* Se consideraron las variables F0 vs F1-F2 vs F3-F4.
 Índice E/P = Índice Edad/Plaquetas, CDC = Calif. discriminante de cirrosis,
 Marcador+USG= (Índice de Forns x albúmina) + (calificación de ultrasonido / 10).

Discusión

De acuerdo al análisis poblacional, la mayoría de casos (42%) mostraron daño hepático por consumo de alcohol. Los pacientes con algún grado de fibrosis hepática mostraron menor IMC que los sujetos sanos, y además tendieron a presentar periodos de hospitalización más prolongados ($p > 0.3$). De ahí que los cambios fibróticos hepáticos pudieran relacionarse al déficit nutricional inherente del paciente con hepatopatía crónica, que empobrece el pronóstico y prolonga la estancia hospitalaria (50).

La concordancia entre los marcadores séricos, calculados utilizando los valores de corte "originales" ($\kappa = 0.28$) se considera baja. Clínicamente, su utilidad es poca, ya que su sensibilidad y especificidad está por debajo de la que ofrecen otros métodos no invasivos como el ultrasonido y elastografía transitoria, que oscila entre 70% y 80% (51,52). Sin embargo, al ajustar los marcadores mediante valores de corte óptimos para la población estudiada ("marcadores modificados") fue posible una mejoría discreta de su concordancia con los estadios de fibrosis ($\kappa > 0.3$ índice de Forns e índice Edad / Plaquetas), que todavía pudo incrementarse al integrar la información ultrasonográfica, "marcador+USG" ($\kappa = 0.43$) considerándose ahora una concordancia moderada.

En nuestro estudio, los marcadores séricos tuvieron poca capacidad para predecir fibrosis hepática demostrada histológicamente, quizá debido a la heterogeneidad de las causas del daño hepático y la distinta fisiopatología. Sin embargo, los "marcadores originales" fueron susceptibles de mejorar su capacidad diagnóstica en forma significativa al ser modificados, de acuerdo a la población de estudio y a la información de otras evaluaciones no invasivas. Esto sugiere que los "marcadores modificados", adecuados para población y etiología específicas de daño hepático, podrían tener mayor capacidad diagnóstica para la fibrosis hepática, lo cual deberá ser evaluado en estudios futuros.

Finalmente, los marcadores séricos no solamente evaluaron la presencia de fibrosis hepática, sino también mostraron proveer un significado clínico, ya que se asociaron con las complicaciones y requerimiento terapéutico adicional durante el periodo hospitalario, con una capacidad diagnóstica superior a la calificación de Child-Pugh, tan frecuentemente usada en la práctica clínica. Este resultado, esta en acuerdo otros estudios la literatura especializada (53).

Conclusiones

Los marcadores séricos índice de Forns, índice E/P y CDC muestran una concordancia baja con la presencia de algún grado de fibrosis hepática, pero dicha concordancia se incrementa a un grado moderado y adquiere significado clínico al utilizar valores de corte ajustados para la población estudiada, y la adición de otras evaluaciones no invasivas.

Recomendaciones

De acuerdo a los resultados obtenidos, se recomienda ser cautelosos en la interpretación de los marcadores séricos utilizados en el daño hepático crónico de origen multietiológico, así como promover la investigación en esta línea, evaluando su utilidad en un mismo tipo de daño hepático.

Referencias bibliográficas

1. Rappaport AM and Wanless IR. Physioanatomic Considerations. In: Schiff L, Schiff ER. Diseases of the Liver, seventh ed. Lippincott Company, Philadelphia, 1993.
2. Shuppan D, Ruehl M, Somasundaram R, Hahn EG. Matrix as modulator of hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 2001;21:351-372.
3. Rojkind M, Rojkind M.H., Cordero-Hernandez J. In vivo collagen synthesis and deposition in fibrotic and regeneration rat livers. *Collagen Rel Res* 1983;3:335-347.
4. Rojkind M and Greenwel P. Animal Models of Liver Fibrosis. *Adv Vet Sci Comp Med* 1993;37:333-335.
5. Friedman SL. Molecular Regulation of hepatic fibrosis, and integrated cellular response to tissue injury. Minireview. *J Biol Chem* 2000;275:2247-2250.
6. Friedman SL. Liver fibrosis -- from bench to bedside. *J Hepatol* 2003; 38 Suppl 1: S38-53.
7. Rojkind M. and Greenwel P. Pathophysiology of liver fibrosis. En: McIntyre N, Benhamou J-P, Bircher J, Rizzeto M and Rodes J. *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*. New York, Oxford Medical Publication. 1991;375-380.
8. Maher JJ, Zia S, Tzagarakis C. Acetaldehyde-induced stimulation of collagen synthesis and gene expression is dependent on conditions of cell culture: studies with rat lipocytes and fibroblasts. *Alcohol Clin Exp Res* 1994; 18: 403-409.
9. Stewart S, Jones D, Day CP. Alcoholic liver disease: new insights into mechanisms and preventative strategies. *TrendsMol Med* 2001; 7: 408-413.
10. Pinzani M, Rombouts K, Colagrande S. Fibrosis in chronic liver diseases: diagnosis and management. *J Hepatol* 2005;42:S22-S36.
11. Arthur MP. Fibrogenesis II. Metalloproteinases and their inhibitors in liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: G245-G249.

12. Sebastián G, Alberti A. Non invasive fibrosis biomarkers reduce but not substitute the need for liver biopsy. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3682-3694.
13. Krahenbuhl L, Ledermann M, Lang C, Krahenbuhl S. Relationship between hepatic mitochondrial functions in vivo and in vitro in rats with carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis. *J Hepatol* 2000;33:216.
14. Hernández-Muñoz R, Díaz-Muñoz M, Chagoya de Sánchez V. Possible role of cell redox state on collagen metabolism in carbon tetrachloride-induced cirrhosis as evidenced by adenosine administration to rats. *BBA* 1994;1200:93.
15. Hashimoto M, Watanabe G. Functional capacity of the cirrhotic liver after partial hepatectomy in the rat. *Surgery* 1999;126:541.
16. Nahum Méndez-Sánchez, Antonio R. Villa, Norberto C. Chávez-Tapia, et al. Trends in liver disease prevalence in Mexico from 2005 to 2050 through mortality data. *Annals of Hepatology* 2005; 4: 52-55.
17. http://www.salud.gob.mx/apps/htdocs/estadisticas/mortalidad/2004/mortalidad_c05_2004.xls
18. Rodríguez-Hernández H, Jacobo-Karam JS, Castanon-Santillan Mdel C, Arambula-Chavez M, Martínez-Aguilar G. Survival in patients with liver cirrhosis at the Durango, IMSS Regional General Hospital. *Gac Med Méx* 2002; 138:325-330.
19. Groszmann RJ, de Francis R. Portal hipertensión. In Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC (eds): *Schiff's Disease of the Liver*. 1999, Philadelphia, New York: Lippincott-Raven; pp.387-442.
20. Sharara AI, Rockey DC. Gastroesophageal variceal hemorrhage. *N Engl J Med* 2001; 345:669-681.
21. Rosina F, Alaria P, Castelli S, Dirindin N, Rocca G, Actis GC, Borelli R, et al. Effect of patient characteristics on hospital costs for cirrhosis: implications for the disease-related group (DRG) reimbursement system. *Ital J Gastroenterol*. 1996; 28:401-5.

22. Thabut D, Trabut JB, Massard J, Rudler M, Muntenau M, Messous D, Poynard T. Non-invasive diagnosis of large oesophageal varices with FibroTest in patients with cirrhosis: a preliminary retrospective study. *Liver Int.* 2006; 26: 271-8.
23. Suzuki A, Mendes F, Lindor K. Diagnostic model of esophageal varices in alcoholic liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2005; 17: 307-9.
24. Stickel F, Poeschl G, Schuppan D, Conradt C, Strenge-Hesse A, Fuchs FS, Hofmann WJ, Seitz HK. Serum hyaluronate correlates with histological progression in alcoholic liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2003; 15: 945-50.
25. Graudal N, Leth P, Marbjerg L, Galloe AM. Characteristics of cirrhosis undiagnosed during life: a comparative analysis of 73 undiagnosed cases and 149 diagnosed cases of cirrhosis, detected in 4929 consecutive autopsies. *J Intern Med.* 1991; 230:165-71.
26. Mendez-Sanchez N, Aguilar-Ramirez JR, Reyes A, Dehesa M, Juarez A, et al. Grupo de Estudio, Asociacion Mexicana de Hepatologia. Etiology of liver cirrhosis in Mexico. *Ann Hepatol.* 2004; 3: 30-3.
27. Rodriguez Hernandez H, Lara Miranda S, Rangel Martinez MV, Gonzalez Luis J, Sanchez Anguiano LF, Martinez Aguilar G. Analysis of liver biopsy experience in a regional hospital. *Rev Invest Clin.* 2002; 54: 139-44.
28. De la Mora G, Olivera M, De la cerda R, Arista J, Kershenobich D, Uribe M. Esteatohepatitis no alcoholica: experiencia de 10 años en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. *Rev Invest Clin* 1994;46:85-92.
29. Alvarez-Martínez H, Pérez-Campos E. Esteatohepatitis no alcohólica. *Rev Gastroenterol Mex* 2002; 67: 118-125.
30. Rousselet MC, Michalak S, Dupre F, Croue A, Bedossa P, Saint-Andre JP, Cales P; Hepatitis Network 49. Sources of variability in histological scoring of chronic viral hepatitis. *Hepatology.* 2005; 41: 257-64.

31. Cales P, Oberti F, Michalak S, Hubert-Fouchard I, Rousselet MC, Konate A, Gallois Y, Ternisien C, Chevaller A, Lunel F. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis. *Hepatology*. 2005; 42: 1373-81.
32. Naveau S, Raynard B, Ratziu V, Abella A, Imbert-Bismut F, Messous D, Beuzen F, Capron F, Thabut D, Munteanu M, Chaput JC, Poynard T. Biomarkers for the prediction of liver fibrosis in patients with chronic alcoholic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: 167-174.
33. Giannini E, Risso D, Botta F, Chiarbonello B, Fasoli A, Malfatti F, Romagnoli P, Testa E, Ceppa P, Testa R. Validity and clinical utility of the aspartate aminotransferase-alanine aminotransferase ratio in assessing disease severity and prognosis in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. *Arch Intern Med* 2003; 163: 218-224.
34. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, Lok AS. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 518-526.
35. Lok AS, Ghany MG, Goodman ZD, Wright EC, Everson GT, Sterling RK, et al. Predicting cirrhosis in patients with hepatitis C based on standard laboratory tests: results of the HALT-C cohort. *Hepatology* 2005; 42: 282-292.
36. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, Aponte J, Quinto L, Martinez-Bauer E, Bruguera M, Sanchez-Tapias JM, Rodes J. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology* 2002; 36: 986-992.
37. Dam-Larsen S, Franzmann MB, Christoffersen P, Larsen K, Becker U, Bendtsen F. Histological characteristics and prognosis in patients with fatty liver. *Scand J Gastroenterol*. 2005; 40: 460-7.
38. Harrison SA, Torgerson S, Hayashi PH. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a clinical histopathological study. *Am J Gastroenterol*. 2003; 98: 1915-7.

39. Ryder SD, Irving WL, Jones DA, Neal KR, Underwood JC; Trent Hepatitis C Study Group. Progression of hepatic fibrosis in patients with hepatitis C: a prospective repeat liver biopsy study. *Gut*. 2004; 53: 451-5.
40. Vanbiervliet G, Barjoan-Marine E, Anty R, Piche T, Hastier P, Rakotoarisoa C, Benzaken S, Rampal P, Tran A. Serum fibrosis markers can detect large oesophageal varices with a high accuracy. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2005; 17: 333-8.
41. Nanashima A, Yamaguchi H, Tanaka K, Shibasaki S, Tsuji T, Ide N, Hidaka S, Sawai T, Nakagoe T, Nagayasu T. Preoperative serum hyaluronic acid level as a good predictor of posthepatectomy complications. *Surg Today*. 2004; 34: 913-9.
42. Chongsrisawat V, Kongtawelert P, Tongsoongnoen W, Tangkijvanich P, Vejchapipat P, Poovorawan Y. Serum hyaluronan as a marker reflecting the severity of cirrhosis and portal hypertension in postoperative biliary atresia. *Pediatr Surg Int*. 2004; 20: 773-7.
43. Parkes J, Guha IN, Roderick P, Rosenberg W. Performance of serum marker panels for liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2006; 44: 462-74.
44. Eboumbou C, Steghens JP, Abdallahi OM, Mirghani A, Gallian P, van Kappel A, Qurashi A, Gharib B, De Reggi M. Circulating markers of oxidative stress and liver fibrosis in Sudanese subjects at risk of schistosomiasis and hepatitis. *Acta Trop*. 2005; 94: 99-106.
- 44A. Thierry Poynard T, In Ingiliz P, Elkrief L, Munteanu M, Lebray P, Morra R, et al. Concordance in a World without a Gold Standard: A New Non-Invasive Methodology for Improving Accuracy of Fibrosis Markers. *Plosone* 2008; 3: e3857.
45. Kim WR, Brown RS Jr, Terrault NA, El-Serag H. Burden of liver disease in the United States: summary of a workshop. *Hepatology*. 2002; 36: 227-42.
46. Cortez-Pinto H, Marques-Vidal P, Monteiro E. Liver disease-related admissions in Portugal: clinical and demographic pattern. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2004;16: 873-7.

47. Burroughs A, McNamara D. Liver disease in Europe. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;18 Suppl 3:54-9.
- 47A. Chien-Hua Chen, Shang-Tao Lin, Chi-Chieh Yang, Yung-Hsiang Yeh, Chien-Long Kuo, Chiu-Kue Nien. The Accuracy of Sonography in Predicting Steatosis and Fibrosis in Chronic Hepatitis C. *Dig Dis Sci.* 2008 Jun;53(6):1699-706
48. Ruelas-Villavicencio AL, Vargas-Vorácková F. In whom, how and how often is surveillance for hepatocellular carcinoma cost-effective? *Annals of Hepatology* 2004; 3: 152-159.
49. Mejía Aranguré JA, Fajardo-Gutiérrez A, Gómez Delgado A, et al. El tamaño de muestra: un enfoque práctico en la investigación clínica pediátrica. *Bol Med Hosp. Infant Mex.* 1995;52:381.
50. Zaloga GP. Parenteral nutrition in adult inpatients with functioning gastrointestinal tracts: assessment of outcomes. *Lancet.* 2006;367:1101-11.
51. Adhoute X, Foucher J, Laharie D, Terrebonne E, Vergniol J, Castéra L, Lovato B, Chanteloup E, Merrouche W, Couzigou P, de Ledinghen V. Diagnosis of liver fibrosis using FibroScan and other noninvasive methods in patients with hemochromatosis: a prospective study. *Gastroenterol Clin Biol.* 2008;32:180.
52. Van Leeuwen DJ, Balabaud C, Crawford JM, Bioulac-Sage P, Dhillon AP. A clinical and histopathologic perspective on evolving noninvasive and invasive alternatives for liver biopsy. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008;6:491.
53. Cowgill SM, Thometz D, Clark W, Villadolid D, Carey E, Pinkas D, Zervos E, Rosemurgy A 2nd. Conventional predictors of survival poorly predict and significantly underpredict survival after H-graft portacaval shunts. *J Gastrointest Surg.* 2007;11:89.

ANEXOS

Cronograma de actividades

ACTIVIDADES	2006	2007	2008	2009
Datos del expediente clínico Toma de muestras y biopsia	X	X		
Determinación de marcadores séricos		X		
Análisis de las biopsias hepáticas			X	
Análisis de concordancia			X	X
Preparación del trabajo para tesis / publicación				X

ANEXOS

Nombre	Expediente	Sexo	Edad	Bebida alcoholica	Cantidad	Hallazgos a la E.F.	Sospecha de hepatopatía no alcoholica
--------	------------	------	------	----------------------	----------	------------------------	--

EVOLUCIÓN	Plaquetas	TP (%), INR	BT	BD	BI	Albúmina	AST	GGT	Colesterol	CHILD-PUGH ABC
-----------	-----------	-------------	----	----	----	----------	-----	-----	------------	-------------------

Paraclínicos que aclaren otras causas de daño hep.	Enfermedades concomitantes	Medicamentos consumidos desde el último mes	Problema actual	Respuesta al tratamiento
--	-------------------------------	---	-----------------	--------------------------

Indice de Forns	Hialuronato sérico	Marcador oxidativo	Resultado de biopsia hep.	Evaluación de fibrosis	Evaluación METAVIR	Escala de progresión fib.	Concordancia con Forns
--------------------	-----------------------	-----------------------	------------------------------	---------------------------	-----------------------	------------------------------	---------------------------

Carta de consentimiento informado

México D. F., a

Día		Mes		Año	

A quien corresponda.

Yo _____ acepto libre y voluntariamente participar en el estudio: **"Concordancia entre Marcadores Séricos y la Fibrosis Hepática en Pacientes con Enfermedad Hepática Crónica"**, que se realiza en esta institución y cuyos objetivos consisten en determinar la correlación entre marcadores en suero y la severidad de fibrosis hepática, en pacientes con enfermedad del hígado por consumo alcohol.

Estoy consciente de que los procedimientos, pruebas y tratamientos para lograr los objetivos mencionados consisten en toma de muestra sanguínea y biopsia hepática dirigida por ultrasonido y que los riesgos para mi persona son dolor en el sitio de procedimiento que puede tratarse con analgésicos, hemorragia menor y neumotórax, con menor riesgo al ser asistida por ultrasonido.

Entiendo que del presente estudio se derivarán los siguientes beneficios. Determinar la correlación entre marcadores no invasivos y el grado de fibrosis hepática. Esto significa importantes aplicaciones pronosticas y preventivas para complicaciones de esta enfermedad del hígado. Además de conocer por primera vez la utilidad de dichos marcadores tanto a nivel de población mexicana, como ser el primer estudio a nivel latinoamericano.

Es de mi conocimiento que seré libre de retirarme de la presente investigación en el momento que yo así lo desee. También que puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación en este estudio.

Así mismo, cualquier trastorno temporalmente relacionado con esta investigación podré consultarlo con el Médico Tratante en turno, ó con los Médicos Investigadores responsable < Drs. Nayeli Jiménez Saab, Gerardo Sánchez Hernández, Roberto Espinosa Soriano ó Juan Antonio Suárez Cuenca >.

En caso de que decidiera retirarme, la atención que como paciente recibo en esta institución no se verá afectada.

Nombre.		Firma.
(En caso necesario, datos del padre, tutor o representante legal)		
Domicilio.	Teléfono	
Nombre y firma del testigo.		Firma.
Domicilio.	Teléfono	
Nombre y firma del testigo.		Firma.
Domicilio.	Teléfono	