



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

Predicción de curación vs. progresión de la enfermedad hepática tras la respuesta viral sostenida mediante elastografía transitoria en pacientes con hepatitis C.

Healing predictive factors vs. Liver fibrosis progression after sustained viral response diagnosed with transient elastography in patients with hepatitis C.

Autor: Miguel Posadas Muñoz

Director: Dr. Javier Crespo García

Codirectora: Dra. Ángela Puente Sánchez

Santander, Junio 2018

Predicción de curación vs. Progresión de la enfermedad hepática tras la respuesta viral sostenida mediante elastografía transitoria en pacientes con hepatitis C.



REVISIÓN: La influencia potencial de la subyacente HPA / NAFLD en la regresión de la fibrosis posterior a alcanzar la RVS en pacientes con infección por el VHC sigue sin estar clara. Nuestro objetivo fue evaluar la influencia del síndrome metabólico y el alcohol en la regresión de la fibrosis (evaluada mediante elastografía y puntuaciones serológicas después de 24 meses de RVS). A su vez, evaluamos la expresión serológica de la lisil oxidasa, como un objetivo potencial de la terapia antifibrótica.

MÉTODOS: Se incluyeron todos los pacientes tratados con AAD en nuestro hospital desde septiembre de 2015 y que lograron la RVS. Se realizó una entrevista personal con el cuestionario AUDIT, el examen físico, los análisis de sangre, la ecografía y Fibroscan® al inicio (Basal), a los 12 meses (12 meses) y a los 24 meses (24 meses) después de la RVS. Incluimos 276 pacientes.

RESULTADOS: Al inicio del estudio, los resultados de la elastografía fueron: F1 - 24.2% (n = 68), F2 - 21.7% (60), F3 - 15.5% (43), F4 - 38.5% (105). A los 24 meses: F1- 58.3% (161), F2- 15.9% (44), F3- 9.7% (27), F4- 15.9% (44). Aunque la fibrosis mejoró en el 74,6% de los pacientes (n = 206), el 6,4% (4) B-F1 progresó a F2 y el 6,4% (4) a fibrosis significativa (> 9 kPa); 17.9% (12) B-F2 permanecieron como F2 y 10.4% (7) progresaron a > 9kPa; 7.8% (4) B-F3 permaneció como F3 y 7.8% (4) progresó a F4; 39% (39) B-F4 se mantuvo como F4. A los 24 meses, dividimos a los pacientes en tres grupos: grupo 1 <9 kPa y CAP <288dB / m (73,1%, n = 202); grupo 2 > 9kPa o CAP> 288dB / m (20,6%, n = 57); grupo 3 > 9Kpa y CAP> 288 dB / m (5,8%, n = 16)

En todos los grupos, encontramos un aumento en el IMC (kg / m²): B- (26.5 ±4.2) vs 12M (25.9 ±4.2) vs 24M (27.2 ±11.7) p <0.001; CAP (dB / m) B- (223.0±85.7) frente a 12M (229.5 ±58.6) frente a 24M (243.1 ±58.5) p <0.001; Colesterol total (mg / dl) [B (166.5 ±38) vs 12M (188.3 ±35.8) vs 24M (188.7 ±40.8)] y TAG (mg / dl) [B (99.6± 45.4) vs 12M (112.2 ±61.1) vs 24M (111.25 ±61.1)], también aumentó (p <0.0001). Además, encontramos una correlación significativa entre HOMA (12M y 24M) y Fibroscan® (r = 0.372, p = 0.009, r = 0.389, p = 0.001). El Fibroscan® se correlacionó tanto con APRI (r = 0.165 p = 0.007) como con FORNS (r = 0.303 p <0.0001). La línea de base y el IMC 24M> 25 kg / m² fueron factores de riesgo para fibrosis o esteatosis significativa (> 9Kpa o CAP> 288dB / m) a 24M (p <0.05), así como también síndrome metabólico B y 24M: OR 4.1 IC (1.4-11.7) p = 0.008; y OR 5.4 IC (1.9-15.4) p = 0,001, respectivamente. La puntuación de Hepamet fue claramente más alta en el grupo 3 que en el grupo 1 y 2 (0,12 ±0,25 frente a 0,45 ±0,86 p = 0,004), sin embargo, no se encontraron diferencias con la puntuación de fibrosis NAFLD. No encontramos influencia del consumo de alcohol con puntaje AUDIT en la regresión de fibrosis y diferencias en la expresión de LOXL2.

CONCLUSIÓN: la regresión de la fibrosis se alcanza en el 74% de los pacientes. Sin embargo, hay un subgrupo de pacientes cuya puntuación de fibrosis empeora a los dos años, siendo el síndrome metabólico un factor clave. Los métodos no invasivos sugieren la coexistencia de una NAFLD que debe confirmarse mediante biopsia hepática.

BACKGROUND: The potential influence of underlying ALD/NAFLD in fibrosis regression after SVR in HCV infection remains unclear. We aimed to assess the influence of metabolic syndrome and alcohol consumption in fibrosis regression (evaluated by elastography and serological scores after 24 months of SVR). Also, we evaluated the serological expression of Lysyl oxidase-like, as potential goal of antifibrotic therapy.

METHODS: All patients treated with DAAs in our hospital from September 2015 and who achieved SVR were included. A personal interview with AUDIT questionnaire, physical examination, blood tests, ultrasonography and Fibroscan® were made at baseline (B), 12-months (12M), and 24-months (24M) after SVR. We included 276 patients.

RESULTS: At baseline, elastography results were: F1- 24.2% (n=68), F2- 21.7% (60), F3- 15.5% (43), F4- 38.5% (105). At 24 months: F1- 58.3% (161), F2- 15.9% (44), F3- 9.7% (27), F4- 15.9% (44). Although fibrosis improved in 74.6% of patients (n=206), 6.4% (4) B-F1 progressed to F2 and 6.4% (4) to significant fibrosis (>9kPa); 17.9% (12) B-F2 remained as F2 and 10.4% (7) progressed to >9kPa; 7.8% (4) B-F3 remained as F3 and 7.8% (4) progressed to F4; 39% (39) B-F4 remained as F4. At 24M, we divided the patients in three groups: group 1 <9kPa and CAP <288dB/m (73, 1%, n=202); group 2 >9kPa or CAP>288dB/m (20,6%, n= 57); group 3 >9Kpa and CAP>288 dB/m (5,8%, n=16)

In all groups, we found an increase in BMI(kg/m²): B-(26.5 ±4.2) vs. 12M (25.9 ±4.2) vs. 24M (27.2±11.7) p<0.001; CAP (dB/m) B-(223.0 ±85.7) vs. 12M (229.5 ±58.6) vs. 24M (243.1 ±58.5) p<0.001; Total cholesterol (mg/dl) [B (166.5 ±38) vs. 12M (188.3 ±35.8) vs. 24M (188.7 ±40.8)] and TAG (mg/dl) [B (99.6 ±45.4) vs. 12M (112.2 ±61.1) vs. 24M (111.25 ±61.1)] also increased (p<0.0001). We also found a significant correlation between HOMA (12M and 24M) and Fibroscan® (r=0.372,p=0.009; r=0.389, p=0.001). Fibroscan® also correlated with both APRI (r =0.165 p=0.007) and FORNS (r=0.303 p<0.0001). Baseline and 24M BMI>25kg/m²were risk factors for significant fibrosis or steatosis (>9Kpa or CAP>288dB/m) at 24M (p<0.05), as well as B and 24M metabolic syndrome: OR 4.1 IC(1.4-11.7) p=0.008; and OR 5.4 IC(1.9-15.4) p=0,001, respectively. Hepamet score was clearly higher in group 3 than in group 1 and 2 (0.12 ±0.25 vs. 0.45 ±0.86 p=0.004), but no differences were found with NAFLD fibrosis score. We didn't find influence of alcohol consumption with AUDIT score in fibrosis regression and differences in expression of LOXL2.

CONCLUSION: Regression of fibrosis is reached in 74% of patients. However there is a subgroup of patients whose fibrosis score worsens at two years, being metabolic syndrome a key factor. Non-invasive methods suggest the coexistence of a NAFLD that should be confirmed by liver biopsy.

Índice

1. INTRODUCCIÓN	6
Epidemiología y transmisión	7
Virología, variabilidad genética y genotipos.	9
Historia natural de la Hepatitis C.	10
Fibrosis y VHC	12
Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica	14
Impacto de la Respuesta Viral Sostenida en la fibrosis	15
2. PAPEL DE LA ELASTOGRAFÍA EN LA EVALUACIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA.	16
Diagnóstico no invasivo de la fibrosis mediante elastografía	16
Diagnóstico de la fibrosis mediante marcadores serológicos.	19
3. HIPÓTESIS / JUSTIFICACIÓN.....	21
OBJETIVOS.....	21
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	22
4.1 Diseño del estudio.....	22
4.1.1 Fase retrospectiva:.....	22
4.1.2 Fase prospectiva	23
4.2 Criterios de selección.....	23
4.3 Variables analizadas	24
4.3.1 Datos demográficos y epidemiológicos	24
4.3.2 Determinaciones de laboratorio.....	25
4.3.3 Análisis de la fibrosis.....	25
4.4 Análisis estadístico	26
4.5 Aspectos éticos	26
5. RESULTADOS	27
5.1 Características de la población global.....	27
5.2 Variación de los parámetros a lo largo de dos años	28
5.3 Variación del Fibroscan® y el CAP a lo largo de dos años	31
5.4 Variación de las variables relacionadas con el síndrome metabólico	33
5.5 CORRELACIÓN DE LA FIBROSIS CON FACTORES METABÓLICOS.....	35
5.6 Influencia del síndrome metabólico en la no regresión de la fibrosis hepática	37
5.7 Relación con otros marcadores de enfermedad por depósito graso	39
6. DISCUSIÓN	40
7. CONCLUSIONES.....	42
8. Bibliografía.....	43

1. INTRODUCCIÓN

La infección humana por el virus de la hepatitis C (VHC) es un problema de salud que se distribuye a nivel mundial. Cada año entre 350,000-500,000 personas mueren por complicaciones asociadas a esta enfermedad. Se estima que la prevalencia de esta infección engloba aproximadamente a un 1% de la población mundial según el *Global Hepatitis Report 2017*^(1,2). Su distribución varía dependiendo de las zonas geográficas, encontrándose más elevada en la Región Mediterránea Oriental (2,3%), seguida de la Región Europea (1,5%)⁽³⁾.

Como ya conocemos; tras una hepatitis aguda, la regeneración hepática puede ser completa en un corto periodo de tiempo, sin embargo, el VHC consigue evadir con éxito la respuesta inmunitaria del huésped en más del 60% de las personas con infección aguda⁽⁴⁾, por lo que el VHC persiste en un estado de latencia a nivel celular produciendo una lesión crónica, cuyo sustrato patológico se caracteriza por la asociación de fenómenos inflamatorios y necróticos celulares que dan lugar a un daño tisular mantenido generando un reemplazamiento de las células parenquimatosas por elementos de la matriz extracelular (EMC). A pesar de que este mecanismo pudiera ser inicialmente beneficioso para recuperar cierta funcionalidad hepática, la acumulación progresiva de EMC, irá produciendo distorsiones de la arquitectura vascular así como un parénquima heterogéneo y cicatricial que se traducirá finalmente en un estadio de fibrosis y consecuentemente en cirrosis hepática y la pérdida de función característica de la insuficiencia hepática.

Los estudios de investigación en hepatología han basado sus esfuerzos en los últimos años en el tratamiento etiológico de la enfermedad crónica, más concretamente en el tratamiento antiviral para la hepatitis C, experimentando un cambio trascendental con la aparición en el año 2011 y 2014 de los nuevos antivirales de acción directa (AAD)⁽⁵⁾ de primera y segunda generación respectivamente; alcanzando tasas de respuesta viral sostenida (RVS) de hasta el 95%, lo que se traduce en un bloqueo del agente viral lesivo a nivel tisular y por lo tanto en la progresión de la disfunción hepática, e incluso la reversión de la fibrosis avanzada⁽⁶⁾.

Esta última idea transforma el concepto anticuado de que la fibrosis y la cirrosis eran algo estático y por lo tanto irreversible. Gracias a numerosas investigaciones realizadas en modelos humanos y animales, sabemos que la fibrosis hepática es un proceso reversible, y, por lo tanto, puede ser modulado deteniendo la progresión y/o promoviendo la resolución de la noxa. En consecuencia, la clarificación de los mecanismos moleculares que intervienen en los mecanismos fibrogénicos es fundamental para establecer futuras terapias antifibróticas^(7,8,9).

Uno de los aspectos fundamentales que limitan el estudio de la fibrosis hepática es que no disponemos de métodos diagnósticos perfectos. El *gold estándar* sigue siendo la biopsia hepática, sin embargo, es una prueba invasiva, no exenta de riesgos para el paciente y en la que se precisa para su correcta interpretación, una muestra adecuada y un patólogo experto. Por ello, cada vez cobran más importancia los métodos no invasivos. Entre todos los métodos no invasivos, el más importante es el FibroScan®.

Los métodos no invasivos utilizados para correlacionar la hipótesis de regresión vs. La progresión del grado de lesión hepática en pacientes tratados con AAD en los cuales el ARN del virus es indetectable, la técnica de elastografía de transición tiene un papel primordial en este trabajo. Así pues, hemos querido conocer la capacidad de esta herramienta para medir de forma precisa el grado/estado de fibrosis hepática de una forma específica, fiable y reproducible. Esta técnica proporcionará información estructural del parénquima hepático, que junto a diferentes marcadores serológicos servirán para conseguir una correcta interpretación de la eficacia del tratamiento antiviral y sus repercusiones postcuración ⁽¹⁰⁾.

Epidemiología y transmisión

Según la organización mundial de la salud (OMS), en el año 2015, se estimó que existían 71 millones de personas con infección por el VHC en el mundo. La mortalidad asociada a las hepatitis virales fue de 1,34 millones de personas; de estas muertes el 30% ocurrió por complicaciones asociadas al virus de la hepatitis C ^(1,2).

Estudios recientes estima que entre el 0,3 y 0,4% de la población adulta de nuestro país presenta infección activa por el VHC ⁽¹²⁾. Los últimos datos provienen de la Cohorte ETHON (Estudio poblacional de enfermedades Hepáticas Nacional) el cual determinó la prevalencia de la seropositividad e infección crónica por el VHC en 3 ciudades de prevalencias diferentes (Santander, Madrid y Valencia). En este estudio se observó una prevalencia global de positividad en pruebas serológicas frente al VHC del 1.1% y de PCR-VHC positiva correspondiente a menos del 50% de los seropositivos. De la población que representan este porcentaje, diferenciamos dos grupos prevalentes de características propias en relación a la infección del virus de la hepatitis C: Por un lado, pacientes entre 30-45 años previamente expuestos al uso de drogas por vía parenteral y por otro, pacientes mayores de 65 años infectados en transfusiones sanguíneas antes del año 1990 ⁽¹¹⁾.

Hasta la fecha se han tratado en España a más de 90,000 pacientes a través del Plan Estratégico para el Abordaje de la Hepatitis C (PEAHC) según el registro de la asociación española para el estudio del hígado. Además en un comunicado oficial presentando en el último congreso anual de la AEEH se insta a las administraciones públicas a desarrollar todos los mecanismos previstos en el Plan estratégico para el Abordaje de la Hepatitis C, incidiendo en la suficiente evidencia epidemiológica actual y en la contundente capacidad para tratar y curar a los pacientes de nuestro país llevando a cabo una estrategia eficiente e idónea en favor de la Salud Pública ⁽¹²⁾.

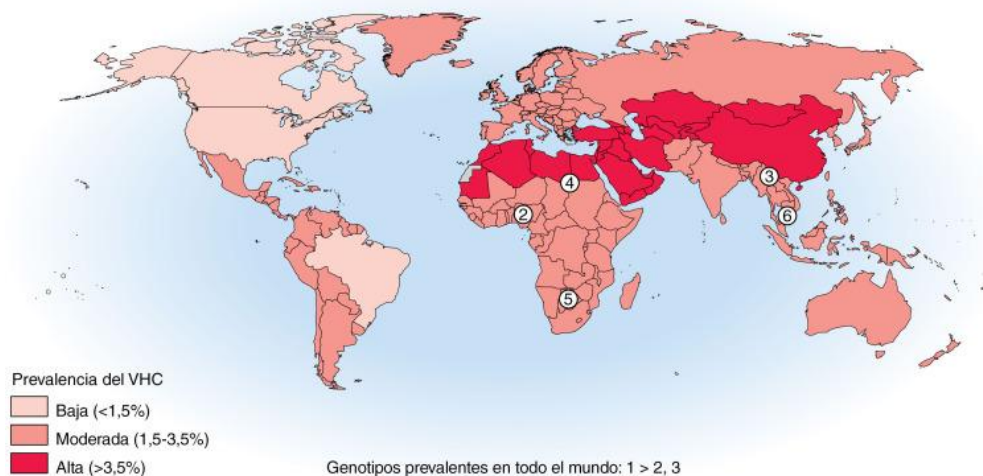


Imagen 1. Mapa del mundo donde se indica la prevalencia de la infección por el virus de la hepatitis C (VHC) (sombreado) y los subtipos (números). Los genotipos 1, 2 y 3 son prevalentes con un predominio variable en todo el mundo; los genotipos especialmente diversos (p. ej., genotipo 2 en África central/occidental) o asociados a una región geográfica (p. ej., genotipo 5 en Sudáfrica) se indican con números rodeados de un círculo. [Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology*. 2013;57:1333-1342.]

La transmisión del virus de la Hepatitis C, en términos epidemiológicos, ha tenido lugar principalmente a través del consumo de drogas por vía intravenosa (ADVP) o por la transfusión de hemoderivados. No obstante, existen además otras formas de contagio como son: la transmisión materno fetal, siendo la transmisión vertical poco frecuente pero si la madre posee ARN-VHC detectable, el riesgo de transmisión es de un 4-7%, además no hay un solo método confiable para evitarla. Es más común en madres infectadas con VIH⁽¹³⁾ y, asimismo guarda relación con el trabajo del parto prolongado, la rotura prematura de membranas o la vigilancia fetal con dispositivos internos. El contacto sexual entre parejas monógamas es de 0-0,6/año y en individuos promiscuos o con ETS se eleva hasta un 1,8% por año, siendo una vía de transmisión mucho más frecuente en la hepatitis B. Otras vías de transmisión son: accidente laboral en trabajadores sanitarios, tatuajes, hemodiálisis, etc. A pesar de ello hasta en un 30% de los casos no existe un factor identificable⁽¹⁴⁾.

Para valorar el riesgo de hepatitis C, tiene particular importancia conocer en la anamnesis los antecedentes de drogas inyectadas, incluso en un pasado remoto. La inyección de drogas sigue siendo en la actualidad el factor de riesgo más frecuente de hepatitis C. En relación al contagio a través de transfusiones sanguíneas o de hemoderivados, es necesario destacar que ya no es un factor de riesgo importante para la hepatitis viral aguda siendo menor de 1 por cada millón de unidades transfundidas. Sin embargo, las trasfusiones recibidas previas al año 1992 cuando los bancos de sangre introdujeron las técnicas de inmunoanálisis enzimáticos sensibles para los anticuerpos del VHC (*antibody to hepatitis C virus*) constituyen un factor de riesgo importante de hepatitis C crónica.

Virología, variabilidad genética y genotipos.

El virus de la hepatitis C, que antes de ser identificado se denominaba “de la hepatitis no A, no B”, es un RNA virus de 9 600 nucleótidos, con sentido positivo, monocatenario y lineal, único integrante del género *Hepacivirus* en la familia Flaviviridae. El genoma del VHC contiene solo un marco de lectura abierto de gran tamaño (gen) que codifica una poliproteína viral de unos 3000 aminoácidos, la cual es desdoblada después de la traducción para generar 10 proteínas virales. El extremo 5' del genoma consiste en una región no traducida adyacente a los genes para cuatro proteínas estructurales (la proteína central de la nucleocápside, C, y dos envolturas glucoproteínicas, E1 y E2. El extremo 3' del genoma también incluye una región no traducida y contiene los genes de seis proteínas no estructurales (NS, *nonstructural*). Tres características representativas de su identidad son que debido a que no se replica por medio de un producto intermediario de RNA, no se incorpora al genoma del hospedador. Además el VHC tiende a circular en títulos relativamente bajos de 10^3 - 10^7 virones/mL, por lo que sigue siendo difícil visualizar las partículas virales de 50 a 80 nm. Aun así, la velocidad de replicación de VHC es muy alta, de 10^{12} virones al día con una semivida de 2.7 h. Por último, al provenir del mismo mecanismo de ensamblado y secreción de las lipoproteínas de baja densidad y muy baja densidad, es una lipoviropartícula y se disimula como lipoproteína, lo cual puede limitar su visibilidad para el sistema inmunitario adaptativo y explicar su facultad de evadir la contención y eliminación inmunitaria.

El VHC tiene una elevada frecuencia de mutaciones inherente, la región 5' no traducida y el gen central se conservan en alto grado pero las proteínas de membrana son codificadas por la región “hipervariable” que varía de una cepa a otra, determinando una notable heterogeneidad dentro del genoma. Dada su amplia variabilidad genética, se desarrolló un sistema de clasificación, en el que se asigna a las secuencias víricas un genotipo y un subtipo. La primera división empleada para describir la heterogeneidad genética del VHC es el *genotipo* del virus, que alude a los distintos grupos de aislamientos del VHC surgidos durante su evolución, los cuales difieren uno del otro en su homología de secuencia en >30%, y los *subtipos* lo hacen cerca de 20% ⁽¹⁵⁾. Como las divergencias entre las cepas del VHC pertenecientes a un genotipo o a un subtipo y aislados en un mismo hospedador pueden no ser suficientes para definir un genotipo diferente, estas diferencias intragenotípicas se denominan *cuasiespecies* y difieren en su homología de secuencia tan sólo en un pequeño porcentaje.

Como se menciona en la Imagen 1 del apartado epidemiología, los genotipos 1, 2 y 3 se presentan prácticamente en cualquier región del mundo, mientras que el resto de genotipos se localizan en zonas geográficas más concretas. De todos ellos, el más frecuente en España y en el mundo es el genotipo 1. En España el genotipo 1 tiene una prevalencia de más de 55,1 %, siendo el más habitual el subtipo 1b (69.8 %), seguido por el genotipo 3 (29 %), el genotipo 2 (8,9 %) y el genotipo 4 (5,8 %) ^(16,17).

Existen diferencias entre los genotipos del VHC en cuanto a su reacción a los antivirales y la respuesta al tratamiento. Sin embargo, no parece que el genotipo del VHC influya en la patogenia o evolución clínica de la hepatopatía, definida por el estadio de fibrosis o en la probabilidad de cronificación de la infección aguda por el VHC (Excepto el

genotipo 3, en el cual el desarrollo de esteatosis hepática y la evolución clínica son más frecuentes).

Historia natural de la Hepatitis C.

La evolución natural de la infección aguda o crónica por el VHC tiene una escasa e inespecífica expresividad clínica. El contagio agudo con el VHC produce inicialmente una hepatitis aguda que cursa de forma asintomática y anictérica en más del 75-90% de los casos, pudiendo evolucionar a una hepatitis crónica hasta en un 85% de los casos. De éstos que evolucionan a hepatitis crónica, aproximadamente un 20-30 % desarrollará cirrosis en el curso de 20-30 años. En aquellos que desarrollan cirrosis, aproximadamente un 3-6 % presentaran descompensación hepática y dentro de estas descompensaciones, en un 1-5% de las veces estará en relación con el Carcinoma Hepatocelular (CHC) ^(18,19).

La hepatitis crónica es el cuadro que sigue a la hepatitis C aguda en un 50-85% de los casos; Las concentraciones de ALT sérica suelen estar elevadas en los pacientes con una infección crónica por el VHC, sin embargo, dado que estas concentraciones suelen fluctuar, hasta un 50% de los pacientes pueden tener unas concentraciones de ALT normales en un momento determinado. La actividad de la aminotransferasa puede ser normal durante períodos de tiempo prolongado en un 33% de los casos; a pesar de que la mitad de estos pacientes presenta una hepatitis crónica en la anatomía patológica. En las personas en quienes persiste la actividad normal de aminotrasferasas >5 a 10 años, puede haber progresión histológica.

La mayor parte de los pacientes con hepatitis C crónica están asintomáticos antes de que aparezca una fibrosis hepática avanzada. Los pacientes diagnosticados de infección crónica refieren con frecuencia fatiga, siendo la ictericia rara. De las complicaciones extra hepáticas mediadas por inmunocomplejos destaca la crioglobulinemia mixta esencial que se acompaña de vasculitis cutánea y glomerulonefritis membranoproliferativa, así como de trastornos linfoproliferativos. Entre las complicaciones que no guardan relación con la lesión de complejos inmunitarios se encuentran la porfiria cutánea tardía, la diabetes mellitus tipo II, el liquen plano y el síndrome de Sjogren. La gravedad de estos síntomas puede relacionarse, aunque no siempre, con la gravedad de la hepatopatía de base.

En general, las hepatitis C crónicas consideradas como grupo tienden a progresar de manera lenta y gradual en la mayoría de los pacientes, pero en un 25% de los casos degenera en cirrosis avanzada, lo que unido a su alta prevalencia, la convierten en la principal causa de cirrosis, hepatocarcinoma y trasplante hepático en el mundo occidental.

Entendemos la cirrosis, como un trastorno que se define por sus características histopatológicas, que se acompañan de muchas manifestaciones y complicaciones clínicas, algunas de las cuales pueden ser letales. Este proceso patológico difuso se caracteriza por la aparición de fibrosis de un grado tal que se produce una distorsión estructural y se forman nódulos de regeneración que tienen como resultado una disminución de la masa hepatocelular y, por tanto, de la función, lo mismo que alteraciones en el flujo sanguíneo debidas a la formación de shunts intrahepáticas entre vena porta y arteria hepática que provocan una disminución de la perfusión de parénquima hepático y la consiguiente hipoxia tisular.

Los pacientes con cirrosis tienen grados variables de compensación en la función hepática y es preciso distinguir entre los que presentan la fase estable asintomática o “compensada” y los que tienen una cirrosis sintomática o “descompensada”. Estas se distinguen por la presencia de las complicaciones propias de la cirrosis que aparecen a medida que la enfermedad progresa y que necesitarán tratamiento específico. La evolución de la cirrosis conlleva un incremento progresivo de la presión portal que interviene en la aparición de ascitis y la hemorragia por varices esofagogástricas, dos complicaciones típicas de la cirrosis descompensada. La insuficiencia hepatocelular se manifiesta en forma de ictericia, trastornos de la coagulación e hipoalbuminemia y contribuye a la encefalopatía portosistémica. Por último, la complicación final de la cirrosis es la aparición hepatocarcinoma (HCC); siendo la tasa anual de HCC en individuos cirróticos con hepatitis C de 1 a 4% y ocurre sobretodo en enfermos que han tenido la infección durante >30 años⁽²⁰⁾.

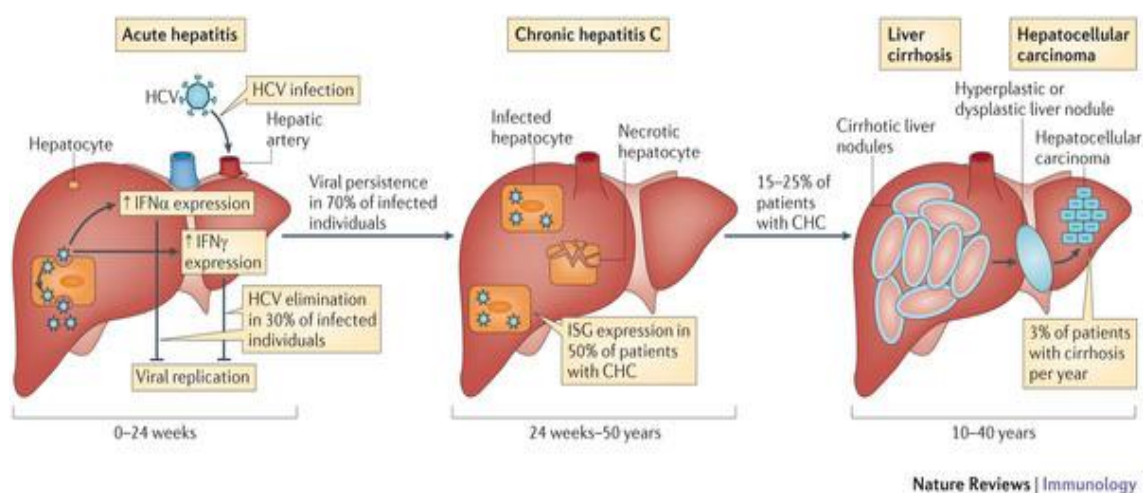


Imagen 2. Historia natural del VHC. [Heim M. 25 years of interferon-based treatment of chronic hepatitis C: an epoch coming to an end. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13, 535-542.]

Fibrosis y VHC

El parénquima hepático está formado por la estructuración de las propias células epiteliales (hepatocitos), células endoteliales y las células parenquimatosas, incluyendo las células estrelladas hepáticas (HSC) y las células de Kupffer (KC) (macrófagos hepáticos). La unidad microvascular es el sinusoides hepático, formado por un revestimiento endotelial poroso, separado por los hepatocitos por espacio subendotelial de Disse. El proceso de fibrogénesis, se produce en respuesta a todas las formas de lesión hepática, no obstante, en la hepatitis viral comienza en la zona periportal y se extiende gradualmente en forma de tabiques por los lobulillos hacia las venas centrales. Este, se caracteriza por el aumento de los componentes de la matriz extracelular (EMC), incluyendo el depósito de colágeno en el intersticio y en la membrana basal, proteoglicanos y glicoproteínas de la matriz (laminina y fibronectina), así como cambios específicos en la composición de la EMC. Estos cambios y variaciones en los componentes de la EMC dan lugar a la alteración de su interacción con las moléculas de adhesión celular, influyendo en la modulación de las funciones celulares (crecimiento, migración y expresión génica) ⁽²¹⁾. Las células estrelladas y las células de Kupffer son los elementos primordiales en la fibrogénesis. El mecanismo de fibrosis hepática puede dividirse en tres partes:

1. En primer lugar, el daño hepático agudo provoca la activación de las KC para coordinar la respuesta regenerativa, sin embargo ante un daño crónico, la sobre activación de estas células provoca la liberación de citoquinas proinflamatorias (CCL2 y CCL5) y estimula a la médula ósea en la fabricación de monocitos inmaduros activados Ly6C, que se transforman en células profibrinógenas. Estas células son capaces de liberar gran cantidad de citoquinas proinflamatorias como TNF α , IL-1 β , IL-6 y PAMPs. (gut-derived pathogen-associated molecular patterns) así como citoquinas profibrogénicas y TGF β ^(22,23).
2. Este fenómeno inflamatorio induce la transformación de las HCS en HCS activas o miofibroblastos que producen de forma continua sustancias de la matriz extracelular (colágeno tipo I, III, IV, fibronectina, laminina y proteoglicanos). Una peculiaridad de las HSC activas es la expresión de novo de proteínas específicas de músculo liso como alfa-actina. Esta proteína las identifica como miofibroblastos específicos del hígado. Además son capaces de activar y reclutar células inflamatorias y tumorales (carcinoma hepatocelular y colangiocarcinoma). La capacidad contráctil de las células estrelladas, depende de los canales de calcio y ligada a sistema de la endotelina, angiotensina o adrenérgicos, tiene numerosos efectos a nivel hepático como la constricción perisinusoidal que conlleva el colapso y la congestión del hígado cirrótico ⁽²⁴⁾.
3. En esta fase, es importante el concepto anatomopatológico de la hipoxia tisular. La situación de hipoxia secundaria a daños en la perfusión sinusoidal

por la fibrosis portal, a la capilarización de los sinusoides por la fibrosis perisinusoidal, shunts intrahepáticos o por trombosis intrahepática, lleva a la formación de nuevos capilares sanguíneos. Esta neoangiogénesis, es el inicio de la generación de colaterales porto sistémicas y del síndrome de hipertensión portal y puede dar lugar al punto de “no retorno” ⁽²⁵⁾.

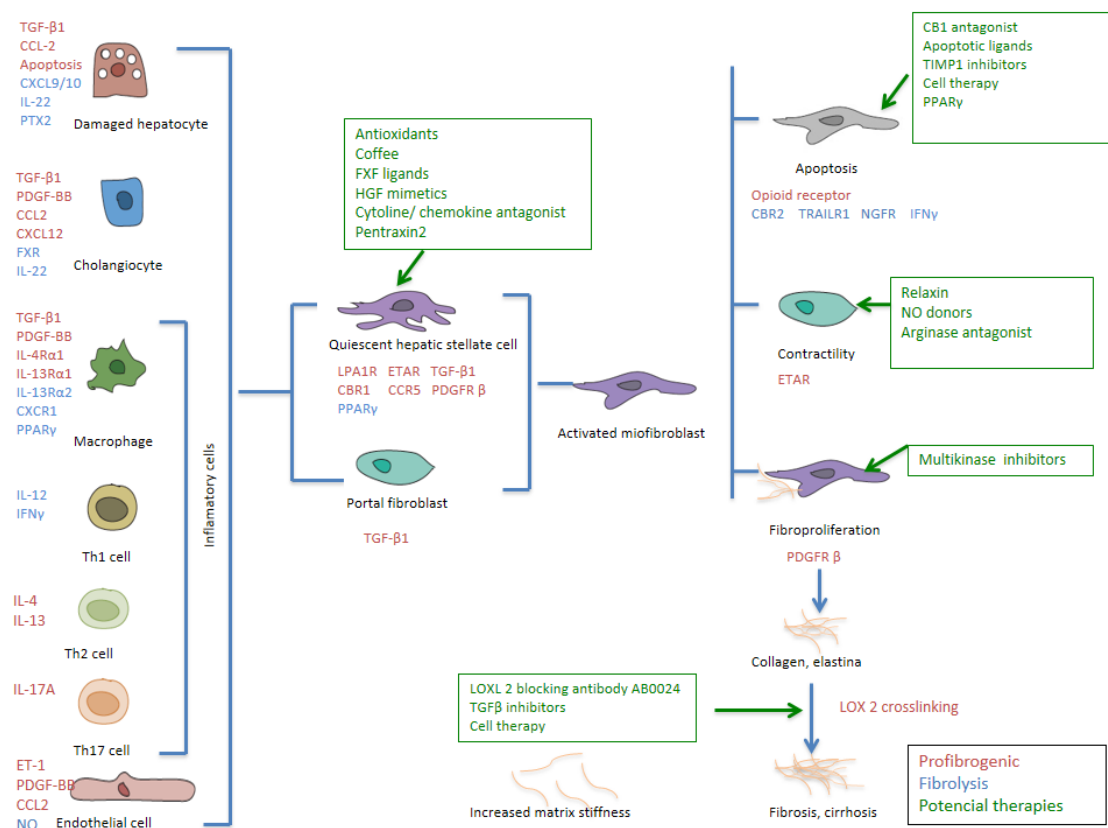


Imagen 3. Representación de la fisiopatología de la fibrosis hepática. [Trautwein C, Friedman S et al. Hepatic fibrosis: Concept to treatment Journal of Hepatology 2015 vol. 62 s15-24.]

A pesar de que la fibrosis y cirrosis es el fin común del daño hepático crónico, los mecanismos de fibrogénesis presentan algunas peculiaridades en función de la etiología que desencadena el cuadro y la variabilidad interindividual, de forma que puedan predominar diferentes mecanismos profibrogénicos (inflamación, estrés oxidativo o apoptosis).

Como hemos dicho anteriormente, la fibrosis es un proceso reversible ^(7,8,9). El mecanismo antifibrogénico, tiene como punto de partida los macrófagos activados $Ly6C^{high}$, los cuales pueden diferenciarse en macrófagos con acción antifibrogénica, macrófagos inactivos $Ly6C^{low}$ si el agente lesivo es eliminado ⁽²⁶⁾. El receptor CX3CR1, parece estar involucrado en dicha diferenciación, ya que su sobreexpresión está relacionada con la transformación fenotípica de los macrófagos $Ly6C^{low}$. Estos macrófagos liberan gran cantidad de metaloproteinasas a la matriz extracelular como MMP-9 y MMP-13 y la citoquina con actividad antiinflamatoria IL-10, la cual está

implicada en la resolución de la fibrosis. Los macrófagos Ly6C^{low} pierden su capacidad de estimular y mantener el fenotipo de miofibroblastos de forma que inducen a las células estrelladas activadas a la apoptosis o a su reversión en células inactivas ⁽²⁷⁾.

Estos datos sugieren que el balance entre la proliferación celular y la apoptosis es fundamental para mantener el equilibrio en la formación de HSC, por lo que una activación de la apoptosis pudiera ser un buen objetivo terapéutico, sin embargo se sabe que la misma apoptosis puede estimular por sí misma la generación celular lo cual no es deseable.

Un aspecto muy interesante es que la HSC inactivadas son mucho más sensibles a una nueva transdiferenciación a miofibroblastos, de forma que sobre un hígado previamente dañado una agresión activará de forma más rápida la transformación profibrogénica ⁽²⁸⁾.

Enfermedad Hepática Grasa No Alcohólica

La esteatosis hepática se describe como la acumulación de grasa de forma excesiva en el hígado representando un 5-10% de su peso, en forma de triglicéridos, colesterol y fosfolípidos mayoritariamente. Durante muchos años, el descubrimiento de hígado graso durante una evaluación de rutina no supuso un hallazgo clínicamente significativo, sin embargo, se sabía que los pacientes obesos y diabéticos podían desarrollar esteatohepatitis histológica similar a la que se observa con la enfermedad hepática inducida por el alcohol, por lo tanto, la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) se caracteriza por cambios histológicos similares a los observados en individuos con hepatitis alcohólica pero en los que el consumo de alcohol es nulo o no significativo. Este término debe quedar englobado en una entidad más amplia, la enfermedad hepática por depósito de grasa (EHDG) no asociada al consumo de alcohol, que incluye la esteatosis simple, la EHNA propiamente dicha y, finalmente, la cirrosis hepática e incluso el hepatocarcinoma (CHC). La entidad que nos concierne es una condición compleja cuyo fenotipo refleja la interacción de factores ambientales, ligados al estilo de vida y genéticos. Puede aparecer en el contexto de múltiples enfermedades; su principal asociación etiológica es con el síndrome de resistencia a la insulina (RI), caracterizado por obesidad, diabetes mellitus (DM) tipo II, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e hipertensión arterial (HTA). Dada la frecuencia de esta asociación, se ha sugerido que la EHDG es la expresión hepática del síndrome metabólico. Estas condiciones fisiopatológicas se han analizado de forma individualizada, destacando la obesidad y el síndrome metabólico como factores de mal pronóstico asociados a la enfermedad hepática crónica de diferente etiología ^(29,30). El Síndrome metabólico se puede definir como una asociación compleja de factores de riesgo vascular asociados con una dieta hipercalórica rica en grasa, inactividad física, obesidad abdominal y envejecimiento. El parámetro más utilizado en la práctica clínica para medir la obesidad es el índice de masa corporal (IMC), que se calcula mediante la siguiente fórmula: peso (kg)/altura (m²). Los criterios diagnósticos según el Consenso Armonizado EIAS, 2013 del síndrome metabólico hacen referencia al menos tres de los siguientes ⁽³¹⁾:

- Perímetro abdominal en caucásicos >102cm en H; >88 en M.
- Trigliceridemia > 150mg/dL^a (O estar recibiendo tratamiento específico)
- HDL-c < 40 mg/dL en Hombres; <50 mg/dL en Mujeres^a
- Presión arterial > 130/85mm Hg^a
- Glucemia basal >100mg/dL^a

Varias circunstancias motivan el creciente interés por esta enfermedad: la elevada prevalencia de esta entidad en el mundo occidental, su capacidad de progresión hacia formas histológicas agresivas y la asociación con enfermedades que incrementan el riesgo vascular⁽³²⁾. Su reconocimiento y asociación con la enfermedad hepática es útil para llamar la atención del paciente sobre la conveniencia de modificar su estilo de vida y someterse a las intervenciones terapéuticas necesarias.

Impacto de la Respuesta Viral Sostenida en la fibrosis

El término Respuesta viral sostenida, se define como un ARN-VHC indetectable en la semana 12 y 24 post tratamiento y comúnmente se emplea para designar a aquellos pacientes sin viremia tras un curso de tratamiento antiviral exitoso⁽³³⁾.

La estabilización o regresión de la fibrosis tras el aclaramiento del virus de la hepatitis C es uno de los objetivos principales tras el tratamiento antiviral, independientemente del tipo empleado, siendo este el principal factor de progresión de la fibrosis, y provocando una mejoría en el pronóstico de los pacientes con infección crónica por virus C^(10,34). Los avances en el desarrollo de la familia de fármacos conocidos como antivirales de acción directa (AAD), ha permitido erradicar por completo el VHC del organismo con unas tasas de éxito cercanas al 100%, demostrando los efectos beneficiosos de alcanzar la RVS en términos de desarrollo de complicaciones a corto y largo plazo. La RVS se acompaña de una mejoría en la calidad de vida y de una disminución en el riesgo de complicaciones asociadas a una enfermedad hepática avanzada (progresión de la enfermedad hepática, reducción del riesgo de hepatocarcinoma, complicaciones extrahepáticas, necesidad de trasplante hepático) y, en última instancia, alarga la supervivencia^(35,36).

Citando el estudio publicado por Van Der Meer con el objetivo de analizar el impacto de la RVS en términos de complicaciones en un total de 530 pacientes con una media de seguimiento de 8,4 años, se observó una tasa de mortalidad del 7% en pacientes con RVS vs 30% no RVS. En el 70% de los casos fue por causa hepática y en el 15% no asociada a causa hepática. La complicación más frecuente fue la ascitis (65%) seguida de la hemorragia por varices (20%) y encefalopatía hepática (10%). La incidencia acumulada de hepatocarcinoma fue del 5,1% en pacientes con RVS vs 21,8% en pacientes sin RVS⁽³⁷⁾.

Sin embargo, no todos los pacientes logran el mismo grado de regresión de la fibrosis y volvemos al llamado, punto de no retorno que probablemente sea el desarrollo de hipertensión portal clínicamente significativa.

2. PAPEL DE LA ELASTOGRAFÍA EN LA EVALUACIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA.

El conocimiento de la fibrosis hepática representa un componente importante en la evaluación de las enfermedades hepáticas crónicas. A día de hoy, la biopsia hepática está considerada el *gold standard* para el diagnóstico del estado de fibrosis, sin embargo, los métodos no invasivos son cada vez más utilizados en detrimento de la biopsia. Desde la primera descripción de biopsia hepática percutánea en 1923 ⁽³⁸⁾, el análisis histológico del hígado ha sido utilizado para el diagnóstico y el estadiaje de diversas enfermedades hepáticas tales como la hepatitis C, hepatitis B, hígado graso, hepatitis autoinmune, CBP y hemocromatosis ⁽³⁹⁻⁴³⁾. Por otro lado, la biopsia tiene limitaciones intrínsecas que restringen su uso clínico. Aunque generalmente es segura, se trata de una técnica invasiva asociada a molestias significativas hasta en un 30% de los pacientes expuestos ⁽³⁸⁾, sangrado severo en $\leq 1\%$ ⁽⁴⁴⁾, ingreso hospitalario en 2%-3% y una tasa de mortalidad de hasta el 0,33% ⁽⁴⁵⁾. Además, la biopsia hepática está sujeta a errores en la colección de la muestra así como variabilidad en la interpretación intra e inter observador ⁽⁴⁶⁾. En este contexto, un amplio espectro de herramientas diagnósticas no invasivas, tales como: marcadores séricos directos (ác. Hialurónico, citoquinas, PIIINP...) e indirectos (APRI, recuento de plaquetas...) y diversas pruebas elastográficas (elastografiade transición, elastografía por resonancia magnética o ARFI) han aparecido en los últimos años.

Diagnóstico no invasivo de la fibrosis mediante elastografía

La más utilizada en Europa es la elastografía de transición (FibroScan[®]). El principio básico de esta técnica consiste en que la velocidad de propagación de una onda a través de un tejido homogéneo es proporcional a su elasticidad (dureza). Se trata una técnica rápida, ambulatoria, no invasiva, con amplio rango de valores (2,5-75 kPa), buena reproducibilidad intra/interobservador y ha sido validada en grandes cohortes globales para la correlación entre el nivel de fibrosis hepática y los datos de elasticidad proporcionados por dicha técnica ^(46, 47). Este sistema está equipado con dos tipos de sonda que se aplican en la superficie cutánea entre el noveno y el onceavo espacio intercostal en función de la longitud de este espacio (25-65mm para la sonda-M y 35-75mm para la sonda-XL). El paciente se encuentra en posición de decúbito supino con el brazo derecho colocado detrás de la cabeza para facilitar el acceso a esta región. Con el objetivo de obtener resultados cuantitativos adecuados es necesario validar las mediciones un mínimo de 10 veces con un rango IQ $\leq 30\%$. Por otro lado, la medición de la rigidez hepática mediante FibroScan[®] puede tener limitaciones técnicas en pacientes obesos, con espacios intercostales reducidos, ascitis, hepatitis aguda, abuso alcohólico, no cumplimiento del ayuno, insuficiencia cardiaca congestiva y colestasis extrahepática ⁽⁴⁸⁾. Se debe hacer mención a que durante la realización de la prueba de FibroScan[®], se aplica una herramienta para la evaluación no invasiva y la cuantificación de la esteatosis denominada CAP, el cual es una medida de la atenuación del ultrasonido que corresponde a la disminución de la amplitud de las ondas de ultrasonido a medida que se propagan a través del hígado. El CAP y la rigidez del

hígado son medidos simultáneamente en el mismo volumen de hígado, además se calcula solo si la medición de la rigidez del hígado es válida. El CAP se mide con la sonda M a 3.5 MHz y se expresa en decibelios por metro (dB/m).

Respecto al diagnóstico de la Hepatitis C al interpretar los valores obtenidos al realizar esta técnica, los resultados han demostrado que las características de la rigidez hepática se correlacionan de manera robusta con los estadios de fibrosis por Metavir. Los valores de la curva AUROCs fueron desde 0.79-0.83 para fibrosis significativa ($\geq F2$), para pacientes con $\geq F3$ (AUROCs de 0.90-0.91) y con F4 (AUROCs 0.95-0.97) con puntos de corte con óptima precisión diagnóstica para cada estadio de fibrosis. ⁽⁴⁹⁾

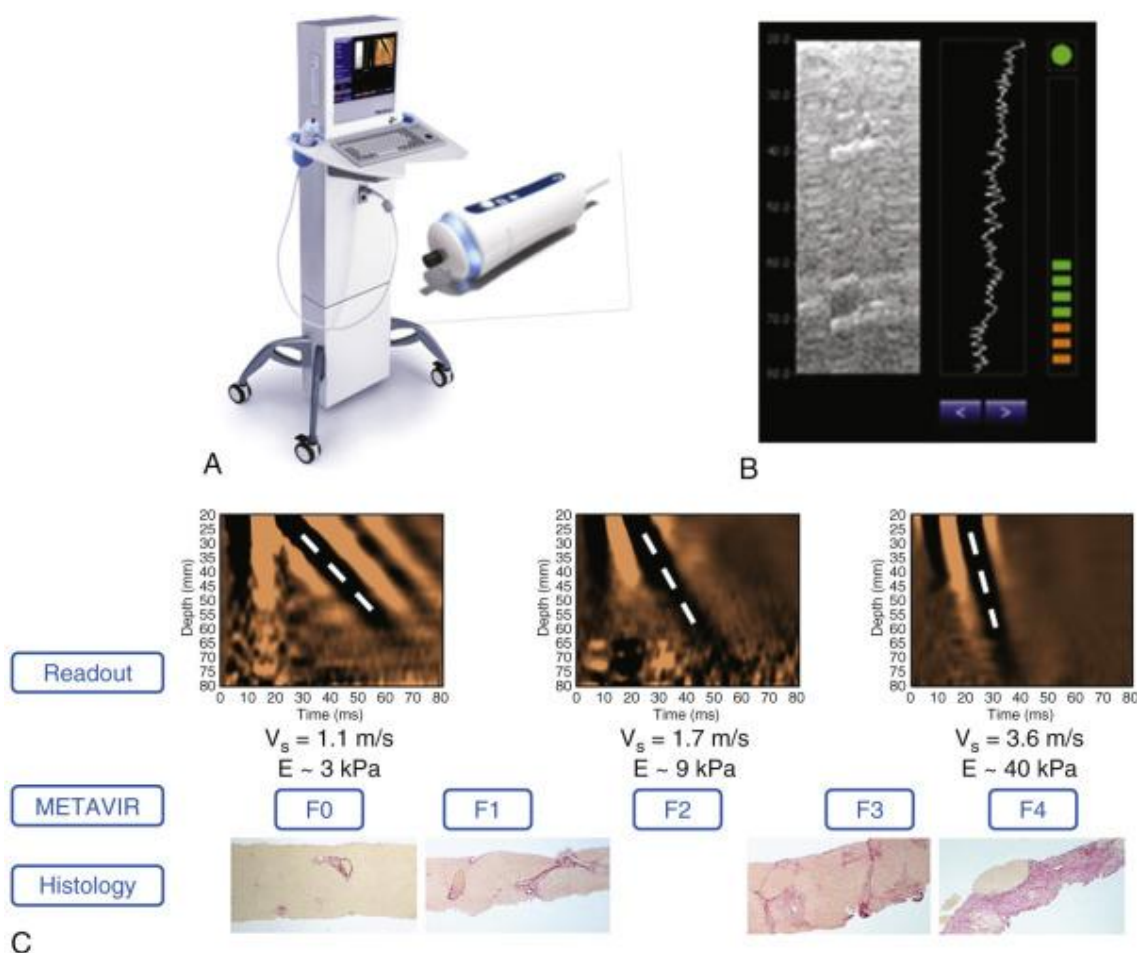


Imagen 4. FibroScan®. A, Imagen del equipo mostrando el monitor y la sonda-M. B, Imagen proporcionada por el FibroScan® mostrando el tejido hepático en el área bajo la piel y un indicador (barras verdes) que indican que la presión aplicada por la sonda sobre la dermis es la apropiada. C, Los resultados de la elastografía también proporcionan una visualización de la onda de propagación con pendientes que reflejan la velocidad y por tanto, la rigidez del hígado. La correlación entre la rigidez y el estado de fibrosis viene proporcionada por el METAVIR y la imagen histológica. [Tapper E., Afdhal N., Noninvasive assessment of disease progression. Zakim and Boyer's hepatology. 2018. p 117-126]

Es de interés preguntarse cuál podría ser el punto de corte más preciso medido mediante elastografía respecto a pacientes adultos con RVS para descartar fibrosis avanzada y así considerar establecer un seguimiento con mayor amplitud en la periodicidad de las visitas médicas en determinados pacientes, o implantar un seguimiento más exhaustivo en otros. Los criterios para el seguimiento (principalmente seguimiento ecográfico de despistaje de HCC) después de un tratamiento exitoso del VHC alcanzando la RVS no han sido bien definidos, por lo que el posterior seguimiento con elastografía puede proporcionar orientación adicional para decidir quién es poco probable que se beneficie de un seguimiento continuo.

El rendimiento diagnóstico con un punto de corte preestablecido de 9,5 (± 1) kPa para descartar fibrosis avanzada (F3, F4), fue interpretado en dos escenarios ilustrativos: uno de baja prevalencia de fibrosis avanzada (5%, pacientes con VHC que alcanzan la RVS y no tienen factores de riesgo continuos para enfermedades crónicas del hígado) y otro de alta prevalencia de fibrosis avanzada (30%, pacientes con VHC que alcanzan la RVS, pero con sospecha clínica de enfermedad hepática fibrótica avanzada antes de la terapia o post-tratamiento al presentar factores de riesgo de enfermedades hepáticas crónicas, como obesidad, diabetes, uso excesivo de alcohol o coinfección con virus de la inmunodeficiencia humana o virus de la hepatitis B o C). Las estimaciones de estas variables combinadas junto a las características de la prueba para la exclusión de fibrosis avanzada, se obtuvieron de 13 estudios en 4106 pacientes. Utilizando un punto de corte para la fibrosis avanzada/cirrosis de 9.5 (± 1) kPa, la sensibilidad combinada fue 0.78 (IC del 95%, 0,75 0,81) y la especificidad combinada fue de 0,86 (95% CI, 0,84 0,88). Usando estos valores, se estima que utilizando un punto de corte de 9.5 kPa para descartar fibrosis avanzada en pacientes que han alcanzado la RVS puede clasificar erróneamente al 1% de los pacientes de bajo riesgo y aproximadamente al 7% de los pacientes de alto riesgo que no tienen fibrosis avanzada, con lo que podrían ser erróneamente informados y ser falsamente tranquilizados, con las consecuencias de ser dado de alta médica en su seguimiento por una unidad especializada de hepatología, con el consiguiente aumento del riesgo de morbilidad y mortalidad hepáticas. La evidencia para apoyar el uso de un único punto de corte en la detección de fibrosis avanzada deriva en gran parte del análisis de comparaciones a posteriori (post-hoc) de precisión de diagnóstico en estudios transversales, y no se realizaron estudios específicamente en pacientes que habían alcanzado la RVS. Por lo tanto, la evidencia fue calificada de baja *“very-low quality evidence”*. Solo los estudios que usaban un valor de corte de 9.5 (± 1) kPa se incluyeron en la revisión técnica, además se observó una importante heterogeneidad en las características de prueba.

Debido a la falta de evidencia, es necesario realizar investigaciones adicionales para definir aún más el papel de la elastografía en un protocolo que incluya una serie periódica de pruebas, así como el umbral apropiado de rigidez hepática, en el manejo de pacientes con hepatitis C post-tratamiento que han alcanzado la RVS ⁽⁵⁰⁾.

Diagnóstico de la fibrosis mediante marcadores serológicos.

Como se alude al comienzo de esta sección, tenemos un amplio espectro de herramientas no invasivas entre las que se incluyen los métodos de análisis serológico, estos pueden ser de dos tipos; directos e indirectos. Los marcadores serológicos indirectos de fibrosis valoran las consecuencias de la fibrosis hepática consiguiendo una posterior evaluación de la misma establecer diversos índices de puntuación con la combinación de los mismos. La mayoría de métodos basados en test serológicos simples identifican o excluyen, con mayor o menor fiabilidad, la presencia de una enfermedad hepática avanzada, es decir, cirrosis. No obstante, en estudios más recientes se ha demostrado que además son útiles en estadios tempranos de fibrosis⁽⁵¹⁾. El primer test para detectar la presencia de una fibrosis significativa fue una relación AST/ALT > 1, que presenta un valor predictivo positivo de cirrosis del 89% (en ausencia de consumo de alcohol) aunque no es útil para predecir los grados leves de fibrosis. El Fibrotest⁽⁵²⁾ ha sido uno de los primeros modelos para la predicción del grado de fibrosis, que presenta aceptables valores predictivos positivo y negativo. Sin embargo, la necesidad de pago para su cálculo al ser un algoritmo patentado y la utilización de marcadores que generalmente no se utilizan en la práctica diaria, disminuyen su utilidad práctica. En el año 2003 se publica el índice de relación AST/plaquetas (APRI) y, poco más tarde, el índice de Forns, que fueron desarrollados para pacientes con hepatitis crónica por VHC y que comparten la utilización de variables comúnmente utilizadas en la práctica diaria para elaborar sus modelos predictivos⁽⁵³⁾. El APRI fue descrito por Wai y colaboradores del grupo de Ann Arbor University, puede diferenciar de manera importante a los pacientes que tienen o no una fibrosis significativa o cirrosis^(54,55). En el índice de Forns se realizó una cohorte de validación la cual se utilizó para definir los umbrales de individuos con una alta o baja probabilidad de tener fibrosis significativa. El punto de corte (cut-off) tuvo un valor predictivo positivo de un 66%, lo que permite excluir con gran precisión a los pacientes con escasa fibrosis, siendo menos útil para la identificación de fibrosis avanzada⁽⁵⁶⁾. Nombrar el índice FIB-4 como método con buena precisión para predecir fibrosis avanzada⁽⁵⁷⁾. Si además de los principales métodos serológicos indirectos para hepatitis crónica por VHC incluimos la EHDG, las variables que más frecuentemente se han asociado a la presencia de fibrosis son la edad, la presencia de diabetes, el aumento de la resistencia a la insulina (medida a través del HOMA), la cifra de plaquetas, el ácido hialurónico y el índice de masa corporal. Recientemente se han presentado los resultados sobre la utilidad de dos test, el SteatoTest y el NashTest, basados en la combinación de una serie de variables clínicas y analíticas en el diagnóstico no invasivo de esteatosis y de esteatohepatitis, respectivamente⁽⁵⁸⁾. Estos índices incluyen 13 parámetros que son edad, sexo, altura, peso, triglicéridos, colesterol, alfa-2 macroglobulina, apolipoproteína A, haptoglobina, gammaglutamil transpeptidasa, AST, ALT, y bilirrubina. En todos los grupos, tanto las curvas ROC como la sensibilidad y especificidad apoyan el valor diagnóstico de estos índices.

La fibrosis hepática se puede predecir mediante la estimación de parámetros directamente relacionados con la fibrogénesis, solos o en combinación. Entre estos productos a los que nos podemos referir como citoquinas, destacan enzimas implicadas en la síntesis (TGF-beta, colágeno I, III y IV, el ácido hialurónico, elastina, laminina, undulina) y degradación del colágeno (Metaloproteinasas, inhibidores de las

metaloproteinasas, propéptido N-terminal del colágeno tipo III (PIIINP), el cual es un marcador de fibrosis hepática muy estudiado útil también en hepatitis alcohólica, hepatitis virales y cirrosis biliar primaria. En general, estos productos tienen una acción local por lo que sus concentraciones se elevan in situ; no obstante, cuando la fibrosis es moderada o grave, puede producirse un incremento en sangre periférica, que sirve para el diagnóstico no invasivo de una fibrosis avanzada. Probablemente, el test individual de mayor valor predictivo es el ácido hialurónico, el cual está incluido junto a otros biomarcadores en índices como el Fibrospect o el SHASTA permitiendo mejorar el diagnóstico de fibrosis ⁽⁵²⁾. Por último, nombrar el estudio de expresión génica como otro método de abordaje en el cual se define un perfil de expresión génica que agrupa diferentes genes proinflamatorios, proapoptóticos y de genes profibrogénicos para relacionarlo con el grado de expresión en el caso de pacientes con NASH o fibrosis y enfermos sin fibrosis ⁽⁵⁹⁾.

3. HIPÓTESIS / JUSTIFICACIÓN

¿Qué factores clínicos y metodológicos influyen en la evolución de la fibrosis tras la erradicación del virus de la hepatitis C?

La regresión de la fibrosis hepática tras la erradicación del virus de la hepatitis C, ocurre en prácticamente todos los pacientes inicialmente, con independencia del grado de fibrosis basal. Sin embargo, esta disminución inicial de la rigidez hepática no se mantiene estable en un 25% de los pacientes. En el momento actual desconocemos qué factores pueden ayudarnos a predecir en qué pacientes la regresión será completa, parcial o en cuales la fibrosis será progresiva.

OBJETIVOS

Objetivo principal: Identificar comorbilidades asociadas a pacientes con erradicación del virus de la hepatitis C y evaluar la utilidad de la elastografía de transición (FibroScan®) como método predictor de la regresión de la fibrosis hepática.

Evaluar el impacto de la Respuesta Viral Sostenida post-tratamiento con AAD sobre la mejoría global de la rigidez hepática mediante elastografía de transición o FibroScan®.

-Objetivos secundarios:

- Evaluar si existen diferencias significativas en los grupos de pacientes, con y sin regresión de la fibrosis respecto a la edad, el IMC, síndrome metabólico, diabetes, consumo de alcohol, HTA, enfermedades cardiovasculares, pulmonares, digestivas, y sus correspondientes tratamientos habituales.
- Identificar su relación con marcadores de enfermedad por depósito graso.
- Identificar factores predictores de respuesta al tratamiento.
- Correlacionar, otros métodos no invasivos (serológicos y de imagen) con el grado de fibrosis y esteatosis hepáticas.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se ha realizado una búsqueda de información actualizada en bases de datos científicas tales como PubMed, MEDLINE, Cochrane, Science Citation Index Expanded; así como en los diversos recursos con acceso facilitado por el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV), obtenidos desde la biblioteca Marquesa de Pelayo que incluyen guías de práctica clínica entre las que se encuentran GuíaSalud avalada por el Ministerio de Salud, NICE (national institute for health and care excellence) y Centre for Reviews and Dissemination-University of York (CRD). Revistas de publicación científica como es *Hepatology*, *Journal of Hepatology*, *Gastroenterology*, *Lancet* y *Gastroenterología y Hepatología* en la que se encuentran documentos de consenso de la Asociación Española para el Estudio del Hígado (AEEH) o de la Asociación Española de Gastroenterología (AEG).

Respecto a la parte del trabajo dedicada a la obtención de datos clínicos de los pacientes con RVS y su posterior análisis, está basada en su esencia, en el proyecto del Instituto de Investigación Sanitaria Marqués de Valdecilla (IDIVAL) con título: Regresión de la fibrosis hepática tras erradicación del virus de la hepatitis C. Papel de la LOXL2. Mi labor integrada en el proyecto concerniente al servicio de digestivo del HUMV, concretamente a el grupo de trabajo especializado en la hepatología e hipertensión portal, ha estado basada durante el curso 17/18 en la recogida tanto de datos demográficos y físicos, como en la realización de la prueba de elastografía (FibroScan®) y extracción de muestras analíticas, supervisado por personal experimentado en un inicio, pero que paulatinamente fue depositando mayor confianza en la autonomía de mi tarea profesional a medida que desarrollaba las habilidades técnicas y laborales necesarias y demostraba los conocimientos científicos y clínicos en la materia.

4.1 Diseño del estudio

Tipo de estudio: Se realiza un ensayo clínico unicéntrico de cohortes para el análisis del impacto de la respuesta viral sostenida en la mejoría de la rigidez hepática mediante la evaluación de métodos no invasivos de fibrosis hepática.

Fase de desarrollo: Ensayo clínico fase IV.

4.1.1 Fase retrospectiva:

- a) Identificación de pacientes. Se analizará la base de datos del Servicio de Digestivo del HUMV donde quedan registrados todos los pacientes a los cuales se les ha administrado un tratamiento libre de interferón (dicha base de datos está en conexión con el Servicio de Farmacia Hospitalaria). Tras la identificación de los pacientes, se cruzarán los datos con la base de datos de Fibroscan®. Una vez identificados los pacientes, se clasificarán en función de su valor de Fibrosis basal en F1-F2-F3-F4.
- b) Marcadores basales: Se realizarán las determinaciones séricas de LOXL2, y marcadores inflamatorios de los sueros pretratamiento almacenados en el biobanco del hospital correspondiente.

- c) Identificación de pacientes con una enfermedad hepática por depósito de grasa pretratamiento: se realizarán de forma retrospectiva, NASH fibrosis score, determinación de esteatosis ecográfica (leve, moderada, severa) y CAP en los pacientes en los que se disponga.

4.1.2 Fase prospectiva.

- a) **EVALUACIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA 24 MESES POSTTRATAMIENTO ANTIVIRAL.** Dado que la mayoría de los pacientes se trataron durante los años 2015 y 2016, han cumplido 24 meses post-tratamiento durante los años 2017 y principios de 2018, se comprobará que disponemos de un Fibroscan® + CAP/24 meses o bien se realizará una vez alcanzado los 24 meses.
- b) **IDENTIFICACIÓN DE COFACTORES:** En aquellos pacientes que cumplan los criterios de inclusión se realizará una encuesta de salud (alcohol mediante encuesta AUDIT), analítica completa con perfil lipídico e insulina, y ecografía abdominal. Los pacientes serán avisados telefónicamente y la extracción analítica se realizará por una enfermera en el servicio de Digestivo.

CATEGORIZACIÓN DE PACIENTES: Tras las exploraciones realizadas podremos dividir a los pacientes en cuatro grupos:

Pacientes con Fibrosis $\leq F2$ sin esteatosis: Fibroscan® $< 9 \text{ Kpa}$ y CAP $< 288 \text{ dB/m}$.

GRUPO 1

Pacientes con Fibrosis $> F2$ o esteatosis: Fibroscan® $> 9 \text{ Kpa}$ o CAP $> 288 \text{ dB/m}$.

GRUPO 2

Pacientes con Fibrosis $> F2$ con esteatosis: Fibroscan® $> 9 \text{ Kpa}$ y CAP $> 288 \text{ dB/m}$.

GRUPO 3

4.2 Criterios de selección

Población del estudio: La población elegida para nuestro análisis serán aquellos pacientes diagnosticados de una hepatopatía crónica por VHC, habiendo recibido tratamiento libre de interferón desde el año 2015, independientemente de la fibrosis hepática (determinada por Fibroscan®) pretratamiento y que dispongamos de un seguimiento en el hospital de al menos 24 meses post RVS.

A) Criterios de inclusión:

1. Edad comprendida entre 18 y 75 años.
2. Pacientes diagnosticados de hepatopatía crónica VHC independientemente del grado de fibrosis basal determinada por métodos elastográficos, que hayan alcanzado la RVS con antivirales de acción directa, al menos desde hace 24 meses.

3. Pacientes incluidos en el protocolo del tratamiento VHC del Servicio de Digestivo, a los cuales se les extrajo basalmente muestra de sangre, suero y plasma.
4. Seguimiento de su hepatopatía mediante Fibroscan[®]+ CAP, a los 24 meses tras RVS.

B) Criterios de exclusión:

1. Existencia de coinfección VIH/ VHB, o hepatitis autoinmune,
2. Hepatocarcinoma en el momento de inclusión
3. Cualquier comorbilidad que conlleve una limitación terapéutica y/o un pronóstico de vida <12 meses.
4. Embarazo o lactancia
5. Ser portador de TIPS o shunt portosistémico
6. Participación en un ensayo clínico
7. Pacientes en los que no se disponga de Fibroscan[®] ni analítica basal o Fibroscan[®]+CAP 24 meses post tratamiento.

4.3 Variables analizadas

Se recogieron datos basales de los pacientes desde 6 meses previos al tratamiento con AAD hasta al menos 24 meses después del fin del tratamiento, incluyendo los datos recogidos durante todo este periodo de seguimiento:

- a) Evaluar cofactores asociados con la progresión/no regresión de la fibrosis: obesidad, HTA, DM, dislipemias, consumo alcohólico (encuesta AUDIT), resistencia a la insulina, hidrosadenitis supurativa
- b) Analítica completa: basal pretratamiento y 24meses post-tratamiento: Hemograma, bioquímica completa con perfil lipídico, insulinemia
- c) Evaluación del estado actual de la fibrosis 24 meses post tratamiento antiviral mediante Fibroscan[®], APRI, FORNS, AST/plaquetas
- d) Valorar la presencia de esteatosis mediante CAP y ecografía abdominal pre y post tratamiento.
- e) Marcadores séricos de fibrogénesis y de inflamación: nivel sérico de LOXL2.

4.3.1 Datos demográficos y epidemiológicos

A los pacientes con consentimiento por escrito firmado, se les realizó una visita en la que se recogieron datos de la historia clínica y de la Exploración Física: Edad, sexo, consumo de alcohol, años de abstinencia, cantidad (gr/día), consumo de tabaco, años de abstinencia, cantidad (paquetes/día), consumo de café, consumo de otras drogas (ADVP, heroína, cocaína, cannabis), años de abstinencia, Diabetes, HTA, dislipemia, Enfermedades Cardiovasculares (cardiopatía isquémica, vasculopatía periférica, accidente cerebrovascular, arritmias), Enfermedades pulmonares (EPOC, hiperreactividad bronquial), Enfermedades gastrointestinales, neoplasias, infección

VIH. Posteriormente se les preguntaba sobre su tratamiento habitual. La entrevista clínica terminaba con la realización del test AUDIT. Respecto a la exploración física se tomaron medidas de talla, peso, perímetro abdominal, perímetro de la cadera, TAS, TAD, FC.

Las entrevistas clínicas con los pacientes se estructuraban de forma sistemática en dos apartados dentro de un mismo tiempo. El primero consistía en la presentación del personal presente en el momento así como de los diferentes miembros responsables del proyecto por el que se les había citado, seguida de una explicación de los diferentes puntos que componen el consentimiento informado que debían firmar con responsabilidad voluntaria y conocimiento integró de las pruebas complementarias no invasivas a realizar. Posteriormente comenzábamos el segundo apartado de recogida de información propiamente dicho, compuesto por una serie de cuestiones que objetivaban en respuestas cerradas las diversas contestaciones de los pacientes, incluyendo de una forma clara y ordenada siempre que fuera necesario, alguna de esas respuestas matizadas por la posible importancia de su componente subjetivo respecto a ciertos antecedentes médicos, hábitos tóxicos o tratamientos habitual que no se preveían en un primer momento o que nos parecieron de interés para el estudio por su relevancia o reproducibilidad en los pacientes.

4.3.2 Determinaciones de laboratorio

La extracción de muestras sangre venosa fue realizada por personal del servicio de enfermería utilizando un procedimiento en el cual se utilizaba un compresor para hacer un torniquete en el brazo del paciente, desinfección de la zona con Clorhexidina e introducción de la aguja para Vacutainer o Palomilla en la vena Cefálica, Basilica o Radial con el posterior llenado de los tubos de vacío para analítica. Los principales parámetros analizados fueron: hemograma, bioquímica sanguínea (GOT, GPT, GGT, fosfatasa alcalina, bilirrubina, glucosa, proteínas totales, albúmina, insulina), coagulación (actividad de protrombina, INR) y se expresaron de la siguiente manera: Hemoglobina (g/dL), Plaquetas (células/mm³), AST (UI/L), ALT (UI/L), Bilirrubina total (mg/dL), Gamma-glutamyl-transpeptidasa (UI/L), Fosfatasa alcalina (UI/L), Glucosa (mg/dL), Colesterol total (mg/dL), HDL (mg/dL), LDL (mg/dL), Triglicéridos (mg/dL), Albúmina (g/L), INR (International Normalized Ratio).

4.3.3 Análisis de la fibrosis

La evaluación de la fibrosis hepática se realizó mediante Elastografía de transición (Fibroscan[®] modelo 502, ECHOSENS[™]) de forma sistematizada y tal como se explica en el apartado “2.1 Diagnóstico no invasivo de la fibrosis mediante elastografía”. Añadir que para la realización del Fibroscan[®] los pacientes debían tener un ayuno de al menos 6 horas; con una variabilidad de horario en la realización de la prueba de 9.00 AM a 20.00 PM. La posición adecuada consistía en colocar al paciente en decúbito supino con el brazo derecho en máxima abducción. Bajo visualización de imagen ecográfica que confirmaba la adecuada colocación de la sonda y sin interferencia de estructuras vasculares, se procedió a realizar al menos 10 mediciones válidas. En más del 75% de los pacientes se empleó la sonda-M, utilizando la sonda-XL en pacientes con obesidad de localización abdominal o con pacientes con cambios degenerativos óseos con una deformidad de la caja torácica. La mediana de elasticidad hepática se consideró representativa cuando cumplía los criterios de idoneidad señalados previamente.

4.4 Análisis estadístico

El diseño y análisis estadístico del presente estudio cumple con las recomendaciones de los documentos de consenso de las revistas científicas, y las normativas reguladoras supranacionales CPMP/ICH/363/96. ICH E9 Statistical Principles for Clinical Trials. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002928.pdf , así como con otras recomendaciones metodológicas y estadísticas específicas del ámbito europeo. Se creó una base de datos en EXCEL con los principales parámetros demográficos, clínicos, bioquímicos, y virales. Para el procesamiento de los datos y el análisis estadístico se utilizó el software SPSS versión 22.0. Todos los análisis estadísticos se realizaron a 2 colas, y se consideraron como estadísticamente significativos todos los valores de p inferiores a 0,05.

4.5 Aspectos éticos

Los investigadores se comprometen a cumplir las normas éticas elementales en materia de investigación con seres humanos respetando los principios de la Declaración de Helsinki y sus posteriores modificaciones, las normas de Buena Práctica Clínica recomendadas por la Comunidad Económica Europea (CEE) y publicadas por el Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP) en 1994 (Versión III/5085/94 Final). Todos los sujetos serán informados verbalmente y por escrito de las características del estudio (objetivos, metodología empleada beneficios y riesgos del estudio, posibles acontecimientos adversos, etc.). Asimismo se les informará del carácter voluntario del estudio y de la posibilidad de abandonarlo en cualquier momento en que lo deseen así como de los métodos a seguir para mantener la confidencialidad de los datos. Finalmente, se solicitará a los participantes que firmen la hoja de consentimiento informado junto al investigador antes de iniciar el estudio. En los anexos IV y V de este protocolo se adjunta la hoja de consentimiento informado y el modelo de hoja de información al paciente. El investigador garantizará que todas las personas implicadas en el estudio respetarán la confidencialidad de cualquier información acerca de los pacientes incluidos en el mismo. En todo momento se respetará la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal. El investigador utilizará los datos de carácter personal a los que tenga acceso única y exclusivamente para cumplir con sus obligaciones y no conservará copia alguna de Información Confidencial tras la conclusión del estudio.

5. RESULTADOS

En esta cohorte de pacientes tratados con distintas combinaciones de Antivirales de Acción Directa (AAD) y que posteriormente alcanzaron la RVS, se incluyeron un total de N= 276 pacientes con un seguimiento de al menos 24 meses. Los datos recogidos se agruparon en una clasificación basal, a los 12 meses y a los 24 meses.

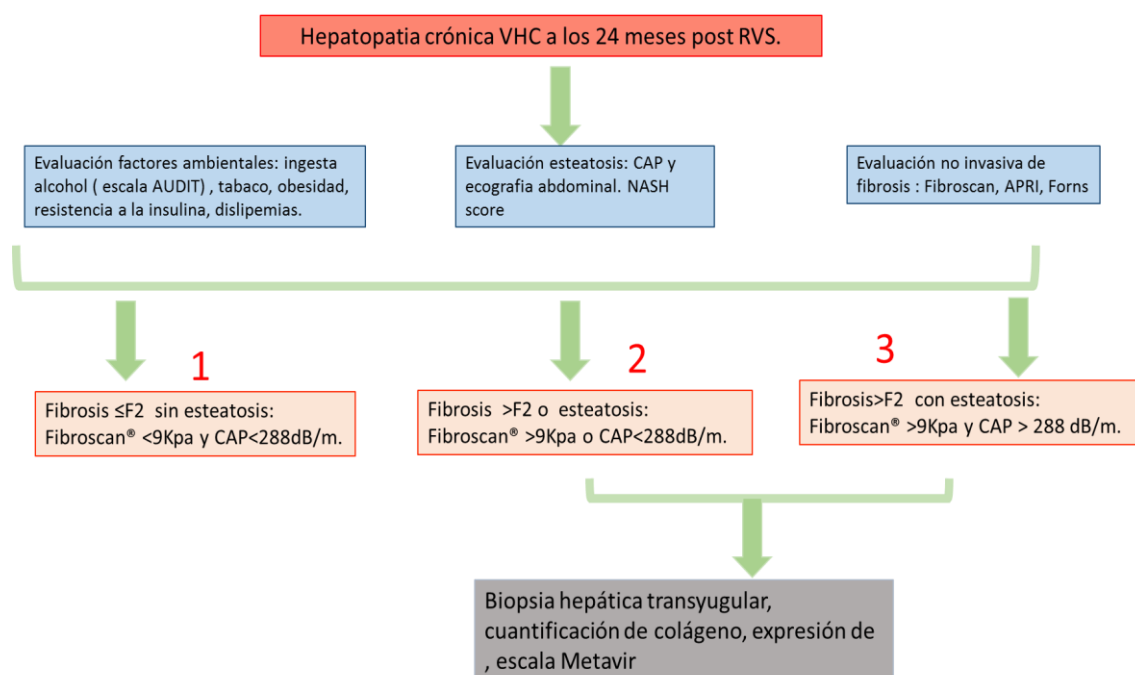


Imagen 5. Representación perteneciente a la última parte del proyecto: [Regresión de la fibrosis hepática tras erradicación del virus de la hepatitis C. Papel de la LOXL2] en la que se esquematiza la metodología realizada con la consiguiente categorización de los pacientes agrupados según los valores de fibrosis y esteatosis hepática, indicando que los incluidos en los grupos "2" y "3" son candidatos a realizar un estudio más profundo.

5.1 Características de la población global

Se describen algunas las características de la cohorte global. De los pacientes que se incluyeron en esta cohorte la media de edad fue de 58 años con un predominio de varones 66,5% frente a un 33,5% de mujeres (n= 276). Respecto a las cuestiones planteadas durante la última visita, un 46% afirmó consumir actualmente alcohol, de los que el 81% indicaron consumir una cantidad ≤ 20 gr/día y entorno a un 15% una cantidad ≥40 gr/día. Se obtuvo una puntuación media >2 puntos en el test AUDIT ya que un 46% obtuvo una puntuación de 0. Un 5,6% de los encuestados obtuvo una puntuación ≥8. Un 47% eran fumadores activos y entorno a la mitad de ellos con una tendencia a una cantidad >10 cigarros/día. Un 33% de los pacientes afirmaron haber tenido contacto con la heroína o drogas por vía parenteral en algún momento de su vida y la coinfección con VIH se registró en 2 pacientes.

Respecto a los factores de riesgo cardiovasculares, un 30% afirmó estar diagnosticado de hipertensión arterial y 36 pacientes (13%) de diabetes mellitus I o II, de los cuales 21 seguían un tratamiento con antidiabéticos orales y 10 además con insulina. De la población global un 22% afirmó presentar alteraciones cardiovasculares tales como cardiopatía isquémica, vasculopatía periférica, arritmias o antecedentes de accidente cerebrovascular. Un 11% seguía un tratamiento habitual con antiagregantes (Adiro, Clopidogrel, Apixaban, etc), un 1% con anticoagulantes, un 25% con fármacos vasoactivos (IECA, ARA II, calcio antagonistas), un 8% con β -bloqueantes, un 11% con fármacos diuréticos (hidroclorotiazida, espironolactona, furosemida, etc) y un 11% tenían pauta de tratamiento con estatinas (atorvastatina, simvastatina, pitavastatina, etc).

Como antecedentes quirúrgicos, un 34% afirmó haber recibido tratamiento quirúrgico siendo las intervenciones más frecuentes apendicectomía, herniorrafia, colecistectomía, histerectomía, mastectomía, orquidectomía, tiroidectomía, nefrectomía, resección anterior de colón, trasplante hepático, trasplante renal, etc.

5.2 Variación de los parámetros a lo largo de dos años

En las siguientes tablas se recogen los resultados de parámetros analíticos relacionados con la función hepática recogidos en la bioquímica, hemograma y pruebas de coagulación realizadas de forma basal, a los 12 meses de comenzar el tratamiento con AAD y a los 24 meses post-RVS. De forma global se aprecia un descenso significativo con la consiguiente normalización de las cifras de las enzimas hepáticas (AST, ALT, GGT) y una disminución de la bilirrubina que se mantiene con el tiempo tras la erradicación del virus C (*tablas 1, 2, 3, 4*). Así mismo hay un aumento en las cifras de parámetros utilizados para valorar la función hepática (*Albúmina, hemoglobina, Nº plaquetas, INR*) que sugieren una mejoría respecto a la basal (*tablas 5, 6, 7, 8*).

	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
AST basal	276	66,72	52,421	3,155
AST 12 meses	275	24,45	8,195	0,494
AST 24 meses	273	25,25	8,745	0,529

Tabla 1. Transaminasa glutámico-oxalacética (AST/GOT): Se observa una disminución significativa posterior al tratamiento con AAD a los 12 meses de comenzar ($X_{12M}=24,45$ U/L), y a los 24 meses de alcanzar la RVS ($X_{24M}=25,2$ U/L) respecto a los valores basales de los pacientes ($X_{Basal}=66,7$ U/L). ($p<0.005$)

	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
ALT basal	276	84,34	66,896	4,027
ALT 12 meses	275	21,20	9,508	0,573
ALT 24 meses	273	23,15	21,903	1,326

Tabla 2. Transaminasa glutámico-pirúvica (ALT/GPT): Se observa una disminución significativa posterior al tratamiento con AAD a los 12 meses de comenzar ($X_{12M}=21,2$ U/L), y a los 24 meses de alcanzar la RVS ($X_{24M}=23,15$ U/L) respecto a los valores basales de los pacientes ($X_{Basal}=84,3$ U/L). ($p<0.005$)

	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
GGT basal	276	88,66	125,590	7,560
GGT 12 meses	274	27,95	30,455	1,840
GGT 24 meses	273	28,38	28,291	1,712

Tabla 3. Gammaglutamil-transpeptidasa (GGT): Se observa una disminución significativa posterior al tratamiento con AAD a los 12 meses de comenzar ($X_{12M}=27,95$ U/L), y a los 24 meses de alcanzar la RVS ($X_{24M}=28,38$ U/L) respecto a los valores basales de los pacientes ($X_{Basal}=88,66$ U/L). ($p<0.005$)

	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
Bilirrubina basal	275	1,144	4,4983	0,2713
Bilirrubina 12 meses	273	0,947	4,8800	0,2954
Bilirrubina 24 meses	271	0,839	1,1947	0,0726

Tabla 4. Bilirrubina (mg/dL): Se observa una disminución significativa posterior al tratamiento con AAD a los 12 meses de comenzar ($X_{12M}=0,947$ mg/dL), y a los 24 meses de alcanzar la RVS ($X_{24M}=0,839$ mg/dL) respecto a los valores basales de los pacientes ($X_{Basal}=1,144$ mg/dL). ($p<0.005$)

	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
Albumina basal	276	4,299	0,3532	0,0213
Albumina 12 meses	269	4,455	0,3189	0,0194
Albumina 24 meses	269	4,413	0,5012	0,0306

Tabla 5. Albúmina (g/dL): Se observa un aumento posterior al tratamiento con AAD a los 12 meses de comenzar ($X_{12M}=4,455$ g/dL), y a los 24 meses de alcanzar la RVS ($X_{24M}=4,413$ g/dL) respecto a los valores basales de los pacientes ($X_{Basal}=4,299$ g/dL). ($p<0.005$)

	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
Hemoglobina basal	276	14,5973	1,67112	0,10059
Hemoglobina 12 meses	265	14,654	2,2422	0,1377
Hemoglobina 24 meses	269	15,657	24,5003	1,4938

Tabla 6. Hemoglobina (g/dL): Se observa un aumento posterior al tratamiento con AAD a los 12 meses de comenzar ($X_{12M}=14,65$ g/dL), y a los 24 meses de alcanzar la RVS ($X_{24M}=15,65$ g/dL) respecto a los valores basales de los pacientes ($X_{Basal}=14,59$ g/dL). ($p<0.005$)

	Valor de prueba = 0				
	t	gl	Diferencia de medias	95% IC de la diferencia	
				Inferior	Superior
Hb basal	145,117	275	14,59732	14,3993	14,7953
Hb 12 meses	106,389	264	14,6536	14,382	14,925
Hb 24 meses	10,481	268	15,6569	12,716	18,598

Tabla 6.1 Prueba de muestra única de la hemoglobina (Hb). ($p<0.005$)

	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
Plaquetas basal	276	173,53	65,232	3,926
Plaquetas 12 meses	266	181,61	58,247	3,571
Plaquetas 24 meses	270	182,64	54,355	3,308

Tabla 7. Nº plaquetas ($10^9/L$): Se observa un aumento significativo posterior al tratamiento con AAD a los 12 meses de comenzar ($X_{12M}=181,61$ $10^9/L$), y a los 24 meses de alcanzar la RVS ($X_{24M}=182,64$ $10^9/L$) respecto a los valores basales de los pacientes ($X_{Basal}=173,53$ $10^9/L$). ($p<0.005$)

	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
INR basal	181	2,1888	10,07771	0,74907
INR 12 meses	181	1,124807	0,2185574	0,0162452
INR 24 meses	261	1,0620	0,18709	0,01158

Tabla 8. International Normalized Ratio (I.N.R): Se observa una disminución significativa posterior al tratamiento con AAD a los 12 meses de comenzar ($X_{12M}=1,12$), y a los 24 meses de alcanzar la RVS ($X_{24M}=1,06$) respecto a los valores basales de los pacientes ($X_{Basal}=2,18$) . ($p<0.005$)

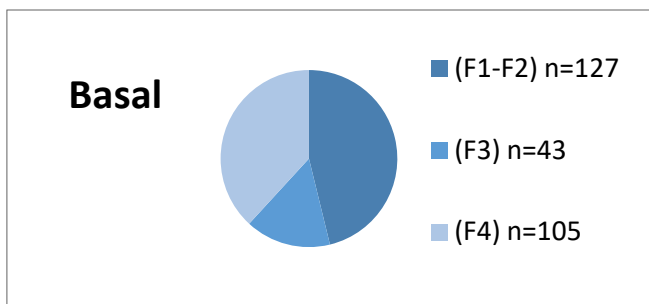
5.3 Variación del Fibroscan® y el CAP a lo largo de dos años

El fibroscan® basal estuvo presente en el 100% de los pacientes (n=276), con un porcentaje similar en su realización a los 12 meses (n=268) y en el 100% de los pacientes a los 24 meses (n=276). Respecto al CAP basal solo se realizó a un 9,1% (n=25) de los pacientes, a los 12 meses a un 96,3% (n= 264) y a los 24 meses a el 99,2% (n=272). A continuación se adjunta la *tabla 9* con la media ($\bar{X}$) y desviación típica (σ) de ambos parámetros. Posteriormente se describe la distribución de los pacientes en las categorías citadas y esquematizadas en el apartado de metodología y según estadios de fibrosis Metavir (F1/F2, F3, F4).

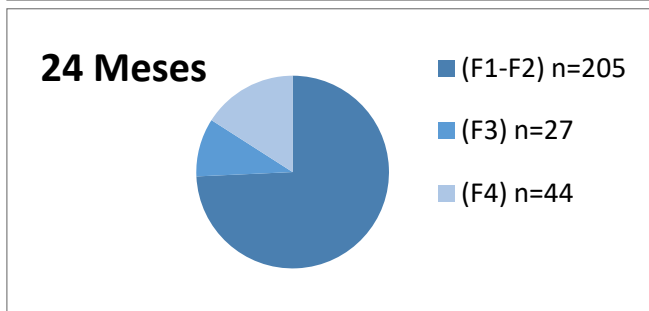
	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Elastografía (kPa) basal	276	12,805	10,7707	0,6543
Elastografía (kPa) 12 meses	268	8,9791	6,99618	0,42736
Elastografía (kPa) 24 meses	276	8,332	6,4849	0,3932
CAP (dB/m) basal	25	223,04	85,736	17,147
CAP (dB/m) 12 meses	264	229,50	58,611	3,607
CAP (dB/m) 24 meses	272	243,10	58,588	3,552

Tabla 9. Elastografía (kPa) y CAP (dB/m): La media de los valores obtenidos en la prueba de elastografía previa al tratamiento realizada a 271 pacientes fue de 12,8 kPa con una desviación típica (σ) de 10,77. La media en la prueba realizada a los 12 meses fue de 8.97 kPa con una (σ) de 6,99. La media en la prueba realizada a los 24 meses post-RVS era de 8.33 kPa con una (σ) de 6,48. La media de los valores obtenidos de 25 pacientes en el Fibroscan® para CAP previos al tratamiento fue de 223,04 dB/m con una (σ) de 85,73. La media de los valores obtenidos de 264 pacientes en la prueba realizada a los 12 meses fue de 229,5 dB/m con una (σ) de 58,61. La media de los valores a los 24 post-tratamiento era de 243,1 dB/m con una (σ) de 58,58. ($p < 0.005$)

La distribución total basal por grado de fibrosis medida mediante elastografía fue de: un 24.2% (127 pacientes) englobado en F1-F2, el 15.5% (43 pacientes) en F3 y el 38.5% (105 pacientes) en F4. La distribución total por grado de fibrosis a los 12 meses fue de: el 70% (n=189) se clasificaron como F1-F2, un 8.2% (n=22) como F3 y un 21,2% (n=57) como F4. A los 24 meses tras alcanzar la RVS la distribución total por grado de fibrosis fue de: un 74.2% (205 pacientes) se englobado como F1-F2, un 9.7% (27 pacientes) como F3 y un 15.9% (44 pacientes) en F4.



Gráfica 1 a. Distribución total basal



Gráfica 1 b. Distribución total 24 M

Aunque en un inicio la categorización de los pacientes está planteada en cuatro grupos, posteriormente y con los datos obtenidos a los 24 meses se decidió dividir a los pacientes en tres grupos representados en el esquema al inicio del apartado “resultados”. Los grupos se dividen en: grupo 1 <9 kPa y CAP <288 dB/m (73,1%, n= 202); grupo 2 >9kPa o CAP >288 dB/m (20,6%, n= 57); grupo 3 >9Kpa y CAP>288 dB/m (5,8%, n= 16).

Si analizamos los datos a lo largo de este periodo de tiempo la fibrosis mejoró en el 74,6% de los pacientes (n= 206), el 6,4% (n=4) clasificados en el fibroscan® basal como F1 progresó a F2 y el 6,4% (n=4) a fibrosis significativa (>9 kPa); Un 17.9% (n=12) clasificados al inicio F2 permanecieron como F2 y 10.4% (n=7) progresaron a fibrosis significativa (>9kPa); Un 7.8% (n=4) de la cohorte basal clasificados como F3 persistió como F3 y 7.8% (n=4) progresó a F4; 39% (n=39) clasificado como B-F4 se mantuvo como F4. Las tablas que se adjuntan a continuación tratan de explicar la variación de los grupos de pacientes según su estadio Metavir de fibrosis desde un primer tiempo basal, a los 12 meses y a los 24 meses. En “rojo” pacientes que empeoraron, en “verde” pacientes que mejoraron y “anaranjado” pacientes que se mantuvieron.

Tabla cruzada Fibrosis basal*Fibrosis 12 meses.

		Fibrosis 12 meses				Total
		F1	F2	F3	F4	
Fibrosis basal		4	0	0	0	4
	F1	53 (91%)	4	1 (8,6%)	0	58
	F2	51(76%)	12 (17,9%)	4 (7%)	0	67
	F3	23	14(68%)	8 (15%)	6 (11%)	51
	F4	18	17	10(44,7%)	51 (53%)	96
Total		149	47	23	57	276

Tabla cruzada Fibrosis basal*Fibrosis 24 meses.

Fibrosis 24 meses		F1	F2	F3	F4	Total
Fibrosis basal	F1	52	4	3	1	60
	F2	47	12	6	1	66
	F3	29	13	4	4	50
	F4	33	14	14	39	100
Total		161	44	27	44	276

		Fibrosis 24 meses				
		1	2	3	4	Total
Fibrosis 12 meses		4	1	1	1	7
	1	118 (83%)	16	6	2 (16,9%)	142
	2	22 (46,8%)	14 (29,7%)	7	4 (23,4%)	47
	3	10	7 (73,9%)	5 (21,7%)	1(4,3%)	23
	4	12	5	7 (42,1%)	33 (57,9%)	57
Total		166	43	26	41	276

Tabla cruzada Fibrosis 12 meses*Fibrosis 24 meses.

5.4 Variación de las variables relacionadas con el síndrome metabólico

En el siguiente apartado se describen las variables formadas por parámetros bioquímicos (*triglicéridos y colesterol*) e índices serológicos (*HOMA y NAFLD*) que hemos analizado relacionadas con el síndrome metabólico, en las que como conjunto mantienen una tendencia hacia el aumento de las cifras y puntuaciones que definen los criterios diagnósticos del mismo desde los datos obtenidos antes del tratamiento y a los 24 post-RVS (*tablas 10, 11, 12*). Esto se traduce clínicamente en que los pacientes aumentan el % de grasa corporal y por tanto el de su peso, obteniendo un *IMC* mayor a los 24 meses de alcanzar la RVS (*tabla 13*).

	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
HOMA basal	161	2,56	2,256	0,178
HOMA 12 meses	48	2,5940	1,80346	0,26031
HOMA 24 meses	238	2,2758	2,26180	0,14661
NAFLD basal	265	-0,8759	3,55188	0,21819
NAFLD 12 meses	244	-1,0617	1,22409	0,07836
NAFLD 24 meses	253	-0,9997	1,36906	0,08607

Tabla 10. Índices HOMA y NAFLD: Existe una mejoría significativa en la determinación de la resistencia a la insulina. La media de la puntuación del índice HOMA obtenida en 161 pacientes antes de exponerse a tratamiento fue de 2,56 con una desviación típica (σ) de 2,25. La media de los valores a los 12 meses de 48 pacientes fue de 2,59 con una (σ) de 1,80 ($p<0.005$). La media de la puntuación de 238 pacientes a los 24 post-tratamiento fue de 2,27 con una (σ) de 2,26 ($p<0.005$). La media de la puntuación del índice NAFLD obtenida en 265 pacientes antes del tratamiento fue de -0,875 con una (σ) de 3.55. La media a los 12 meses fue de -1,061 con (σ) de 1,22. La media en 253 pacientes a los 24 post-RVS fue de -0.999 con una (σ) de 1,36.

	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
TAG basal	211	99,68	45,474	3,131
TAG 12 meses	166	112,87	55,391	4,299
TAG 24 meses	257	111,25	61,089	3,811

Tabla 11. Triglicéridos (mg/dL): Se observa un aumento significativo posterior al tratamiento con AAD a los 12 meses de comenzar ($X=112,87$ mg/dL), y a los 24 meses de alcanzar la RVS ($X=111,25$ mg/dL) respecto a los valores basales de los pacientes ($X=99,68$ mg/dL). ($p<0.005$)

	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Colesterol basal	275	166,59	38,020	2,293
Colesterol total 12 meses	270	188,38	35,822	2,180
Colesterol Total 24 meses	271	188,78	40,827	2,480

Tabla 12. Colesterol (mg/dL): Se observa un aumento significativo posterior al tratamiento con AAD a los 12 meses de comenzar ($X=188,38$ mg/dL), y a los 24 meses de alcanzar la RVS ($X=188,78$ mg/dL) respecto a los valores basales de los pacientes ($X=166,59$ mg/dL). ($p<0.005$)

	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
IMC basal	269	26,5542	4,25898	0,25967
IMC 12 meses	266	25,9162	4,27739	0,26226
IMC24 meses	269	27,2718	11,74026	0,71582

Tabla 13. IMC (kg/m^2): Se objetiva un aumento significativo en el IMC en todos los pacientes tanto al año como a los 24 meses. La media del IMC previo al tratamiento obtenida de 269 pacientes era de $26,5 \text{ kg}/\text{m}^2$ con una desviación típica (σ) de 4,25. La media del IMC después de 24 meses de alcanzar la RVS era de $27,3 \text{ kg}/\text{m}^2$ con una (σ) de 11,74. ($p < 0.005$)

5.5 CORRELACIÓN DE LA FIBROSIS CON FACTORES METABÓLICOS

Se realizó un análisis de los factores asociados con la regresión de la fibrosis hepática en los pacientes de esta cohorte valorando los datos obtenidos con el Fibroscan en los tres tiempos detallados previamente. En lo referente a los parámetros elegidos, están formados por las variables que hemos descrito previamente añadiendo la insulinemia, HDL, LDL, obesidad, así como los índices APRI, FORNS y FIB4. En este análisis multivariado el estadístico utilizado para medir la magnitud de la relación ha sido el coeficiente de correlación de Pearson, cuyos valores absolutos oscilan entre ± 1 (significativos al nivel 0,05).

a) Evaluar si la presencia de obesidad, el valor de la resistencia a la insulina, colesterol total, HDL y LDL, HOMA, TAG y la existencia de Sd. metabólico se correlaciona con los valores de fibrosis basal, a los 12 y a los 24 meses.

FIBROSIS BASAL	
Variable BASAL	p_valor (correlación)
Insulina	0.185 (0.019) *
Colesterol total	0.002 (-0.186)*
HDL	0.002 (-0.205)*
LDL	0.057 (-0.127)
HOMA	0.334 (0.077)
TAG	0.343 (0.066)
Variable	p_valor (IC95%)
Sd. metabólico	0.060 (-0.135-6.757)
Obesidad	0.569 (-2.419-4.394)

* significativa al nivel 0.05

FIBROSIS 12 MESES	
Variable BASAL	p_valor (correlación)
Insulina	0.039 (0.166)*

Colesterol total	0.001 (-0.204)*
HDL	0.004 (-0.192)*
LDL	0.062 (-0.126)
HOMA	0.287 (0.086)
TAG	0.691 (0.028)
Variable	p_valor (IC95%)
Sd. metabólico	0.125 (-0.489-3.971)
Obesidad	0.851 (-2.040-2.470)

* significativa al nivel 0.05

FIBROSIS 24 MESES	
Variable BASAL	p_valor (grado correlación)
Insulina	0.170 (0.109)
Colesterol total	0.179 (-0.082)
HDL	0.778 (-0.019)
LDL	0.309 (-0.068)
HOMA	0.618 (0.040)
TAG	0.600 (-0.036)
Variable	p_valor (IC95%)
Sd. Metabólico	0.022 (0.412-5.131) *
Obesidad	0.319 (-1.009-3.086)

* significativa al nivel 0.05

En estas tres tablas lo que observamos estadísticamente es que la presencia del síndrome metabólico se correlaciona con la gravedad de la fibrosis hepática determinada por Fibroscan® de forma basal, a los 12 meses y a los 24 meses. Es decir, los pacientes que cumplen criterios de síndrome metabólico tienen mayor valor de fibrosis que los que no cumplen los criterios de esta entidad. Además, los valores de insulina y de colesterol, también aparecen de forma basal y a los 12 meses relacionados con la severidad de la enfermedad.

b) Evaluarla correlación entre los distintos scores serológicos con el Fibroscan® a lo largo de los 24 meses. El Fibroscan® se correlaciona tanto con APRI ($r=0.165$ $p=0.007$) como con FORNS ($r=0.303$ $p<0.0001$). No así con el FIB-4.

CORRECIÓN VARIACIÓN FIBROSCAN CON VARIACIÓN MARCADORES (basal-24 meses)	
Variable	p_valor (grado correlación)
APRI	0.007 (0.165) *
FORNS	0.000 (0.303) *
FIB4	0.104 (0.100)

* Significativa al nivel 0.05

5.6 Influencia del síndrome metabólico en la no regresión de la fibrosis hepática

Una vez hecho el primer análisis, hemos identificado que hay dos grupos de pacientes en función de tener una fibrosis avanzada >9 kPa y/o esteatosis CAP >288 (dB/m); aquellos con riesgo de tener una enfermedad hepática por depósito subyacente son los siguientes: 16 pacientes con CAP >288 (dB/m) Y >9 kPa y 57 pacientes con CAP >288 (dB/m) o 9 kPa. A continuación se adjunta los resultados del análisis en relación con el síndrome metabólico.

- a) Aquellos pacientes que cumplen criterios de síndrome metabólico basal tienen un riesgo cuatro veces mayor, de tener una fibrosis >9 kpa y una esteatosis por CAP > 288 db/m a los 24 meses.

OR (IC 95%) 4.122 (1.451-11.708) $p<0.008$

- b) Aquellos pacientes que cumplen criterios de síndrome metabólico a los 24 meses tienen un riesgo cinco veces mayor, de tener una fibrosis >9 kpa y una esteatosis por CAP > 288 db/m a los 24meses

OR (IC95%) 5.462 (1.935-15.417) $p<0.001$

- c) Aquellos pacientes que cumplen criterios de síndrome metabólico a los 24 meses tienen un riesgo cuatro veces mayor, de tener una fibrosis >9 kpa y/o una esteatosis por CAP > 288 db/m a los 24 meses.

OR (IC 95%) 4.178 (2.1-8.2) $p<0.0001$

Pacientes CAP>288 24 meses – SD Metabólico basal				
		CAP >288		
		Sí	No	Total
SM	Sí	19 (33.3%)	28	47
	No	38 (67.7%)	183	221
	Total	57	211	268

Tabla 14. Prevalencia de pacientes que tienen un CAP >288 a los 24 meses, 33.3% cumplían criterios de Sd metabólico de forma basal. De un total de 268 pacientes, en 57 pacientes se obtuvieron valores de CAP >288 los 24 meses post-RVS, de los cuales un 33,3% presentaban síndrome metabólico basal.

		Síndrome metabólico 24 meses			Total
		Sí	No	99	
Paciente con riesgo CAP>288 o Kpa>9	No	27	188	4	219
	Sí	21	35	1	57
Total		48	223	5	276

Tabla 15 de contingencia: Paciente con riesgo CAP>288 o kPa>9 * Síndrome metabólico 24 meses: De los 48 pacientes que presentaron un Sd metabólico a los 24 meses post-RVS, en 21 de ellos se obtuvieron valores de CAP >288 o >9 kPa en la prueba Fibroscan®.

		Síndrome metabólico 24 meses			Total
		Sí	No	99	
Paciente CAP>288 (24 meses) Y kPa>9	Sí	4	7	0	11
	No	20	111	2	133
Total		24	118	2	144

Tabla 16 de contingencia: Paciente CAP>288 (24 meses) y kPa>9 * Síndrome metabólico 24 meses: De los 11 pacientes donde se obtuvieron valores de CAP >288 y >9 kPa en la prueba Fibroscan® realizada 24M post-RVS, 4 presentaban sd metabólico.

5.7 Influencia de la obesidad en el valor de Fibroscan y CAP.

Como se puede observar los pacientes con un IMC>25 obtienen valores mayores en la elastografía (aunque no es significativo en la fibrosis de forma basal ni a los 24 meses) pero si presentan de forma significativa mayor CAP.

	IMC>25	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
kPa basal	NO	103	12,467	11,0015	1,0840
	SI	161	13,212	10,8053	,8516
CAP (dB/m)	NO	11	171,27	71,718	21,624
	SI	14	263,71	74,597	19,937

($p>0.005$) kPa basal y ($p<0.001$) CAP

	IMC>25	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Elastografía (kPa) 24 meses	NO	105	7,978	5,5254	,5392
	SI	164	8,558	7,0861	,5533
CAP 24 meses	NO	105	215,57	45,644	4,454
	SI	164	260,82	59,714	4,663

($p>0.005$) kPa y ($p=0.005$) CAP

5.8 Relación con otros marcadores de enfermedad por depósito de grasa

En el siguiente punto se analizan algunos de los índices y marcadores expuesto en el apartado de métodos serológicos. La puntuación de Hepamet fue claramente más alta en el grupo de 3 (pacientes con Fibrosis >F2 con esteatosis) que en el grupo 1 y 2 ($0,12 \pm 0,25$ frente a $0,45 \pm 0,86$ $p = 0,004$), sin embargo, no se encontraron diferencias con la puntuación de fibrosis NAFLD.

No encontramos relación estadísticamente significativa entre pacientes con CAP >288 y Fibroscan® >9 KPa con un índice NAFLD de fibrosis elevado.

Pacientes CAP>288 24 meses – SD Metabólico basal				
		Paciente riesgo (CAP >288 y Kpa>9)		
		Sí	No	Total
NALFD Elevado	Sí	7	81	88
	No	2	44	46
Total		9	125	134
P_valor Chi-cuadrado: 0.428				

Tabla 17. De un total de 9 pacientes donde se obtuvieron valores de CAP >288 y >9 kPa en la prueba Fibroscan®, 7 de ellos presentaban un elevado NALFD score.

Sin embargo, si encontramos una clara diferencia de medias con el HEPAMET score (0.12 fibrosis leve; 0.12-0.24 zona gris, >0.24 fibrosis avanzada)

Paciente CAP>288 (24 meses) Y kPa>9		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
HEPAMET 24 meses	Sí	14	,1291	,25249	,06748
	No	208	,0449	,08689	,00602

($p=0.004$)

Paciente con riesgo CAP>288 o kPa>9		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
HEPAMET 24 meses	Sí	47	,0812	,17060	,02488
	No	175	,0419	,07909	,00598

($p<0.024$)

e) Considerar el consumo abusivo de alcohol como un factor de no mejoría de la fibrosis.

Se analizó el alcohol como factor de riesgo según el cuestionario AUDIT realizado. En el párrafo de “*características de la población global*” se describe los datos referentes a la media y frecuencia de puntuación obtenidos en este cuestionario. Como resultado no encontramos influencia del consumo de alcohol con puntaje AUDIT en la regresión de fibrosis.

6. DISCUSIÓN

La afectación del hígado en el contexto de la infección por VHC ha dado lugar a numerosos estudios. Muchos de ellos, al estar basados en la realización de biopsia hepática, presentan un menor tamaño muestral dada la mayor complejidad de este procedimiento y la dificultad para poder realizar diversas determinaciones a lo largo del tiempo de estudio. La aparición de nuevas técnicas diagnósticas de fibrosis hepática no invasivas como es la elastografía de transición o FibroScan[®], ha permitido la realización de estudios longitudinales, con mayor número de pacientes y con seguimientos más exhaustivos y prolongados, dado que permite la realización de diversas determinaciones a lo largo de un plazo de tiempo determinado al carecer de las complicaciones de las pruebas basadas en la biopsia hepática. Del mismo modo, diversos estudios han puesto de manifiesto una alta correlación entre el grado de fibrosis hepática estimado mediante FibroScan[®] y el obtenido mediante biopsia hepática, especialmente en casos de fibrosis avanzada o cirrosis.

En referencia a nuestro estudio se han valorado factores que se han asociado con la progresión a fibrosis hepática avanzada, así como aquellos que han presentado asociación con su regresión. Así mismo, se ha evaluado la utilidad diagnóstica de diversas variables basadas en índices serológicos.

En este contexto hay un enfoque importante, el valor CAP (μ) aumenta a los 24 meses y encontramos alrededor de 70 pacientes en el grupo de riesgo para fibrosis avanzada: en ellos hay una alta sospecha de NASH y serán potenciales candidatos para realizar una biopsia hepática como método diagnóstico en un futuro. En estos pacientes observamos que aumentan de peso, aumentan el colesterol y los TAG, encontrando una relación significativa entre el síndrome metabólico, valores de insulina y colesterol con la severidad de su enfermedad. Con ello, entendemos como evidente la relación del síndrome metabólico para la no regresión de la fibrosis hepática, así como el papel crucial de los métodos no invasivos en el estadiaje de los pacientes, capaces de valorar la evolución de los pacientes, detectando de manera fiable parámetros de regresión de fibrosis y justificando realizar la biopsia hepática necesaria para confirmar el diagnóstico.

Nuestro estudio tras 24 meses de seguimiento se realizó en todos los estadios de fibrosis. En nuestra cohorte se observó una mejoría global de la rigidez hepática a lo largo de este periodo de tiempo en el 74,6% de los pacientes (n= 206). De los pacientes que no mejoraron encontramos un 6,4% (n=4) clasificados en el fibroscan[®] basal como F1 que progresó a F2 y un 6,4% (n=4) a fibrosis significativa (>9 kPa); Un 17.9% (n=12) clasificados al inicio F2 permanecieron como F2 y 10.4% (n=7) progresaron a fibrosis significativa (>9kPa); Un 7.8% (n=4) de la cohorte basal clasificados como F3 permaneció como F3 y un 7.8% (n=4) progresó a F4; el 39% de los pacientes (n=39) clasificados como F4 al inicio del estudio se mantuvo como F4.

Un aspecto a tener en cuenta, es el cambio de estadiaje que se produce en algunos enfermos desde los 12 meses hasta los 24 meses, en nuestro caso , 6 paciente F3 pasan a F4 a los 24 meses. Ante este hecho, coincidimos en que la rápida caída de la actividad necroinflamatoria tras la erradicación del VHC con AAD produce una

disminución brusca de la elastografía en los primeros 12 meses, sin embargo, debe ser necesario esperar hasta los 24 meses para confirmar el estadio real de la fibrosis. Esto tiene gran importancia de cara al seguimiento de estos pacientes, dado que la fibrosis avanzada es el principal factor de riesgo del HCC, no podemos discontinuar el seguimiento en aquellos pacientes que tienen una fibrosis >F2. En aquellos, propiamente F2, deberemos seguirles la evolución

De esta forma, a pesar de que se produce una mejoría en el 75% de los pacientes, hay un cuarto de la población tratada en la que la fibrosis no mejora o empeora. Nuestro estudio, aporta la idea de que aquellos pacientes que tienen un síndrome metabólico, establecido, presentan resistencia a la insulina o tienen hipercolesterolemia, tienen mayor riesgo de tener una persistencia de la enfermedad hepática. Esto se puede deber a dos aspectos fundamentalmente: la existencia de una enfermedad por depósito graso subyacente a la enfermedad por el VHC o bien por existencia de un “patrón inflamatorio relacionado con la obesidad y la resistencia a la insulina” mediado por citoquinas, interleuquinas que impida la activación de los mecanismos antifibrogénicos hepáticos.

Según los resultados aportados en nuestro estudio, actualmente estarían en riesgo de enfermedad hepática por depósito graso 16 pacientes, a los cuales será necesario realizar una biopsia hepática para confirmar el diagnóstico.

Así mismo observamos que los pacientes aumentan de peso, les aumenta el colesterol y los TAG siendo estos factores claves de riesgo cardiovascular.

Dentro de los objetivos futuros de este estudio, será analizar los valores de expresión sérica de la LOXL2 y su expresión tisular en la biopsia hepática.

Partiendo de los resultados observados, un pequeño porcentaje de pacientes empeora la rigidez hepática a pesar de alcanzar la RVS con AAD.

7. CONCLUSIONES

Por último, para finalizar el presente estudio sobre la fibrosis hepática, extraemos una serie de conclusiones que resumen y sintetizan la información y conocimientos analizados,

Así pues,

CONCLUSIÓN PRIMERA

El tratamiento con Antivirales de Acción Directa logra una curación de hasta el 100% en los pacientes con hepatitis C consiguiendo una mejoría de la rigidez hepática incluso en pacientes con enfermedad avanzada. No obstante, Esta disminución inicial de la rigidez hepática no se mantiene en todos los pacientes después de 24 meses, por lo que es necesario una evaluación para su detección precoz con diferentes métodos no invasivos, principalmente el FibroScan[®], actualmente método óptimo de seguimiento periódico en la práctica clínica.

CONCLUSIÓN SEGUNDA

Nuestro estudio, aporta la idea de que aquellos pacientes que tienen un síndrome metabólico establecido, presentan resistencia a la insulina o hipercolesterolemia, tienen mayor riesgo de tener una persistencia de la enfermedad, ya sea por no regresión de fibrosis, aparición de esteatosis hepática o ambas.

CONCLUSIÓN TERCERA

Se debe estudiar los valores de expresión sérica de la LOXL2 y su expresión tisular en la biopsia hepática con el fin de conocer la progresión de fibrosis hepática en los pacientes que muestran la existencia de una enfermedad por depósito graso subyacente a la enfermedad por el VHC.

8. Bibliografía

1. Polaris Observatory HCV Collaborators : Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017; 2: pp. 161-176.
2. Global hepatitis report, 2017. Geneva: World Health Organization. Geneva: WHO;2017. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
3. European Union HCV Collaborators : Hepatitis C virus prevalence and level of intervention required to achieve the WHO targets for elimination in the European Union by 2030: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017; 2: pp. 325-336.
4. Chak E., Talal A.H., Sherman K.E., et al: Hepatitis C virus infection in USA: An estimate of true prevalence. *Liver Int* 2011; 31: pp. 1090-1101
5. Nahon P., Bourcier V., Layese R., Audureau E., Cagnot C., Marcellin P., et al: Eradication of hepatitis C virus infection in patients with cirrhosis reduces risk of liver and non-liver complications. *Gastroenterology* 2017; 152: pp. 142-156
6. Cacoub P., Comarmond C., Sadoun D., and Desbois A.C.: Hepatitis C virus infection and rheumatic diseases: the impact of direct-acting antiviral agents. *Rheum Dis Clin North Am* 2017; 43: pp. 123-132
7. Rockey D. Translating an Understanding of the Pathogenesis of Hepatic Fibrosis to Novel Therapies. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2013;11:224–231
8. Waziry R., Hajarizadeh B., Grebely J., Amin J., Law M., Danta M., et al: Hepatocellular carcinoma risk following direct-acting antiviral HCV therapy: a systematic review, meta-analyses, and meta-regression. *J Hepatol* 2017; 67: pp. 1204-1212
9. Hernandez Gea V and Friedman S. Pathogenesis of liver fibrosis. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2011. 6:425–56
10. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2016. *J Hepatol* 2017;66:153–194.
11. Cuadrado, Antonio & Perelló, Christie & Llerena, Susana & Gomez, M & Escudero, M.D. & Rodriguez, L & Estébanez, Ángel & Gamez, B & Puchades, L &

- Cabezas, J & Serra, M.A. & Calleja, J.L. & Crespo, Javier. (2017). Prevalence of hepatitis C in the spanish population. The prevhep study (ethon cohort). *Journal of Hepatology*. 66. S272. 10.1016/S0168-8278(17)30857-7.
12. Posicionamiento de la AEEH para la eliminación de la Hepatitis C en España, Febrero 2018. Madrid: Asociación Española para el Estudio del Hígado.
 13. Moosavy SH, Davoodian P, Nazarnezhad MA, Nejatizadeh A, Eftekhari E, Mahboobi H. Epidemiology, transmission, diagnosis, and outcome of Hepatitis C virus infection. *Electronic Physician*. 2017;9(10):5646-5656
 14. Micallef JM, Kaldor JM, Dore GJ. Spontaneous viral clearance following acute hepatitis C infection: a systematic review of longitudinal studies. *J Viral Hepat*. 2006;13(1):34–41.
 15. Pawlotsky J., and Hepatitis C: virus genetic variability: Pathogenic and clinical implications. *Clin Liver Dis* 2003; 7: pp. 45-66
 16. Messina JP, Humphreys I, Flaxman A, et al. Global Distribution and Prevalence of Hepatitis C Virus Genotypes. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2015;61(1):77-87.
 17. Nainan O., Alter M., Kruszon-Moran D., et al: Hepatitis C virus genotypes and viral concentrations in participants of a general population survey in the United States. *Gastroenterology* 2006; 131: pp. 478-484
 18. Mosley J.W., Operskalski E.A., Tobler L.H., et al: Viral and host factors in early hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2005; 42: pp. 86-92
 19. Maasoumy B., and Wedemeyer H.: Natural history of acute and chronic hepatitis C. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2012; 26: pp. 401-412
 20. D'Amico G, Garcia Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol*. 2006 Jan;44(1):217-31
 21. Trautwein C, Friedman S et al. Hepatic fibrosis: Concept to treatment *Journal of Hepatology* 2015 vol. 62 S15–S24
 22. Seki E, De Minicis S, Osterreicher CH, Kluwe J, Osawa Y, Brenner DA, et al. TLR4 enhances TGF-β signaling and hepatic fibrosis. *Nat Med* 2007;13:1324–1332.
 23. Novo E, Cannito S, Zamara E, Valfre di Bonzo L, Caligiuri A, Cravanzola C, et al. Vascular endothelial growth factor and angiopoietin 1 as hypoxiaindependent autocrine and paracrine factors stimulating migration and chemotaxis of activated human hepatic stellate cells. *Am J Pathol* 2007;170:1942–1953.

24. Tacke F, Zimmermann HW. Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis. *J Hepatol* 2014;60:1090–1096.
25. Fernandez M, Semela D, Bruix J, Colle I, Pinzani M, Bosch J. 2009. Angiogenesis in liver disease. *J. Hepatol.* 50:604–20.
26. Tacke F. Functional role of intrahepatic monocyte subsets for the progression of liver inflammation and liver fibrosis in vivo. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2012;5(Suppl 1 Proceedings of Fibroproliferative disorders: from biochemical analysis to targeted therapies Petro E Petrides and David Brenner):S27.
27. Baeck C, Wehr A, Karlmark KR, Heymann F, Vucur M, Gassler N, et al. Pharmacological inhibition of the chemokine CCL2 (MCP---1) diminishes liver macrophage infiltration and steatohepatitis in chronic hepatic injury. *Gut* 2012;61:416–426.
28. Pellicoro A, Ramachandran P, Iredale JP, Fallowfield JA. Liver fibrosis and repair: immune regulation of wound healing in a solid organ. *Nat Rev Immunol* 2014;14:181–194.
29. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology* 2012;142:1592-1609.
30. Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, Tripodi MF, Utili R, Ruggiero G. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology* 2001;33:1358–1364.
31. La obesidad abdominal no es un prerequisite para el diagnóstico sino uno más de los cinco criterios. Modificado de Alberti KGMM et al. *Circulation* 2009; 120:1640-5, y Grundi SM et al. *J Clin Lipidol* 2014-,8:29-60.
32. Hagström, Hannes et al. Overweight in late adolescence predicts development of severe liver disease later in life: A 39 years follow-up study *Journal of Hepatology*, 2016; Volume 65, Issue 2, 36 -368
33. Morisco F, Granata R, Stroffolini T, et al. Sustained virological response: a milestone in the treatment of chronic hepatitis C. *World journal of gastroenterology*. May 14 2013;19(18):2793-2798.
34. Fernandez Rodriguez CM, Gutierrez Garcia ML. [Impact of antiviral therapy on the natural history of hepatitis C virus]. *Gastroenterologia y hepatologia*. Dec 2014;37(10):583-592

35. Cardoso AC, Moucari R, Figueiredo-Mendes C, et al. Impact of peginterferon and ribavirin therapy on hepatocellular carcinoma: incidence and survival in hepatitis C patients with advanced fibrosis. *Journal of hepatology*. May 2010;52(5):652-657.
36. Van der Meer AJ, Berenguer M. Reversion of disease manifestations after HCV eradication. *J Hepatol* 2016; 65:S95–S108.
37. Van der Meer AJ, Veldt BJ, Feld JJ, et al. Association between sustained virological response and all-cause mortality among patients with chronic hepatitis C and advanced hepatic fibrosis. *Jama*. Dec 26 2012;308(24):2584-2593.
38. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, et al. AASLD Position paper: liver biopsy. *Hepatology* 2009;49:1017–1044.
39. Grant A, Neuberger J. Guidelines on the use of liver biopsy in clinical practice. *Gut* 1999;45(Suppl IV):IV1–IV11
40. AASLD/IDSA HCV Guidance Panel. Hepatitis C guidance: AASLD-IDSA recommendations for testing, managing and treating adults infected with hepatitis C virus. *Hepatology* 2015;62:932–954.
41. Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM, et al. AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology* 2016;63:261–283.
42. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012;55:2005–2023.
43. Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, et al. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2010;51:1–30.
44. Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, et al. Primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2009;51:291–308.
45. Bacon BR, Adams PC, Kowdley KV. Diagnosis and management of hemochromatosis: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2011;54:328–343.
46. Seeff LB, Everson GT, Morgan TR, et al. Complication rate of percutaneous liver biopsies among persons with advanced chronic liver disease in the HALT-C trial. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010;8:877–883.

47. Gilmore IT, Burroughs A, Murray-Lyon IM, et al. Indications, methods, and outcomes of percutaneous liver biopsy in England and Wales: an audit by the British Society of Gastroenterology and the Royal College of Physicians of London. *Gut* 1995;36:437–441.
48. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2614–2618.
49. Fraquelli M, Rigamonti C, Casazza G, et al. Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Gut*. Jul 2007;56(7):968-973.
50. AA Joseph K. Lim, Steven L. Flamm, Siddharth Singh, Yngve T. Falck-Ytter et al. American Gastroenterological Association Institute Guideline on the Role of Elastography in the Evaluation of Liver Fibrosis. *Gastroenterology* 2017;152:1536–1543.
51. Castera L, Forns X, Alberti A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *Journal of hepatology*. May 2008;48(5):835-847.
52. Manning DS, Afdhal NH. Diagnosis and quantitation of fibrosis. *Gastroenterology*. May 2008;134(6):1670-1681.
53. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet*. 2001; 357: 1069-75.
54. Forns X, Ampurdanés S, Llovet JM, Aponte J, Quinto L, Martínez-Bauer E, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology* 2002; 36: 986-92.
55. Stauber RE, Lackner C. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C. *World journal of gastroenterology*. Aug 28 2007;13(32):4287-4294.
56. Shaheen AA, Myers RP. Diagnostic accuracy of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review. *Hepatology*. Sep 2007;46(3):912-921.
57. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, Fontaine H, Pol S. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest. 2007 Jul;46(1):32-6.
58. Poynard T, Ratziu V, Naveau S, Charlotte F, Imbert-Bismut F, Messous D et al. Diagnostic value of two new biomarkers (Steatotest and Nashtests) for the prediction of steatosis and non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *J Hepatol* 2006; 44 (suppl 2): S38

59. Cayón A, Crespo J, Guerra A, Pons-Romero F. Expresión génica en pacientes obesos con enfermedad hepática por depósito de grasa. Rev Esp Enf Digest 2008; 100: 212-218

Anexo

CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

INFLUENCIA DE FACTORES METABÓLICOS EN LA REGRESIÓN DE LA FIBROSIS POSTRVS.

CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

INFLUENCIA DE FACTORES METABÓLICOS EN LA REGRESIÓN DE LA FIBROSIS POSTRVS.

DATOS DEMOGRÁFICOS

Sexo: Hombre Mujer

Fecha de nacimiento |__|__| - |__|__| - |__|__|__|__|

ANAMNESIS BASAL. ANTECEDENTES

a) COMORBILIDAD:

- ☐ **Alcohol (o ex alcohol):** Si No
 - **Activo?:** Si No
 - **(En caso de no activo) Periodo de abstinencia (meses):** |__|__|
 - **Especificar cantidad media (g/día):** |__|__| **Numero bebidas al día:**
 - **Años de consumo:** |__|__|
- ☐ **Fumador (o exfumador)** Si No **Paquetes Día:**
 - **Activo?** Si No
 - **(En caso de no activo) Periodo de abstinencia (meses/años):**
|__|__|
- ☐ **Café:** Si No
- ☐ **Otras drogas:** Si No
 - **¿Activo?** Si No
 - **¿ADVP?** Si No
 -) Cocaína** Si No
 - **Heroína:** Si No
 - **Cannabis:** Si No
- ☐ **Diabetes Mellitus:** Si No
 - **Tipo** I/II
 - **Insulinizada?:** Si No
- ☐ **HTA:** Si No

- ☐ **Dislipemia:** Si No
- ☐ **Enfermedades cardiovasculares:** Si No
 - ☐ **Cardiopatía isquémica?:** Si No
 - ☐ **ICC?:** Si No
 - ☐ **Vasculopatía Periférica?:** Si No
 - ☐ **Arritmias?:** Si No
 - **ACxFA:** Si No
 - **Bradiarritmias:** Si No
 - ☐ **AVC:** Si No
- ☐ **Ap. respiratorio:** Si No
 - ☐ **EPOC?** Si No
 - Broncodilatadores?** Si No
 - **Hiperreactividad bronquial?:** Si No
- ☐ **Ap. gastrointest.:** Si No
 - Especificar:**
- ☐ **Neoplasias ?:** Si No
 - Especificar:**
 - En remisión completa:** Si No
- ☐ **VIH?:** Si No

TRATAMIENTO HABITUAL:

- **61) Antiagregantes:** Si No
- **62) Anticoagulantes:** Si No
- **63) IBP:** Si No
- **64) Betabloqueantes:** Si No
 - Especificar:**
- **65) F. Vasoactivos:** Si No
 - ☐ **IECA o ARA-II:** Si No
 - ☐ **Calcio antagonistas:** Si No
 - ☐ **Betabloqueantes:** Si No
 - ☐ **Alfabloqueantes:** Si No
 - ☐ **Nitratos:** Si No
 - ☐ **Otros:** Si No
 - Especificar:**
- **66) Diuréticos :** Si No
 - ☐ **Espironolactona** Si No mg
 - ☐ **Furosemida** Si No mg
- **67) Hipoglicemiantes orales:** Si No **Insulina** Si No
- **68) Estatinas:** Si No
 - ☐ **Simvastatina:** Si No
 - ☐ **Otras:** Si No
- **Otros:** Si No
 - Especificar:**

IDENTIFICACIÓN DE ABUSO DE ALCOHOL: TEST AUDIT

¿Con qué frecuencia toma alguna bebida alcohólica?	☐ Nunca (0) ☐ 1 ó menos veces al mes (1) ☐ 2 a 4 veces al mes (2) ☐ 2 ó 3 veces a la semana (3) ☐ 4 ó > veces a la semana (4)
¿Cuántas consumiciones de bebidas con contenido alcohólico suele hacer en un día de beber normalmente?	☐ 1 ó 2 (0) ☐ 3 ó 4 (1) ☐ 5 ó 6 (2) ☐ 7 a 9 (3) ☐ 10 ó > (4)
¿Con qué frecuencia toma 6 ó más consumiciones alcohólicas en un solo día?	☐ Nunca (0) ☐ Menos de 1 vez al mes (1) ☐ Mensualmente (2) ☐ Semanalmente (3) ☐ A diario o casi a diario (4)
Si un varón suma 5 puntos o una mujer suma 4 puntos, continuar con las siguientes preguntas.	
. ¿Con qué frecuencia en el curso del último año se ha encontrado con que no podía parar de beber una vez había empezado?	☐ Nunca (0) ☐ Menos de 1 vez al mes (1) ☐ Mensualmente (2) ☐ Semanalmente (3) ☐ A diario o casi a diario (4)
. ¿Con qué frecuencia en el curso del último año no ha podido realizar la actividad que le correspondía, por haber bebido?	☐ Nunca (0) ☐ Menos de 1 vez al mes (1) ☐ Mensualmente (2) ☐ Semanalmente (3) ☐ A diario o casi a diario (4)
¿Con qué frecuencia en el curso del último año ha necesitado beber en ayunas por la mañana para recuperarse de haber bebido mucho la noche anterior?	☐ Nunca (0) ☐ Menos de 1 vez al mes (1) ☐ Mensualmente (2) ☐ Semanalmente (3)

	☐ A diario o casi a diario (4)
<i>. ¿Con qué frecuencia en el curso del último año ha tenido remordimientos o sentimientos de culpa después de haber bebido?</i>	☐ Nunca (0) ☐ Menos de 1 vez al mes (1) ☐ Mensualmente (2) ☐ Semanalmente (3) ☐ A diario o casi a diario (4)
<i>. ¿Con qué frecuencia en el curso del último año ha sido incapaz de recordar qué pasó la noche anterior porque había estado bebiendo?</i>	☐ Nunca (0) ☐ Menos de 1 vez al mes (1) ☐ Mensualmente (2) ☐ Semanalmente (3) ☐ A diario o casi a diario (4)
<i>. ¿Usted o alguna otra persona se ha hecho daño como consecuencia de que usted había bebido?</i>	☐ No (0) ☐ Sí, pero no en el curso del último año (2) ☐ Sí, en el último año (4)
<i>. ¿Algún familiar, amigo, médico o profesional sanitario se ha preocupado por su consumo de bebidas alcohólicas o le ha sugerido que deje de beber?</i>	☐ No (0) ☐ Sí, pero no en el curso del último año (2) ☐ Sí, en el último año (4)

TOTAL PUNTOS: