UAB
Universitat Autònoma de Barcelona

CARACTERIZACIÓN DE LOS ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD HEPÁTICA CRÓNICA EN BASE A PROTEÍNAS PLASMÁTICAS IMPLICADAS EN LA INFLAMACIÓN SISTÉMICA

Marta Fortuny Bauzá

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

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

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

Tesis Doctoral

CARACTERIZACIÓN DE LOS ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD HEPÁTICA CRÓNICA EN BASE A PROTEÍNAS PLASMÁTICAS IMPLICADAS EN LA INFLAMACIÓN SISTÉMICA

Autora:

Marta Fortuny Bauzá

Directoras:

Helena Masnou Ridaura

Maria Rosa Sarrias Fornes

Tutor:

Eugeni Domènech Morral

Programa de Doctorado en Medicina

Departamento de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

Barcelona, 2025

Sempre endavant

AGRADECIMIENTOS

En primer lloc, gràcies Helena i Maria Rosa pel vostre temps i dedicació. Gràcies per confiar en mi i donar-me el suport necesari per poder dur a terme aquest projecte. Gràcies també Eugeni per animar-me a endinsar-me en aquest viatge i per haver-me descobert el món de la recerca durant la meva residència. Gràcies a tot el el Servei d'Aparell Digestiu de Can Ruti, adjuntes i residents, no només pel suport logístic en aquest projecte sino per tots els moments viscuts en aquella sala de la cinquena planta, sense tots i totes vosaltres això no haguès sigut possible. Així mateix, gràcies al personal de laboratori de l'IGTP per la paciencia i donar-me el recolzament necesari durant aquests anys.

Siento que al acabar este proyecto, cierro una de las mejores etapas de mi vida y eso es porque he conocido a personas que han marcado un antes y un después. Gràcies Anna, per ésser la millor co-R, que es pot tenir. Gracias Pepe, por aparecer y quedarte. Gracias Nacho. No podía haberme imaginado un mejor resi mayor, porque no existe. Gracias por las horas de teléfono, las vueltas por el parking, las tardes en endoscopia, los cafés, la pizza de guardia y por ser un espejo donde mirarse siempre. Hay una parte de esta tesis que es tuya.

A mis padres, por ser mi referente en la vida. . Gracias a mis hermanos Reg, Xim y Dito por ser el mejor equipo que se puede tener. Por animarme siempre a seguir, a no rendirme, por ese "*Va Martona…",* en todos los tonos y versiones que me acompañan siempre. Gracias por confiar en mi y haberme dado la libertad para ser y estar donde quiero.

Gracias a Chof. Infinitas gracias por la paciencia, por el tiempo. Por poner luz y ganas en todo lo que haces. Gracias por ser faro siempre.

LISTADO DE ABREVIATURAS

- **ABC** Área bajo la curva
- **ACLF** Fallo hepático agudo sobre crónico
- **CEH** Células estrelladas hepáticas
- **CPT** Child-Pugh-Turcotte
- **DAMPS** Damage-associated molecular patterns
- **DIAC** Disfunción inmunológica asociada a la cirrosis tifi
- **EDA** Endoscopia digestiva alta
- **EHCAc** Enfermedad hepática crónica avanzada compensada
- **EHCAd** Enfermedad hepática crónica avanzada descompensada
- **E** Estadio
- **Esp** Especificidad
- **eNOS** Endotelial nitric oxid synthetase
- **GALT** Gut-associated lymphoid tissue
- **GPVH** Gradiente de presión venosa hepática
- **HPCS** Hipertensión portal clínicamente significativa
- **HR** Hazard Ratio
- **IC** Intervalo de confianza
- **Ig** Inmunoglobulina
- **IL-6** Interleucina 6
- **LPS** Lipopolisacáridos
- **MDW** Monocyte distribution width
- **MELD** Model for end-stage liver disease
- **NGAL** Neutrophil gelatinase-associated lipocalin

- **PAMP** Pathogen-associated molecular patterns
- **PBE** Peritonitis bacteriana espontánea
- **PCR** Proteína C reactiva
- **PMN** Polimorfonucleares
- **PD-1** Programmed cell death protein-1
- **Se** Sensibilidad
- **TB** Translocación bacteriana
- **TH** Células T helper
- **TIM-3** T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein 3
- **TLR** Toll-like receptors
- **TNF** Factor de necrosis tumoral
- **UCI** Unidad de cuidados intensivos
- **VEG** Varices esofagogástricas
- **VEGF** Vascular endothelial growth factor
- **VHB** Virus de la hepatitis
- **VHC** Virus de la hepatitis C
- **Vs** Versus

ÍNDICE

RESUMEN……..11

SUMMARY…….12

1. INTRODUCCIÓN 15

1.1. Fisiopatología de la cirrosis…….……..15

1.1.1. Fisiopatología de la hipertensión portal……16

1.1.1.1. Factores hemodinámicos…...…….……..16

1.1.1.2. Factores inflamatorios……..17

1.1.2. Translocación bacteriana……..18

1.2. Disfunción inmunológica asociada a la cirrosis…..……..21

1.2.1. Inflamación sistémica asociada a la cirrosis…….21

1.2.2. Inmunosupresión asociada a la cirrosis……23

1.3. Infecciones bacterianas en la cirrosis…….27

1.4. Historia natural de la cirrosis……..29

1.5. Biomarcadores……...31

1.5.1. Biomarcadores de inflamación sistémica en la cirrosis…….32

1.5.1.1. Proteína C reactiva……...…….33

1.5.1.2. Procalcitonina……...……35

1.5.1.3. Interleucina 6……...….36

1.5.1.4. Amplitud de distribución de monocitos……...….37

1.5.1.5. Calprotectina…….…….……..38

1.5.1.6. CD163…….…….……40

1.5.1.7. CD14……..……..40

1.5.1.8. Copeptina……..……...……...41

1.5.1.9. CD5L……..……41

2. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS……..……44

2.1. Justificación……...……...44

2.2. Hipótesis……...…46

3. OBJETIVOS……...…….……48

3.1. Objetivo principal……48

3.2. Objetivos secundarios……...48

4. MATERIAL Y MÉTODOS……..50

5. RESULTADOS……..…….……...59

5.1. Caracterización de los estadios de la historia natural de la enfermedad hepática crónica en pacientes con y sin infección……59

5.1.1. *Cohorte "NO-INFECCIÓN"*……..59

5.1.2. *Cohorte "INFECCIÓN*"……..70

5.2. Análisis de correlación entre proteínas plasmáticas…….…….……...…79

5.2.1. *Cohorte "NO-INFECCIÓN"*……...……79

5.2.2. *Cohorte "INFECCIÓN"*……..84

5.3. Análisis de las variables asociadas al desarrollo de descompensación clínica de la cirrosis, ingreso o reingreso hospitalario, infección bacteriana o muerte al año de la inclusión…….……..85

5.3.1. *Cohorte "NO-INFECCIÓN"*……..85

5.3.2. *Cohorte "INFECCIÓN"*…….…….96

5.4. Obtención de mejor punto de corte para el diagnóstico de infección…….……....104

6. DISCUSIÓN……..……..110

7. CONCLUSIONES…….…….125

8. LÍNEAS DE FUTURO……..128

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS……..131

10. ANEXOS…….…….160

10.1. Tabla suplementaria 1…….…….160

10.2. Tabla suplementaria 2…….…….161

10.3. Definiciones……..…...162

10.4. Tabla suplementaria 3……..163

10.5. Publicación relacionada con la tesis…….164

10.6. Ayudas a la investigación…….……178

RESUMEN

La cirrosis o enfermedad hepática crónica avanzada es una patología caracterizada por la aparición de fibrosis y nódulos de regeneración secundarios a un daño hepático sostenido y el desarrollo de hipertensión portal. La historia natural de la cirrosis está condicionada por múltiples factores como el incremento de la presión portal, la traslocación bacteriana y la inflamación sistémica. En los últimos años se ha propuesto una clasificación multiestadio de esta patología, basada en la presencia de hipertensión portal clínicamente significativa o el desarrollo de descompensaciones clínicas.

La presente tesis presente ampliar el conocimiento sobre los biomarcadores de inflamación sistémica en pacientes con diferentes estadios pronósticos enfermedad hepática crónica con y sin infección bacteriana.

Para ello se ha realizado un estudio prospectivo y descriptivo en el que se incluyeron pacientes con enfermedad hepática crónica entre enero 2021 y mayo 2023 y se agruparon en dos cohortes en base a la presencia o ausencia de infección bacteriana. De cada paciente, se analizaron biomarcadores plasmáticos implicados en la inflamación sistémica.

En la cohorte de pacientes sin infección bacteriana se incluyeron 83 pacientes y 21 pacientes en la cohorte con infección bacteriana. En cada cohorte se realizó una caracterización de los estadíos pronósticos en base a los valores de las proteínas plasmáticas así como un análisis de correlación entre dichas proteínas y el análisis de las variables asociadas a la aparición de eventos clínicos durante el seguimiento.

SUMMARY

Cirrhosis, or advanced chronic liver disease, is a condition characterized by the development of fibrosis and regenerative nodules secondary to sustained liver damage and the onset of portal hypertension. The natural history of cirrhosis is influenced by multiple factors, such as increased portal pressure, bacterial translocation, and systemic inflammation. In recent years, a multi-stage classification of this condition has been proposed, based on the presence of clinically significant portal hypertension or the occurrence of clinical decompensations.

This thesis aims to expand the knowledge about systemic inflammation biomarkers in patients with different prognostic stages of chronic liver disease, with and without bacterial infection.

To this end, a prospective and descriptive study was conducted, including patients with chronic liver disease between January 2021 and May 2023, grouped into two cohorts based on the presence or absence of bacterial infection. Plasma biomarkers involved in systemic inflammation were analyzed for each patient.

In the cohort of patients without bacterial infection, 83 patients were included, while 21 patients were included in the cohort with bacterial infection. In each cohort, a characterization of prognostic stages was performed based on plasma protein levels, as well as a correlation analysis between these proteins and the variables associated with the occurrence of clinical events during follow-up.

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La cirrosis o enfermedad hepática crónica avanzada es una enfermedad sistémica altamente prevalente a nivel mundial y se caracteriza por la aparición de fibrosis y la formación de nódulos de regeneración en el parénquima hepático secundarios al daño hepático sostenido (1). Esta patología es la segunda causa de pérdida de años de vida laboral a nivel mundial, únicamente por detrás de la cardiopatía isquémica (2). Entre las principales causas de cirrosis se encuentran el consumo de alcohol, el depósito de grasa, las hepatitis virales crónicas, las enfermedades autoinmunes, las enfermedades colestásicas o la sobrecarga férrica y cúprica (3,4).

1.1. Fisiopatología de la cirrosis

1.1.1. Fisiopatología de la hipertensión portal

La cirrosis se desarrolla tras un periodo de inflamación crónica mantenida que condiciona la sustitución de parénquima hepático sano por tejido fibrótico y nódulos de regeneración (4). En este proceso de daño sostenido, las células hepáticas sufren cambios fenotípicos que producen disfunción a nivel microvascular, incremento de la resistencia vascular intrahepática y en último término hipertensión portal. El incremento de la resistencia vascular intrahepática es consecuencia de dos factores principales: por un lado, cambios en la arquitectura hepática (clásicamente denominado “componente estructural”) y por otro lado, un incremento patológico del tono vascular hepático (“componente dinámico”)(5). El componente estructural incluye el depósito de colágeno, la formación de nódulos regenerativos y la desdiferenciación del endotelio

sinusoidal. Todos estos cambios en la arquitectura hepática contribuyen en mayor o menor medida a un aumento de la rigidez hepática. Esta rigidez provoca la capilarización de los sinusoides y oclusión vascular, agravando el daño hepático, activando las células estrelladas hepáticas (CEH), aumentando el deposito de matriz extracelular y perpetuando la inflamación. Por otro lado, el componente dinámico es consecuencia de una contracción de las CEH y miofibroblastos que a su vez comprimen los sinusoides hepáticos. Así mismo, se produce un desequilibrio entre los factores vasodilatadores endógenos, en especial el óxido nítrico y de los agentes vasocrinstrictores, como la norepinefrina, angiotensina-2, endotelina y tromboxano A2 que agravan el aumento de la resistencia hepática (5–7).

1.1.1.1. Factores hemodinámicos

A medida que progresa la enfermedad hepática y se incrementan las resistencias al flujo portal se produce una vasodilatación arteriolar esplácnica a expensas fundamentalmente del factor de crecimiento endotelial vascular o VEGF inducido por la producción de óxido nítrico derivado del *eNOS (*endothelial nitric oxid synthetase) (5) que aumenta el flujo portal y éste, a su vez, incrementa la presión portal. La vasodilatación esplácnica mantenida produce alteraciones hemodinámicas a nivel sistémico que conllevan una disminución de las resistencias venosas periféricas e hipotensión sistémica, condicionando una situación de “hipovolemia efectiva” (8,9). En condiciones fisiológicas, la hipovolemia produce una activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona, sistema arginina-vasopresina y del sistema nervioso simpático. En los pacientes

con cirrosis, con el objetivo de compensar los cambios hemodinámicos, se produce una circulación hiperdinámica caracterizada por el incremento del gasto y la frecuencia cardiaca, que a su vez contribuye al agravamiento de la hipertensión portal. En estadios iniciales de la cirrosis, estos cambios son suficientes para compensar total o parcialmente estas alteraciones hemodinámicas. Sin embargo, a medida que avanza la enfermedad se produce un agotamiento de los sistemas compensatorios que, en último término, favorecen la aparición de algunas de las manifestaciones clínicas o descompensaciones características de la cirrosis como la ascitis (10,11).

Por todo ello, la hipertensión portal es la principal consecuencia de la cirrosis y supone un determinante fundamental en el curso de la enfermedad y su pronóstico ya que es la responsable de la mayoría de sus complicaciones (3,5,12,13). Se conoce como hipertensión portal clínicamente significativa (HPCS) a la presión portal, medida mediante gradiente de presión venosa hepática (GPVH) $\geq$ 10 mmHg y ésta se correlaciona con el desarrollo de varices esofagogástricas (VEG) y aparición de ascitis.

1.1.1.2. Factores inflamatorios

Existe evidencia creciente de que en los pacientes con cirrosis existe una alteración en la inflamación local y sistémica que incrementa la presión portal y favorece la aparición de sus complicaciones. Esta teoría está basada en alteraciones a nivel del eje intestino-hígado que promueven la traslocación bacteriana (TB).

1.1.2. Translocación bacteriana

La TB se define como el paso de bacterias viables o subproductos bacterianos (como por ejemplo: patrones moleculares asociados a patógenos o PAMP por sus siglas en inglés [*pathogen-associated molecular patterns*], lipopolisacáridos [LPS], peptidoglicanos, ADN bacteriano…), desde la luz intestinal hacia los ganglios mesentéricos y finalmente hasta la circulación sistémica. Se trata de un proceso fisiológico que ocurre en individuos sanos y que es de vital importancia para el desarrollo de la inmunidad del individuo. En los pacientes con cirrosis, la TB se encuentra aumentada como consecuencia de tres factores: las alteraciones en la barrera intestinal, la composición de la microbiota y la disfunción del sistema inmune. En estos pacientes, la TB se considera tanto una consecuencia, como un factor agravante de la hipertensión portal (14,15).

La barrera intestinal es una estructura compleja que desempeña un papel crucial en la regulación del paso de sustancias desde la luz intestinal a la circulación sistémica. La parte más superficial de la pared intestinal es el epitelio intestinal que se encuentra protegido por una capa de moco. El epitelio está compuesto por enterocitos, linfocitos, células caliciformes y células enterocromafines. Este epitelio cuenta con barreras físicas que sellan los espacios intercelulares como las *tight junctions*, barreras eléctricas y barreras químicas como los péptidos antimicrobiamos producidos por las propias células epiteliales. Por debajo del epitelio se encuentra la *lamina propria*, que es una delgada capa de tejido conectivo que contiene estructuras vasculares, nerviosas y células plasmáticas que son capaces de liberar, entre otras proteínas, la Inmunoglobulina (Ig) A que se halla implicada en funciones defensivas. Adicionalmente, el intestino

cuenta con un sistema linfoide especializado (GALT por sus siglas en inglés Gut-Associated Lymphoid Tissue) formado por placas de Peyer, folículos linfoides, ganglios mesentéricos y linfocitos intraepiteliales (16).

En la cirrosis existe una alteración a todos los niveles de defensa de la barrera intestinal, que se produce independientemente de la etiología de la enfermedad hepática y está asociada al grado de insuficiencia hepática, la reducción en el flujo biliar y la disfunción inmunológica. En modelos preclínicos, se han descrito cambios relacionados con el componente mecánico de la barrera intestinal como son la disrupción de las *tight junctions* tras la administración de alcohol (17,18).

En relación a la microbiota, estudios en modelos experimentales y en humanos, han demostrado la existencia de cambios cualitativos en pacientes con cirrosis respecto a invdividuos sanos (19). En este sentido, no solo se ha descrito una disminución en la diversidad de la microbiota sino también un sobrecrecimiento de microorganismos potencialmente patógenos y reducción relativa de microorganismos potencialmente beneficiosos (20–23). Estos cambios respecto a los individuos sanos están relacionados con una disrupción en la mayoría de los sistemas de control de la microbiota: reducción de la motilidad intestinal (especialmente en los pacientes con ascitis), disminución de la producción de los ácidos biliares primarios e incremento de los secundarios, alteración de la inmunidad a nivel intestinal, edema submucoso, desorganización de las uniones intracelulares, infiltración intestinal por células inmunológicas e hipoclorhidria (24). Todo ello tiene como consecuencia un mayor paso de bacterias y subproductos bacterianos a la circulación portal, donde son reconocidos por receptores específicos que activan el sistema inmunológico y

condicionan una respuesta proinflamatoria. Actualmente, se desconoce si es el aumento de la TB la que aumenta la presión portal o si, por el contrario, es la hipertensión portal la que favorece el edema intestinal, la disrupción de la barrera epitelial y el incremento de TB (25,26).

En la figura 1 se representa un esquema de los principales factores asociados al desarrollo de la hipertensión portal y su interacción entre ellos.

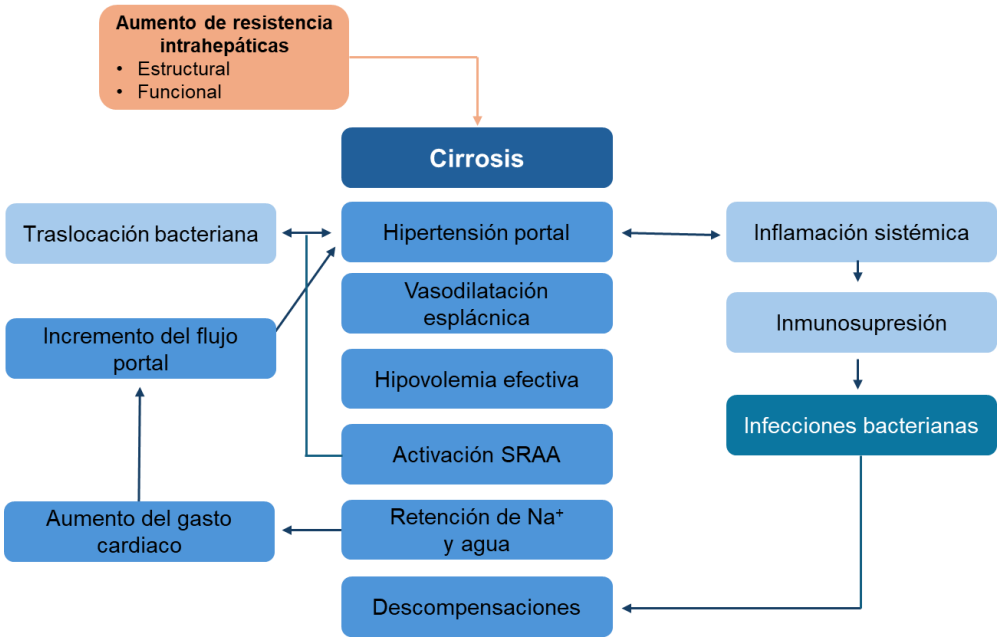


Figura 1. Fisiopatología y principales factores asociados al desarrollo de la hipertensión portal.

Abreviaturas: SRAA sistema renina angiotensina aldosterona. Na: sodio

1.2. Disfunción inmunológica asociada a la cirrosis

A medida que la enfermedad hepática avanza, se produce una disfunción progresiva del sistema inmune, conocida como disfunción inmunológica asociada a la cirrosis (DIAC). Esta disfunción inmune se caracteriza por una hiperactivación del sistema inmune que condiciona inflamación sistémica junto con inmunodeficiencia y conlleva un aumento en la susceptibilidad de presentar infecciones bacterianas, víricas y fúngicas (27–30)(31).

La máxima manifestación de esta disfunción se da en el fallo hepático agudo sobre crónico o ACLF, por sus siglas en inglés (*acute on chronic liver failure*), donde se solapan el mayor grado de activación de la inflamación sistémica junto con una profunda inmunoparálisis. Los pacientes que desarrollan esta entidad, presentan una elevada mortalidad que puede alcanzar hasta 25% a los 28 días en algunas series, principalmente condicionada por las infecciones bacterianas y el fallo multiorgánico (31).

1.2.1. Inflamación sistémica asociada a la cirrosis

El hígado es un órgano que cuenta con un doble sistema de aporte sanguíneo: recibe el 75% a través del sistema portal y el 25% a través del sistema arterial. El sistema portal venoso tiene su origen a nivel capilar y recoge la sangre de la mayoría de los órganos del tracto gastrointestinal, incluyendo el intestino delgado y grueso (32). Como consecuencia, el hígado recibe constantemente una enorme cantidad de antígenos (patógenos o comensales) que provienen de la circulación esplácnica. La baja presión del sistema portal -en relación al sistema arterial- facilita el paso rápido de las moléculas que provienen del intestino a través de los

sinusoides hepáticos. En base a la inmunogenicidad del antígeno, el hígado debe ser capaz de desarrollar tolerancia o activar una respuesta inmunológica y/o inflamatoria adecuada.

La inflamación es un fenómeno fisiológico que reestablece la homeostasis tras eventos que condicionan un daño. Ésta puede activarse tras el reconocimiento de subproductos bacterianos como los PAMPS y los LPS. En ausencia de infección, la respuesta inflamatoria también puede activarse por moléculas intracelulares que se liberan cuando existe un daño celular como es el caso de los patrones moleculares asociados a daño (DAMPS por sus siglas en inglés [*Damage-Associated Molecular Patterns*]). Los DAMPS y PAMPS, a nivel intrahepático, se unen a receptores específicos de las células del sistema inmune innato activando vías de señalización y factores de transcripción que favorecen la liberación de citoquinas y el reclutamiento de células efectoras inmunológicas.

En la cirrosis, el desequilibrio de la respuesta inmunológica favorece un estado proinflamatorio secundario a la pérdida de tolerancia al reconocimiento de antígenos (28). Esto es consecuencia del aumento de subproductos bacterianos, PAMPS y DAMPS y de la síntesis inadecuada de proteínas proinflamatorias y antiinflamatorias implicadas en esta respuesta (33). De acuerdo con la intensidad de este desequilibrio, se han propuesto dos fenotipos inmunológicos: la inflamación sistémica de bajo grado, presente en los pacientes con cirrosis compensada y pacientes con cirrosis descompensada sin fallo orgánico y, por otro lado, la inflamación sistémica de alto grado, presente en pacientes con ACLF. Ambos fenotipos representan, los extremos de un continuo de cambios progresivos en el sistema inmunológico de estos pacientes (28). En modelos

experimentales y en estudios en pacientes con cirrosis e inflamación sistémica de bajo grado, se ha descrito un aumento de la producción de citoquinas proinflamatorias, reactantes de fase aguda y aumento de marcadores de actividad celular en las células inmunes circulantes (28,34–37), como la proteína C reactiva (PCR), proteína de unión de LPS, interleucina-6 (IL-6) o factor de necrosis tumoral (TNF). Por otra parte, estos pacientes presentan un incremento de expresión del receptor de CD11b en los neutrófilos, que favorece la adhesión de éstos al endotelio, una expresión aumentada del HLA-DR y pueden presentar una polarización de las células T *helper* (TH) que produce un aumento de otras citoquinas proinflamatorias como el interferón-gamma. Las consecuencias de este estado de inflamación sistémica pueden evidenciarse en diferentes tejidos, contribuyendo así a la disfunción endotelial, favoreciendo la sarcopenia o la disfunción renal (28).

1.2.2. Inmunosupresión asociada a la cirrosis

En pacientes con cirrosis, la inmunosupresión se ha atribuido a un conjunto de alteraciones que aparecen como consecuencia de los cambios estructurales en el parénquima hepático y del deterioro funcional de las células inmunes circulantes.

A medida que avanza la enfermedad hepática y se mantiene la inflamación crónica, el parénquima hepático se sustituye por tejido fibrótico cicatricial. Este depósito, puede modificar la estructura y la funcionalidad de los sinusoides hepáticos, que son estructuras vasculares especializadas que facilitan el intercambio de sustancias entre el hepatocito y la sangre. Se caracterizan porque,

a diferencia de otros capilares, presentan una pared fenestrada (que permite el paso de moléculas de gran tamaño como proteínas) y carecen de membrana basal (contribuyendo a una mayor permeablidad). En el interior del sinusoide se encuentran, entre otras células, los macrófagos residentes del hígado o células de Kuppfer que contribuyen a la presentación de los antígenos. El espacio que existe entre el sinusoide y los hepatocitos se denomina espacio perisinusoidal y es donde se encuentran las CEH que regulan la síntesis de matriz extracelular (38). En este espacio, se producen múltiples interacciones entre hepatocitos, CEH y el endotelio sinusoidal que son fundamentales para el intercambio de sustancias, la tolerancia inmunológica y la respuesta a patógenos.

En condiciones de daño hepático mantenido, las células endoteliales sinusoidales sufren un proceso de capilarización, es decir, pierden sus características fenestras y desarrollan una membrana basal que condiciona una pérdida de permeablidad e impide una correcta oxigenación de los hepatocitos, provocando necrosis y apoptosis y, como consecuencia, liberación de DAMPS. Consecuentemente, las células CEH sufren una transformación a miofibroblastos e incrementan la síntesis de colágeno tipo I y tipo III. Además, se produce una reducción de las enzimas proteolíticas que degradan la matriz extracelular, contribuyendo al depósito de colágeno en el espacio perisinusoidal. De igual modo, las células presentadoras de antígenos -como son las células de Kupffer o las células dendríticas-, que son las responsables del balance entre la tolerancia y la inmunidad local, sufren un agotamiento funcional secundario a la inflamación mantenida. Este agotamiento funcional supone la alteración de algunas de sus funciones principales como la presentación de antígenos o la fagocitosis, que se asocia a un riesgo aumentado de

infecciones. Además, durante este proceso, las células de Kupffer, sufren una polarización hacia un fenotipo proinflamatorio y activan la respuesta inmunológica e inflamación sistémica mediante la secreción de citoquinas (7,39), contribuyendo al mantenimiento de un estado proinflamatorio y profibrótico.

Por otro lado, la aparición de derivaciones de la circulación intrahepática o *shunts* secundarios a la remodelización vascular producida por la hipertensión portal y la inflamación sistémica, condiciona que no todos los productos y subproductos bacterianos puedan ser adecuadamente reconocidos y presentados por las células residentes del hígado (28).

En relación al sistema inmunológico circulante, se produce una alteración en el número y la funcionalidad de la mayoría de sus células efectoras:

- Monocitos. En pacientes con cirrosis descompensada se produce un incremento del número de monocitos circulantes. Estos monocitos expresan signos de activación como el incremento en la expresión del antígeno humano leucocitario (HLA-DR) o de TNF. Sin embargo, aunque se ha descrito un incremento en el número de monocitos, éstos presentan una disfunción progresiva a medida que avanza la enfermedad. Esta disfunción se caracteriza por la alteración en algunas de sus funciones básicas como la fagocitosis, la quimiotaxis, la generación de superóxido o de enzimas lisosomales, así como la alteración de la expresión del receptor de la fracción constante gamma que es clave para el control de microorganismos envueltos en IgG (40,41).
- Neutrófilos. El número de estas células se ve reducido en pacientes con hipertensión portal debido al secuestro esplénico. De igual modo, se ha descrito

una alteración de su capacidad fagocítica y reducción de quimiotaxis. Si bien los mecanismos subyacentes a esta disfunción no son conocidos en detalle, una de las hipótesis sugeridas es que la hiperamonemia presente en pacientes con cirrosis podría alterar la capacidad de fagocitosis de estas células (42). La incapacidad de estas células para ejercer sus funciones constituye una de las causas del aumento en la susceptibilidad de estos pacientes a las infecciones bacterianas. Taylor et al. (43) evaluaron de manera prospectiva la actividad fagocítica de neutrófilos y cuantificaron el porcentaje de neutrófilos que liberaban especies reactivas de oxígeno en pacientes con cirrosis, observándose un mayor deterioro de la función de los neutrófilos en estadios avanzados de la enfermedad. Asimismo, la funcionalidad de los neutrófilos predijo la supervivencia a los 90 días en pacientes con cirrosis compensada.

- También se ha descrito un descenso de la subpoblación de los linfocitos TH CD4+ como consecuencia de un defecto en la tipomoyesis, un excesivo secuestro esplénico y la activación de muerte celular secundaria al incremento de TB.(43) Otros factores que se han descrito en pacientes con cirrosis descompensada y que pueden contribuir a la disfunción de la respuesta de los linfocitos T es el incremento del subtipo celular HLA-DR+-CD8+ que se caracteriza por funciones inmunomoduladoras a través de la expresión de altos niveles de la proteína de muerte celular 1 o PD-1 (por sus signas en ingles programmed cell death protein-1) y TIM-3 (T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein 3) así como un incremento en la expresión de IL-10 (44–46). En relación a los linfocitos B, también se han descrito alteraciones en el número de células circulantes en pacientes con cirrosis secundaria al virus de la hepatitis C (47).

Por todo ello y como consecuencia del incremento de la actividad inflamatoria sistémica, en pacientes con cirrosis, el sistema inmunológico trata de compensar con una respuesta inmunosupresora. Esta respuesta "anti-inflamatoria" se caracteriza por un aumento de la apoptosis linfocitaria, un descenso en la producción de citoquinas, un aumento de la expresión de HLA y un aumento de la expresión de citoquinas antiinflamatorias como IL-10. La magnitud de la respuesta antiinflamatoria, especialmente en pacientes con ACLF, se ha propuesto como un predictor de mortalidad (48,49). Asimismo, la hiponatremia y la hiperamonemia, hallazgos habituales en pacientes con cirrosis descompensada, también se han asociado con la disfunción fagocítica de los neutrófilos (28,43).

Por todo ello, la inmunodeficiencia presente en estos pacientes, condiciona también un aumento del riesgo de padecer infecciones bacterianas en cualquier estadio de la cirrosis, incluidos los iniciales (28).

1.3. Infecciones bacterianas en la cirrosis

Las infecciones bacterianas, son una complicación frecuente de los pacientes con cirrosis y se han asociado con un aumento del riesgo de presentar una descompensación (27,50) y, por tanto, empeoran su pronóstico. Las infecciones de etiología bacteriana son las más frecuentes en los pacientes con cirrosis, con una prevalencia en pacientes que ingresan por una descompensación aguda que alcanza el 30% (27,51,52).

El riesgo aumentado de infecciones bacterianas en estos pacientes es el resultado de la combinación, en mayor o menor medida, de la disfunción

inmunológica, de los factores clínicos, de la TB y de la predisposición genética (50).

La identificación precoz de las infecciones bacterianas es una necesidad no cubierta en estos pacientes. Las manifestaciones clínicas en muchas ocasiones son inespecíficas o están incluso ausentes, lo que consecuentemente, comporta un retraso en su diagnóstico e inicio del tratamiento, condicionando un peor pronóstico. Es fundamental realizar un cribado de infecciones en todos los pacientes cirróticos que ingresan en el hospital, así como reevaluar esta posibilidad en cada una de las descompensaciones o tras evidenciar un deterioro en la función hepática o renal, ya que las infecciones pueden ser el factor precipitante o desencadenante de cualquiera de estas situaciones. Las infecciones bacterianas inducen de manera habitual el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, que puede ser difícilmente evaluable en estos pacientes ya que en muchas ocasiones se encuentran bajo tratamiento con betabloqueantes que normalizan la frecuencia cardiaca. Además, estos pacientes pueden presentar un recuento normal de leucocitos en contexto de hiperesplenismo y secuestro esplénico (50). Algunos biomarcadores como la PCR, solicitados habitualmente en situaciones de infección bacteriana, pueden ser de poca utilidad en pacientes con cirrosis debido a las alteraciones en la respuesta inflamatoria que presentan estos pacientes. Por tanto, la identificación de biomarcadores de infección bacteriana en estos pacientes es una necesidad urgente y no cubierta.

1.4. Historia natural de la cirrosis

Clásicamente, la historia natural de la cirrosis se ha dividido en dos fases: una fase de cirrosis compensada silente y una fase descompensada en la que aparecen las manifestaciones clínicas (53,54). Los eventos que definen una descompensación de la cirrosis son la presencia de encefalopatía hepática (de acuerdo con la clasificación de West-Haven (55) (en grado ≥ 2); la hemorragia por varices esofágicas y/o gástricas y la presencia de ascitis (o derrame pleural) en pacientes con un gradiente seroascítico de albúmina >1,1 g/dl (1).

Sin embargo, en los últimos años, existe una evidencia creciente de que la historia natural de la cirrosis no sigue una progresión lineal de un estado compensado a descompensado, por lo que se ha propuesto una aproximación multiestadio (56) agrupando a los pacientes de acuerdo a su pronóstico, teniendo en cuenta los principales factores que intervienen en la fisiopatología y progresión de la enfermedad como son la hipertensión portal, la translocación bacteriana, la inflamación sistémica y las manifestaciones clínicas.

Estadios pronósticos en la cirrosis

- Cirrosis compensada sin varices: Estadio 1 (E1) Se trata del estadio inicial en el que los pacientes no presentan signos clínicos de HPCS y no han presentado descompensaciones clínicas (3). Aproximadamente la mitad de los pacientes en este estadio presentan un GPVH entre 5-10 mmHg, presentando el resto HPCS. Es por ello que algunos autores proponen que el estadio I se subdivida a su vez en aquellos pacientes sin HPCS (estadio 0) y aquellos sin varices pero con HPCS (estadio I), ya que el pronóstico y riesgo de descompensación es mayor (57) en los segundos.

- Cirrosis compensada con varices esofagogástricas: Estadio 2 (E2) Se trata de pacientes con HPCS y varices esofágicas/gástricas evidenciadas mediante gastroscopia. Tras un análisis de riesgo competitivo realizado en una cohorte prospectiva de 494 pacientes, se estimó que la mortalidad a los 5 años en este estadio alcanzaba el 10%. Asimismo, se reportó que el riesgo de presentar una hemorragia de origen variceal a los 5 años era del 8% y que el riesgo de presentar una descompensación diferente de la hemorragia era del 20% (58).
- Cirrosis descompensada con hemorragia secundaria a varices esofagogástricas: Estadio 3 (E3) El desarrollo de una hemorragia digestiva en el contexto de hipertensión portal, ya sea por varices esofágicas o gástricas tiene mejor pronóstico que una descompensación ascítica sin hemorragia digestiva. (3) Según el estudio realizado por d'Amico et al. los pacientes en este estadio presentan una mortalidad del 20% a los 5 años y una probabilidad del 19% de presentar una nueva hemorragia y entre un 45-54% de presentar una descompensación diferente en este periodo de tiempo (58).
- Cirrosis descompensada y primera descompensación excluyendo la hemorragia digestiva: Estadio 4 (E4) El desarrollo de ascitis se había considerado tradicionalmente como el punto diferencial entre los pacientes con cirrosis compensada y descompensada. La aparición de ascitis es la segunda complicación más frecuente tras la hemorragia digestiva y a éstas les sigue la encefalopatía hepática. La mortalidad a los 5 años tras presentar alguna de estas descompensaciones alcanza entre el 55-80% (58).
- Cirrosis descompensada y desarrollo de una segunda descompensación: Estadio 5 (E5) Tras la aparición de un evento que condiciona una descompensación de la

cirrosis, la mayoría de los pacientes desarrollan otra descompensación antes de fallecer. La combinación más frecuente es la hemorragia y la ascitis. En este caso, la mortalidad a los 5 años puede alcanzar hasta un 88% (58).

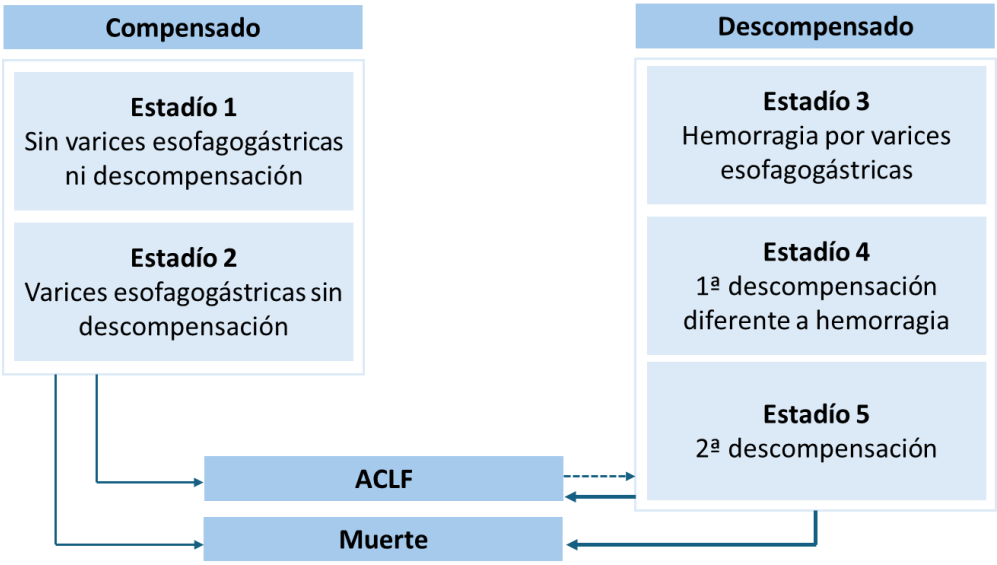


Figura 2. Estadios pronósticos de la cirrosis. Adaptación de d'Amico et al. Journal of Hepatology 2018.

1.5. Biomarcadores

Un marcador biológico o biomarcador es una molécula que puede ser medida en una muestra biológica de manera repetida y que es un indicador de procesos biológicos considerados fisiológicos o patológicos. En los últimos años, existe un creciente interés por los biomarcadores. La "*Biomarkers, EndpointS and other Tools Resource, an Food and Drug Administration- National Institutes of Health joint*", unificó los conceptos relativos a la identificación, descripción y validación de biomarcadores. De esta manera, describe como biomarcador diagnóstico aquel que se utiliza para detectar o confirmar la presencia de una enfermedad de interés o

identificar individuos con un subtipo de la misma (59). Asimismo, se describe como un biomarcador predictivo aquel que permite la identificación de individuos que tienen una mayor probabilidad de experimentar un efecto favorable o desfavorable debido a una exposición en comparación con otros individuos similares (60). Finalmente, un biomarcador pronóstico es aquel que indica un aumento (o descenso) en la probabilidad de un evento clínico futuro, recurrencia o progresión de la enfermedad, en una determinada población (61) .

1.5.1. Biomarcadores de inflamación sistémica en la cirrosis

El pronóstico de los pacientes con cirrosis en las últimas décadas se ha definido fundamentalmente en base a clasificaciones que tenían en cuenta la función hepática, como la clasificación de Child-Pugh-Turcotte (CPT) (62) y la escala MELD (por sus siglas en inglés Model for End-stage Liver Disease) (63). La primera, definida en 1984 y basada en la puntuación otorgada a los valores de bilirrubina, albúmina y tiempo de protrombina, así como la presencia y el grado de encefalopatía hepática y ascitis, fue diseñada para establecer el pronóstico en pacientes con cirrosis y cirugía de derivación porto-cava. La escala MELD está basada en la puntuación otorgada a los valores de creatinina, bilirrubina y tiempo de protrombina, y fue validada en 2001 para establecer la gravedad de la enfermedad hepática en pacientes en lista para trasplante hepático.

En los últimos años, se han propuesto múltiples biomarcadores diagnósticos y predictivos basados en marcadores inmunológicos y de inflamación sistémica. Recientemente una revisión sistemática y metaanálisis sobre biomarcadores de (64)

inflamación sistémica en sangre y orina para la predicción de la mortalidad a 90 días en pacientes con cirrosis ha identificado hasta 29 biomarcadores. Pese a la heterogeneidad de los estudios, los autores destacaron la determinación de IL-6 y la copeptina como biomarcadores en sangre y NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin) en orina.

A pesar de los esfuerzos realizados en los últimos años, escasos biomarcadores han conseguido introducirse en la práctica clínica habitual, lo que refleja la necesidad de continuar identificando biomarcadores potenciales y realizando estudios para la validación de aquellos más prometedores, con el fin de mejorar la supervivencia y la calidad de vida de estos pacientes (59).

1.5.1.1. Proteína C reactiva

La PCR es una proteína plasmática de síntesis hepática. Se trata de una proteína pentamérica compuesta por 5 subunidades de 206 aminoácidos con un peso molecular aproximado de 23 KDa (65). En presencia de calcio y en respuesta a la IL-6, se une a polisacáridos como la fosfocolina de los microrganismos y activa la vía clásica del complemento de la inmunidad innata. La PCR se ha descrito como un biomarcador de inflamación sistémica en plasma en múltiples enfermedades inmunomediadas y se solicita de manera habitual a pacientes con sospecha de infección bacteriana. Al ser un reactante de fase aguda, su concentración en plasma aumenta especialmente en condiciones de infección bacteriana o daño tisular y por tanto, no permite discriminar entre infección bacteriana e inflamación. Típicamente, sus niveles en plasma aumentan progresivamente durante las primeras 24-72 horas del inicio del daño. Entre sus principales funciones se encuentra la de

opsonización, facilitando la fagocitosis de los elementos a los que se adhiere y la activación de la vía clásica del complemento.

En pacientes con cirrosis, se ha descrito un incremento progresivo en los valores de PCR en los diferentes estadios pronósticos de la cirrosis en ausencia de infección bacteriana (66,67) reportándose también valores de PCR por encima del valor superior de la normalidad en individuos sanos (establecido como 0,5 mg/dl), en pacientes con cirrosis compensada. En un estudio prospectivo de 789 pacientes con cirrosis compensada y descompensada, el 15% de los pacientes en E1 presentó valores anormales de PCR frente al 85% de los pacientes en E5 ($p<0.0001$). En este mismo estudio, la PCR se mostró como predictor independiente de descompensación y de mortalidad en el seguimiento de estos pacientes. Durante la última década se ha reportado el valor de la PCR como predictor independiente de mortalidad a 6 meses (68) y a 1 año (66) en pacientes con cirrosis descompensada en estudios de cohortes prospectivas.

Al tratarse de una proteína de síntesis hepática, se ha especulado que los valores de PCR podrían ser menos elevados que en pacientes sin cirrosis, especialmente ante una infección bacteriana (69). Sin embargo, se ha demostrado que el valor predictivo de la PCR en pacientes con cirrosis es similar al que tiene en pacientes sin hepatopatía (70,71). A pesar de ello, debemos tener en cuenta que los valores de PCR pueden mantenerse elevados durante más tiempo en estos pacientes, incluso tras la resolución de la infección (68). Aunque existen estudios que describen valores elevados en pacientes con infecciones bacterianas, el rango de valores de corte propuestos y las diferencias metodológicas entre estudios, no permiten establecer un punto de corte único para el diagnóstico de esta complicación (70,71).

1.5.1.2. Procalcitonina

La procalcitonina es el precursor peptídico de la calcitonina y una hormona fundamental para el metabolismo del calcio. En condiciones fisiológicas, las células C tiroideas sintetizan pre-procalcitonina, un precursor de 141 aminoácidos que se convierte rápidamente a procalcitonina (115 aminoácidos). Ante una infección bacteriana, especialmente en aquellas infecciones sistémicas o con criterios de sepsis, se produce una síntesis extratiroidea de procalcitonina por parte de tejidos como los pulmones, el hígado, los riñones, el páncreas e incluso los leucocitos circulantes. Los mecanismos subyacentes a la producción extratiroidea están en relación a la estimulación directa (endotoxemia) e indirecta (reacción metabólica del organismo en respuesta a la infección) del gen CALC-1 por parte de las bacterias. En caso de infección, la síntesis de procalcitonina se produce en las primeras 2-4 horas del inicio de la sepsis, alcanzando valores máximos a las 6-8 horas y persistiendo elevada mientras el proceso inflamatorio persiste. Las características mencionadas de este biomarcador hacen que se haya postulado como un biomarcador precoz de infección bacteriana y sepsis en múltiples escenarios clínicos (72,73).

En el caso de la cirrosis, la determinación de procalcitonina también se ha propuesto como un biomarcador de infección bacteriana temprana. Li et al.(74) proponen un punto de corte de 0,49 ng/ml con una sensibilidad (Se) de 81,5% y especificidad (Esp) de 87,3% en una cohorte de 98 pacientes para el diagnóstico de infección bacteriana. Asimismo, otro estudio alemán realizado en una cohorte prospectiva de 127 pacientes propone un punto de corte de 0,58 ng/mL (Se 92% y Esp 78%) (74,75).

En pacientes con cirrosis se han evidenciado valores más elevados de procalcitonina a medida que aumenta la disfunción hepática y también se ha evaluado como biomarcador pronóstico en pacientes sin infección (76–79).

1.5.1.3.Interleucina-6

La IL-6 es un glicopéptido de 26 KDa producido por diferentes tipos celulares como los linfocitos B, linfocitos T, monocitos, fibroblastos, osteoblastos, células endoteliales o mesangiales. La IL-6 se une a su receptor formando un complejo de señalización junto con la lipoproteína 130 activando STAT3. Una de las principales funciones de la IL-6 es la inducción de la respuesta inflamatoria aguda a través de la activación de la PCR a nivel hepático o del fibrinógeno (80). De modo similar a la PCR, los niveles en sangre de IL-6 aumentan a medida que los pacientes con cirrosis presentan un estadio pronóstico más desfavorable. Costa et al. (66) reportan que hasta un 30% de los pacientes con cirrosis descompensada en su cohorte presentan valores por encima de la normalidad (establecido en 7 pg/ml) evidenciando un cierto grado de inflamación sistémica incluso en fases precoces de la enfermedad y en ausencia de infección. En esa misma cohorte, la determinación de IL-6 fue un predictor independiente de primera descompensación (HR 1,02 (1,01-1,03; p=0,004).

En las últimas décadas, la determinación de esta molécula en sangre se ha propuesto como biomarcador predictivo de mortalidad a 28 días, (81–87) 90 días (88–97) y al año (66,84). Además se ha sugerido como predictor de desarrollo de ACLF (88,98–100) y disfunción renal aguda (91,101–103). Asimismo, se ha propuesto como biomarcador de complicaciones de la cirrosis como la encefalopatía hepática y las

infecciones bacterianas (101,104–107). En un metaanálisis reciente cuyo objetivo primario fue evaluar nuevos biomarcadores en la predicción de la mortalidad a los 90 días, la determinación de IL-6 fue el biomarcador que alcanzó mayor ratio de medias (media aritmética en la población que desarrolla el evento de interés / media aritmética de la población que no lo desarrolla) (2,56 [IC 95% 2,39-2,74]) (64)Pese a ser un biomarcador prometedor, se requieren todavía estudios con mayor tamaño muestral y mayor homogeneidad para poder establecer puntos de corte.

Cabe añadir, que la determinación de IL-6 también se ha propuesto como biomarcador diagnóstico de infección bacteriana (75) así como predictor de infección bacteriana en pacientes con cirrosis descompensada (76).

1.5.1.4. Monocyte distribution Width (Amplitud de distribución de monocitos)

La determinación de la amplitud de distribución de los monocitos o MDW es un parámetro que mide la anisocitosis y la variabilidad del volumen entre los monocitos circulantes y por tanto, un mayor valor de MDW, refleja mayores diferencias en el tamaño de los monocitos. Estas células, en condiciones de inflamación, daño tisular o infección, contribuyen a la presentación de antígenos, fagocitosis y la producción de citoquinas proinflamatorias. Durante este proceso, estas células sufren cambios morfológicos que incluyen el aumento de su volumen. Este parámetro hematológico presenta la ventaja de que puede determinarse en la misma muestra solicitada para un hemograma y es relativamente sencilla de medir en laboratorios convencionales (108). Debido a su reciente desarrollo como potencial biomarcador, no se dispone de un valor considerado de referencia en

individuos sanos. García-Álvarez et al, proponen un rango entre 14,1 y 21,1 unidades internacionales (UI) a partir de los datos disponibles en una cohorte de donantes de sangre (109). Asimismo, se ha sugerido que un valor de MDW >20 UI podría constituir un biomarcador de diagnóstico precoz de sepsis en pacientes ingresados en unidades de críticos (110). Lin et a. (111) en un reciente estudio realizado en pacientes con hepatopatía crónica con y sin fibrosis significativa, sugiere una correlación positiva entre el valor de MDW y el grado de disfunción hepática, sugiriendo que el desarrollo de la enfermedad y la fibrosis se relaciona con cambios en esta población celular.

1.5.1.5.Calprotectina (S100A8/S100A9)

La calprotectina es una proteína fijadora de calcio y zinc que pertenece a la familia de las proteínas tipo S-100 y está constituida por dos monómeros: S100A8/S100A9. Se expresa constitutivamente en los neutrófilos, representando un 45% del total de las proteínas citosólicas y tiene un peso molecular de 36 KDa. Entre otras funciones, la calprotectina facilita la quimiotaxis de neutróflilos, modula la adherencia de estas células mediante reordenamiento de microtúblulos y genera especies reactivas de oxígeno (112). El uso de la calprotectina como biomarcador en la cirrosis se ha propuesto con distintos objetivos diagnósticos y/o pronósticos y en diferentes ámbitos de la enfermedad: alteraciones de la barrera intestinal, infecciones bacterianas, hipertensión portal y descompensaciones (113).

La mayoría de los estudios disponibles se basan en la determinación de calprotectina en líquido ascítico para el diagnóstico de peritonitis bacteriana espontánea (113). Se ha propuesto como una alternativa válida al recuento de

polimorfonucleares (PMN); sin embargo, el amplio rango de valores propuestos impide por el momento establecer un punto de corte universal(114–121).

También se ha propuesto como un marcador predictivo de supervivencia en la hepatopatía secundaria al consumo de alcohol, independientemente de la función hepática (116). Únicamente Homann et al. (122) han sugerido el papel que podría tener la calprotectina como biomarcador de mal pronóstico en la hepatitis aguda alcohólica. En su estudio, la calprotectina plasmática fue un factor asociado a mortalidad a los 30 días independientemente de la función hepática del paciente.

La determinación de calprotectina es una herramienta no invasiva, relativamente barata y asequible en la gran mayoría de centros hospitalarios, en especial para el manejo de los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. Aunque su uso en la cirrosis no se encuentra actualmente extendido, parece que los niveles en plasma y en heces en pacientes con cirrosis (especialmente cuando presentan una descompensación) son más altos que en los individuos sanos, por lo que su determinación podría tener implicaciones tanto pronósticas (en relación con el riesgo de reingreso o mortalidad) como diagnósticas (infecciones bacterianas, hepatitis aguda alcohólica). Sin embargo, no se han descrito diferencias significativas en los valores plasmáticos o séricos de S100A8/A9 entre los distintos estadios de la enfermedad hepática. En modelos preclínicos, se ha descrito una posible modulación de la expresión de S100A8/A9 asociada a cambios en la vía beta-adrenérgica tras la administración de propranolol (123). No obstante, carecemos de evidencia que demuestre esta posible influencia de los betabloqueantes en humanos con cirrosis.

1.5.1.6. CD163

CD163 es una proteína que se expresa en la superficie de los macrófagos activados o células de Kupffer. Esta molécula se libera a la circulación en su forma soluble (sCD163) tras su activación mediante un receptor tipo *Toll* (TLR), de tal manera que su concentración en suero se encuentra elevada en condiciones de activación o proliferación de macrófagos (124).

En el caso de la cirrosis se han descrito valores de CD163 más elevados que en individuos sanos y su valor parece aumentar a medida que lo hace la disfunción hepática clasificada según CPT y el gradiente de presión portal (124). Los niveles de CD163 se han asociado con el pronóstico en la cirrosis y sus descompensaciones, del ACLF y de la hepatitis aguda alcohólica (125). En el caso de la hepatitis aguda alcohólica, se ha evidenciado una asociación significativa entre la activación de las células de Kupffer (medida a través de la determinación de sCD163) y la expresión de CD163 en tejido hepático (medido mediante inmunohistoquímica) y los efectores de la vía de señalización desencadenada por la presencia de lipopolisacáridos como son el CD14 o la proteína de unión a LPS (126).

1.5.1.7. CD14

CD14 es una glicoproteína de membrana que se encuentra en la superficie de algunas células como monocitos, macrófagos o células dendríticas. Una de sus funciones principales es la de promover la respuesta inmunitaria en respuesta a LPS y endotoxemia (127). Cuando el organismo detecta la presencia de endotoxemia o LPS se produce una proteína de unión a lipopolisacáridos o LBP. Ésta se une específicamente al lípido A de LPS facilitando su transferencia a receptores

celulares como son CD14. Por tanto, el complejo LPS-LBS se une a CD14 en células mieloides y promueve la cascada inflamatoria. En pacientes con cirrosis la determinación del componente soluble de CD14 (sCD14) se ha correlacionado con biomarcadores de inflamación sistémica y disfunción hepática (128).

1.5.1.8. Copeptina

La copeptina es un fragmento del extremo C-terminal del precursor de la hormona vasopresina y es considerada como un marcador de ésta. La vasopresina es una neurohormona hipotalámica secretada al torrente sanguíneo por la neurohipófisis en condiciones de hiperosmolaridad, hipotensión arterial o hipovolemia. Los cambios hemodinámicos que tienen lugar en la cirrosis y que en último término condicionan en muchas ocasiones una situación de hipovolemia efectiva, han dado lugar a la investigación de la copeptina como un biomarcador de la enfermedad hepática (129–131). La copeptina se encuentra significativamente elevada en pacientes con ACLF comparado con aquellos con descompensación aguda sin disfunción orgánica. También se ha propuesto como un biomarcador predictor de mortalidad a los 28 días,(132) 90 días (133) y 1 año (134) de pacientes que ingresan por descompensación aguda.

1.5.1.9. CD5-like (CD5L)

CD5L es una glicoproteina soluble secretada fundamentalmente por macrófagos de aproximadamente 40 kDa. CD5L juega un papel clave en procesos inflamatorios, no solo relacionados con la infección sino también con la ateroesclerosis y el cáncer (135). Concretamente, en los macrófagos, CD5L promueve una respuesta antiinflamatoria en respuesta a la activación de los TLR(136,137). Esta proteína,

que se encuentra en cantidades relativamente elevadas en suero, se ha propuesto como un biomarcador sérico de inflamación en diferentes enfermedades entre las que se encuentra la cirrosis. Además, recientemente, CD5L ha demostrado ser un inductor de la polarización de los macrófagos hacia el fenotipo M2 clásicamente conocido como un fenotipo antiinflamatorio o inmunosupresor similar a IL-10 en monocitos humanos(136,138). A pesar de que todavía disponemos de pocos datos, parece que los valores séricos de CD5L aumentan a medida que lo hace el grado de fibrosis hepática como reporta este estudio retrospectivo que incluyó 63 pacientes con cirrosis, 39 pacientes con hepatitis crónica sin fibrosis avanzada y 7 controles. Concretamente, los valores de CD5L en pacientes con fibrosis avanzada (estimada mediante marcadores serológicos de fibrosis como FIB-4 y APRI score) fueron significativamente superiores a aquellos sin fibrosis avanzada (<F3) (139). Asimismo, se ha reportado una reducción del contenido de CD5L en vesículas extracelulares circulantes en pacientes con cirrosis, especialmente en el contexto de ACLF,(139) lo que apoya la hipótesis del papel de CD5L como molécula antiinflamatoria.

JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

2. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

2.1. JUSTIFICACIÓN

La cirrosis es una patología con elevada prevalencia y mortalidad. Sólo en el año 2019, causó 287.000 muertes en Europa. Se trata de una enfermedad habitualmente silente que condiciona que, en muchos casos, el diagnóstico se realice en fases avanzadas cuando el daño hepático es irreversible. La enfermedad hepática crónica tiene un impacto sustancial en la población joven y de mediana edad, por lo que, según datos de la OMS, es la segunda causa de años perdidos de vida laboral (2).

Los pacientes con cirrosis presentan una elevada tasa de complicaciones e ingresos hospitalarios, representando una carga asistencial alta a nivel hospitalario. Asímismo, se ha descrito una tasa muy elevada de reingresos precoces (aquellos que se producen en los primeros 30 días tras el alta hospitalaria) que oscila entre 12-31% (140–142). Esto implica el uso de un elevado número de recursos sanitarios. Un estudio poblacional realizado en nuestro medio hace ya más de una década y que incluyó 34.740 pacientes, reportó que el coste asociado al cuidado de los pacientes con cirrosis durante un año representó el 1,8% del total del presupuesto destinado al sistema sanitario, estando el 35% de este gasto relacionado con los ingresos hospitalarios (143).

Actualmente, disponemos de escalas pronósticas como el Child-Pugh-Turcotte Score y el MELD que, a pesar de haber sido diseñadas décadas atrás en el contexto de la cirugía descompresiva para la hipertensión portal o del trasplante hepático, han sido posteriormente validadas prospectivamente para predecir la mortalidad en la cirrrosis, independientemente de la etiología de la hepatopatía. Estas escalas, tienen

en cuenta parámetros clínicos y analíticos relacionados con la función hepática y renal.

En los últimos años, se ha generado evidencia creciente de que la inflamación sistémica juega un papel fundamental en la fisiopatología y las complicaciones de la cirrosis y que ésta aumenta a medida que avanza la enfermedad. Por ello, recientemente, se han desarrollado nuevas escalas como la escala CLIF-AD(144) para pacientes que ya presentan una descompensación clínica y que incluye parámetros inflamatorios como el recuento de leucocitos en sangre periférica. Sin embargo, no disponemos de escalas pronósticas ni predictivas validadas que incluyan parámetros relacionados con la inflamación sistémica destinadas a pacientes con cirrosis con o sin descompensación. Algunos estudios prospectivos,(66)han caracterizado los estadios de la cirrosis en base a algunas proteínas de inflamación sistémica utilizadas en la práctica clínica habitual como la PCR o la IL-6. Sin embargo, la complejidad de la cirrosis y la ausencia de biomarcadores validados, requiere ampliar el estudio de potenciales biomarcadores y asimismo, conocer las correlaciones entre los mismos.

Esta tesis pretende ampliar el conocimiento sobre los biomarcadores de inflamación sistémica en pacientes con enfermedad hepática crónica para contribuir, en último término, al desarrollo de modelos predictivos y pronósticos, así como hipotetizar sobre estrategias terapéuticas. Para ello, es fundamental el estudio de los biomarcadores asociados con la inflamación sistémica, así como conocer su interacción con variables clínicas y entre los propios biomarcadores. La obtención de un modelo predictivo que integrase información clínica y analítica podría facilitar la identificación de pacientes con mayor riesgo de complicación o ingreso y por tanto,

establecer estrategias preventivas como un seguimiento más estrecho al alta hospitalaria. Asimismo, la identificación de proteínas directamente implicadas en el pronóstico de estos pacientes, podría contribuir al desarrollo de nuevas dianas terapéuticas dirigidas en pacientes seleccionados.

2.2. HIPÓTESIS

Los distintos estadíos de la enfermedad hepática crónica pueden caracterizarse a partir de proteínas plasmáticas implicadas en la inflamación sistémica que podrían contribuir al desarrollo de escalas pronósticas y predictivas de complicaciones de la cirrosis e infecciones bacterianas.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo principal

- Caracterizar los estadios de la historia natural de la enfermedad hepática crónica en función de un panel de proteínas plasmáticas implicadas en la inflamación sistémica en pacientes con y sin infección bacteriana.

3.2. Objetivos secundarios

- Evaluar la correlación entre las proteínas plasmáticas estudiadas en pacientes con y sin infección bacteriana.
- Identificar las variables asociadas al desarrollo de descompensación clínica de la cirrosis, ingreso o reingreso hospitalario, infección bacteriana o muerte al año de la inclusión.
- Identificar el mejor punto de corte para la discriminación de infección bacteriana entre las proteínas plasmáticas estudiadas

MATERIAL Y MÉTODOS

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño

Estudio observacional prospectivo y descriptivo, en el que se incluyeron pacientes con enfermedad hepática crónica de manera no consecutiva en el Hospital Universitari Germans Trias i Pujol desde enero 2021 a mayo 2023. El protocolo de estudio contó con la aprobación del Comité de Ética del centro (versión del consentimiento informado: 10.01.2020).

Definiciones

Los pacientes con enfermedad hepática crónica se clasificaron como pacientes con cirrosis si cumplieron los criterios diagnósticos según el Consenso de Baveno VII (ref) y como pacientes sin cirrosis (NC), los que no cumplieron dichos criterios.

En los pacientes con cirrosis, se estableció el estadio (E) basado en la propuesta de D'Amico et al. (1,3) Los pacientes con cirrosis compensada se dividieron en E1 si no tenían historia previa de descompensación clínica(1) (definida como la ausencia de episodios de encefalopatía hepática, hemorragia digestiva y ascitis en el momento de la inclusión y ausencia de varices esofágicas y/o gástricas evidenciadas por EDA). Se clasificaron como E2 aquellos pacientes sin descompensación clínica previa en el momento de la inclusión, pero con evidencia de varices esofagogástricas en la última EDA realizada según el procolo asistencial. Los pacientes con cirrosis descompensada se subdividieron en tres estadios. El E3 incluyó a los pacientes con historia previa de hemorragia digestiva alta secundaria a varices esofágicas o gástricas (definida como signos cínicos y endoscópicos de hemorragia digestiva secundaria a varices esofágicas y/o gástricas); el E4 incluyó a

pacientes con historia previa o actual de una descompensación clínica diferente a la hemorragia digestiva (encefalopatía hepática o ascitis) y el E5 aquellos pacientes con ascitis refractaria, la combinación de ascitis, encefalopatía hepática y episodio de hemorragia digestiva alta secundaria a sangrado por varices esofágicas y/o gástricas o el antecedente de PBE.

Se definió evento clínico como la aparición de cualquier descompensación clínica, necesidad de ingreso hospitalario o reingreso, infección bacteriana y/o muerte de cualquier causa.

Se definió infección bacteriana como signos sugestivos de infección bacteriana o la presencia de fiebre, clínica de bacteriemia o criterios citológicos en líquido ascítico (>250 PMN) para el diagnóstico de PBE y/o aislamiento microbiológico en muestras biológicas de orina, sangre o líquido ascítico. Las definiciones de referencia para la clasificación de las infecciones bacterianas se encuentran en el Anexo 10.3.

Se consideró resolución de la infección tras la finalización de la antibioterapia siguiendo los criterios temporales utilizados en la práctica clínica habitual junto con la resolución de la clínica y en ausencia de sospecha de nueva infección.

Selección de pacientes

Los criterios de inclusión fueron pacientes con con enfermedad hepática crónica (cirrosis y NC) (con diagnóstico basado en criterios clínicos, bioquímicos, de imagen, elastográficos y/o histológicos) y que hubieran firmado el consentimiento informado.

Se incluyeron de manera no consecutiva desde consultas externas de Hepatología del Hospital Universitario Germans Trias i Pujol, pacientes ingresados de manera programada para la realización de procedimientos electivos y pacientes que ingresaron en la Unidad de Hepatología del Servicio de Digestivo desde el Servicio de Urgencias.

Los criterios de exclusión para la participación en el estudio fueron: edad < 18 años, sospecha o confirmación de infección viral aguda, embarazo, ser portador de una derivación portosistémica intrahepática transyugular (TIPS), diagnóstico actual o antecedente de una neoplasia hepática primaria o afectación metastásica hepática, historia previa de una inmunodeficiencia congénita o adquirida, pacientes bajo tratamiento inmunosupresor por cualquier motivo o imposibilidad de otorgar el consentimiento informado.

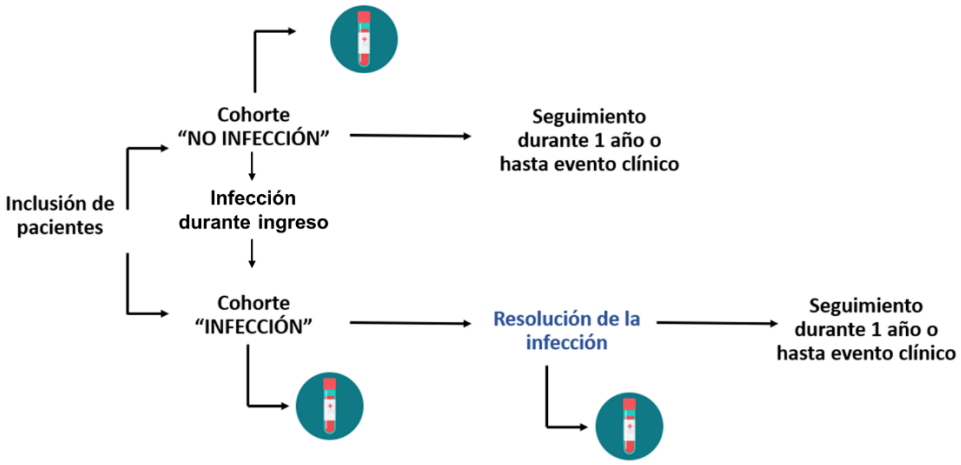
En caso de que el paciente presentara una afectación que le impidiera otorgar el consentimiento informado (p.ej encefalopatía hepática), el consentimiento se solicitó a un representante legal del paciente.

Una vez incluídos, los pacientes fueron agrupados en dos cohortes de estudio según la existencia de infección bacteriana aguda activa. En la cohorte "NO INFECCIÓN" se incluyeron aquellos pacientes reclutados de manera ambulatoria en la consulta externa y aquellos pacientes que fueron hospitalizados, sin sospecha ni confirmación de infección bacteriana tras el despistaje infeccioso realizado durante el ingreso. En el caso de que un paciente desarrollara la infección bacteriana durante el ingreso, se tomaron nuevamente muestras biológicas y se incluyó en la cohorte "INFECCIÓN".

En la cohorte "INFECCIÓN" se incluyeron aquellos pacientes hospitalizados y con infección bacteriana al ingreso hospitalario o bien aquellos que la desarrollaron durante el mismo.

El seguimiento se inició en el momento de la inclusión en los pacientes incluidos de manera ambulatoria y en el momento del alta hospitalaria en los pacientes ingresados. Se realizó seguimiento en base a las visitas establecidas por práctica clínica habitual en el centro durante 1 año o hasta aparición del primer evento clínico **(Figura 3).**

Figura 3. Diseño del estudio.



Registro de datos clínicos

Los datos demográficos y clínicos de los pacientes se registraron de manera prospectiva a partir de la historia clínica en una base de datos anonimizada, creada especialmente para el estudio según la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica y

la Ley Orgánica 03/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales.

De cada paciente se registraron sexo, edad, consumo de alcohol de riesgo (definido como >21 UBE/semanales en hombres y >14 en mujeres) actual o previo, consumo de tabaco (actual o previo) u otras drogas, estado serológico del virus de la hepatitis B y virus de la hepatitis C, antecedente de hipertensión arterial, dislipemia, sobrepeso (definido como índice de masa corporal >25), enfermedad renal crónica, diabetes mellitus tipo II, historia previa de infección bacteriana los tres meses previos a la inclusión (y, en tal caso, tipo de infección, tratamiento con antibiótico e ingreso hospitalario), visita en hospital de día o en urgencias. Asímismo, se registró la etiología atribuida a la enfermedad hepática y, en aquellos pacientes con cirrosis, se registró también la presencia de VEG en la última EDA disponible, historia previa de descompensaciones y antibioterapia profiláctica, así como la toma de betabloqueantes no selectivos como profilaxis primaria o secundaria de la hemorragia por hipertensión portal (mínimo de 4 semanas de tratamiento). En los pacientes hospitalizados, se registró el requerimiento de ingreso en Unidad de Críticos y desarrollo de ACLF.

Recogida de muestras y determinaciones biológicas

A todos los pacientes se realizó una analítica sanguínea en el momento de la inclusión en el estudio que incluyó hemograma, parámetros de función hepática (bilirrubina, albúmina, tiempo de protrombina) y relacionados con el pronóstico de la enfermedad (sodio y creatinina). Adicionalmente, se solicitaron marcadores disponibles en el centro relacionados con la inflamación (PCR, IL-6, MDW y

procalcitonina). Los valores considerados de referencia se detallan en la tabla suplementaria 3 (Anexo 10.4). Estas determinaciones se realizaron en el laboratorio del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol.

De manera adicional, de cada paciente se obtuvo una muestra de plasma para la determinación de biomarcadores que fue recogida mediante el kit P100 (BD). Las muestras se centrifugaron a 1500 g a 4ºC durante 10 minutos y el plasma obtenido se almacenó a -80ºC hasta su uso. En aquellos pacientes que requirieron ingreso hospitalario, también se realizó un despistaje de infección bacteriana mediante hemocultivos, urocultivos, radiografía de tórax y paracentesis diagnóstica en el caso de ascitis clínica.

En aquellos pacientes incluidos en la cohorte "INFECCIÓN" se realizó una nueva recogida de todas las muestras anteriormente mencionadas en el momento de la resolución de la infección.

Las determinaciones de biomarcadores se realizaron en el Institut de Recerca Germans Trias i Pujol (IGTP). La selección de las proteínas plasmáticas para este estudio se realizó tras una revisión de la literatura disponible en pacientes con hepatopatía e individuos sanos y en base resultados previos de nuestro grupo. Se realizó determinación de calprotectina (S100A8/S100A9), copeptina, CD5L, sCD14 y sCD163.

Tras la búsqueda bibliográfica se determinaron los valores de referencia que se utilizaron para la dilución de las muestras y para obtener concentraciones adecuadas para su análisis mediante ELISA (Tabla suplementaria 3, anexo 10.4).

Todos los análisis se realizaron siguiendo las recomendaciones del fabricante para cada kit comercial. La determinación de calprotectina plasmática (S100A8/S100A9) se realizó mediante DuoSet® ELISA Human S100A8/S100A9 Heterodimer; copeptina mediante Abbexa®, Human Copeptin ELISA Kit, CD14 mediante Quantikine® ELISA; Human CD14 Immunoassay, CD136 mediante Thermofisher® Human CD163 [M130] ELISA Kit y CD5L mediante un sándwich ELISA desarrollado por el grupo(145).

Análisis estadístico

Las variables categóricas se muestran como frecuencias absolutas (n) y relativas (%) las variables cuantitativas como media y desviación estándar en caso de una distribución normal y mediana con rango intercuartílico (RIC) en caso de que la distribución no se ajuste a la normalidad. La distribución normal se evaluó mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis y Mann Whitney para comparar las variables continuas no paramétricas y el test de Bonferroni post-hoc. En caso de datos apareados, se realizó el test de Wilcoxon para variables no paramétricas. El análisis de la tendencia para pruebas no paramétricas se realizó con el test de Jonckheere-Terpstra. El análisis de correlación se realizó con el test de Spearman para muestras no paramétricas. Para valorar las variables que se asociaron de forma independiente al desarrollo de evento se utilizó una regresión logística de Cox. Se utilizaron curvas ROC (receiver operating characteristics) y la determinación de área bajo la curva ABC para determinar el valor diagnóstico de las proteínas plasmáticas para el desarrollo de evento. La incidencia acumulada de eventos clínicos se obtuvo mediante curvas de Kaplan Meier y se comparó la incidencia acumulada mediante el log-rank test. El

análisis multivariado de los predictores de evento clínico, determinación de razón de probabilidades o Hazard Ratio (HR) y su intervalo de confianza se determinaron mediante el análisis de regresión de Cox. El nivel de significación se estableció en un valor de p bilateral <0,05. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el soporte de IBM SPSS Statistics 25 (IBM, Nueva York, NY, EE. UU); STATA 18.0 (Stata Corp, College Station, TX, EE. UU) o GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, CA, EE. UU.).

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. Caracterización de los estadios de la historia natural de la enfermedad hepática crónica en pacientes con y sin infección bacteriana

5.1.1. Cohorte "NO INFECCIÓN"

Se incluyeron un total de 83 pacientes en la cohorte "NO INFECCION". La mayoría de ellos hombres (75,9%) con una mediana de edad de 63 años (55-70). Del total de pacientes incluidos, 19 eran NC (22,9%), 22 pacientes (26,5%) presentaban cirrosis compensada y 42 pacientes (50,6%) cirrosis descompensada.

En cuanto a la prevalencia de los estadios pronósticos: 19 (22,9%) se clasificaron como NC, 10 (12%) pacientes como E1, 12 (14,5%) como E2; 5 (6%) pacientes como E3, 23 (27,7%) pacientes como E4 y 14 (16,9%) pacientes como E5.

Entre los pacientes con cirrosis, 29 (45,3%) eran CPT A, 28 (43,8%) CPT B y 7 (10,9%) CPT C.

La etiología más frecuente atribuida a la enfermedad hepática fue el alcohol (32,5%) seguido del MASLD (30,1%) y MetALD (16,9%).

La descompensación más frecuente fue la ascitis (34 pacientes; 41%), seguida de la hemorragia digestiva (11 pacientes; 13,6%), la EH (5 pacientes; 6%) y la PBE (4 pacientes; 4.8%). Cinco (6%) pacientes se encontraban bajo profilaxis secundaria con norfloxacino y únicamente 1 paciente (1,2%) en profilaxis con rifaximina.

El 47% (n=39) de los pacientes tenía varices esofagogástricas en la última EDA. Un total de 27 (32,5%) pacientes se encontraba bajo tratamiento con

betabloqueantes no selectivos: 59,3% con carvedilol y 40,7% con propranolol (17 como profilaxis primaria y 10 como profilaxis secundaria).

El 34,9% de los pacientes estaban hospitalizados en el momento de la inclusión y todos ellos presentaban un ≥E3 (2 pacientes E3, 19 pacientes E4 y 8 pacientes E5). Los pacientes hospitalizados presentaron un valor significativamente superior de PCR, procalcitonina, IL-6, MDW y sCD163 que los pacientes ambulatorios. Al realizar esta comparación en el grupo más numeroso de pacientes (E4), que contaba con 7 pacientes ambulatorios y 16 hospitalizados y únicamente se evidenciaron diferencias en el valor de IL-6 (11,1pg/ml vs 31,8pg/ml; p=0,008).

Las características basales de los pacientes incluidos en la cohorte "NO INFECCIÓN" se encuentran resumidas en la Tabla 1.

Tabla 1. Características basales de la cohorte "NO INFECCIÓN"

	NC (N=19; 22,9%)	E1 (N=10; 12%)	E2 (N=12; 14,5%)	E3 (N=5; 6%)	E4 (N=23; 27,7%)	E5 (N=14; 16,9%)	Valor p
Edad (RIC)	60 (49-63)	69 (55-73)	59 (54-70)	63 (60-67)	64 (54-69)	67 (57-80)	
Hombre (%)	14 (73,7)	7 (70)	11 (100)	4 (80)	18 (78,3)	9 (64,3)	0,712
Hipertensión arterial (%)	10 (52,6)	8 (80)	8 (66,7)	3 (60)	14 (60,9)	6 (42,9)	0,742
Dislipidemia (%)	11 (57,9)	7 (70)	4 (36,4)	4 (80)	9 (39,1)	4 (28,6)	0,139
Obesidad (%)	15 (78,9)	4 (40)	4 (36,4)	1 (20)	10 (43,5)	2 (14,3)	0,004
Enfermedad renal crónica (%)	1 (5,3)	2 (20)	1 (9,1)	0	2 (7,1)	0	0,695
Diabetes mellitus (%)	7 (36,8)	6 (60)	7 (63,6)	3 (60)	10 (43,5)	1 (7,1)	0,059
Etiología atribuida (%)							0,001
Alcohol	3 (15,8)	2 (20)	3 (25)	1 (20)	13 (56,5)	5 (35,7)	
MASLD	12 (63,1)	4 (40)	1 (8,3)	1 (20)	2 (8,7)	5 (35,7)	
METALD	2 (10,5)	2 (20)	2 (16,7)	1 (20)	7 (30,4)	0	
Viral (VHC / VHB)	1 (5,3)	2 (20)	1 (8,3)	1 (20)	0	3 (21,4)	
Alcohol + VHC	1 (5,3)	0	1 (8,3)	0	1 (4,3)	1 (7,1)	
Alcohol + VHB	0	0	1 (8,3)	0	0	0	
Otras	0	0	3 (25)	1 (20)	0	0	
Child Pugh score (B/C)	-	0/0	1 (8,3)/1 (8,3)	2 (40)/0	15 (65,2)/4 (17,4)	10 (71,4)/ 2 (14,3)	
Child Pugh score (número) (RIC)	-	5 (5-6)	5 (5-6)	5 (5-7)	8 (7-8)	8 (7-9)	<0,001
MELD (RIC)	-	6 (5-9)	8 (6-12)	8 (4-8)	11 (8-16)	13 (6-16)	0,001
VEG (%)	0 (0)	0 (0)	9 (57)	5 (100)	17 (73,9)	8 (75,1)	<0,001
Betabloqueantes no cardioselectivos (%)	0 (0)	2 (18.2)	5 (45.5)	3 (60)	11 (39.9)	6 (54.4)	0,007
Norfloxacino (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (20)	1 (3.6)	3 (27.3)	0,07
Rifaximina (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3.6)	0 (0)	0,76

Abreviaturas: NC No cirrosis; E Estadio; RIC rango in tercuartílico VHC: Virus hepatitis C; VHB Virus hepatitis B; RVS respuesta viral sostenida;MASLD metabolic dysfunction associated steatotic liver disease; METALD MASLD + consumo de alcohol; VEG varices esofagogástricas

En relación a la función hepática, se observó un aumento progresivo en los valores de bilirrubina y tiempo de protrombina, así como un descenso de albúmina al evaluar las diferencias entre los diferentes estadios (Tabla 2). Consecuentemente, el valor de MELD y CPT aumentó de manera progresiva (E1 MELD 6 [5-9] y CPT 5p [5-6]; E2 MELD 8 [6-12] y CPT 5p [5-6]; E3 MELD 8 [4-8] y CPT 5p [5-7]; E4 MELD 11 [8-16] y CPT 8 [7-8]; E5 MELD 13 [6-16] y CPT 8 [7-9]; p=0,001 y p<0,001 respectivamente). Se observó la misma tendencia al comparar los pacientes con cirrosis compensada y descompensada (MELD 10 [7-13] vs 13 [9-17]; p=0,012 y CPT 5 [5-7] vs 8 [7-9]; p <0,001).

En cuanto el análisis de las proteínas plasmáticas, se objetivó un aumento progresivo de los valores de PCR, IL-6 procalcitonina, MDW y sCD163 a través de los diferentes estadios de la enfermedad hepática, siendo estas diferencias estadísticamente significativas (p=0,002; p=0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001 respectivamente) (Tabla 2) (Figura 4) y manteniéndose estas diferencias cuando el análisis se realizó agrupando los pacientes en NC, cirrosis compensada y cirrosis descompensada (p=0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001; p<0,001 respectivamente) (Tabla 3) (Figura 5). Esta tendencia creciente se comprobó mediante la prueba no paramétrica de tendencia, siendo significativa para el valor de PCR (p<0,001); procalcitonina (p<0,001); IL-6 (p<0,001), MDW (p<0,001) y sCD163 (p<0,001).

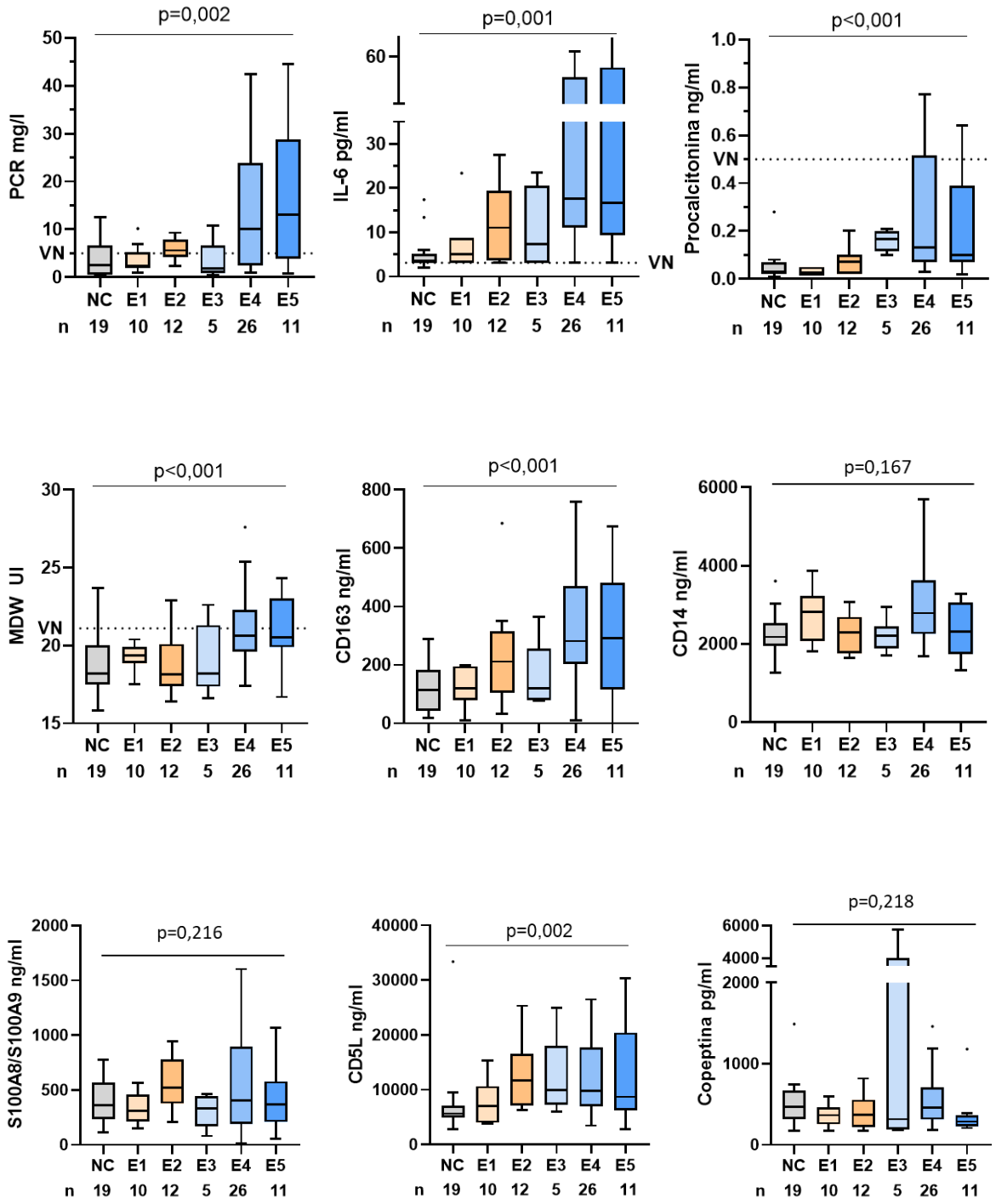
En el caso de CD5L, a pesar de objetivarse diferencias significativas entre grupos (NC, CC y CD) (p=0,004) y estadios (E1-E5) (p=0,002), éstas no siguieron una tendencia creciente.

Tabla 2. Parámetros analíticos cohorte "NO INFECCIÓN"

	NC (N=19; 22,9%)	E1 (N=10; 12%)	E2 (N=12; 14,5%)	E3 (N=5; 6%)	E4 (N=23; 27,7%)	E5 (N=14; 16,9%)	Valor p
Leucocitos x10⁹/l	7,3 (5,5-8,8)	5,7 (4,9-7,3)	5,7 (4,5-6,4)	9,4 (5,3-11-1)	5,4 (4-7,6)	6,8 (4,3-9,9)	0,296
Plaquetas x10⁹/l	184(138-221)	144 (94-221)	138 (124-147)	106 (89,5-120)	112 (61-151)	69 (60-186)	0,004
INR	1,07 (1,03-1,1)	1,14 (1,04-1,2)	1,1 (1,07-1,4)	1,39 (1,15-1,5)	1,4 (1,2-1,7)	1,48 (1,3-1,7)	<0,001
Albúmina (g/l)	43,1 (39,3-45)	42,3 (35-44)	39,5 (27,8-43,4)	41 (22-43,5)	30,1 (26,7-33,8)	31,2 (28,3-34,5)	<0,001
Creatinina (mg/dl)	0,88 (0,7-1,1)	0,91 (0,82-1,3)	0,97 (0,7-1,1)	0,79 (0,66-0,9)	0,8 (0,7-1,2)	0,9 (0,6-1,1)	0,662
Bilirrubina (mg/dl)	0,6 (0,5-0,9)	0,73 (0,56-1,06)	1 (0,9-1,9)	0,73 (0,64-1,27)	1,9 (1-2,9)	2,3 (0,7-2,8)	<0,001
PCR (mg/l)	2,5 (0,55-6,6)	2,4 (2-5,2)	6,4 (4,3-8,1)	1,9 (0,8-6,6)	10,1 (2,7-23,8)	13,5 (4,3-23,5)	0,002
Procalcitonina (ng/ml)	0,03 (0,02-0,1)	0,02 (0,02-0,1)	0,08 (0,03-0,1)	0,16 (0,1-0,2)	0,13 (0,07-0,38)	0,11 (0,08-0,3)	<0,001
IL-6 (pg/ml)	3,57 (3,2-5)	5,03 (3,13-8,8)	11,06 (3,9-18,7)	7,36 (3,13-17,6)	17,6 (11,6-43,4)	16,7 (10,4-49,2)	0,001
MDW (UI)	18,2 (17,5-20)	19,4 (18,9-19,9)	18,2 (17,4-19,8)	18,2 (18,1-20)	20,6 (19,6-21,4)	20,8 (19,9-24)	<0,001
S100A8/A9 (ng/ml)	381,9 (288-584,9)	297,1 (188,7-441,3)	477,1 (375,4-799,2)	330,5 (170,6-444,2)	401,7 (205,9 -898)	366,6 (224,7-467,4)	0,216
CD14 (ng/ml)	2213,7 (1898-2590,1)	2706,9 (2078,6 - 3146,3)	2243,6 (1753,2-2613)	2205,9 (1826,2-2615,2)	2788,8 (2071,5-3433,4)	2308,613 (2137,3 - 3081,1)	0,167
CD163 (ng/ml)	115,2 (42,6-184,3)	112,4 (85-195)	197,5 (89,9-325)	120,3 (79,7- 256,3)	287,8 (204,5- 392)	281,6 (116,6- 572,2)	<0,001
CD5L (ng/ml)	5611,8 (4786-6813,9)	7309,7 (4086,4 10256,7)	12254,2 (6908,1 - 17733,1)	9935 (7231,3-18009,1)	9747 (6266,4-16483,8)	8691,5 (7693,3-22778,6)	0,004
Copeptina (pg/ml)	451,9 (319-654,5)	416,2 (276,7-525,8)	382,1 (256,4-577,5)	315,6 (189-3992,2)	455 (291,1-654,9)	288,1 (216,1-372,2)	0,218

Abreviaturas: INR Index Normalized Ratio; UI Unidades Internacionales

Figura 4. Análisis de los valores medianos de biomarcadores entre estadios en la cohorte "NO INFECCIÓN"



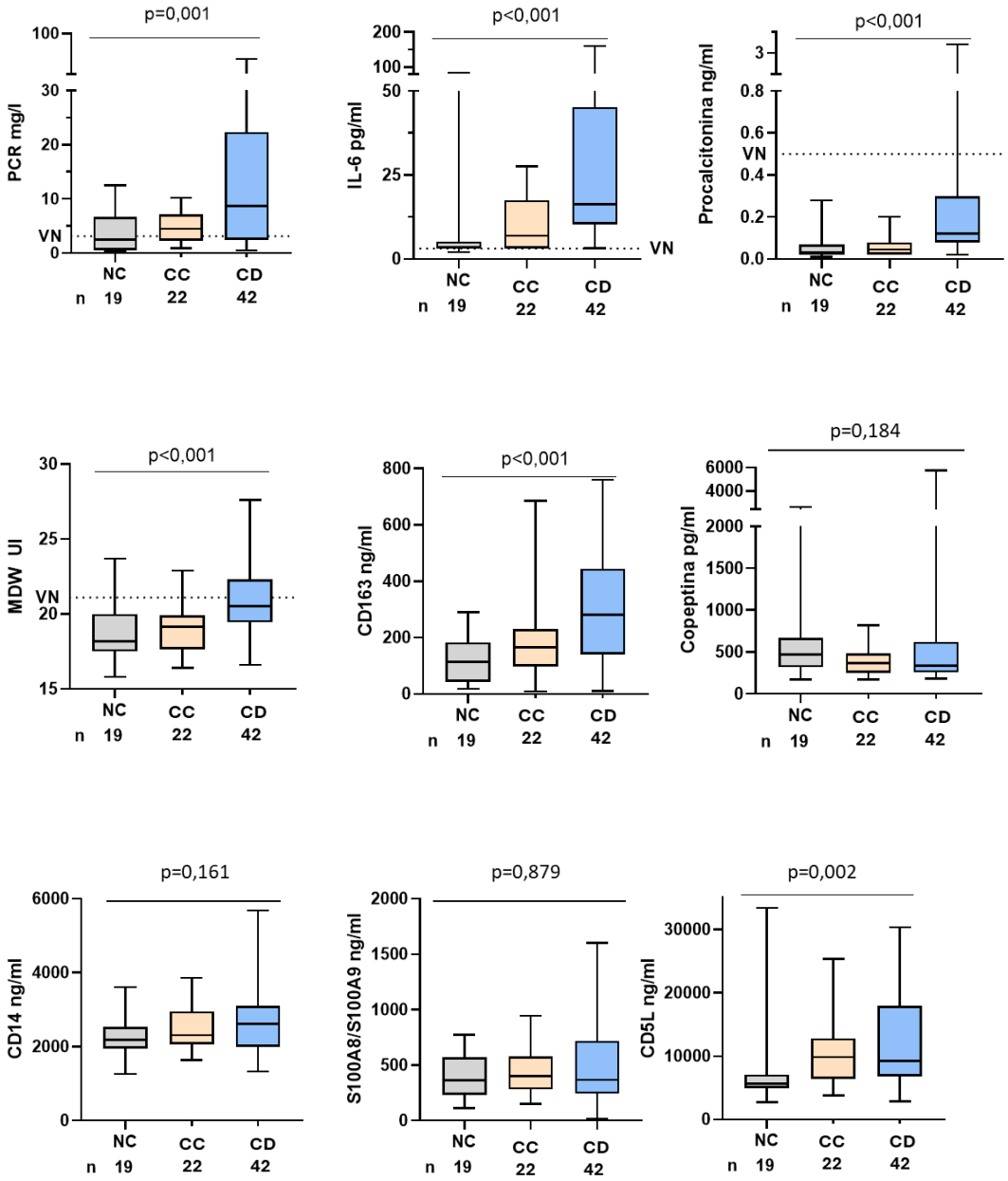
Abreviaturas: *VN Valor normal; NC No cirrótico; E Estadio*

Tabla 3. Parámetros analíticos y de función hepática en cohorte "NO INFECCIÓN" agrupados en NC, cirrosis compensada y descompensada

	Valor de referencia	NC N=19	CIRROSIS COMPENSADA N=22	CIRROSIS DESCOMPENSADA N=42	Valor p
MELD	-	-	10 (7-13)	13 (9-17)	0,012
Child-pugh (número)	-	-	5 (5-7)	8 (7-9)	< 0,001
Bilirrubina (mg/dl)	-	0,58 (0,48-0,97)	0,99 (0,72-1,27)	1,73 (0,87-2,8)	< 0,001
Albúmina(g/dl)	-	43,00 (39,2-45)	40,90 (34,8-43,6)	30,8 (26,7-35,2)	< 0,001
INR	-	1,07 (1,04-1,12)	1,1 (1,06-1,21)	1,42 (1,23-1,68)	< 0,001
Plaquetas x10^9/l	-	184 (143-221)	138 (112-155)	105 (61-152)	< 0,001
PCR (mg/l)	<5	2,50 (0,6-6,6)	4,5 (2,3-7,1)	8,7 (2,45-21,2)	0,001
Procalcitonina (ng/ml)	<0,5	0,03 (0,02-0,07)	0,045 (0,02-0,08)	0,12 (0,08-0,27)	<0,001
IL-6 (pg/ml)	<3,13	3,6 (3,1-5)	6,9 (3,1-16,4)	16,6 (10,4-44)	<0,001
MDW (UI)	<21,1	18,2 (17,5-20)	19,1 (18,1-20)	20,7 (20-22,5)	<0,001
S100A8/A9 (ng/ml)	-	363,2 (232,9-569,6)	402,8 (297,1- 565,8)	366,6 (241,8-719,4)	0,8791
CD14 (ng/ml)	-	2175,2 (1953,9-2537,9)	2310,1 (2078,6- 2933,2)	2612,8 (1991,9-3098)	0,1608
CD163 (ng/ml)	-	113,8 (42,8-183,8)	165,5 (104,7-211,6)	281,6(140,7-444,7)	<0,001
Copeptina (pg/ml)	-	467,2 (5054,1-6977,7)	368,8 (276,7-442.3)	337,9 (258-619,4)	0,1842
CD5L (ng/ml)	-	5640,4 (5054,1-6977,7)	9857,1(6525- 12658,5)	9215,3(6893,8-17969,5)	0,002

Abreviaturas: MELD Model for end stage liver disease; NC no cirrótico; INR Índice internacional normalizado

Figura 5. Análisis de los valores medianos de biomarcadores en NC, cirrosis compensada y descompensada en la cohorte "NO INFECCIÓN"

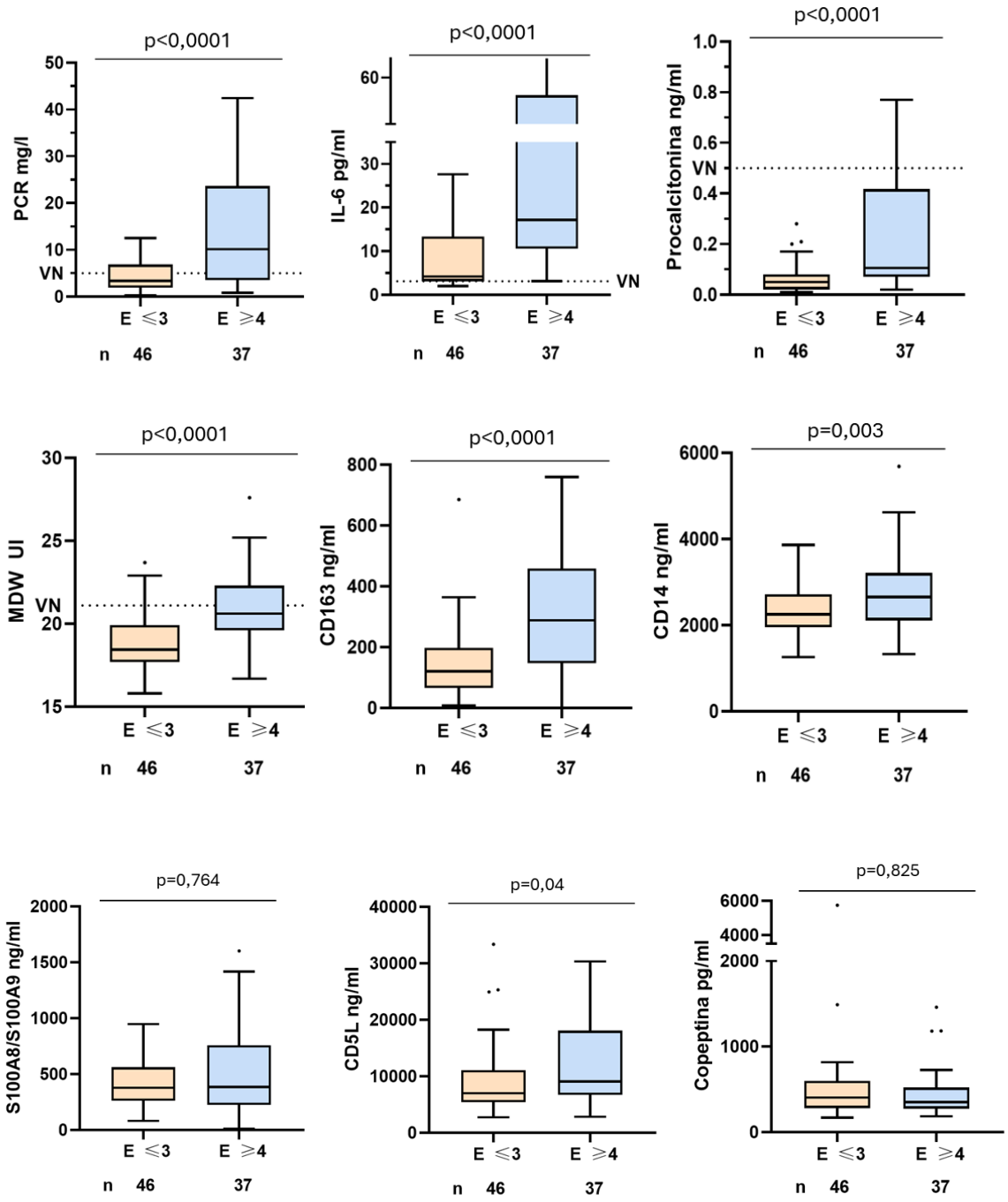


En la tabla suplementaria (anexo 10.1) se detalla el ajuste de bondad por el método de Bonferroni para cada uno de los biomarcadores analizados.

Se compararon estadios avanzados (≥E4) frente estadios iniciales (≤E3) y se observó un aumento significativo en la mediana de PCR (10,1 vs 3,5mg/L;p<0,0001), IL-6 (17,2 vs 4,2 pg/mL; p<0,0001); procalcitonina (0,11 vs 0,05 ng/ml; p<0,0001), sCD163 (291,1 vs 120,3 ng/ml; p<0,0001), MDW (20,6 vs 18,5; p<0,0001), CD5L (9079 vs 7013 ng/ml; p=0,04). En relación a CD14, pese a no observarse diferencias entre todos los estadios, si que se hallaron diferencias estadísticamente significativas al comparar ≥ E4 vs. ≤E3 (2650,9 vs 2257,1 ng/ml; p=0,03) (Figura 6).

La progresión ascendente a través de los diferentes estadios de la enfermedad hepática no se observó en los niveles de S100A8/S100A9 plasmática ni de la copeptina (p > 0,05). A pesar de ello, sí se detectaron valores de copeptina inferiores en pacientes con estadios más avanzados de la enfermedad, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas (p=0,2182) ni al comparar entre NC, cirrosis compensada y descompensada.

Figura 6. Análisis de biomarcadores ≤E3 vs. ≥E4



Abreviaturas: *VN Valor normal; E Estadio*

En el 53% de los pacientes, se observó un valor de PCR por encima del considerado el límite superior de la normalidad (5mg/l). A pesar de que en todos los estadios se hallaron pacientes con valor de PCR por encima del valores considerado normales, la proporción de pacientes con valores elevados fue superior en estadios más avanzados (35,3% en NC, 20% en E1, 50% en E2, 20% en E3, 75% en E4 y 63,6% en E5). En el caso de la procalcitonina, el 11,6% de la cohorte presentaron superior al de referencia (0,5 ng/ml), todos ellos E4 (6 pacientes; 26,1%) y E5 (2 pacientes; 18,2%). En el caso de IL-6, en todos los estadios se obtuvieron valores por encima del valor de referencia: 61,1% en NC; 57,1% en E1, 80% en E2, 100% en E3, 91% en E4 y en 90% E5.

En relación a MDW, dado que no disponemos de un valor de referencia ampliamente validado, asumimos como valor "normal", el punto de corte superior propuesto por García-Álvarez et al.(109) de 21,1 UI. En este sentido, 19 pacientes (22,9%) presentaron un valor superior, la mayoría de ellos (78,9%) en un estadio descompensado.

Finalmente, en base a los hallazgos en estudios previos, evaluamos las diferencias de las proteínas plasmáticas en función de la toma de betabloqueantes no cardioselectivos (27 pacientes se encontraban en tratamiento: 16 con propranolol y 11 con carvedilol) y únicamente se hallaron diferencias significativas en el valor de S100A8/S100A9, siendo superior el valor en pacientes sin tratamiento (521,4 vs 312,7 ng/ml; [p= 0,01]).

5.1.2. Cohorte "INFECCIÓN"

En la cohorte "INFECCIÓN" se incluyeron 21 pacientes, todos ellos con cirrosis. La prevalencia por estadios fue de 1 paciente (4,8%) en E3, 6 pacientes (28,6%) en E4 y 14 pacientes (66,7%) en E5. El 57,1% eran hombres y la mediana de edad fue de 67 años (56-75). La principal etiología de la enfermedad hepática fue el consumo de alcohol en 9 pacientes (42,9%), seguida de MetALD en 3 pacientes (14,3%). De los 21 pacientes incluidos finalmente en la cohorte "INFECCIÓN", 5 (23,8%))desarrollaron la infección durante el ingreso hospitalario.

Las características basales de la cohorte "INFECCIÓN" se encuentran detalladas en la Tabla 4.

Todos los pacientes fueron hospitalizados tras acudir al Servicio de Urgencias. El motivo de ingreso más frecuente fue la fiebre en 10 pacientes (47,6%) seguido de hemorragia digestiva alta por VEG en 7 (33,3%), encefalopatía hepática en 3 casos (14,3%) y 1 caso (4,8%) por descompensación ascítica. Tres pacientes (14,3%) cumplieron criterios de ACLF y tres pacientes (14,3%) ingresaron en la Unidad de Críticos.

Al diagnóstico de la infección, el valor medio de MELD en la cohorte fue de 15 puntos (11-21) y CPT 8 puntos (7-12). Tras la resolución de la misma, la puntuación de MELD fue de 13 puntos (10-15) y 7 (7-9) puntos el valor de CPT.

La infección bacteriana más frecuente fue la PBE en 9 pacientes (42,9%), seguida de la infección del tracto urinario en 4 pacientes (14,3%). El resto de las infecciones diagnosticadas fueron: bacteriemia espontánea, neumonía, gastroenteritis aguda con bacteriemia secundaria, bacteriemia secundaria a infección del tracto urinario,

endocarditis, colangitis, enterocolitis y bursitis, con un caso de cada una de ellas. En 12 pacientes (57,1%), se aisló el microorganismo causal y de estos, en 3 pacientes el microorganismo fue multirresistente (25%). En la tabla suplementaria 2 (anexo 10.2), se detallan los microorganismos aislados.

La estancia hospitalaria media fue de 9 días (7-15) y la mediana de días entre la extracción de plasma del paciente estando infectado hasta la determinación de plasma sin infección fue de 10 días (5-62).

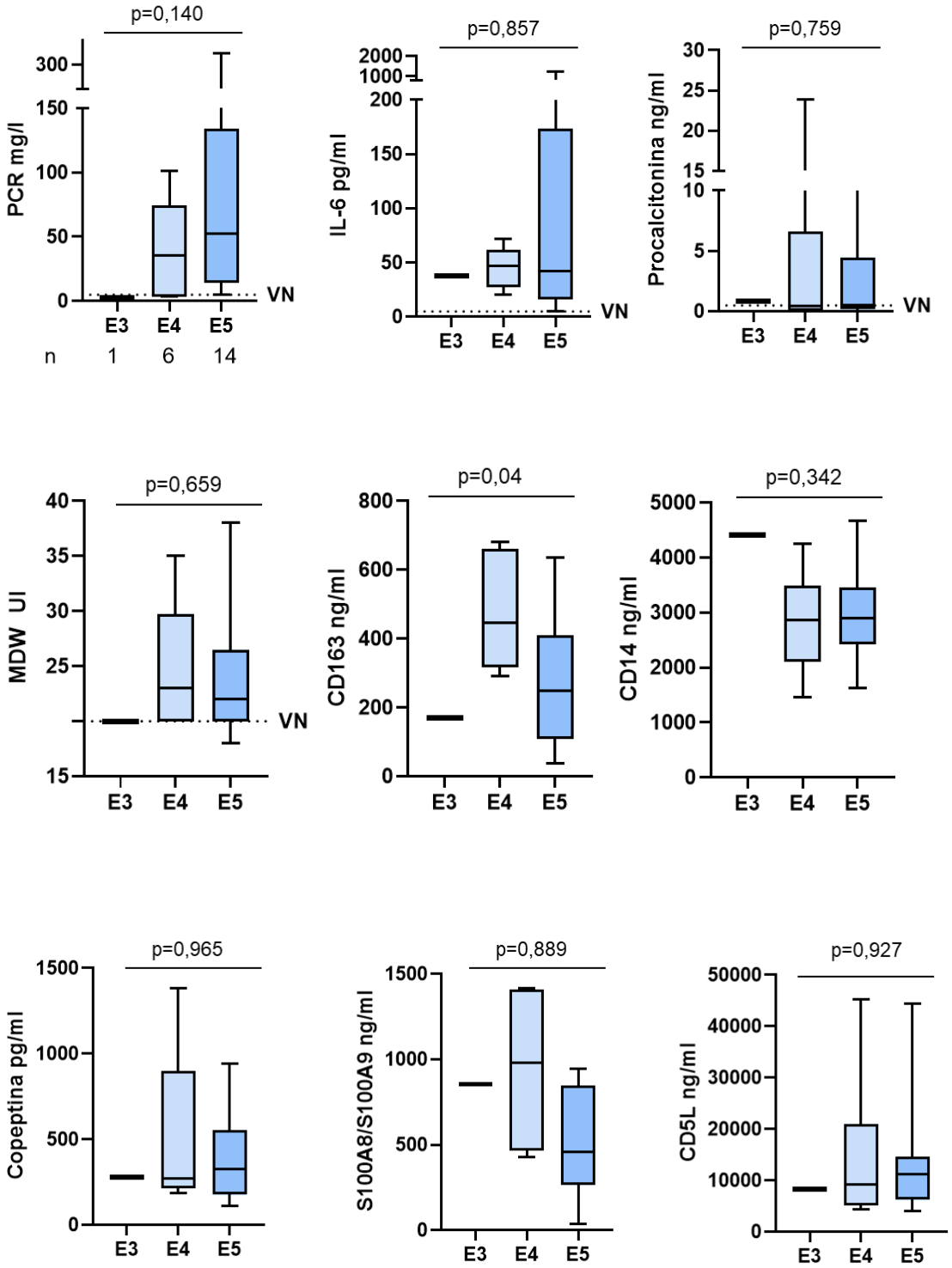
Se evaluaron las diferencias entre los diferentes estadíos en el momento de la infección (Figura 7) y la resolución de la misma (Figura 8). Si bien se obtuvieron valores crecientes de PCR, IL-6 y copeptina a través de los estadios de enfermedad hepática en el momento de la infección las diferencias entre los mismos no fueron significativas. Únicamente los valores de CD163 fueron significativamente diferentes entre los tres estadíos (p=0,04), siendo superior en E4 respecto al resto de estadios. (Tabla 4). En el momento de la resolución de la infección, no se evidenciaron diferencias en ninguno de los parámetros analíticos evaluados en los distintos estadios.

Tabla 4. Características basales de los pacientes de la cohorte "INFECCIÓN" en el momento de la inclusión

	E3 (N=1; 4,8%)	E4 (N=6; 28,5 %)	E5 (N=14; 66,7%)	Valor p
Edad (RIQ)	1 (100)	3 (50)	8 (57,1)	
Hombre (%)	1 (100)	3 (50)	8 (57,1)	0,6592
Consumo de alcohol de riesgo	-	4 (66,6)	9 (64,3)	0,5013
Infección VHB	-	-	1 (7,1)	0,7788
Infección VHC RVS	-	-	1 (7,1)	0,7788
Infección VHC no tratada	-	-	-	
Hipertensión arterial	1 (100)	4 (66,8)	7 (50)	0,5478
Dislipidemia	1 (100)	2 (33,3)	7 (50)	0,4618
Obesidad	-	-	5 (35,7)	0,7029
Enfermedad renal crónica	1 (100)	-	3 (21,4)	0,0229
Diabetes mellitus	1 (100)	4 (66,8)	6 (42,9)	0,0184
Infección bacteriana*	-	1 (16,8)	4 (28,6)	0,1050
Ingreso hospitalario*	1 (100)	1 (16,8)	7 (50)	0,0193
Hospital de Dia*	-	-	3 (21,4)	0,0555
Consulta en urgencias*	1 (100)	3 (50)	10 (71,4)	0,2278
Etiología atribuida				<0,001
Alcohol	-	3 (50)	6 (42,9)	
VHC	-	-	1 (7,1)	
VHB	-	-	1 (7,1)	
VHC+ Alcohol	-	-	-	
MASLD	1 (100)	1 (16,8)	2 (14,3)	
MetALD	-	1 (16,8)	2 (14,3)	
Otras	-	1 (16,8)	2 (14,3)	
Varices esofagogástricas	1 (100)	4 (66,6)	11 (78,6)	0,731
Betabloqueantes no cardio selectivos	1 (100)	2 (33,3)	8 (61,5)	0,403
Norfloxacino	-	-	3 (21,4)	0,4346
Rifaximina	-	-	2 (14,3)	0,591

Abreviaturas: E Estadio RIC rango in tercuartílico VHC: Virus hepatitis C; VHB Virus hepatitis B; RVS respuesta viral sostenida;MASLD Metabolic dysfunction associated steatotic liver disease; METALD MASLD + consumo de alcohol; VEG Varices esofagogástricas. *En los 3 meses previos a la inclusión

Figura 7. Análisis de valores medianos de biomarcadores en el momento de la infección



Abreviaturas: VN Valor normal

Figura 8. Análisis de valores medianos de biomarcadores en el momento la resolución de infección

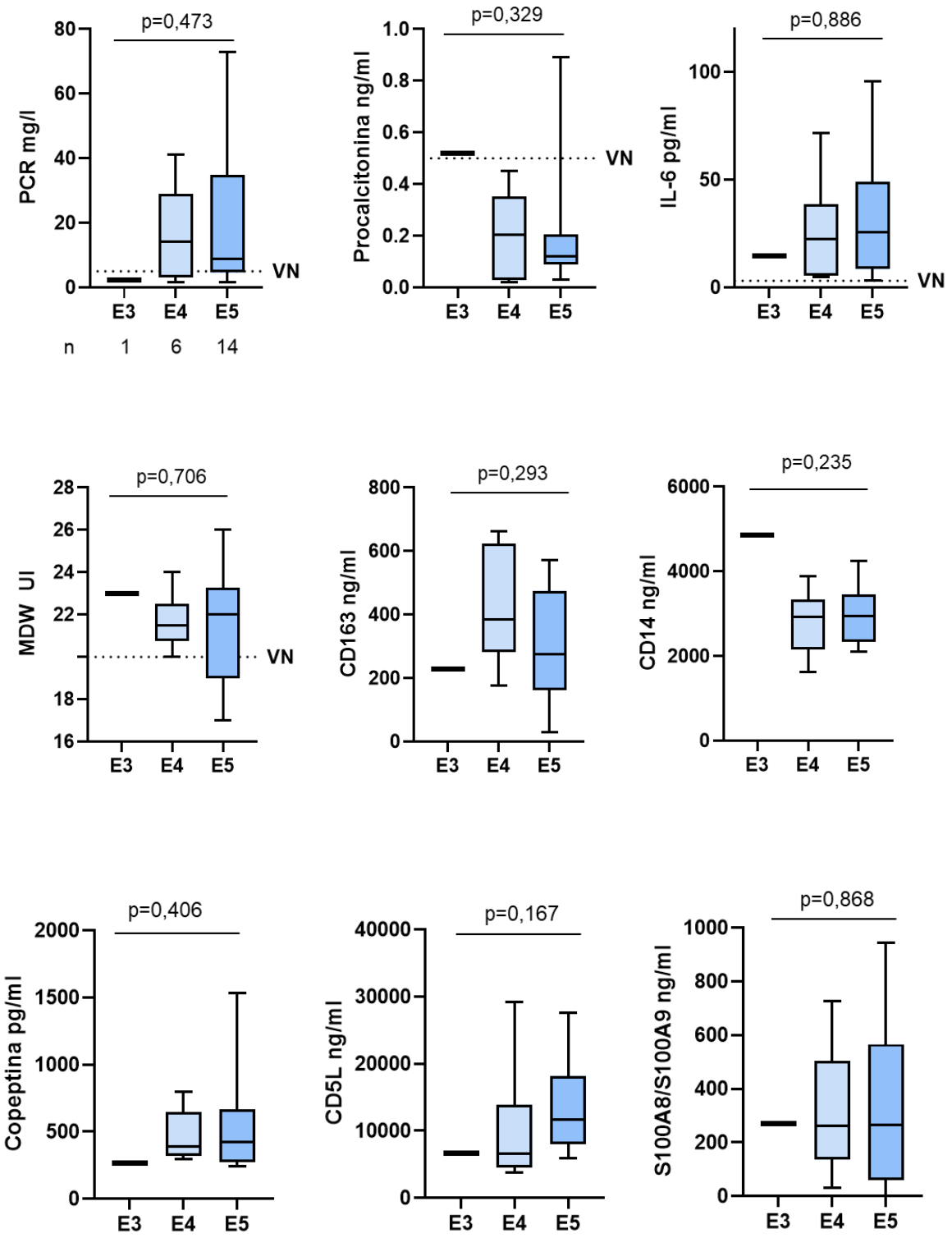


Tabla 5. Parámetros analíticos cohorte "INFECCIÓN" en el momento de la infección y tras la resolución

	INFECCIÓN				RESOLUCIÓN INFECCIÓN			
	Estadio 3 (n=1)	Estadio 4 (n=6)	Estadio 5 (n=14)	Valor p	Estadio 3 (n=1)	Estadio 4 (n=6)	Estadio 5 (n=14)	Valor p
Plaquetas x10^9	125 (NA)	74 (68-126)	120 (46-164)	0,788	64 (NA)	79 (63-113)	92 (75-159)	0,505
Bilirrubina (mg/dl)	0,58 (NA)	1,71 (0,96-6,6)	1,36 (0,8-2,8)	0,355	0,4 (NA)	1,5 (1,1-2,8)	1,3 (0,84-2,14)	0,224
INR	1,37 (NA)	1,53 (1,3-2)	1,37 (1,28-1,79)	0,835	1,3 (NA)	1,50 (1,22-1-60)	1,3 (1,2-1,4)	0,684
Albúmina (g/l)	31,6 (NA)	28,6 (24,5-34)	31,6 (24,3-35,9)	0,930	38 (NA)	28,9 (26,3-35)	31,8 (26,2-35,2)	0,365
PCR (mg/l)	2,4 (NA)	35,8 (3,7-65,3)	52,4 (15,8-118,4)	0,140	2,3 (NA)	14,3 (3,6-25)	8,9 (4,8-30,7)	0,473
Procalcitonina (ng/ml)	0,88 (NA)	0,42 (0,1-0,9)	0,25 (0,2-4,5)	0,857	0,5 (NA)	0,2 (0,03-0,32)	0,1 (0,09-0,2)	0,329
IL-6 (pg/ml)	37,3 (NA)	46,6 (34,3-51,7)	42,2 (17,3-138,9)	0,759	14,8 (NA)	22,6 (5,66-28)	25,6 (14-42,8)	0,886
MDW (UI)	20,4 (NA)	23,1 (20,4-27,7)	22,2 (20,4-25,7)	0,659	22,5 (NA)	21,7 (20,9-22,4)	21,7 (18,8-22,7)	0,706
CD5L (ng/ml)	8302,093 (NA)	9253,1 (5477- 12938,7)	11161,1 (6243,5-14073,9)	0,927	6728,4 (NA)	6565 (4783,6- 8863)	11674,1 (8276,1- 16856,5)	0,167
CD14 (ng/ml)	4417(NA)	2861,3 (2325,8-3240,8)	2904,5 (2451,1-3313,8)	0,342	4868(NA)	2928 (2340-3162,6)	2947,1 (2355,1 – 3450,2)	0,235
Copeptina (pg/ml)	277,7(NA)	269,4 (223,1-736,7)	328,6 (183,8-511,7)	0,965	265,6 (NA)	388,1 (326,3- 598,5)	426,6 (275,1- 624,1)	0,406
S100A8/A9 (ng/ml)	854,6	978,2 (480,3- 1407,1)	455,2 (275,4-841)	0,889	270 (NA)	260,2 (171,6-430,6)	307,4 (135,4-649,9)	0,868
CD163 (ng/ml)	169,2	447,3 (326,7 -655,8)	249,2 (110,9-392,5)	0,04	229,1 (NA)	384 (316,1-612,7)	274,4 (188,4-452,1)	0,293

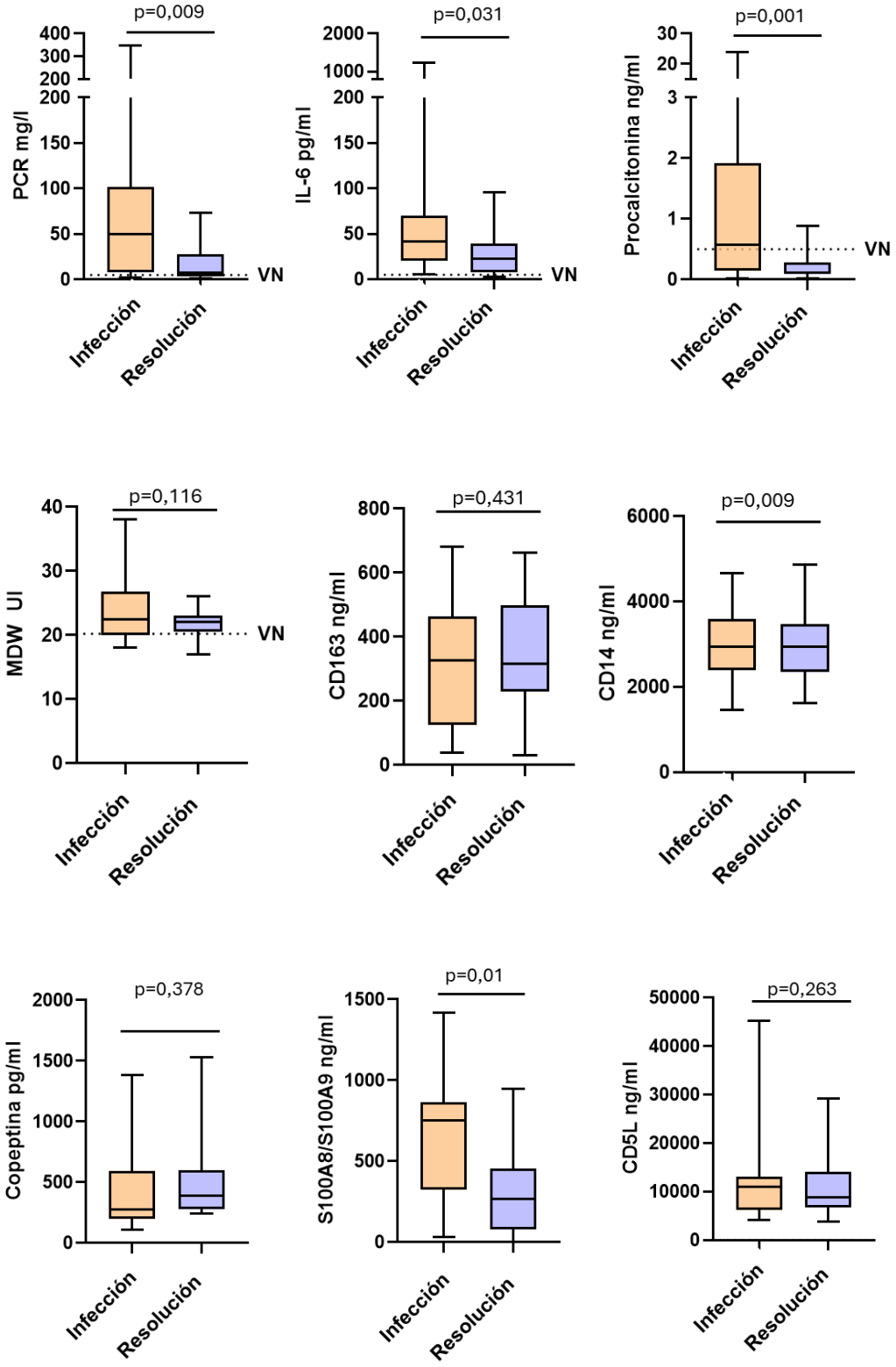
Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre la mediana de PCR (49,8 [10,4-102,1] vs 7,4 [4,2-25]; p=0,009); procalcitonina (0,57 [0,17-1,07] vs 0,12 [0,1-0,27]; p=0,001); IL-6 (42,1 [20,6-69,4] vs 22,3 [9,8-36,3]; p=0,031) y S100A8/S100A9 (750,3 [324,8-864,6] vs 270 [171,6 – 483,3]; p=0,011) entre el momento de la infección y la resolución de la misma. A pesar de observarse valores superiores en el momento de la infección en los valores de CD5L y MDW, estas diferencias no fueron estadísitcamente significativas (1094,5 [6134-13115,6] vs 8863 [6728,4-14146,1]; p=0,263 and 22,5 [20,4-26,6] vs 21,7 [20,9-22,5]; p=0,116 respectivamente). En relación a la copeptina y CD14, presentaron valores más elevados en el momento de la resolución de la infección, aunque, las diferencias tampoco fueron significativas (p=0,103 y p=0,23) (Tabla 6; Figura 9).

En el momento de la infección, el 85,7% de los pacientes presentaron un valor de PCR por encima del valor normal y tras la resolución de la infección el 66,7% de los pacientes persistieron con un valor de PCR por encima del considerado de referencia. En la misma línea, 13 pacientes (61,9%) presentaron un valor de procalcitonina por encima del considerado de referencia y 3 pacientes (14,3%) persistían con valores por encima del de referencia, tras la resolución de la infección. En relación a IL-6, todos los pacientes presentaron un valor por encima del normal en el momento de la infección y 18 pacientes (85,7%) en el momento de la resolución de ésta.

Tabla 6. Análisis de las diferencias entre biomarcadores en el momento de la infección y la resolución de la misma

	Infección	Resolución	Valor p
PCR (mg/l)	49,8 (10,4-102,1)	7,4 (4,2-25)	**0,009**
Procalcitonina (ng/ml)	0,57 (0,17-1,07)	0,12 (0,1-0,27)	**0,001**
IL-6 (pg/ml)	42,1 (20,6-69,4)	22,3 (9,8-36,3)	**0,031**
MDW (UI)	22,5 (20,4-26,6)	21,7 (20,9-22,5)	0,116
CD5L (ng/ml)	10949,5 (6134,2-13115,6)	8863,8 (6728,4 – 14146,1)	0,263
CD14 (ng/ml)	2930,8 (2396,2-3590,6)	2935,5 (2340,1-3473,8)	0,678
Copeptina (pg/ml)	277,7 (196,8-596,4)	388,2905 (277,5-598,5)	0,378
S100A8/A9 (ng/ml)	750,3 (324,8-864,6)	270 (171,6 – 483,3)	**0,011**
CD163 (ng/ml)	326,7 (124,8 -463,7)	316,1 (229,1-497,6)	0,431

Figura 9. Análisis de las diferencias entre biomarcadores en el momento de la infección y la resolución de la misma



5.2. Análisis de correlación entre proteínas plasmáticas

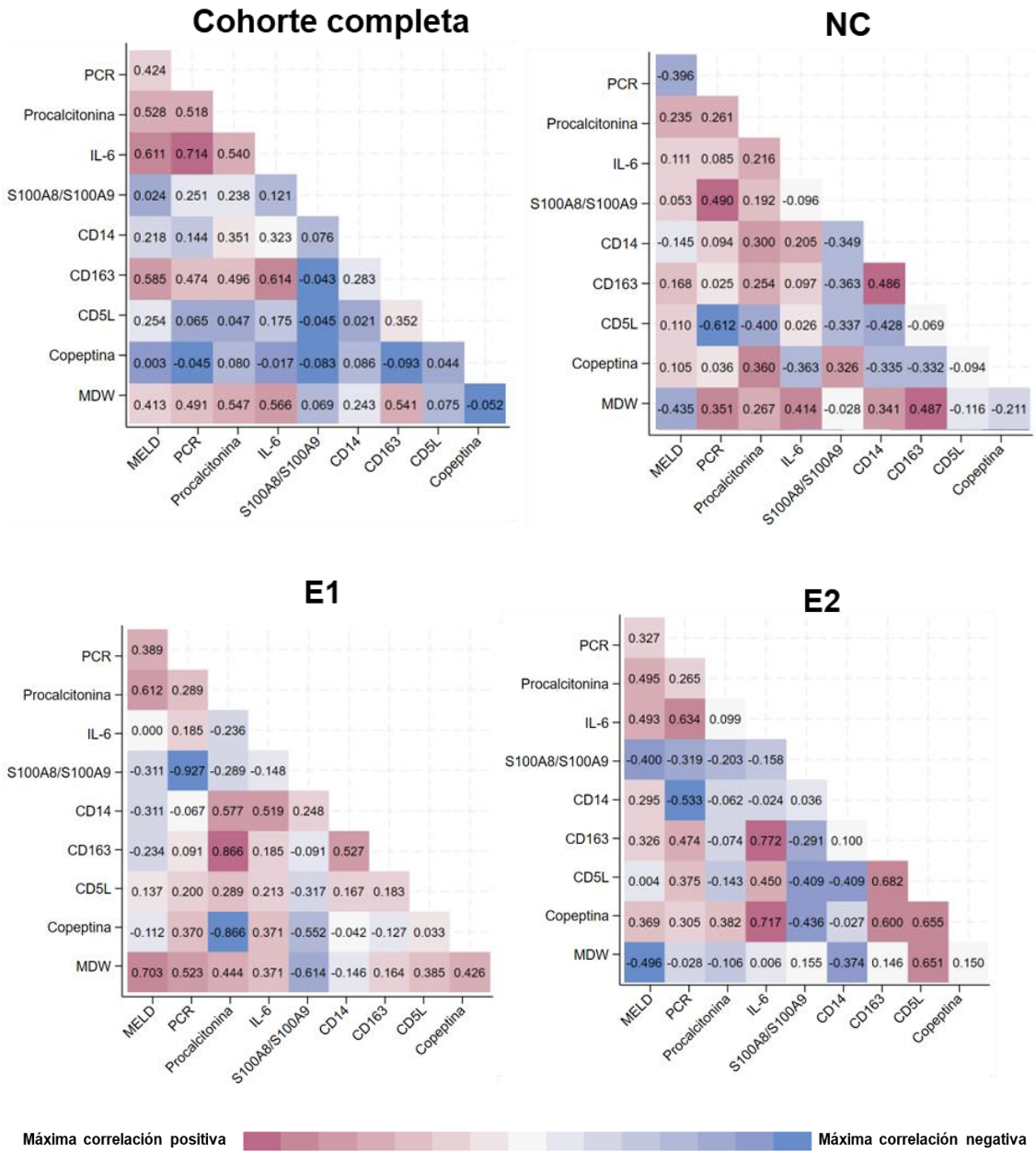
5.2.1. Cohorte "NO INFECCIÓN"

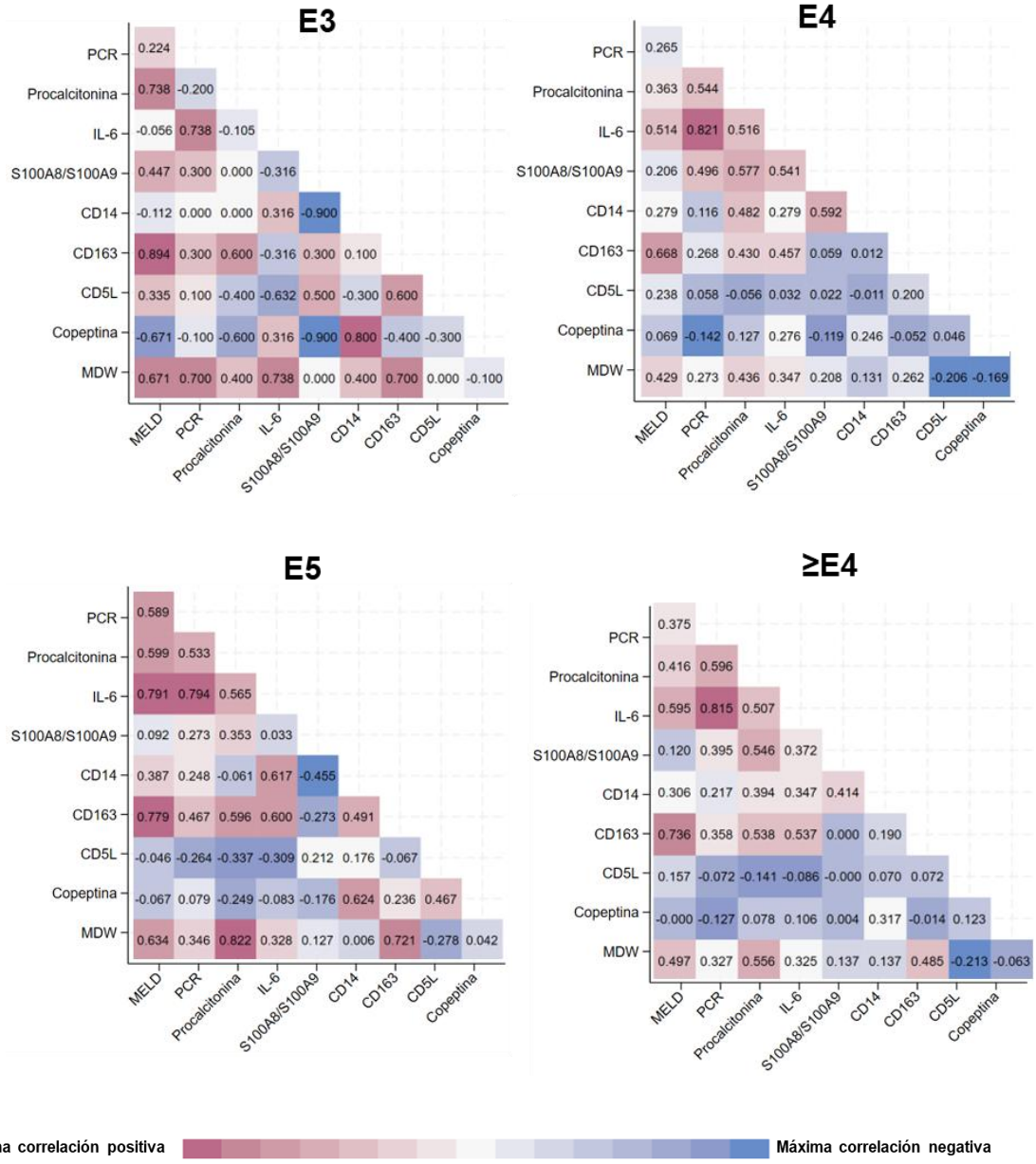
Posteriormente se realizó un análisis de correlación entre las distintas proteínas plasmáticas estudiadas. Al analizar la cohorte "NO INFECCIÓN" (n=83), se evidenció una correlación fuerte entre el valor de IL-6 con PCR (r=0,71; p=0,001) y moderada entre IL-6 y sCD163 (r=0,61; p<0,001) (Figura 10).

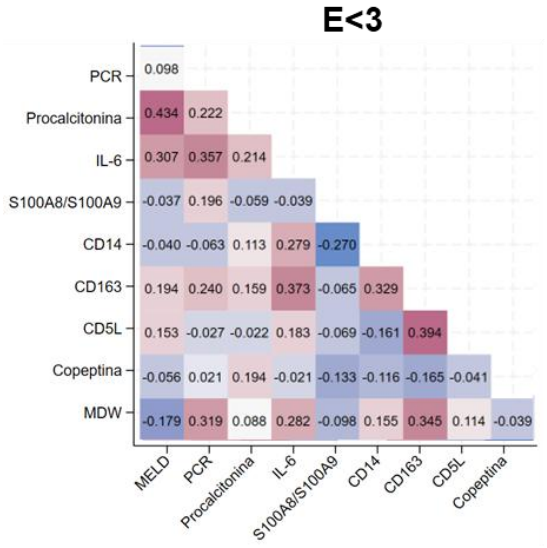
Entre los pacientes NC, únicamente se evidenció una correlación negativa y moderada entre el valor de CD5L y PCR (r= -0,61; p = 0,014). En los pacientes E1 una correlación negativa de la S100A8/S100A9 con PCR (r=-0,93 p<0,001) y MDW (r= -0,61; p<0,001); la correlación negativa y fuerte entre procalcitonina y copeptina, no fue significativa (r= -0,87; p=0,07). Entre los pacientes E2, se halló una correlación positiva y fuerte entre IL-6 y sCD163 (r=0,77 p=0,012) así como IL-6 con copeptina (r=0,72; p=0,054). Ninguna de las correlaciones fue significativa en el E3. En pacientes E4 la correlación entre PCR e IL-6 fue positiva y fuerte (r= 0,82; p < 0,001) y finalmente, en los pacientes E5, el valor de PCR e IL-6 se correlacionaron de manera positiva y fuerte (r=0,79 p= 0,006) así como MDW con el valor de procalcitonina (r=0,82, p=0,003) y sCD163 y MDW (r=0,71; p=0,02).

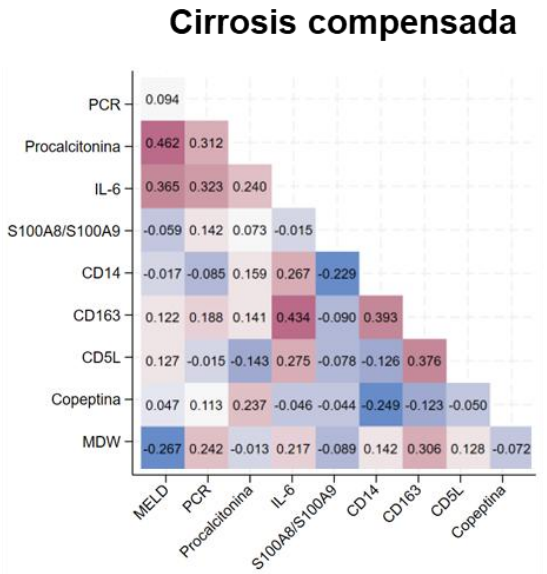
La correlación de PCR e IL-6 se mantuvo fuerte (r=0,81 p=0,0001) en al agrupar los pacientes enE ≥4. Contrariamente, no se evidenció ninguna correlación fuerte al agrupar E ≤3. De manera similar, no se obtuvieron correlaciones moderadas o fuertes al agrupar en cirrosis compensada y en el caso de cirrosis descompensada, la PCR e IL-6 se correlacionaron de manera fuerte (r=0,81; p<0,001). (Figura 10).

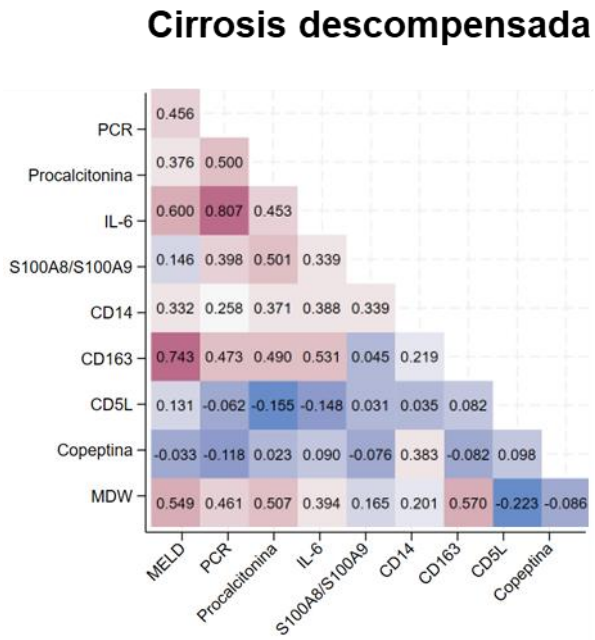
Figura 10. Análisis de correlación entre marcadores en la cohorte "NO INFECCIÓN"

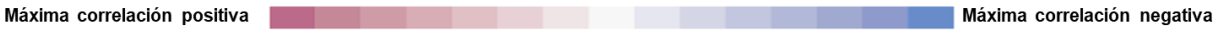



E3
PCR 0.224
Procalcitonina 0.738 -0.200
IL-6 -0.056 0.738 -0.105
S100A8/S100A9 0.447 0.300 0.000 -0.316
CD14 -0.112 0.000 0.000 0.316 -0.900
CD163 0.894 0.300 0.600 -0.316 0.300 0.100
CD5L 0.335 0.100 -0.400 -0.632 0.500 -0.300 0.600
Copeptina -0.671 -0.100 -0.600 0.316 -0.900 0.800 -0.400 -0.300
MDW 0.671 0.700 0.400 0.738 0.000 0.400 0.700 0.000 -0.100
MELD PCR Procalcitonina IL-6 S100A8/S100A9 CD14 CD163 CD5L Copeptina
E4
PCR 0.265
Procalcitonina 0.363 0.544
IL-6 0.514 0.821 0.516
S100A8/S100A9 0.206 0.496 0.577 0.541
CD14 0.279 0.116 0.482 0.279 0.592
CD163 0.668 0.268 0.430 0.457 0.059 0.012
CD5L 0.238 0.058 -0.056 0.032 0.022 -0.011 0.200
Copeptina 0.069 -0.142 0.127 0.276 -0.119 0.246 -0.052 0.046
MDW 0.429 0.273 0.436 0.347 0.208 0.131 0.262 -0.206 -0.169
MELD PCR Procalcitonina IL-6 S100A8/S100A9 CD14 CD163 CD5L Copeptina
E5
PCR 0.589
Procalcitonina 0.599 0.533
IL-6 0.791 0.794 0.565
S100A8/S100A9 0.092 0.273 0.353 0.033
CD14 0.387 0.248 -0.061 0.617 -0.455
CD163 0.779 0.467 0.596 0.600 -0.273 0.491
CD5L -0.046 -0.264 -0.337 -0.309 0.212 0.176 -0.067
Copeptina -0.067 0.079 -0.249 -0.083 -0.176 0.624 0.236 0.467
MDW 0.634 0.346 0.822 0.328 0.127 0.006 0.721 -0.278 0.042
MELD PCR Procalcitonina IL-6 S100A8/S100A9 CD14 CD163 CD5L Copeptina
≥E4
PCR 0.375
Procalcitonina 0.416 0.596
IL-6 0.595 0.815 0.507
S100A8/S100A9 0.120 0.395 0.546 0.372
CD14 0.306 0.217 0.394 0.347 0.414
CD163 0.736 0.358 0.538 0.537 0.000 0.190
CD5L 0.157 -0.072 -0.141 -0.086 -0.000 0.070 0.072
Copeptina -0.000 -0.127 0.078 0.106 0.004 0.317 -0.014 0.123
MDW 0.497 0.327 0.556 0.325 0.137 0.137 0.485 -0.213 -0.063
MELD PCR Procalcitonina IL-6 S100A8/S100A9 CD14 CD163 CD5L Copeptina
Máxima correlación positiva
Máxima correlación negativa







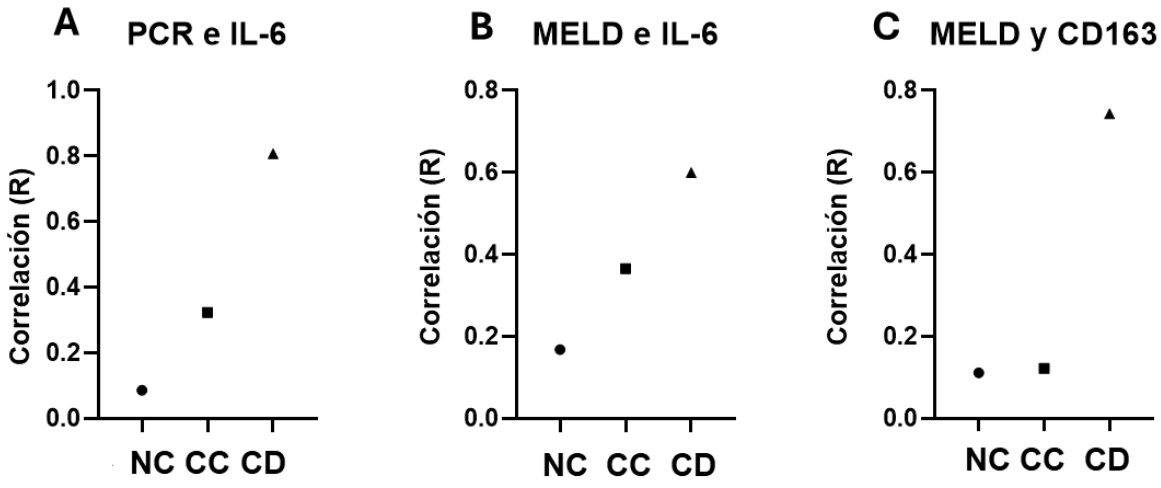


Abreviaturas: NC No cirrótico; E Estadio

Posteriormente se analizó la evolución de las correlaciones fuertes obtenidas. En relación a la evolución del valor de correlación entre PCR e IL-6 se observan un aumento progresivo a medida que progresa la enfermedad **(**Figura 11A) y las diferencias se hacen especialmente relevantes al comparar los grupos NC vs cirrosis compensada y cirrosis descompensada (r=0,09; 0,32 y 0,81 respectivamente).

Finalmente, al analizar la correlación del valor de MELD con los diferentes biomarcadores, destaca la correlación fuerte con el valor de IL-6 y sCD163 en el E5 (r=0,79 p<0,001; r=0,8 p<0,001 respectivamente); manteniéndose fuerte al agrupar E≥4 (r=0,74 p<0,01) y cirrosis descompensada (r=0,74; p<0,01). (Figura 10). Al valorar la evolución de la correlación entre MELD con sCD163 y MELD con IL-6, se observa una tendencia creciente entre los pacientes NC, cirrosis compensada y descompensada (Figura 11B y 11C).

Figura 11. Evolución del análisis de correlación

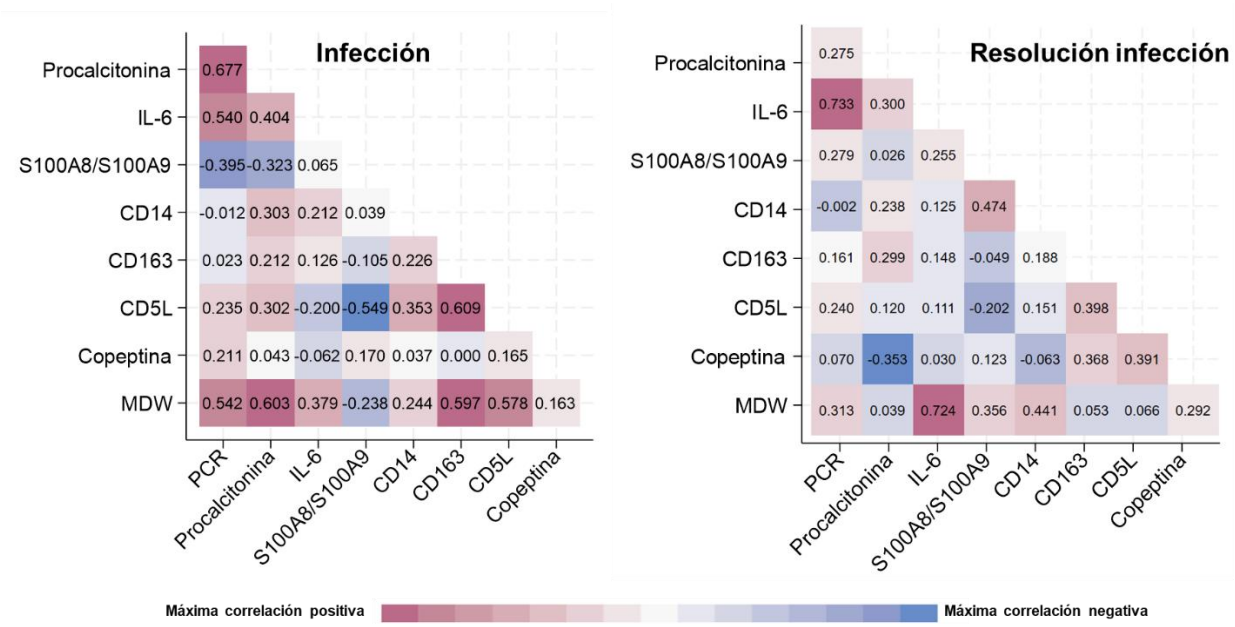


Abreviaturas: NC No cirrótico; CC cirrosis compensada; CD cirrosis descompensada

5.2.2. Cohorte "INFECCIÓN"

Al realizar un análisis de correlación entre las diferentes proteínas plasmáticas analizadas al momento de la infección, se evidenció una correlación moderada entre PCR e IL-6 (r=0,54; p=0,02), siendo esta correlación fuerte una vez resuelta la infección (r=0,73 p<0,001). Así mismo, se observó una correlación moderada en el momento de la infección entre PCR y procalcitonina (r=0,68; p=0,003), PCR y MDW (r=0,54; p=0,01); procalcitonina y MDW (r=0,60; p=0,01); entre CD5L y sCD163 (R=0,61; p=0,006); CD5L y MDW (r=0,57; p=0,01); MDW y sCD163 (r=0,58; p=0,01) y una relación inversa entre CD5L y S100A8/S100A9 (r=-0,54; p=0,02). (Figura 12).

Figura 12. Análisis de correlación entre biomarcadores cohorte "INFECCIÓN"



5.3. Análisis de las variables asociadas al desarrollo de descompensación clínica de la cirrosis, ingreso o reingreso hospitalario, infección bacteriana o muerte al año de la inclusión

5.3.1. Cohorte "NO INFECCIÓN"

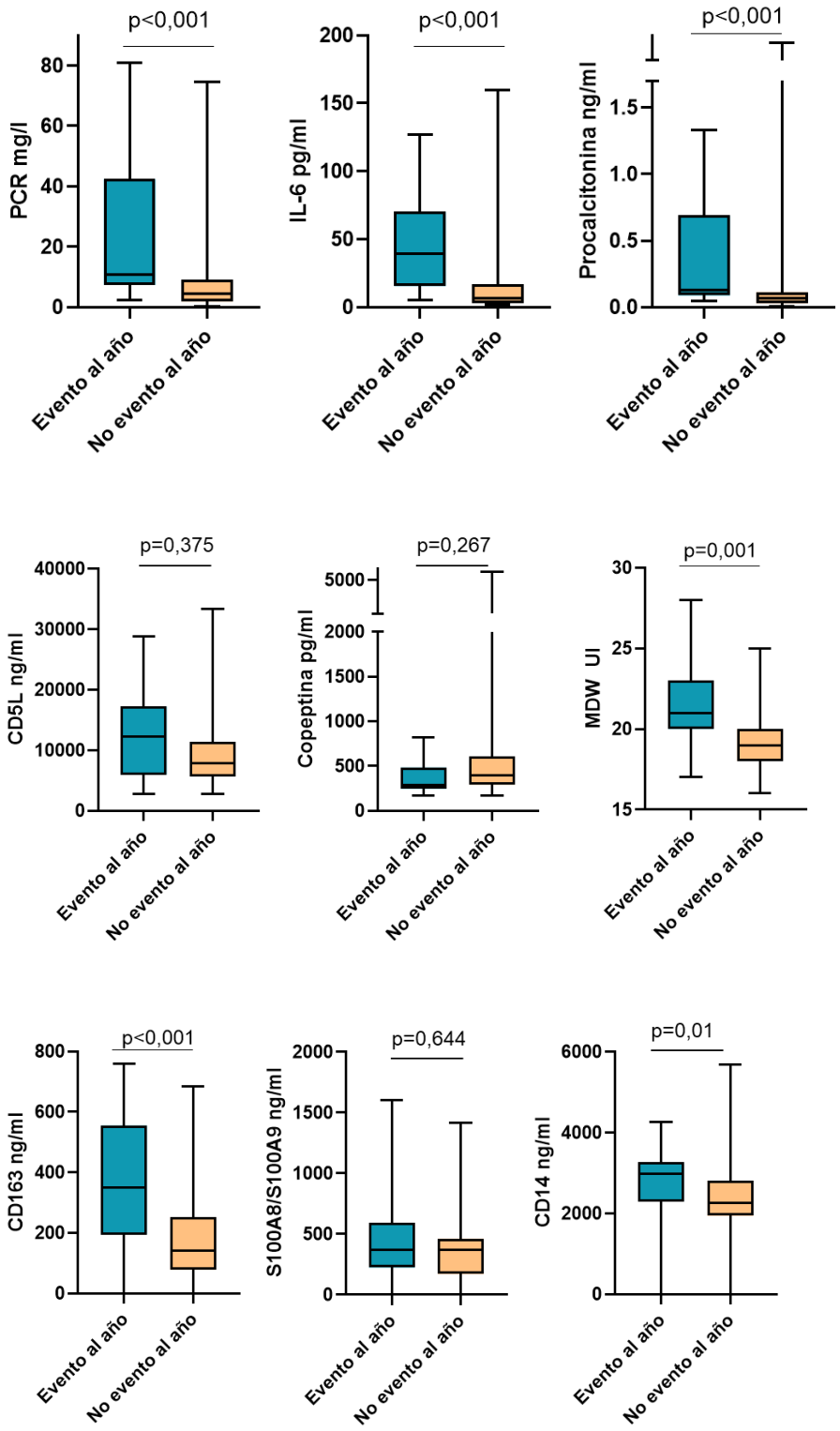
Durante el seguimiento, un total de 15 pacientes (18,1%) presentaron un evento clínico al año de la inclusión en el estudio. Estos pacientes presentaron signficativamente mayor disfunción hepática en el momento de la inclusión (MELD 18 vs 10; p<0,001; CPT 8 vs 6; p<0,001) y el 86,6% estaba ingresado en el momento de la inclusión en el estudio en comparación con un 23,5% de los pacientes que no presentaron un evento (p<0,001). El 80% de los pacientes que presentaron un evento tenía un estadio E≥ 4. Al evaluar las diferencias en los niveles de marcadores plasmáticos en el momento de la inclusión, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el valor de PCR, procalcitonina, MDW, IL-6, CD14 y CD163 (Tabla 7; Figura 13) respecto a los pacientes que no presentaron un evento clínico durante el seguimiento.

Tabla 7. Características de los pacientes de la cohorte "NO INFECCIÓN" que presentan un evento al año

	Evento al año (n=15)	No evento al año (n=68)	Valor p
Edad (RIQ)	64 (55-68)	63 (56-69)	0,384
Hombre (%)	10 (66,7)	53 (77,9)	0,341
Hipertensión arterial	6 (40)	28 (41,2)	1,000
Diabetes mellitus	9 (60)	39 (57,4)	1,000
Child Pugh score (número)	8 (7-10)	6 (5-7)	<0,001
MELD	18 (15-19)	10 (8-13)	<0,001
>E3	12 (80)	2 (2,9)	<0,001
VEG	8 (53,3)	35 (29)	1,000
Ingresado en el momento de la inclusión	13 (86,6)	16 (23,5)	<0,001
PCR (mg/l)	10,8 (7,4-42,2)	4,4 (2-8,8)	<0,001
Procalcitonina (ng/ml)	39,5 (15,8-62,2)	6,9 (3,1-16,7)	<0,001
IL-6 (pg/ml)	0,13 (0,09-0,69)	0,07 (0,03-0,11)	<0,001
MDW (UI)	21 (20-22,8)	19,2 (18,1-20,4)	0,001
S100A8/A9 (ng/ml)	377,2 (353-463,3)	388,6 (241,8-590,8)	0,644
CD163 (ng/ml)	353,2 (297,3-555,6)	144,8 (81,7-253,3)	<0,001
CD14 (ng/ml)	2992,5 (2338,9- 3273,7)	2298,2 (1988,4- 2825,2)	0,01
Copeptina (pg/ml)	288,1 (257-478,8)	391,9 (294,1- 605,2)	0,267
CD5L (ng/ml)	12254 (5971- 17274)	7815 (5735-11295)	0,375

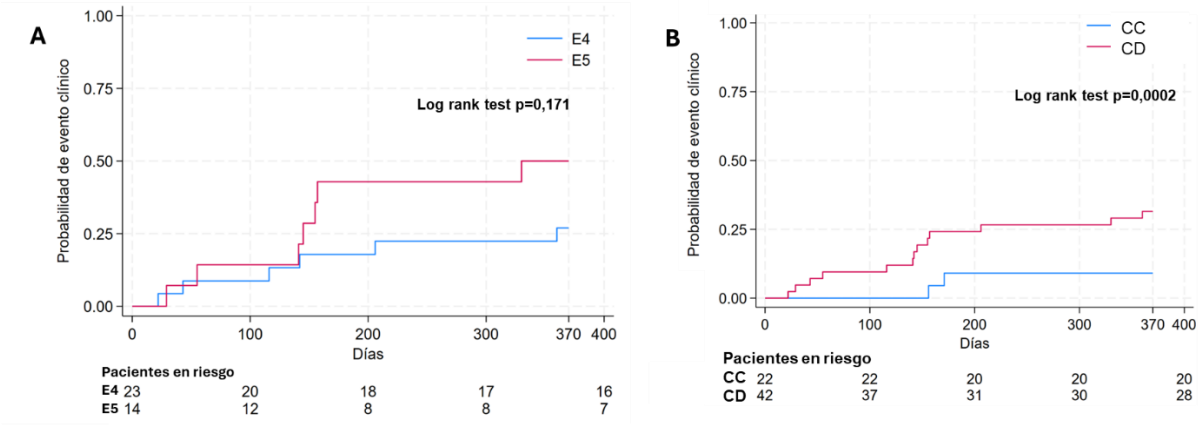
Abreviaturas: RIQ rango intercuartílico; E estadio, VEG Varices esofagogástricas

Figura 13. Análisis de valores medianos de marcadores plasmáticos según evento al año



La incidencia de presentar un evento al año fue 0%, 10%, 8,3% y 0% y para los NC, E1, E2, E3, sin ser las diferencias estadísticamente significativas (p=0,514). La incidencia en los pacientes en E4 fue de 26,1% y 50% en el E5, sin diferencias entre ambos estadios (p=0,171) (Figura 14A). Evaluar las diferencias entre cirrosis compensada y cirrosis descompensada la incidencia acumulada de evento al año fue de un 9% y un 30,1% respectivamente (p=0,0002) (Figura 14B).

Figura 14. Incidencia de evento clínico al año en la cohorte "NO INFECCIÓN"



A. Incidencia de evento clínico al año según estadio (E4 vs E5) **B**. Incidencia de evento clínico en pacientes con cirrosis (compensada vs descompensada)

Abreviaturas: E estadio; CC cirrosis compensada, CD cirrosis descompensada

Posteriormente, se realizó un análisis mediante regresión múltiple de Cox para tratar de identificar aquellos parámetros predictores de evento clínico al año en los pacientes en E≥4, siendo el MELD, el único predictor independiente de evento clínico al año (Hazard Ratio 1,39 [1,02-1,89; p=0,036]). (Tabla 8).

Tabla 8. Análisis mediante regresión de Cox para la valoración de potenciales predictores de evento clínico al año en la cohorte "NO INFECCIÓN"

	Univariado			***Multivariado***		
	HR	**IC 95%**	**Valor p**	**HR**	**IC 95%**	**Valor p**
MELD	1,39	1,02 – 1,89	**<0,001**	1,61	1,27-2,03	**<0,001**
PCR	1,04	1,02 - 1,05	**<0,001**	0,99	0,93-1,06	0,778
IL-6	1,01	1,00 - 1,02	**0,025**	1,00	0,98-1,03	0,708
Procalcitonina	5,25	1,41 - 19,5	**0,013**	3,25	0,05-200	0,576
CD163	1,00	1,00 - 1,00	**0,006**	0,99	0,99-1,000	0,341
CD14	1,00	0,99 - 1,00	0,490	-	-	-
MDW	1,29	1,04 - 1,61	**0,022**	1,93	0,79-2,59	0,239

Abreviaturas: HR Hazard ratio

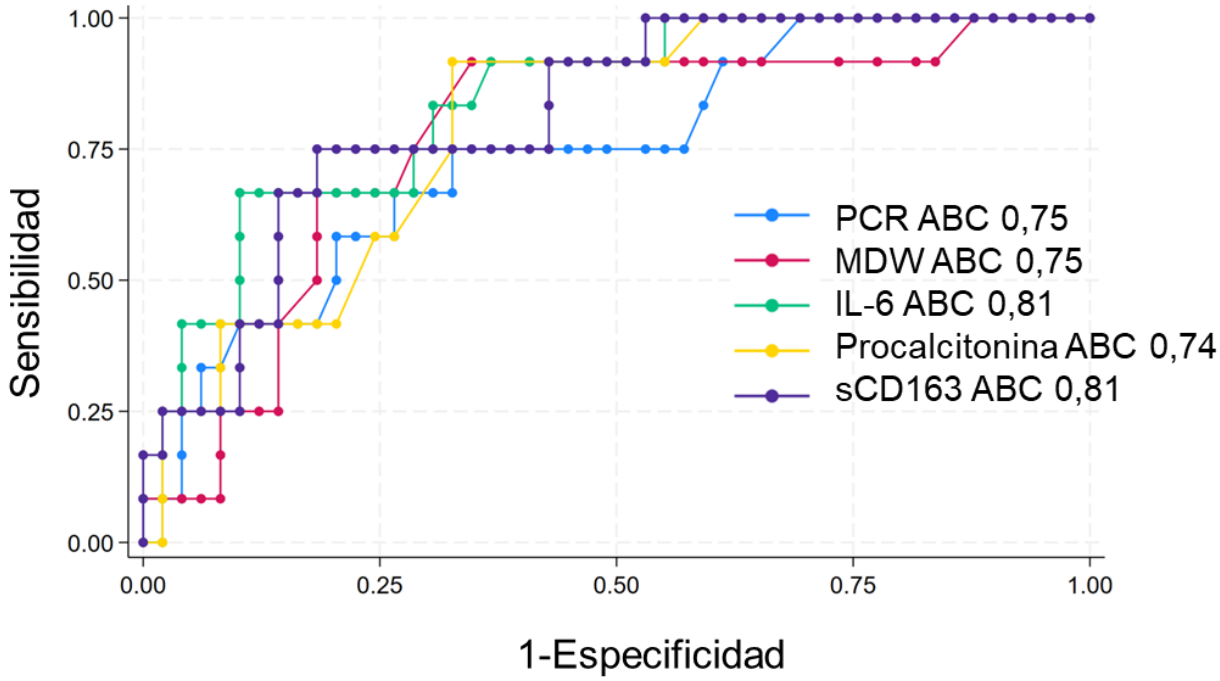
Adicionalmente, se realizó un análisis para evaluar la capacidad discriminativa de evento clínico al año de los diferentes marcadores plasmáticos evaluados en nuestra cohorte mediante curva ROC y se comparó con el valor de MELD. Para ello, se excluyeron del análisis aquellos pacientes sin cirrosis (NC=19).

En la figura 14 se muestran las curvas ROC con ABC >0,7. Al evaluar las diferencias entre las curvas ROC con valor >0,7 (tomando como referencia el MELD) no se hallaron diferencias estadísticamente significativas (p=0,11). El mayor área bajo la curva lo obtuvo el MELD (ABC 0,87) seguido de IL-6 (0,81), PCR (0,75) y MDW (0,75).

La adición de PCR y MDW al MELD presentó una mayor ABC que el MELD aislado (MDW+PCR+MELD: ABC 0,90 [IC 95% 0,83-0,98]); así como la adición de PCR (ABC MELD+PCR: 0,88 [IC 95% 0,79-0,97]) y la adición de MDW (MDW+PCR: ABC de 0,89 [IC 95% 0,81-0,97]). (Figura 15A)

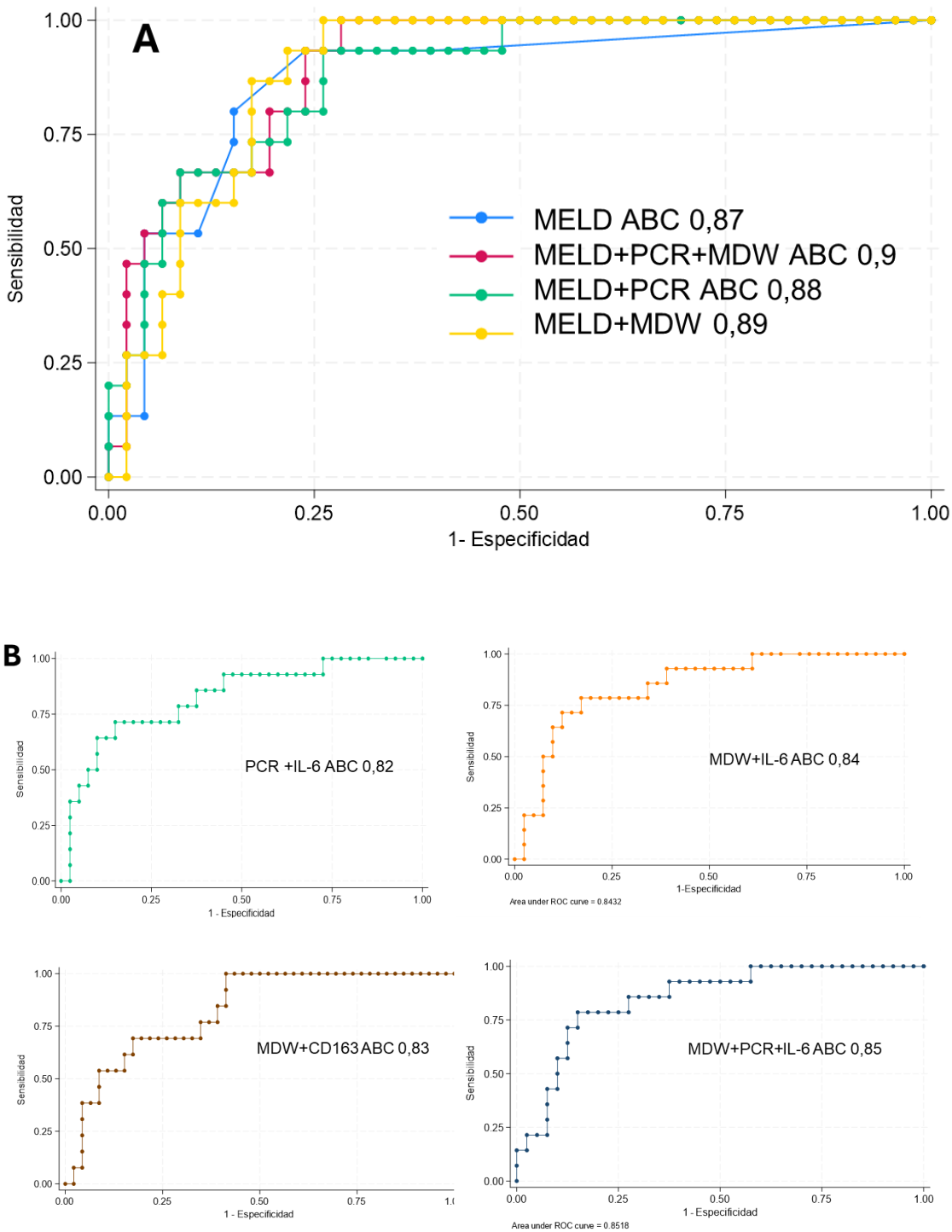
A pesar de que la combinación de biomarcadores, mejoró la capacidad discriminativa que presentaban individualmente: IL-6+PCR+MDW (ABC 0,85 [IC 95% 0,74-96], PCR+MDW+CD163 (ABC 0,83 [0,71-0,95]), IL-6+PCR (ABC 0,82 [IC 95% 0,69-0,95]), IL-6+MDW (ABC 0,84 [IC 95% 0,72-0,96]), MDW+CD163 (ABC 0,83 [IC 95% 0,71-0,94]), ninguna de las combinaciones fue superior al MELD. (Figura 15B)

Figura 14. Análisis mediante curva ROC de capacidad discriminativa individual de evento clínico al año en la cohorte "NO INFECCIÓN"



Abreviaturas: ABC área bajo la curva

Figura 15. Análisis mediante curva ROC de capacidad discriminativa de evento clínico al año



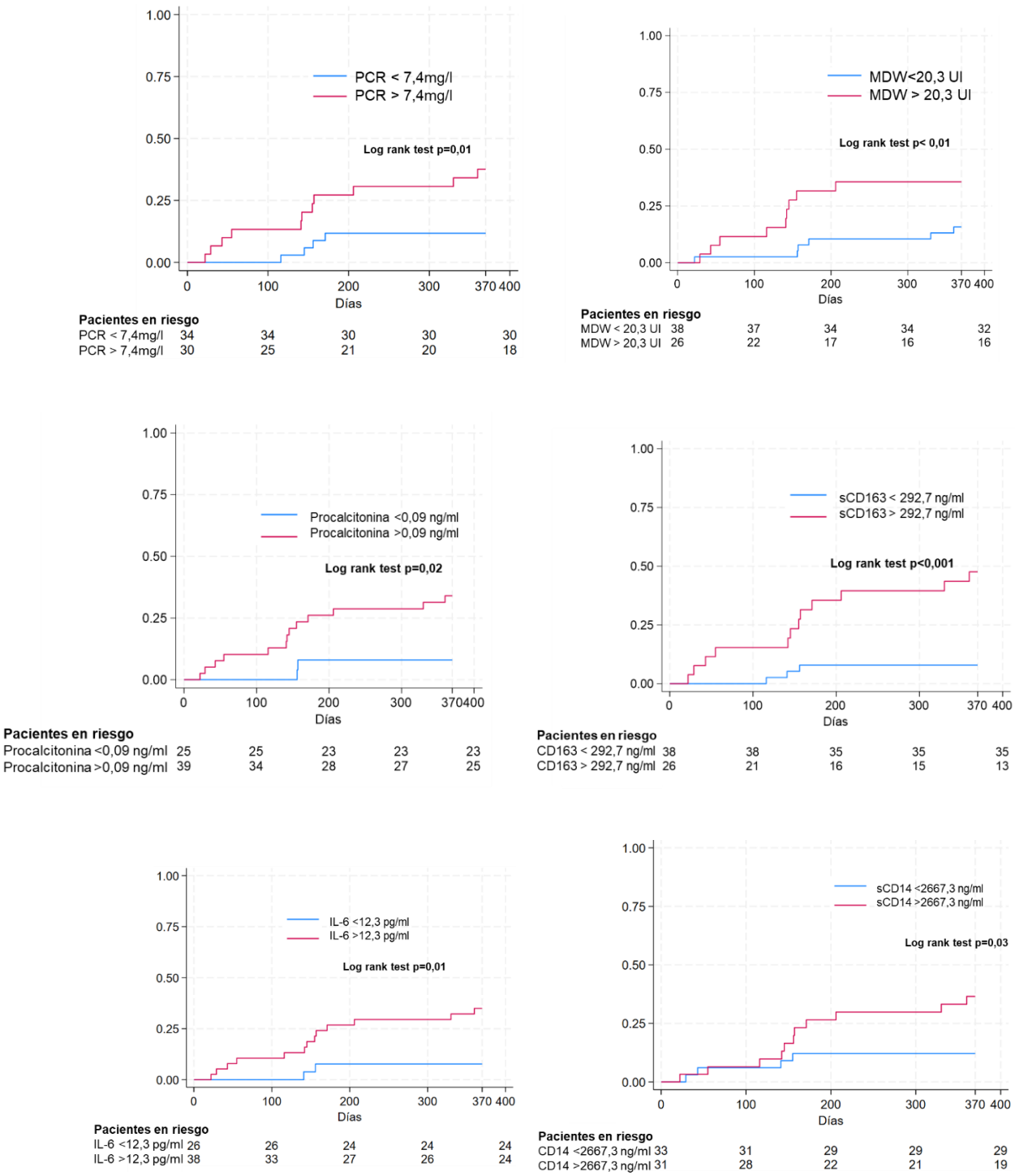
Abreviaturas: ABC área bajo la curva

En aquellas proteínas plasmáticas que alcanzaron al menos un área bajo la curva de 0,7 y en base al índice de Youden, se estableció el mejor punto de corte para la discriminación de evento clínico al año (Tabla 9). En base a estos puntos de corte, los pacientes con cirrosis (E1-E5) con valores elevados de IL-6 (>12,3pg/ml; log-rank p=0,01), PCR (7,4mg/l; log-rank p=0,01); procalcicionina (>0,08 ng/ml; log-rank p=0,02) y CD163 (>292,7 ng/ml; log-rank p<0,001); CD14 (2667,3 ng/ml, log-rank p=0,03); MDW (>20,3 UI; log-rank p<0,01) presentaron una mayor incidencia de evento clínico al año. (Figura 16).

Tabla 9. Puntos de corte para la discriminación de evento clínico al año

Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad	Índice de Youden	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad	Índice de Youden
Proteína C reactiva (mg/l)				**Procalcitonina (ng/ml)**			
>7,4	80%	68,8%	**0,488**	**>0,08**	86,7%	55,6%	0,422
>7,8	73,3%	68,8%	0,421	**>0,09**	86,7%	68,5%	**0,551**
>7,9	73,3%	71,9%	0,452	**>1**	73,3%	68,5%	0,419
IL-6 (pg/ml)				**CD163 (ng/ml)**			
>12,3	92,9%	64,4%	**0,573**	**> 287,6**	76,9%	75,8%	0,527
>13,4	85,7%	67,8%	0,535	**>289,3**	76,9%	77,3%	0,542
>14,9	85,7%	69,5%	0,552	**>292,7**	76,9%	81,8%	**0,587**
CD14 (ng/ml)				**MDW**			
>2667,3	69,2%	66,7%	**0,359**	**>20,1**	77,3%	68,7%	0,419
>2690,4	69,2%	68,2%	0,374	**>20,2**	66,7%	70,2%	0,369
>2691,2	61,5%	68,2%	0,297	**>20,3**	66,7%	71,6%	**0,428**

Figura 16. Incidencia de evento clínico al año en base a puntos de corte en la cohorte "NO INFECCIÓN"



5.3.2. Cohorte "INFECCIÓN"

Diez pacientes (47,6%) presentaron un evento clínico al año (2 pacientes fallecieron a los 28 días, 5 pacientes fueron hospitalizados entre el primer y tercer mes, 1 paciente fue hospitalizado desde el tercer al sexto mes y 2 fueron hospitalizados desde el sexto mes al año). El 80% fueron ingresos por descompensación y/o infección bacteriana y 20% fallecimiento. Los pacientes que presentaron el evento fueron mayoritariamente hombres (80%) y con un MELD superior a los que no presentaron el evento en el momento de la infección (19 vs 11; p=0,006), pero con MELD similar en el momento de la resolución (13 vs 11; p=0,06). La probabilidad de presentar un evento al año fue del 50% tanto en el estadio E4 como en el estadio E5, no observándose eventos en los pacientes del estadio E3.

En el análisis univariado, el MELD en el momento de la infección presentó diferencias estadísticamente significativas entre aquellos pacientes que presentaron 1 evento al año comparado con los que no lo presentaron (19 [15-24] vs 11 [8-19]; p=0,007) (Tabla 10). El resto de biomarcadores analizados en función de la incidencia de evento clínico al año y el momento de la extracción están representados en las (Figuras 17 y 18). Ninguno de las proteínas evaluadas presentó diferencias significativas entre aquellos pacientes con evento al año y los que no lo presentaron, ni en el momento de la infección ni tras su resolución.

Tabla 10. Características de los pacientes que presentan un evento clínico al año

	EVENTO (N=10)	NO EVENTO (N=11)	VALOR P	EVENTO (N=10)	NO EVENTO (N=11)	VALOR P
	MOMENTO DE LA INFECCIÓN			**TRAS RESOLUCIÓN INFECCIÓN**		
MELD	19 (15-24)	11 (8-19)	**0,006**	13 (12-16)	11 (9-14)	0,073
PCR	60,2 (10,4-118,4)	17,7 (5,3-102,1)	0,314	11,8 (5,4-25)	5,5 (2,2-30,7)	0,387
IL-6	55,9 (26,8-246,22)	42,1 (20,6-46,6)	0,408	26,8 (14-29,7)	18,6 (10,1-55,7)	0,912
MDW	22,8 (20,2-27,7)	22,2 (20,4-24,4)	0,812	21,8 (19,7-24)	21,6 (20,9-22,5)	0,931
Procalcitonina	0,97 (0,40-6,3)	0,29 (0,07-0,84)	0,128	0,12 (0,08-0,24)	0,12 (0,09-0,3)	0,779
CD163	358,7 (249,2-445,9)	326,7 (114,1- 466,3)	0,657	316,1 (240,1- 497,6)	318,6 (229,1- 411,5)	0,905
CD14	2904,5 (2552,8-3044,2)	2943,7 (2396,1-4251,8)	0,545	2381,3 (2238,2-316,2)	3092,7 (2931,7- 3789,8)	0,095
S100A8/S100A9	492,9 (166,1-993,8)	820,5 (404,8-864,6)	0,492	182,4 (66,3-347062,9)	349,2 (267,7-816,6)	0,053
Copeptina	215,5 (178,9-370,4)	414,3 (224-736,7)	0,238	441,6 (326,3-598,5)	324,6 (277,5-540,2)	0,549
CD5L	11256 (5760,3-29743,4)	9085 (6216,1- 12938,7)	0,717	11524,6 (8863,8-13261,1)	8018,2 (6728,4-14146,1)	0,356

Figura 17. Valor mediano de biomarcadores en el momento de la infección en función de evento clínico al año

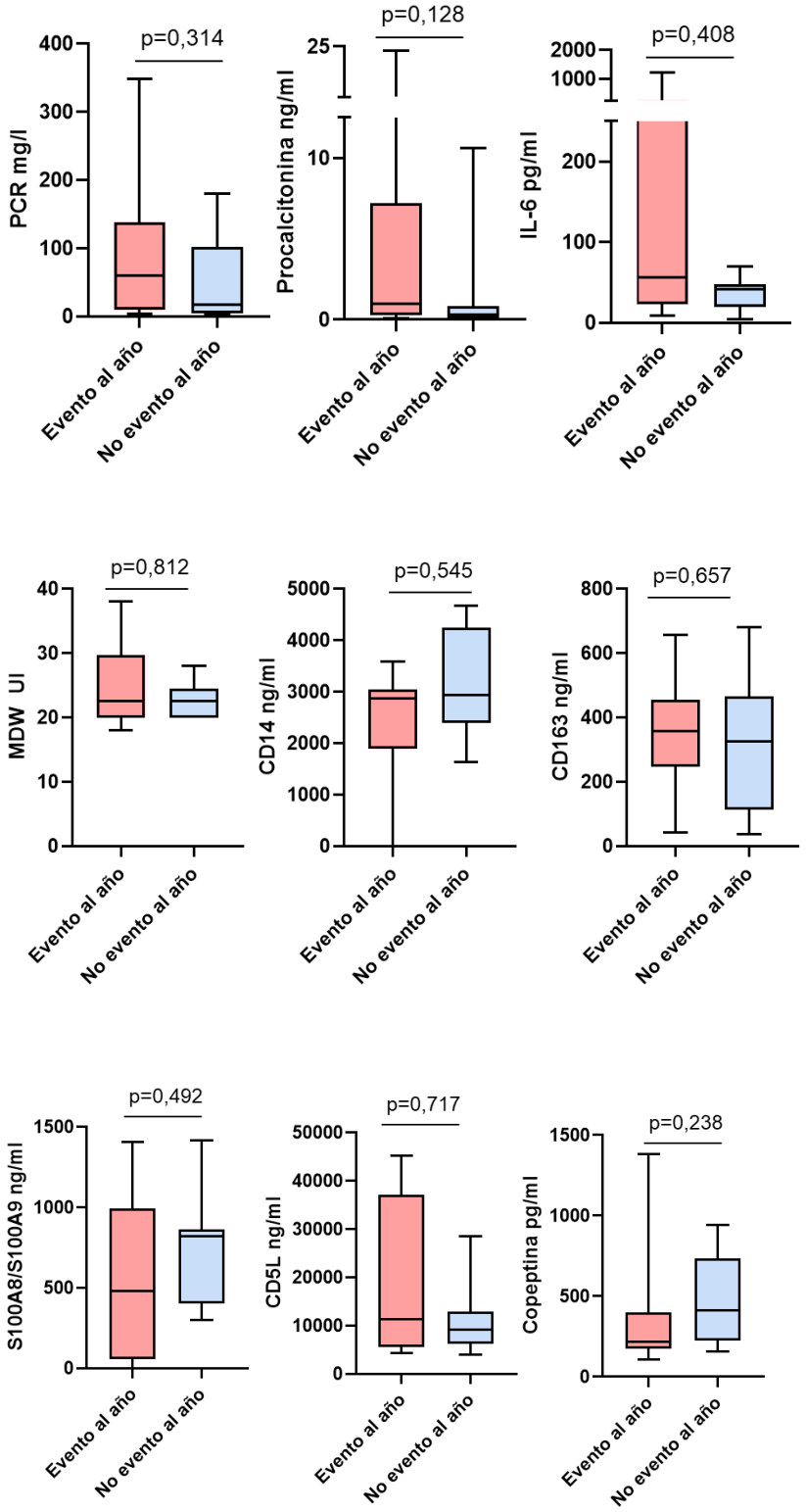
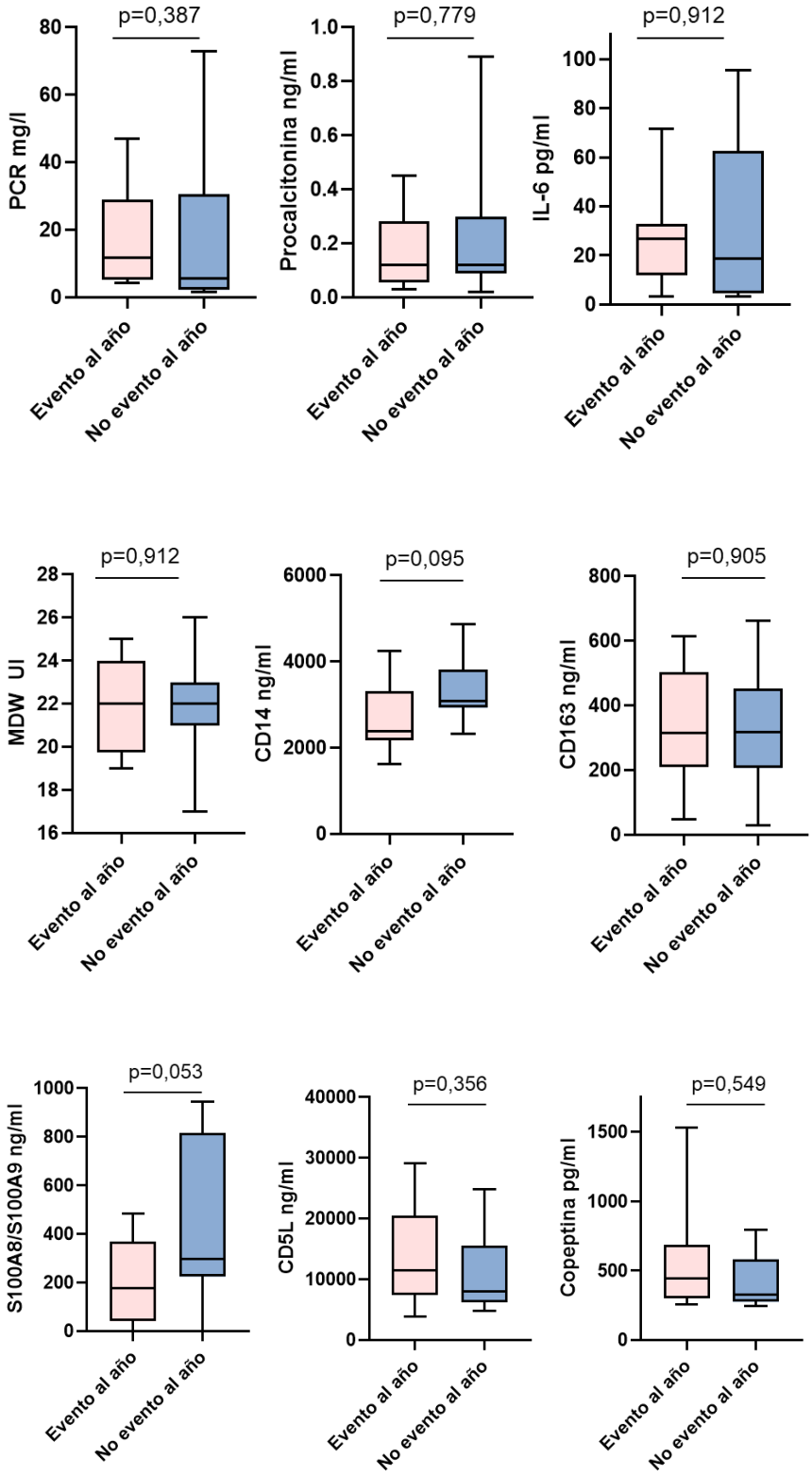


Figura 18. Valor mediano de biomarcadores en el momento de la resolución en función de evento clínico al año



También se evaluó la capacidad discriminativa para evento al año de la inclusión de las proteínas plasmáticas al momento de la infección y tras su resolución. Únicamente la procalcitonina obtuvo un valor de discriminación por encima de 0,7 en el momento de la infección (ABC 0,719 [IC 95% 0,461 – 0,976]) (Tabla 11), siendo el mejor punto de corte obtenido de 0,62 ng/ml (Se 75%; Es 70%; Índice de Youden 0,45). (Tabla 12). En el análisis de regresión de Cox, ninguna de las proteínas plasmáticas ni el MELD antes y después de la infección, demostraron significación estadística para la predicción de evento clínico al año en el análisis univariado (Tabla 13).

Tabla 11. Área bajo la curva de los marcadores para la discriminación de evento clínico al año

	INFECCIÓN		RESOLUCIÓN INFECCIÓN	
	ABC	**IC 95%**	**ABC**	**IC 95%**
PCR	0,636	0,386-0,887	0,636	0,386-0,887
Procalcitonina	**0,719**	**0,461 – 0,976**	**0,457**	**0,185- 0,734**
IL-6	0,626	0,319-0,932	0,626	0,319-0,932
MDW	0,535	0,256-0,914	0,535	0,256-0,914
CD14	0,409	0,135- 0,683	0,409	0,135- 0,683
CD163	0,568	0,291-0,844	0,568	0,291-0,844
Copeptina	0,329	0,05-0,604	0,329	0,05-0,604
CD5L	0,557	0.255 -0.858	0,557	0.255 -0.858
S100A8/S100A9	0,3977	0,101-0,694	0,3977	0,101-0,694

Abreviaturas: ABC Área bajo la curva

Tabla 12. Puntos de corte para la discriminación de evento clínico al año en la cohorte ”INFECCIÓN”

Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad	Índice de Youden
Proteína C reactiva (mg/l)			
>10,1	76,2%	52,5%	0,31
>10,4	76,2%	55%	0,29
>10,8	71,4%	55%	**0,32**
Procalcitonina (ng/ml)			
>0,16	77,8%	60,5%	38,3
>0,17	77,8%	63,2%	**41**
>0,21	72,2%	65,8%	38
MDW (UI)			
>20,2	**85%**	**46,3%**	**31,3**
>20,4	80%	48,8%	28,8
>20,8	65%	60,1%	25,1

Tabla 13. Análisis mediante regresión de Cox de evento clínico al año

	INFECCIÓN		NO INFECCIÓN	
	HR	**IC 95%**	**HR**	**IC 95%**
MELD	0,98	0,86-1,1	0,93	0,76-1,13
PCR	0,99	0,99-1,01	0,98	0.93-1.03
IL-6	1,00	0,99-1,01	0,98	0,95-1,02
Procalcitonina	0,97	0,89-1,06	0,02	0,00-18,15
CD163	0,99	0,99-1,01	0,99	0,99-1,00
CD14	1,00	0,99-1,00	1	0,99-1,00
MDW	0,97	0,88-1,01	0,92	0,68-1,29
CD5L	0,99	0,99-1,00	1,00	0,99-1,00
S100A8/S100A9	1	0,99-1,00	1	0,99-1,00
Copeptina	0,99	0,99-1,01	1	0,99-1,00

Abreviaturas: HR Hazard Ratio

Finalmente, se analizaron los pacientes en los que los parámetros de inflamación sistémica o fibrosis fueron superiores en el momento de la resolución que al momento de la infección, sin hallarse asociación con el desarrollo de eventos al año. Tampoco se hallaron diferencias al comparar un descenso superior al 50% vs descenso <50% o ascenso en T1.

5.4. Obtención de mejor punto de corte para el diagnóstico de infección

Por último, se realizó un análisis de la capacidad discriminativa para infección bacteriana en aquellos pacientes con cirrosis descompensada de la cohorte "NO INFECCION" y de la cohorte "INFECCIÓN". Las características basales de los pacientes analizados están detalladas en la Tabla 14 y ambos grupos presentaron características similares a excepción del número de pacientes en E4 y E5, siendo este último superior en los pacientes infectados. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las proteínas plasmáticas exploradas entre ambos grupos.

Tres de las proteínas plasmáticas presentaron un área bajo la curva superior a 0,7 (Tabla 15, Figura 19): PCR, procalcitonina y MDW. En base al análisis de Se y Esp y tras calcularse el Índice de Youden, se establecieron que los mejores puntos de corte individuales para el diagnóstico de infección fueron PCR >10,8mg/l, procalcitonina >0,17 ng/ml y MDW >20,2 UI.

Tabla 14. Características basales cohorte “INFECCIÓN” y “NO INFECCIÓN”

	COHORTE NO INFECCIÓN (N=42)	COHORTE INFECCIÓN (N=21)	VALOR P
Edad	64 (57-70)	67 (56-74)	0,931
Hombre	31 (73,8)	12 (57,1)	0,252
Hipertensión arterial	23 (54,8)	12 (57,1)	1,000
Diabetes mellitus	14 (33,3)	11 (53,4)	0,178
Infección bacteriana*	7 (16,7)	5 (23,8)	0,513
Ingreso hospitalario*	8 (19,1)	9 (42,9)	0,070
Hospital de Dia*	1 (2,4)	3 (13,4)	0,104
Consulta en urgencias*	13 (31)	14 (66,7)	0,014
ETIOLOGÍA			
ALCOHOL	19 (45,2)	9 (42,8)	1,000
VHC	4 (9,5)	1 (4,8)	1,000
VHB	-	1 (4,8)	1,000
VHC+ALCOHOL	1 (2,4)	-	
MASLD	8 (19,1)	4 (19,1)	1,000
MetALD	8 (19,1)	3 (14,3)	1,000
OTRAS	2 (4,76)	3 (14,3)	1,000
VEG	28 (66,7)	16 (76,2)	0,564
MELD	13 (9-17)	15 (11-20)	0,239

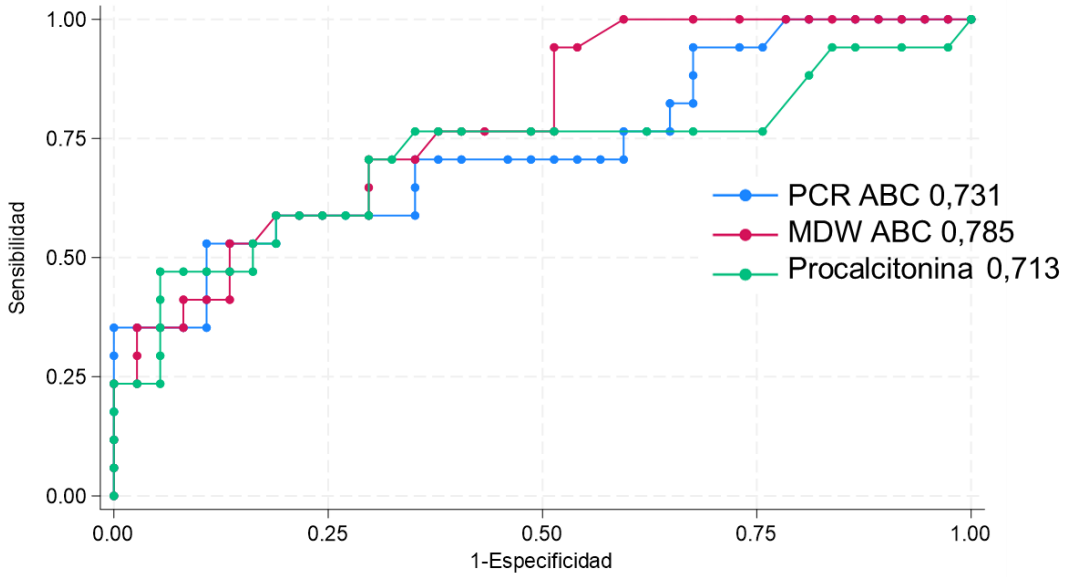
DESCOMPENSACIÓN PREVIA	42 (100)	20 (95,2)	0,333
ESTADIO 3	5 (11,9)	1 (4,8)	0,654
ESTADIO 4	26 (61,9)	6 (28,6)	0,017
ESTADIO 5	11 (26,2)	14 (66,6)	0,003
PROTEÍNAS PLASMÁTICAS			
PCR (mg/l)	8,7 (2,45-21,2)	7,4 (4,2-25)	0,726
Procalcitonina (ng/ml)	0,12 (0,1-0,2)	0,12 (0,1-0,3)	0,779
IL-6 (pg/ml)	16,3 (10,4-44)	22,3 (9,8-36,3)	0,893
MDW (UI)	20,5 (19,6-22,3)	21,7 (20,9-22,5)	0,246
CD5L (ng/ml)	9215,3 (6893,8-17969,5)	8863,8 (6728,4 – 14146,1)	0,968
CD14 (ng/ml)	2612,8 (1991,8-3097,9)	2935,5 (2340,1-3473,8)	0,098
Copeptina (pg/ml)	337,9 (258-619,4)	388,3 (277,5-598,5)	0,576
S100A8/S100A9 (ng/ml)	366,6 (241,8-719,4)	270,0 (171,6-483,3)	0,284
CD163 (ng/ml)	281,6 (140,7-444,7)	316,1 (229,1-497,6)	0,469

Tabla 15. Área bajo la curva para el diagnóstico de infección

	ABC (IC 95%)	Punto de corte propuesto	Sensibilidad	Especificidad
PCR	**0,742 (0,607-0,877)**	**10,8**	**71,4%**	**55%**
MDW	**0,715 (0,575-0,855)**	**20,2**	**85%**	**46%**
Procalcitonina	**0,710 (0,544-0,874)**	**0,17**	**77,8%**	**63,3%**
IL-6	0,694 (0,548-0,840)			
Copeptina	0,398 (0,229-0,566)			
CD14	0,605 (0,446-0,763)			
S100A8/A9	0,646 (0,489-0,803)			
CD163	0,540 (0,376-0,703)			
CD5L	0,487 (0,321-0,653)			

Abreviatura: ABC Área bajo la curva

Figura 19. Curva ROC para el diagnóstico de infección



Abreviaturas: ABC área bajo la curva

DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

La historia natural de la cirrosis, está condicionada por múltiples factores entre los que se encuentran: el incremento en la presión portal, la circulación hiperdinámica, la TB y la inflamación sistémica. En los últimos años, se ha propuesto una aproximación multi-estadio, basada en características clínicas y determinaciones hemodinámicas que permiten clasificar a los pacientes en función de la mortalidad asociada. (3) Adicionalmente, existe una creciente evidencia del papel que juega la inflamación sistémica en la progresión de la cirrosis, con datos que sugieren que puede estar relacionada con el aumento de presión portal, con la disfunción circulatoria e incluso con la aparición de eventos clínicos. (146–148)

Asimismo, el incremento en la incidencia de cirrosis a nivel mundial (149) asociada a la elevada morbi-mortalidad que conlleva (relacionada fundamentalmente con las descompensaciones agudas y las infecciones bacterianas), junto con la escasez de terapias dirigidas una vez establecida la enfermedad, hacen que sea esencial una mejor comprensión de la fisiopatología para poder establecer nuevas estrategias terapéuticas. El estudio de la interacción entre parámetros de inflamación sistémica y disfunción hepática son de especial interés para poder definir nuevos biomarcadores diagnósticos, pronósticos y predictivos de las complicaciones de la cirrosis.

En este sentido, en la presente tesis, se han analizado dos cohortes de pacientes: una cohorte que incluye todo el espectro de la enfermedad hepática crónica teniendo en cuenta la clasificación de Amico et al, basada en la estratificación en estadios pronósticos de la cirrosis (3) y sin infección aguda asociada, así como un subgrupo

de pacientes sin fibrosis significativa y una segunda cohorte de pacientes en estadíos avanzados e infección bacteriana. De todos ellos, se ha analizado un panel de biomarcadores relacionados con la inflamación sistémica y la fibrosis.

En nuestra serie de pacientes sin infección bacteriana, se observa un aumento progresivo de los niveles de los biomarcadores seleccionados relacionados con la inflamación sistémica: PCR, procalcitonina, IL-6, MDW y sCD163. Este incremento se hace especialmente relevante cuando se comparan los valores de los pacientes que presenta una descompensación clínica diferente a la hemorragia o más de una descompensación, con estadios previos (≥E4 vs <E4). Estos hallazgos apoyan la idea de que el grado de inflamación sistémica está relacionado con el pronóstico de estos pacientes.

También se evaluaron las diferencias en biomarcadores plasmáticos en los pacientes E4 (el grupo más numeroso) en base a si los pacientes habían sido incluidos de manera ambulatoria o tras hospitalización. A pesar de que el valor de algunos biomarcadores como la PCR, la procalcitonina o MDW fueron superiores en pacientes hospitalizados, estas diferencias únicamente fueron significativas para el valor de IL-6. La ausencia de diferencias significativas, apoya la hipótesis de la inflamación sistémica inherente al estadío y no necesariamente condicionada por un proceso intercurrente.

En todos los estadios de los pacientes de la cohorte sin infección se hallaron valores de PCR y IL-6 por encima del valor superior de la normalidad para individuos sanos, siendo este porcentaje superior en estadios avanzados. No obstante, el 35% de los pacientes NC presentaron valores superiores a la normalidad de PCR y hasta

el 61% en el caso de IL-6. Este hecho, sugiere que incluso en los estadios iniciales existe cierto grado de inflamación sistémica. En los últimos años, se ha hipotetizado que, en estadios menos avanzados, a pesar de que no ocurra traslocación de bacterias, se produce cierto grado de traslocación de subproductos bacterianos, que podría justificar un incremento de la actividad inflamatoria. (150)

En relación a la procalcitonina, a pesar de que en la práctica clínica habitual se utiliza como herramienta diagnóstica ante la sospecha de infección bacteriana, la íntima relación de la TB y la cirrosis ha promovido que también haya sido objeto de interés en el ámbito de la cirrosis (76–78)Estudios recientes sugieren que el valor de procalcitonina, aunque no alcanza los valores establecidos para la sospecha de infección bacteriana (>0,5 ng/ml), aumenta a medida que progresa la enfermedad hepática (76) En nuestro caso, de manera similar a otros estudios prospectivos en pacientes sin infección bacteriana documentada, los pacientes con cirrosis descompensada, presentan valores superiores a los pacientes NC o con cirrosis compensada.

El MDW es un parámetro hematológico que se ha asociado a la presencia de sepsis(151) y que proporciona información cuantitativa sobre los cambios morfológicos que en los monocitos. Su reciente implementación en algunos centros condiciona que no dispongamos de valores de referencia validados. En nuestra cohorte de pacientes sin infección, observamos un incremento progresivo y significativo de este parámetro a medida que avanza la enfermedad. Aunque disponemos de escasa evidencia en pacientes con cirrosis, nuestros datos son acordes a los reportados en un reciente estudio realizado en pacientes con y sin cirrosis, donde se reporta una correlación positiva entre la disfunción hepática

medida por la escala de CPT y el MDW (111). Algunas de las hipótesis que podrían justificar esta correlación positiva está en relación a que el daño celular y la inflamación sistémica que se produce en esta patología, produce la activación de los monocitos y cambios en su tamaño y distribución.

En relación a la calprotectina (S100A8/S100A9), en esta cohorte no hemos evidenciado diferencias entre los distintos estadios de la enfermedad hepática. Existen escasos estudios en la literatura que evalúen el papel de la calprotectina sérica o plasmática en pacientes con cirrosis. Recientemente, Matiollo et al, (152) reportaron valores de calprotectina superiores en pacientes con cirrosis respecto a individuos sanos, sin encontrar diferencias entre pacientes con cirrosis compensada y descompensada. Disponemos de datos de modelos preclínicos que muestran cambios en la expresión de S100A8/S100A9 en monocitos humanos estimulados con norepinefrina (123) Estos autores, evidenciaron una disminución en la expresión de esta molécula al administrar propranolol. En nuestra cohorte, llama la atención como la calprotectina plasmática es la única proteína evaluada que presenta un valor significativamente inferior en pacientes con tratamiento betabloqueante no cardioselectivo, a pesar de tratarse de pacientes con estadios más avanzados. Es por ello, que una posible hipótesis a la ausencia de diferencias en la determinación de calprotectina plasmática o sérica, sea debida a la administración de fármacos que producen alteración del sistema nervioso adrenérgico, especialmente administrados en pacientes con cirrosis descompensada, lo que produciría una tendencia a la equiparación de los valores entre estadios.

La copeptina es un biomarcador de especial interés en situaciones de sepsis o shock séptico. A pesar de que se desconoce plenamente su función fisiológica, el hecho

de que comparta propiedades equimolares con la arginina-vasopresina, hace que haya emergido como un biomarcador subrogado de esta proteína. En nuestra cohorte de pacientes sin infección, los valores de copeptina presentaron una tendencia decreciente entre los estadios más avanzados, aunque no significativa. Por otro lado, el valor de copeptina de nuestra cohorte de pacientes no infectados, es inferior al descrito en otras cohortes, (84,89) probablemente debido a que se trata de pacientes en su mayoría estables clínica y hemodinámicamente, la gran mayoría no hospitalizados y sin infección bacteriana.

El biomarcador CD14, considerado clásicamente como un indicador de endotoxemia, debido a que forma parte del receptor del LPS, también ha sido estudiado como potencial biomarcador pronóstico en la cirrosis. En nuestra cohorte, se evidencia un aumento, no significativo, de los niveles de CD14 a medida que avanza la enfermedad hepática. Estos hallazgos son concordantes con los descritos en estudios previos (34,127) en los que también se describe, valores de CD14 superiores en los pacientes con cirrosis.

La proteína CD5L, sintetizada fundamentalmente por macrófagos se encuentra implicada, entre otros procesos, en la inhibición de la apoptosis y la fibrosis en el contexto de la cirrosis (138) En nuestra cohorte, los pacientes con cirrosis compensada y descompensada presentan un valor superior y con diferencias significativas respecto a los pacientes NC. Estos datos son consistentes con la implicación de CD5L en la fibrogénesis hepática y los valores son acordes a los obtenidos en estudios previos desarrollados en nuestro grupo (145)

Tras analizar los valores de cada uno de los biomarcadores en los diferentes estadíos de enfermedad hepática para su caracterización, realizamos un análisis de correlación entre dichos biomarcadores. En la cohorte de pacientes sin infección, destacó la fuerte correlación entre PCR y IL-6 ($r=0,71$; $p=0,001$), probablemente debido a la relación fisiológica entre ambas. Esta correlación, es especialmente relevante en estadios avanzados de la enfermedad, alcanzando valores superiores a $r>0,8$. Este hallazgo, es probablemente la consecuencia del valor superior de ambas proteínas en estadios avanzados. Asímismo, el valor de IL-6 también presentó una correlación positiva y moderada ($r=0,61$; $p<0,001$) con CD163. La correlación entre ambos biomarcadores ya se había descrito previamente. La hipótesis propuesta es que IL-6 induce la expresión de algunas proteínas de membrana, como es el CD163 (153)

En cuanto a los biomarcadores previamente relacionados con la sepsis, se objetivó una correlación fuerte entre procalcitonina y MDW en estadios más avanzados de la enfermedad. De igual forma, también hallamos una asociación positiva y fuerte entre CD14 y S100A8/A9, que podría ser consecuencia de una mayor TB en estadios más avanzados. Sin embargo, CD14 no se correlacionó como se esperaba con otros biomarcadores relacionados especialmente con infección bacteriana y sepsis como son procalcitonina, MDW o copeptina.

A la luz de nuestros resultados y en línea a lo anteriormente reportado en estudios que analizan la historia natural de la cirrosis, los pacientes con cirrosis descompensada presentan un perfil de biomarcadores plasmáticos relacionados con la fibrosis e inflamación sistémica diferente a los pacientes con cirrosis compensada, caracterizado por mayor inflamación y marcadores de fibrogénesis.

Adicionalmente, en nuestro estudio, en los pacientes en E3, pese a encontrarse en una fase de descompensación clínica, presentan valores más similares a los de estadios inferiores (E1 y E2) que a los de estadios más avanzados (E4 y E5). Si bien es cierto que esto podría explicarse parcialmente por el bajo número de pacientes incluidos en este estadio, estos hallazgos son consistentes con datos previamente reportados en la literatura (3,67) Una de las hipótesis que sustenta estos hallazgos es que, tras la resolución de la hemorragia digestiva, el paciente retorna a un estado de "compensación". Contrariamente, en pacientes con ascitis o con más de una descompensación (E4 y E5), la descompensación "mantenida" podría favorecer la inflamación sistémica que se traduce en valores de las proteínas plasmáticas más elevadas. Asimismo, la inflamación sistémica crónica mantenida, podría favorecer la aparición de nuevas descompensaciones y complicaciones en estos pacientes.

El mal pronóstico de los pacientes con cirrosis descompensada en ausencia de trasplante hepático ha impulsado una intensa actividad científica orientada hacia la búsqueda de biomarcadores predictivos y pronósticos que complementen las herramientas disponibles en la actualidad, como es el caso del MELD. En nuestro estudio, la incidencia de evento clínico al año fue inferior al 10% en los estadios NC, E1-E3 y entre 26,1% y 50% en los estadios más avanzados. Esta baja incidencia en nuestra cohorte (n=15; 18,1%) está probablemente condicionada por el número de pacientes hospitalizados y con descompensación aguda. Sin embargo, el hecho de que los eventos clínicos al año ocurrieran mayoritariamente en pacientes E4 y E5 (86,7%), refuerza la hipótesis del rol pronóstico de la inflamación sistémica ante el desarrollo de eventos clínicos.

Nuestro análisis sugiere que, de todos los marcadores analizados en este estudio, y acorde con lo reportado en la literatura, (27,154)IL-6 es el marcador más preciso para discriminación de evento clínico al año. Al analizar el comportamiento de todos los biomarcadores, ninguno de ellos obtuvo una curva ROC superior al MELD, ni al analizarse individualmente ni tras su combinación. Sin embargo, la adición de PCR, MDW o ambas al MELD, consiguió mejorar su capacidad discriminativa para evento al año. Estos datos son de especial relevancia, ya que soportan la hipótesis de que los valores de inflamación sistémica aportan un valor complementario a los valores de función hepática en el pronóstico de estos pacientes.

Entre las complicaciones más relevantes y con mayor incidencia en pacientes con cirrosis se encuentran las infecciones de origen bacteriano. La susceptibilidad aumentada de estos pacientes condiciona una elevada mortalidad y consumo de recursos hospitalarios, especialmente cuando se trata de organismos multirresistentes. En muchas ocasiones, los pacientes con cirrosis que desarrollan una infección bacteriana son paucisintomáticos. Ésto, junto con la disfunción hemodinámica presente en los estadios más avanzados -que puede condicionar hipotensión arterial- y las alteraciones analíticas como la leucopenia o la elevación de biomarcadores de inflamación sistémica, dificultan a menudo un diagnóstico precoz de estos pacientes (27,154). Es por ello que el conocimiento y la comprensión de la evolución de biomarcadores de inflamación sistémica en pacientes durante y tras la infección puede ser de interés para optimizar el manejo de estos pacientes.

En nuestra cohorte incluimos pacientes con cirrosis descompensada hospitalizados y diagnosticados de una infección bacteriana al ingreso o durante el mismo. En esta población que incluyó únicamente pacientes con cirrosis descompensada, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los estadios.

Al profundizar en el análisis de cada uno de los biomarcadores en la cohorte de pacientes con infección bacteriana, observamos que el valor de copeptina se encontraba por debajo de los valores previamente reportados (89,133)Ello probablemente sea debido a que solo 3 pacientes en nuestra cohorte cumplieron criterios de ACLF y requirieron ingreso en Unidad de Cuidados Intensivos. En estudios previos, tanto la copeptina(155) como la determinación de MDW, (151) se han propuesto como posibles biomarcadores para el diagnóstico y predicción de sepsis y shock séptico, debido a las diferencias halladas entre sujetos sanos y pacientes con dichas condiciones. A razón de la fisiología de la copeptina, cabe esperar que los resultados en nuestra población de estudio difieran de aquellos realizados en pacientes con cirrosis pero con mayor disfunción circulatoria.

A pesar de que disponemos de evidencia en estudios preclínicos de la capacidad antimicrobiana de CD5L (156,157); actualmente se desconoce si CD5L es un marcador inmunológico protector o si por el contrario puede contribuir a agravar la respuesta inmunológica. Oliveira et al,(158) ha propuesto recientemente CD5L como una potencial diana terapéutica para el tratamiento de la sepsis. En nuestro estudio, a pesar de que la mediana de CD5L resultó superior en el momento de la infección, estas diferencias no fueron significativas. Ello podría ser debido al valor elevado de CD5L que presentan los pacientes con cirrosis incluso en ausencia de infección.

Tras realizar el análisis emparejado de biomarcadores de inflamación sistémica y fibrosis en el momento de la infección y tras resolución de la misma, evidenciamos diferencias estadísticamente significativas en 4 de las proteínas analizadas: PCR, procalcitonina, IL-6 y S100A8/S100A9.

El valor de PCR, procalcitonina e IL-6 ha sido descrito ampliamente para el diagnóstico de infección bacteriana. (68,159–162). Las diferencias significativas entre el momento de la infección y tras la resolución de la misma en nuestra cohorte, apoya el uso de estos parámetros en la práctica clínica como herramienta diagnóstica ante la sospecha de infección bacteriana. Cabe destacar, que en un porcentaje no despreciable de pacientes, a pesar de presentar una disminución de los valores tras la resolución de la infección, estos no retornaron a la normalidad. En el estudio de correlación entre las proteínas estudiadas, se mantiene la correlación al menos moderada entre PCR y IL-6, acorde a su relación fisiológica, tanto durante la infección como tras su resolución.

En relación a la determinación de CD163, algunos autores han descrito un aumento del mismo en el momento de presentar una infección bacteriana (125,163). Asimismo, también se ha descrito que estos valores se mantienen constantes durante varias semanas tras la resolución de la misma. Estos hallazgos sugieren que la infección bacteriana desencadena un estado inflamatorio que puede perpetuarse, condicionando potencialmente el pronóstico de estos pacientes. No disponemos de determinación de CD163 previa al momento de la infección para poder determinar dicho incremento, pero la ausencia de diferencias entre el momento de la infección y la resolución en nuestros pacientes, apoya la hipótesis de la estabilidad de los valores tras la infección.

La determinación de CD14 se ha relacionado con la respuesta a respuesta inmunológica innata a patógenos. A pesar de ellos, la TB asociada a los pacientes con cirrosis descompensada, especialmente en pacientes con ascitis se ha asociado a una determinación de CD14 elevada en pacientes con estadios igual o mayor de E4. (34) En nuestra cohorte, el valor mediano de CD14 fue muy similar durante y tras la infección, sugiriendo que esta proteína se encuentra más relacionada con la TB que con la infección bacteriana aguda. Estos datos son consistentes con los reportados por Papp et al,(164) en una cohorte prospectiva de pacientes con cirrosis (con y sin infección bacteriana), donde los pacientes con infección bacteriana, a pesar de mostrar valores superiores de PCR, LBP y procalcitonina, presentaban valores similares de CD14.

La evidencia disponible del papel del valor de MDW en la infección bacteriana proviene fundamentalmente de pacientes sin cirrosis,(151) por lo que se dispone de escasa evidencia para evaluar la consistencia de nuestros resultados. En nuestra cohorte, los pacientes presentan valores de MDW superiores al punto de corte propuesto por la mayoría de estudios para el diagnóstico de sepsis. Las alteraciones morfológicas e inmunitarias en los pacientes con cirrosis, también descritas en los monocitos, hacen que sean necesarios más estudios para determinar un punto de corte consistente en estos pacientes. Cabe destacar, que el valor de MDW presentó una correlación moderada con el valor de PCR y procalcitonina, todo ello sugestivo del potencial papel de MDW para el diagnóstico precoz de infecciones bacterianas, también en esta población.

Existe un especial interés en la determinación de la calprotectina para el diagnóstico y pronóstico de infecciones bacterianas. De hecho, desde nuestro grupo llevamos a

cabo una revisión sistématica sobre el papel de esta proteína en la cirrosis(113) (Anexo 10.5). Como se refleja en dicha revisión, la mayoría de los estudios se han centrado en el diagnóstico de PBE mediante su determinación en líquido ascítico. Únicamente disponemos de un estudio que evalúa la calprotectina plasmática en pacientes con cirrosis e infección bacteriana(165) en el que los valores son superiores en pacientes con infección activa. En nuestra cohorte, evidenciamos un descenso pronunciado del valor de calprotectina plasmática tras la resolución de la infección, probablemente debida a la íntima relación que presenta la calprotectina con los PMNs, células que habitualmente se activan ante un daño agudo.

El 47,6% de los pacientes incluidos en nuestra cohorte presentaron un evento al año de la inclusión (2 muertes y 8 ingresos hospitalarios). En nuestro caso, únicamente el MELD a la inclusión fue estadísticamente diferente entre aquellos pacientes que presentaron un evento al año. Sin embargo, ninguno de los parámetros evaluados se asoció significativamente y de manera independiente con la aparición de eventos clínicos al año. Por otro lado, la procalcitonina en el momento de la infección fue el único parámetro que presentó un ABC para la discriminación de evento clínco al año >0,7, siendo el valor con mayor sensibilidad y especificidad de 0,17ng/ml. Todo ello parece sugestivo de que el bajo número de eventos y el tamaño de la cohorte no alcanzan la suficiente potencia estadística.

Finalmente, a modo de análisis exploratorio se realizó la determinación del punto de corte óptimo para el diagnóstico de infección bacteriana en pacientes con cirrosis descompensada. Tres de los parámetros analizados presentaron un área bajo la curva >0,7 (PCR, procalcitonina y MDW). Como se ha mencionado anteriormente, los tres parámetros se han descrito en la literatura como biomarcadores de infección

bacteriana (166,167) A pesar de la baja Esp y Se de los tres parámetros para el diagnóstico de infección en nuestra cohorte, los puntos de corte seleccionados mediante el Índice de Youden, son acordes a lo reportado previamente. Es probable que el valor Se y Esp sea consecuencia del elevado valor de los parámetros de inflamación sistémica en nuestra cohorte, lo que dificulta la determinación de un valor discriminativo.

Una de las limitaciones de este estudio, es la falta de igualdad en la inclusión de pacientes de sexo masculino y femenino, condicionado por las características demográficas habituales en esta población. Otra de las limitaciones es el hecho de que se trate de un estudio unicéntrico y con inclusión no consecutiva. Esto es debido a la imposibilidad de incluir aquellos pacientes que ingresaron inicialmente en la Unidad de Cuidados Intensivos y no en la sala de hospitalización de Hepatología. El bajo número de eventos al año no permite realizar un análisis robusto de los diferentes componentes del evento clínico (infección bacteriana, reingreso, descompensación y fallecimiento). Adicionalmente, no disponemos de estudio hemodinámico en la mayoría de los pacientes para valorar el GPVH lo que hubiera permitido correlacionar los hallazgos obtenidos con el grado de hipertensión portal.

A pesar de ello, los resultados de nuestro estudio, ponen de manifiesto la correcta caracterización en estadios de cirrosis en base a criterios clínicos y analíticos, ya que nuestros resultados son acordes a los reportados en la en estudios con determinación de GPVH. Por otro lado, nuestros resultados aportan evidencia a la caracterización de los estadios de la cirrosis y demuestran la asociación existente entre marcadores de fibrosis e inflamación sistémica. Por último, queda patente la

asociación entre mayores niveles de inflamación sistémica y la aparición de eventos clínicos y refuerza la hipótesis de que la inflamación sistémica juega un papel en el pronóstico de estos pacientes.

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

- Los pacientes con enfermedad hepática crónica clasificados según estadios pronósticos de la enfermedad en base a criterios clínicos y analíticos, presentan valores crecientes de parámetros de inflamación sistémica. En un elevado porcentaje de los casos, éstos son superiores a los considerados de referencia en sujetos sanos incluso en ausencia de infección.

- Existen diferencias en la determinación de estos marcadores entre pacientes con cirrosis descompensada frente a los pacientes con cirrosis compensada. Sin embargo, los pacientes con una descompensación en forma de hemorragia digestiva presentan un perfil similar a los pacientes con cirrosis compensada.

- La adición de biomarcadores de inflamación sistémica a escalas pronósticas que tienen en cuenta la función hepática, puede mejorar la identificación de pacientes con peor pronóstico. Sin embargo, la inflamación sistémica presente en estadios avanzados, dificulta el establecimiento de puntos de corte óptimo para la identificación de complicaciones.

LÍNEAS DE FUTURO

8. LÍNEAS DE FUTURO

- Diseñar estudios con seguimiento prospectivo y con seguimiento a largo plazo que permitan observar mayor número de eventos para poder identificar biomarcadores asociados a la aparición de eventos clínicos y que permitan optimizar índices pronósticos ya validados y basados en la función renal y hepática.

- Asimismo, la ausencia de signos y manifestaciones clínicas que sugieran una infección bacteriana en pacientes con cirrosis descompensada, exige de la búsqueda activa de biomarcadores que permitan un diagnóstico precoz. Debido a la elevación de los parámetros de inflamación sistémica de los pacientes con cirrosis incluso en ausencia de infección, podría ser de utilidad profundizar en las estrategias dirigidas a la identificación de microorganismos.

- Comprender los cambios en la microbiota entre pacientes con cirrosis compensada, descompensada e individuos sanos que permitan el establecimiento de nuevas líneas futuras de tratamiento y profilaxis de infección bacteriana o descompensación.

- Ampliar el estudio de biomarcadores fácilmente implementables en la práctica clínica habitual como MDW en pacientes con hepatopatía crónica y cirrosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. de Franchis R, Bosch J, Garcia-Tsao G, Reiberger T, Ripoll C, Abraldes JG, et al. Baveno VII – Renewing consensus in portal hypertension. J Hepatol. 2022 Apr;76(4):959–74.

2. Karlsen TH, Sheron N, Zelber-Sagi S, Carrieri P, Dusheiko G, Bugianesi E, et al. The EASL–Lancet Liver Commission: protecting the next generation of Europeans against liver disease complications and premature mortality. The Lancet. 2022 Jan;399(10319):61–116.

3. D'Amico G, Morabito A, D'Amico M, Pasta L, Malizia G, Rebora P, et al. Clinical states of cirrhosis and competing risks. J Hepatol. 2018 Mar;68(3):563–76.

4. Ginès P, Krag A, Abraldes JG, Solà E, Fabrellas N, Kamath PS. Liver cirrhosis. The Lancet. 2021 Oct;398(10308):1359–76.

5. Engelmann C, Clària J, Szabo G, Bosch J, Bernardi M. Pathophysiology of decompensated cirrhosis: Portal hypertension, circulatory dysfunction, inflammation, metabolism and mitochondrial dysfunction. J Hepatol. 2021 Jul;75 Suppl 1(Suppl 1):S49–66.

6. Gracia-Sancho J, Caparrós E, Fernández-Iglesias A, Francés R. Role of liver sinusoidal endothelial cells in liver diseases. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2021 Jun 15;18(6):411–31.

7. Gracia-Sancho J, Marrone G, Fernández-Iglesias A. Hepatic microcirculation and mechanisms of portal hypertension. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2019 Apr;16(4):221–34.

8. Villanueva C, Albillos A, Genescà J, Abraldes JG, Calleja JL, Aracil C, et al. Development of hyperdynamic circulation and response to β-blockers in compensated cirrhosis with portal hypertension. Hepatology. 2016 Jan;63(1):197–206.

9. Bosch J, Berzigotti A, Garcia-Pagan JC, Abraldes JG. The management of portal hypertension: Rational basis, available treatments and future options. J Hepatol. 2008;48:S68–92.

10. Rodrigues SG, Mendoza YP, Bosch J. Beta-blockers in cirrhosis: Evidence-based indications and limitations. JHEP Reports. 2020 Feb;2(1):100063.

11. Bolognesi M. Splanchnic vasodilation and hyperdynamic circulatory syndrome in cirrhosis. World J Gastroenterol. 2014;20(10):2555.

12. Garcia-Tsao G, Abraldes JG, Berzigotti A, Bosch J. Portal hypertensive bleeding in cirrhosis: Risk stratification, diagnosis, and management: 2016 practice guidance by the American Association for the study of liver diseases. Hepatology. 2017 Jan 1;65(1):310–35.

13. Garcia-Tsao G, Bosch J. Management of Varices and Variceal Hemorrhage in Cirrhosis. New England Journal of Medicine. 2010 Mar 4;362(9):823–32.

14. Turco L, Garcia-Tsao G. Portal Hypertension: Pathogenesis and Diagnosis. Vol. 23, Clinics in Liver Disease. W.B. Saunders; 2019. p. 573–87.

15. Simbrunner B, Caparrós E, Neuwirth T, Schwabl P, Königshofer P, Bauer D, et al. Bacterial translocation occurs early in cirrhosis and triggers a selective inflammatory response. Hepatol Int. 2023 Aug 7;17(4):1045–56.

16. Albillos A, De Gottardi A, Rescigno M. The gut-liver axis in liver disease: Pathophysiological basis for therapy [Internet]. Available from: https://livertree.easl.eu/.

17. Wood S, Pithadia R, Rehman T, Zhang L, Plichta J, Radek KA, et al. Chronic alcohol exposure renders epithelial cells vulnerable to bacterial infection. PLoS One. 2013;8(1):e54646.

18. Arab JP, Martin-Mateos RM, Shah VH. Gut–liver axis, cirrhosis and portal hypertension: the chicken and the egg. Hepatol Int. 2018 Feb 26;12(S1):24–33.

19. Shah A, Shanahan E, Macdonald G, Fletcher L, Ghasemi P, Morrison M, et al. Systematic Review and Meta-Analysis: Prevalence of Small Intestinal Bacterial Overgrowth in Chronic Liver Disease. Semin Liver Dis. 2017 Nov 22;37(04):388–400.

20. Chen Y, Yang F, Lu H, Wang B, Chen Y, Lei D, et al. Characterization of fecal microbial communities in patients with liver cirrhosis. Hepatology. 2011 Aug;54(2):562–72.

21. Lee NY, Suk KT. The Role of the Gut Microbiome in Liver Cirrhosis Treatment. Int J Mol Sci. 2020 Dec 28;22(1).

22. Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, Sanyal AJ, White MB, Monteith P, et al. Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications. J Hepatol. 2014 May;60(5):940–7.

23. J Chesta, C Defilippi. Abnormalities in proximal small bowel motility in patients with cirrhosis. Hepatology. 1993 May;17(5):828–32.

24. Albillos A, de Gottardi A, Rescigno M. The gut-liver axis in liver disease: Pathophysiological basis for therapy. J Hepatol. 2020 Mar;72(3):558–77.

25. Bellot P, García-Pagán JC, Francés R, Abraldes JG, Navasa M, Pérez-Mateo M, et al. Bacterial DNA translocation is associated with systemic circulatory abnormalities and intrahepatic endothelial dysfunction in patients with cirrhosis. Hepatology. 2010 Dec;52(6):2044–52.

26. Arab JP, Martin-Mateos RM, Shah VH. Gut–liver axis, cirrhosis and portal hypertension: the chicken and the egg. Hepatol Int. 2018 Feb 1;12:24–33.

27. Piano S, Bunchorntavakul C, Marciano S, Rajender Reddy K. Infections in cirrhosis. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2024 Aug;9(8):745–57.

28. Albillos A, Lario M, Álvarez-Mon M. Cirrhosis-associated immune dysfunction: distinctive features and clinical relevance. J Hepatol. 2014 Dec;61(6):1385–96.

29. Bonnel AR, Bunchorntavakul C, Reddy KR. Immune dysfunction and infections in patients with cirrhosis. Clin Gastroenterol Hepatol. 2011 Sep;9(9):727–38.

30. Albillos A, Martin-Mateos R, Van der Merwe S, Wiest R, Jalan R, Álvarez-Mon M. Cirrhosis-associated immune dysfunction. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2022 Feb;19(2):112–34.

31. Moreau R, Gao B, Papp M, Bañares R, Kamath PS. Acute-on-chronic liver failure: A distinct clinical syndrome. J Hepatol. 2021 Jul;75:S27–35.

32. Simonetto DA, Singal AK, Garcia-Tsao G, Caldwell SH, Ahn J, Kamath PS. ACG Clinical Guideline: Disorders of the Hepatic and Mesenteric Circulation. American Journal of Gastroenterology. 2020 Jan;115(1):18–40.

33. Arroyo V, Angeli P, Moreau R, Jalan R, Clària J, Trebicka J, et al. The systemic inflammation hypothesis: Towards a new paradigm of acute decompensation and multiorgan failure in cirrhosis. J Hepatol. 2021 Mar;74(3):670–85.

34. Albillos A, de la Hera A, González M, Moya JL, Calleja JL, Monserrat J, et al. Increased lipopolysaccharide binding protein in cirrhotic patients with marked immune and hemodynamic derangement. Hepatology. 2003 Jan;37(1):208–17.

35. Wang H, Lafdil F, Wang L, Park O, Yin S, Niu J, et al. Hepatoprotective versus oncogenic functions of STAT3 in liver tumorigenesis. Am J Pathol. 2011 Aug;179(2):714–24.

36. Muñoz L, Albillos A, Nieto M, Reyes E, Lledó L, Monserrat J, et al. Mesenteric Th1 polarization and monocyte TNF-alpha production: first steps to systemic inflammation in rats with cirrhosis. Hepatology. 2005 Aug;42(2):411–9.

37. Úbeda M, Muñoz L, Borrero MJ, Díaz D, Francés R, Monserrat J, et al. Critical role of the liver in the induction of systemic inflammation in rats with preascitic cirrhosis. Hepatology. 2010 Dec;52(6):2086–95.

38. Gibert-Ramos A, Sanfeliu-Redondo D, Aristu-Zabalza P, Martínez-Alcocer A, Gracia-Sancho J, Guixé-Muntet S, et al. The Hepatic Sinusoid in Chronic Liver Disease: The Optimal Milieu for Cancer. Cancers (Basel). 2021 Nov 15;13(22):5719.

39. Grakoui A, Crispe IN. Presentation of hepatocellular antigens. Cell Mol Immunol. 2016 May 29;13(3):293–300.

40. Francisco Gómez, Pedro Ruiz, Alan D.Schreiber. Impaired Function of Macrophage Fcγ Receptors and Bacterial Infection in Alcoholic Cirrhosis. NEJM. 1994 Oct;331:1122–8.

41. Nakagawara A, Inokuchi K, Ikeda K, Kumashiro R, Tamada R. Decreased superoxide (O2-)-generating activity of blood monocytes from patients with hepatic cirrhosis. Hepatogastroenterology. 1984 Oct;31(5):201–3.

42. Shawcross DL, Wright GAK, Stadlbauer V, Hodges SJ, Davies NA, Wheeler-Jones C, et al. Ammonia impairs neutrophil phagocytic function in liver disease†. Hepatology. 2008 Oct;48(4):1202–12.

43. Taylor NJ, Manakkat Vijay GK, Abeles RD, Auzinger G, Bernal W, Ma Y, et al. The severity of circulating neutrophil dysfunction in patients with cirrhosis is associated with 90-day and 1-year mortality. Aliment Pharmacol Ther. 2014 Sep 25;40(6):705–15.

44. Lebossé F, Gudd C, Tunc E, Singanayagam A, Nathwani R, Triantafyllou E, et al. CD8+ T cells from patients with cirrhosis display a phenotype that may contribute to cirrhosis-associated immune dysfunction. EBioMedicine. 2019 Nov;49:258–68.

45. Machicote A, Belén S, Baz P, Billordo LA, Fainboim L. Human CD8+HLA-DR+ Regulatory T Cells, Similarly to Classical CD4+Foxp3+ Cells, Suppress Immune Responses via PD-1/PD-L1 Axis. Front Immunol. 2018 Nov 29;9.

46. Arruvito L, Payaslián F, Baz P, Podhorzer A, Billordo A, Pandolfi J, et al. Identification and Clinical Relevance of Naturally Occurring Human CD8+HLA-DR+ Regulatory T Cells. The Journal of Immunology. 2014 Nov 1;193(9):4469–76.

47. Doi H, Iyer TK, Carpenter E, Li H, Chang KM, Vonderheide RH, et al. Dysfunctional B-cell activation in cirrhosis resulting from hepatitis C infection associated with disappearance of CD27-Positive B-cell population. Hepatology. 2012 Mar;55(3):709–19.

48. Berry PA, Antoniades CG, Hussain MJ, McPhail MJW, Bernal W, Vergani D, et al. Admission levels and early changes in serum interleukin-10 are

predictive of poor outcome in acute liver failure and decompensated cirrhosis. Liver International. 2010 May;30(5):733–40.

49. Bernsmeier C, Pop OT, Singanayagam A, Triantafyllou E, Patel VC, Weston CJ, et al. Patients With Acute-on-Chronic Liver Failure Have Increased Numbers of Regulatory Immune Cells Expressing the Receptor Tyrosine Kinase MERTK. Gastroenterology. 2015 Mar;148(3):603-615.e14.

50. Jalan R, Fernandez J, Wiest R, Schnabl B, Moreau R, Angeli P, et al. Bacterial infections in cirrhosis: A position statement based on the EASL Special Conference 2013. J Hepatol. 2014 Jun;60(6):1310–24.

51. Arvaniti V, D'Amico G, Fede G, Manousou P, Tsochatzis E, Pleguezuelo M, et al. Infections in Patients With Cirrhosis Increase Mortality Four-Fold and Should Be Used in Determining Prognosis. Gastroenterology. 2010 Oct;139(4):1246-1256.e5.

52. Foreman MG, Mannino DM, Moss M. Cirrhosis as a Risk Factor for Sepsis and Death. Chest. 2003 Sep;124(3):1016–20.

53. 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.

54. Ginés P, Quintero E, Arroyo V, Terés J, Bruguera M, Rimola A, et al. Compensated cirrhosis: natural history and prognostic factors. Hepatology. 1987;7(1):122–8.

55. Vilstrup H, Amodio P, Bajaj J, Cordoba J, Ferenci P, Mullen KD, et al. Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study Of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver. Hepatology. 2014 Aug;60(2):715–35.

56. Garcia-Tsao G, Abraldes JG, Berzigotti A, Bosch J. Portal hypertensive bleeding in cirrhosis. Hepatology. 2017 Jan;65(1):310–35.

57. Ripoll C, Groszmann R, Garcia–Tsao G, Grace N, Burroughs A, Planas R, et al. Hepatic Venous Pressure Gradient Predicts Clinical Decompensation in Patients With Compensated Cirrhosis. Gastroenterology. 2007 Aug;133(2):481–8.

58. D'Amico G, Pasta L, Morabito A, D'Amico M, Caltagirone M, Malizia G, et al. Competing risks and prognostic stages of cirrhosis: a 25-year inception cohort study of 494 patients. Aliment Pharmacol Ther. 2014 May 24;39(10):1180–93.

59. Bethesd (MD): National Institutes of Health (US): Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US). FDA-NIH Biomarker Working Group. FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) (Biomarkers, EndpointS, and other Tools). 2016.

60. Relling M V, Gardner EE, Sandborn WJ, Schmiegelow K, Pui CH, Yee SW, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for

Thiopurine Methyltransferase Genotype and Thiopurine Dosing. Clin Pharmacol Ther. 2011 Mar 26;89(3):387–91.

61. Miller BE, Tal-Singer R, Rennard SI, Furtwaengler A, Leidy N, Lowings M, et al. Plasma Fibrinogen Qualification as a Drug Development Tool in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Perspective of the Chronic Obstructive Pulmonary Disease Biomarker Qualification Consortium. Am J Respir Crit Care Med. 2016 Mar 15;193(6):607–13.

62. Christensen E, Schlichting P, Fauerholdt L, Gluud C, Andersen PK, Juhl E, et al. Prognostic Value of Child-Turcotte Criteria in Medically Treated Cirrhosis. Hepatology. 1984 May;4(3):430–5.

63. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, Kremers W, Therneau TM, Kosberg CL, et al. A Model to Predict Survival in Patients With End–Stage Liver Disease. Hepatology. 2001 Feb;33(2):464–70.

64. Juanola A, Ma AT, de Wit K, Gananandan K, Roux O, Zaccherini G, et al. Novel prognostic biomarkers in decompensated cirrhosis: a systematic review and meta-analysis. Gut. 2024 Jan;73(1):156–65.

65. Pathak A, Agrawal A. Evolution of C-Reactive Protein. Front Immunol. 2019 Apr 30;10.

66. Costa D, Simbrunner B, Jachs M, Hartl L, Bauer D, Paternostro R, et al. Systemic inflammation increases across distinct stages of advanced chronic liver disease and correlates with decompensation and mortality. J Hepatol. 2021 Apr 1;74(4):819–28.

67. Turco L, Garcia-Tsao G, Magnani I, Bianchini M, Costetti M, Caporali C, et al. Cardiopulmonary hemodynamics and C-reactive protein as prognostic indicators in compensated and decompensated cirrhosis. J Hepatol. 2018 May;68(5):949–58.

68. Cervoni JP, Thévenot T, Weil D, Muel E, Barbot O, Sheppard F, et al. C-Reactive protein predicts short-term mortality in patients with cirrhosis. J Hepatol. 2012 Jun;56(6):1299–304.

69. Park WB, Lee KD, Lee CS, Jang HC, Kim H Bin, Lee HS, et al. Production of C-reactive protein in Escherichia coli-infected patients with liver dysfunction due to liver cirrhosis. Diagn Microbiol Infect Dis. 2005 Apr;51(4):227–30.

70. Papp M, Vitalis Z, Altorjay I, Tornai I, Udvardy M, Harsfalvi J, et al. Acute phase proteins in the diagnosis and prediction of cirrhosis associated bacterial infections. Liver International. 2012 Apr 6;32(4):603–11.

71. Tsiakalos A, Karatzaferis A, Ziakas P, Hatzis G. Acute-phase proteins as indicators of bacterial infection in patients with cirrhosis. Liver International. 2009 Nov;29(10):1538–42.

72. Schuetz P, Albrich W, Mueller B. Procalcitonin for diagnosis of infection and guide to antibiotic decisions: past, present and future. BMC Med. 2011 Dec 22;9(1):107.

73. Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis. 2013 May;13(5):426–35.

74. Li CH, Yang RB, Pang JHS, Chang SS, Lin CC, Chen CH, et al. Procalcitonin as a Biomarker for Bacterial Infections in Patients With Liver Cirrhosis in the Emergency Department. Academic Emergency Medicine. 2011 Jan;no-no.

75. Connert S, Stremmel W, Elsing C. Procalcitonin is a Valid Marker of Infection in Decompensated Cirrhosis. Z Gastroenterol. 2003 Feb 19;41(02):165–70.

76. Simbrunner B, Hartl L, Jachs M, Bauer DJM, Scheiner B, Hofer BS, et al. Dysregulated biomarkers of innate and adaptive immunity predict infections and disease progression in cirrhosis. JHEP Reports. 2023 May 1;5(5).

77. Sato S, Sato S, Tsuzura H, Ikeda Y, Hayashida S, Takahashi S, et al. Elevated serum procalcitonin levels and their association with the prognosis of patients with liver cirrhosis. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2020 Sep 1;32(9):1222–8.

78. Elefsiniotis IS, Skounakis M, Vezali E, Pantazis KD, Petrocheilou A, Pirounaki M, et al. Clinical significance of serum procalcitonin levels in patients with acute or chronic liver disease [Internet]. Vol. 18, European Journal of Gastroenterology & Hepatology. Lippincott Williams & Wilkins; 2006. Available from: http://journals.lww.com/eurojgh

79. Khedher S, Fouthaili N, Maoui A, Lahiani S, Salem M, Bouzid K. The Diagnostic and Prognostic Values of C-Reactive Protein and Procalcitonin during Bacterial Infections in Decompensated Cirrhosis. Gastroenterol Res Pract. 2018 Dec 30;2018:1–7.

80. Castell J V., Gómez-Lechón MJ, David M, Andus T, Geiger T, Trullenque R, et al. Interleukin-6 is the major regulator of acute phase protein synthesis in adult human hepatocytes. FEBS Lett. 1989 Jan 2;242(2):237–9.

81. Berry PA, Antoniades CG, Hussain MJ, McPhail MJW, Bernal W, Vergani D, et al. Admission levels and early changes in serum interleukin-10 are predictive of poor outcome in acute liver failure and decompensated cirrhosis. Liver International. 2010 May;30(5):733–40.

82. Blasi A, Patel VC, Adelmeijer J, Azarian S, Aziz F, Fernández J, et al. Plasma levels of circulating DNA are associated with outcome, but not with activation of coagulation in decompensated cirrhosis and ACLF. JHEP Reports. 2019 Sep;1(3):179–87.

83. Chen YY, Lien JM, Peng YS, Chen YC, Tian YC, Fang JT, et al. Lipopolysaccharide binding protein in cirrhotic patients with severe sepsis. Journal of the Chinese Medical Association. 2014 Feb;77(2):68–74.

84. Schneider C, Remmler J, Netto J, Seehofer D, Engelmann C, Berg T, et al. Copeptin – a biomarker of short-term mortality risk (7 days) in patients with end-stage liver disease. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). 2019 Nov 26;57(12):1897–905.

85. du Cheyron D, Bouchet B, Cauquelin B, Guillotin D, Ramakers M, Daubin C, et al. Hyperreninemic hypoaldosteronism syndrome, plasma concentrations of interleukin-6 and outcome in critically ill patients with liver cirrhosis. Intensive Care Med. 2008 Jan 29;34(1):116–24.

86. de Oliveira Gomes CG, de Andrade MVM, Guedes LR, Rocha HC, Guimarães RG, Carvalho FAC, et al. Evaluation of the Biomarkers HMGB1 and IL-6 as Predictors of Mortality in Cirrhotic Patients with Acute Kidney Injury. Mediators Inflamm. 2020 Sep 25;2020:1–8.

87. Clària J, Stauber RE, Coenraad MJ, Moreau R, Jalan R, Pavesi M, et al. Systemic inflammation in decompensated cirrhosis: Characterization and role in acute-on-chronic liver failure. Hepatology. 2016 Oct 25;64(4):1249–64.

88. Trebicka J, Amoros A, Pitarch C, Titos E, Alcaraz-Quiles J, Schierwagen R, et al. Addressing Profiles of Systemic Inflammation Across the Different Clinical Phenotypes of Acutely Decompensated Cirrhosis. Front Immunol. 2019 Mar 19;10.

89. Solé C, Solà E, Morales-Ruiz M, Fernàndez G, Huelin P, Graupera I, et al. Characterization of Inflammatory Response in Acute-on-Chronic Liver Failure and Relationship with Prognosis. Sci Rep. 2016 Aug 31;6(1):32341.

90. Satsangi S, Duseja A, Sachdeva M, Tomer S, Arora SK, Taneja S, et al. Monocyte human leukocyte antigen – Antigen D related, neutrophil oxidative burst and cytokine analysis in patients of decompensated cirrhosis with and without acute-on chronic liver failure. PLoS One. 2018 Jul 18;13(7):e0200644.

91. Padia G, Mahajan B, Kumar A, Sonika U, Dahale AS, Sachdeva S, et al. Serum cystatin C as a predictor of 90- day mortality among patients

admitted with complications of cirrhosis. JGH Open. 2021 Apr 9;5(4):459–64.

92. Macnaughtan J, Mookerjee RP, van der Merwe S, Jalan R. Lipopolysaccharide-Induced Neutrophil Dysfunction Following Transjugular Intrahepatic Portosystemic Stent Shunt (TIPSS) Insertion is Associated with Organ Failure and Mortality. Sci Rep. 2017 Jan 4;7(1):40157.

93. Kao JT, Yu CJ, Feng CL, Tsai SM, Chen YL, Wu YY. IL-6 significantly correlates with p-STAT3 expression and presents high variceal bleeding with mortality in cirrhotic patients: A cross-sectional study. Journal of Microbiology, Immunology and Infection. 2017 Jun;50(3):286–96.

94. Grønbæk H, Rødgaard-Hansen S, Aagaard NK, Arroyo V, Moestrup SK, Garcia E, et al. Macrophage activation markers predict mortality in patients with liver cirrhosis without or with acute-on-chronic liver failure (ACLF). J Hepatol. 2016 Apr;64(4):813–22.

95. Fischer J, Silva TE, Soares e Silva PE, Colombo BS, Silva MC, Wildner LM, et al. From stable disease to acute-on-chronic liver failure: Circulating cytokines are related to prognosis in different stages of cirrhosis. Cytokine. 2017 Mar;91:162–9.

96. Cardoso CC, Matiollo C, Pereira CHJ, Fonseca JS, Alves HEL, da Silva OM, et al. Patterns of dendritic cell and monocyte subsets are associated with disease severity and mortality in liver cirrhosis patients. Sci Rep. 2021 Mar 15;11(1):5923.

97. Bruns T, Reuken PA, Stengel S, Gerber L, Appenrodt B, Schade JH, et al. The prognostic significance of bacterial <scp>DNA</scp> in patients with decompensated cirrhosis and suspected infection. Liver International. 2016 Aug 23;36(8):1133–42.

98. Padia G, Mahajan B, Kumar A, Sonika U, Dahale AS, Sachdeva S, et al. Cystatin C and interleukin-6 for prognosticating patients with acute decompensation of cirrhosis. JGH Open. 2021 Apr 9;5(4):459–64.

99. Praktiknjo M, Monteiro S, Grandt J, Kimer N, Madsen JL, Werge MP, et al. Cardiodynamic state is associated with systemic inflammation and fatal acute-on-chronic liver failure. Liver International. 2020 Jun 30;40(6):1457–66.

100. Baldassarre M, Naldi M, Zaccherini G, Bartoletti M, Antognoli A, Laggetta M, et al. Determination of Effective Albumin in Patients With Decompensated Cirrhosis: Clinical and Prognostic Implications. Hepatology. 2021 Oct 26;74(4):2058–73.

101. dos Santos Pinheiro C, de Oliveira Gomes CG, Ribeiro Lima Machado C, Guedes LR, Rocha HC, Guimarães RG, et al. Performance of High Mobility Protein Group 1 and Interleukin-6 as Predictors of Outcomes Resulting from Variceal Bleeding in Patients with Advanced Chronic Liver Disease. Inflammation. 2022 Apr 7;45(2):544–53.

102. Navasa M, Follo A, Filella X, Jiménez W, Francitorra A, Planas R, et al. Tumor necrosis factor and interleukin-6 in spontaneous bacterial peritonitis

in cirrhosis: Relationship with the development of renal impairment and mortality. Hepatology. 1998 May;27(5):1227–32.

103. Such J, Hillebrand DJ, Guarner C, Berk L, Zapater P, Westengard J, et al. Nitric oxide in ascitic fluid is an independent predictor of the development of renal impairment in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2004 Jun;16(6):571–7.

104. Montagnese S, Biancardi A, Schiff S, Carraro P, Carlà V, Mannaioni G, et al. Different biochemical correlates for different neuropsychiatric abnormalities in patients with cirrhosis. Hepatology. 2011 Feb;53(2):558–66.

105. Zuwala-Jagiello J, Pazgan-Simon M, Simon K, Kukla M, Murawska-Cialowicz E, Grzebyk E. Serum endocan level in diabetes mellitus of patients with cirrhosis and risk of subsequent development of spontaneous bacterial peritonitis. J Physiol Pharmacol. 2019 Jun;70(3).

106. WANG SS, LEE FY, CHAN CC, LU RH, CHAO Y, LIN HC, et al. Sequential changes in plasma cytokine and endotoxin levels in cirrhotic patients with bacterial infection. Clin Sci. 2000 Apr 1;98(4):419.

107. Such J, Hillebrand DJ, Guarner C, Berk L, Zapater P, Westengard J, et al. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, and nitric oxide in sterile ascitic fluid and serum from patients with cirrhosis who subsequently develop ascitic fluid infection. Dig Dis Sci. 2001;46(11):2360–6.

108. Ciaccio AM, Agnello L, Sasso B Lo, Giglio RV, Iacona A, Gambino CM, et al. Monocyte Distribution Width (MDW) as a biomarker of sepsis: An

evidenced-based laboratory medicine approach. Clinica Chimica Acta. 2023 Feb;540:117214.

109. García-Álvarez A, Posada Franco Y, Martinez-Novillo González M, Hernández Álvarez E, Serrano García I, Sanz-Casla MT. Monocyte distribution width (MDW): study of reference values in blood donors. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). 2024 May 27;62(6):1133–7.

110. Crouser ED, Parrillo JE, Seymour CW, Angus DC, Bicking K, Esguerra VG, et al. Monocyte Distribution Width: A Novel Indicator of Sepsis-2 and Sepsis-3 in High-Risk Emergency Department Patients*. Crit Care Med. 2019 Aug;47(8):1018–25.

111. Lin S, Yang X, Yang X, Tang M, Yao X, Ye Y, et al. Monocyte distribution width as a promising biomarker for differential diagnosis of chronic hepatitis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. Front Immunol. 2024 Jul 3;15.

112. Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, Tilg H, Adolph TE. Calprotectin: from biomarker to biological function. Gut. 2021 Oct;70(10):1978–88.

113. Fortuny M, Sarrias M, Torner M, Iborra I, Clos A, Ardèvol A, et al. Systematic review of the role of calprotectin in cirrhosis. Eur J Clin Invest. 2024 Feb 17;54(2).

114. Helmy A, El A, Khayyal S, Abdelhakam SM, Saleh SA, Abouellail H, et al. Serum Calprotectin as a Non-invasive Diagnostic Marker for Spontaneous

Bacterial Peritonitis in Egyptian Cirrhotic Patients. Available from: http://dx.doi.org/10.18535/jmscr/v4i7.01

115. Burri E, Schulte F, Muser J, Meier R, Beglinger C. Measurement of calprotectin in ascitic fluid to identify elevated polymorphonuclear cell count. World J Gastroenterol. 2013 Apr 7;19(13):2028–36.

116. Fernandes SR, Santos P, Fatela N, Baldaia C, Tato Marinho R, Proença H, et al. Ascitic Calprotectin is a Novel and Accurate Marker for Spontaneous Bacterial Peritonitis. J Clin Lab Anal. 2016 Nov 1;30(6):1139–45.

117. Gad MA, EL-Shewi ME, Sabry JH, ME Zawawy AM, Mohammad El-Sayed El-Zawawy A. Role of Calprotectin in Diagnosis of Spontaneous Bacterial Peritonitis in Cirrhotic Patients with Ascites [Internet]. Vol. 5, Afro-Egypt J Infect Endem Dis. 2015. Available from: http://mis.zu.edu.eg/ajied/home.aspx

118. Heikl AA, El-Nokeety MM, Roshdy E, Mohey A. Ascitic calprotectin as a diagnostic marker for spontaneous bacterial peritonitis in hepatitis C virus cirrhotic Egyptian patients. Egypt J Intern Med. 2018 Mar;30(1):1–7.

119. Josifovikj FL, Stardelova KG, Todorovska B, Dimitrova MG, Joksimovikj N, Andreevski V, et al. Diagnostic Potential of Calprotectin for Spontaneous Bacterial Peritonitis in Patients Withliver Cirrhosis and Ascites. Prilozi. 2021 Dec 31;42(3):97–106.

120. Weil D, Heurgue-Berlot A, Monnet E, Chassagne S, Cervoni JP, Feron T, et al. Accuracy of calprotectin using the Quantum Blue Reader for the

diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis. Hepatology Research. 2019 Jan 1;49(1):72–81.

121. Nasereslami M, Khamnian Z, Moaddab Y, Jalali Z. Diagnostic and prognostic role of ascitic fluid calprotectin level: six-month outcome findings in cirrhotic patients. Scand J Gastroenterol. 2020 Sep 1;55(9):1093–8.

122. Homann C, Garred P, Graudal N, Hasselqvist P, Christiansen M, Fagerhol MK, et al. Plasma calprotectin: A new prognostic marker of survival in alcohol-induced cirrhosis. Hepatology. 1995 Apr;21(4):979–85.

123. Suryono, Kido J, Hayashi N, Kataoka M, Shinohara Y, Nagata T. Norepinephrine stimulates calprotectin expression in human monocytic cells. J Periodontal Res. 2006 Jun 31;41(3):159–64.

124. Grønbæk H, Sandahl TD, Mortensen C, Vilstrup H, Møller HJ, Møller S. Soluble CD163, a marker of Kupffer cell activation, is related to portal hypertension in patients with liver cirrhosis. Aliment Pharmacol Ther. 2012 Jul 16;36(2):173–80.

125. Waidmann O, Brunner F, Herrmann E, Zeuzem S, Piiper A, Kronenberger B. Macrophage activation is a prognostic parameter for variceal bleeding and overall survival in patients with liver cirrhosis. J Hepatol. 2013 May;58(5):956–61.

126. Sandahl TD, Grønbæk H, Møller HJ, Støy S, Thomsen KL, Dige AK, et al. Hepatic Macrophage Activation and the LPS Pathway in Patients With

Alcoholic Hepatitis: A Prospective Cohort Study. American Journal of Gastroenterology. 2014 Nov;109(11):1749–56.

127. Tobias PS, Soldau K, Gegner JA, Mintz D, Ulevitch RJ. Lipopolysaccharide Binding Protein-mediated Complexation of Lipopolysaccharide with Soluble CD14. Journal of Biological Chemistry. 1995 May;270(18):10482–8.

128. Albillos A, de la Hera A, González M, Moya JL, Calleja JL, Monserrat J, et al. Increased lipopolysaccharide binding protein in cirrhotic patients with marked immune and hemodynamic derangement. Hepatology. 2003 Jan;37(1):208–17.

129. Balanescu S, Kopp P, Gaskill MB, Morgenthaler NG, Schindler C, Rutishauser J. Correlation of Plasma Copeptin and Vasopressin Concentrations in Hypo-, Iso-, and Hyperosmolar States. J Clin Endocrinol Metab. 2011 Apr 1;96(4):1046–52.

130. Szinnai G, Morgenthaler NG, Berneis K, Struck J, Müller B, Keller U, et al. Changes in Plasma Copeptin, the C-Terminal Portion of Arginine Vasopressin during Water Deprivation and Excess in Healthy Subjects. J Clin Endocrinol Metab. 2007 Oct 1;92(10):3973–8.

131. Solà E, Kerbert AJC, Verspaget HW, Moreira R, Pose E, Ruiz P, et al. Plasma copeptin as biomarker of disease progression and prognosis in cirrhosis. J Hepatol. 2016 Nov;65(5):914–20.

132. Kerbert AJC, Verspaget HW, Navarro ÀA, Jalan R, Solà E, Benten D, et al. Copeptin in acute decompensation of liver cirrhosis: relationship with acute-

on-chronic liver failure and short-term survival. Crit Care. 2017 Dec 21;21(1):321.

133. Schneider C, Remmler J, Netto J, Seehofer D, Engelmann C, Berg T, et al. Copeptin – a biomarker of short-term mortality risk (7 days) in patients with end-stage liver disease. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). 2019 Nov 26;57(12):1897–905.

134. Moreno J, Grandclement E, Monnet E, Clerc B, Agin A, Cervoni J, et al. Plasma copeptin, a possible prognostic marker in cirrhosis. Liver International. 2013 Jul 7;33(6):843–51.

135. Sanjurjo L, Aran G, Roher N, Valledor AF, Sarrias MR. AIM/CD5L: a key protein in the control of immune homeostasis and inflammatory disease. J Leukoc Biol. 2015 Aug 1;98(2):173–84.

136. Sanjurjo L, Aran G, Téllez É, Amézaga N, Armengol C, López D, et al. CD5L Promotes M2 Macrophage Polarization through Autophagy-Mediated Upregulation of ID3. Front Immunol. 2018;9:480.

137. Sanjurjo L, Amézaga N, Aran G, Naranjo-Gómez M, Arias L, Armengol C, et al. The human CD5L/AIM-CD36 axis: A novel autophagy inducer in macrophages that modulates inflammatory responses. Autophagy. 2015;11(3):487–502.

138. Sanchez-Moral L, Paul T, Martori C, Font-Díaz J, Sanjurjo L, Aran G, et al. Macrophage CD5L is a target for cancer immunotherapy. EBioMedicine. 2023 May;91:104555.

139. Sánchez-Rodríguez MB, Téllez É, Casulleras M, Borràs FE, Arroyo V, Clària J, et al. Reduced Plasma Extracellular Vesicle CD5L Content in Patients With Acute-On-Chronic Liver Failure: Interplay With Specialized Pro-Resolving Lipid Mediators. Front Immunol. 2022;13:842996.

140. Morales BP, Planas R, Bartoli R, Morillas RM, Sala M, Cabré E, et al. Early hospital readmission in decompensated cirrhosis: Incidence, impact on mortality, and predictive factors. Dig Liver Dis. 2017 Aug;49(8):903–9.

141. Garg SK, Goyal H, Obaitan I, Shah PA, Sarvepalli S, Jophlin LL, et al. Incidence and predictors of 30-day hospital readmissions for liver cirrhosis: insights from the United States National Readmissions Database. Ann Transl Med. 2021 Jul;9(13):1052–1052.

142. Tapper EB, Halbert B, Mellinger J. Rates of and Reasons for Hospital Readmissions in Patients With Cirrhosis: A Multistate Population-based Cohort Study. Clin Gastroenterol Hepatol. 2016 Aug;14(8):1181-1188.e2.

143. Miquel M, Clèries M, Vergara M, Vela E. Economic burden of cirrhosis in Catalonia: a population-based analysis. BMJ Open. 2018 Mar;8(3):e018012.

144. Jalan R, Saliba F, Pavesi M, Amoros A, Moreau R, Ginès P, et al. Development and validation of a prognostic score to predict mortality in patients with acute-on-chronic liver failure. J Hepatol. 2014 Nov;61(5):1038–47.

145. Bárcena C, Aran G, Perea L, Sanjurjo L, Téllez É, Oncins A, et al. CD5L is a pleiotropic player in liver fibrosis controlling damage, fibrosis and immune cell content. EBioMedicine. 2019 May;43:513–24.

146. Mynster Kronborg T, Webel H, O'Connell MB, Danielsen KV, Hobolth L, Møller S, et al. Markers of inflammation predict survival in newly diagnosed cirrhosis: a prospective registry study. Sci Rep. 2023 Nov 16;13(1):20039.

147. Mehta G, Gustot T, Mookerjee RP, Garcia-Pagan JC, Fallon MB, Shah VH, et al. Inflammation and portal hypertension – The undiscovered country. J Hepatol. 2014 Jul;61(1):155–63.

148. Yotti R, Ripoll C, Benito Y, Catalina MV, Elízaga J, Rincón D, et al. Left ventricular systolic function is associated with sympathetic nervous activity and markers of inflammation in cirrhosis. Hepatology. 2017 Jun 28;65(6):2019–30.

149. Liu YB, Chen MK. Epidemiology of liver cirrhosis and associated complications: Current knowledge and future directions. World J Gastroenterol. 2022 Nov 7;28(41):5910–30.

150. Bernardi M, Moreau R, Angeli P, Schnabl B, Arroyo V. Mechanisms of decompensation and organ failure in cirrhosis: From peripheral arterial vasodilation to systemic inflammation hypothesis. Vol. 63, Journal of Hepatology. Elsevier B.V.; 2015. p. 1272–84.

151. Encabo M, Hernández-Álvarez E, Oteo D, García-Álvarez A, Martínez-Novillo González M, Sanz-Casla MT, et al. Monocyte distribution width

(MDW) as an infection indicator in severe patients attending in the Emergency Department: a pilot study. Revista Española de Quimioterapia. 2023 May 19;36(3):267–74.

152. Matiollo C, Rateke EC de M, Moura EQ de A, Andrigueti M, Augustinho FC de, Zocche TL, et al. Elevated calprotectin levels are associated with mortality in patients with acute decompensation of liver cirrhosis. World J Hepatol. 2022 Nov 27;14(11):1964–76.

153. Funding M, Vorum H, Nexø E, Moestrup SK, Ehlers N, Møller HJ. Soluble CD163 and interleukin-6 are increased in aqueous humour from patients with endothelial rejection of corneal grafts. Acta Ophthalmol Scand. 2005 Apr 2;83(2):234–9.

154. Fernández J, Piano S, Bartoletti M, Wey EQ. Management of bacterial and fungal infections in cirrhosis: The MDRO challenge. J Hepatol. 2021 Jul;75:S101–17.

155. Morgenthaler NG, Müller B, Struck J, Bergmann A, Redl H, Christ-Crain M. COPEPTIN, A STABLE PEPTIDE OF THE ARGININE VASOPRESSIN PRECURSOR, IS ELEVATED IN HEMORRHAGIC AND SEPTIC SHOCK. Shock. 2007 Aug;28(2):219–26.

156. Sarrias MR, Roselló S, Sánchez-Barbero F, Sierra JM, Vila J, Yélamos J, et al. A role for human Sp alpha as a pattern recognition receptor. J Biol Chem. 2005 Oct 21;280(42):35391–8.

157. Wang C, Yosef N, Gaublomme J, Wu C, Lee Y, Clish CB, et al. CD5L/AIM Regulates Lipid Biosynthesis and Restrains Th17 Cell Pathogenicity. Cell. 2015 Dec;163(6):1413–27.

158. Oliveira L, Silva MC, Gomes AP, Santos RF, Cardoso MS, Nóvoa A, et al. CD5L as a promising biological therapeutic for treating sepsis. Nat Commun. 2024 May 15;15(1):4119.

159. Girardi P, Buono R, Bisazza C, Marchi L, Angeli P, Di Pascoli M. Prognostic value of procalcitonin in patients with cirrhosis hospitalized for acute infection. Digestive and Liver Disease. 2024 May;56(5):810–7.

160. Dong R, Wan B, Lin S, Wang M, Huang J, Wu Y, et al. Procalcitonin and Liver Disease: A Literature Review. J Clin Transl Hepatol. 2019 Mar 28;7(1):51–5.

161. Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. Serum Procalcitonin and C-Reactive Protein Levels as Markers of Bacterial Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. Clinical Infectious Diseases. 2004 Jul 15;39(2):206–17.

162. Lin KH, Wang FL, Wu MS, Jiang BY, Kao WL, Chao HY, et al. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection in patients with liver cirrhosis: A systematic review and meta-analysis. Diagn Microbiol Infect Dis. 2014;80(1):72–8.

163. Tornai T, Vitalis Z, Sipeki N, Dinya T, Tornai D, Antal-Szalmas P, et al. Macrophage activation marker, soluble CD163, is an independent predictor

of short-term mortality in patients with cirrhosis and bacterial infection. Liver International. 2016 Nov 5;36(11):1628–38.

164. Papp M, Vitalis Z, Altorjay I, Tornai I, Udvardy M, Harsfalvi J, et al. Acute phase proteins in the diagnosis and prediction of cirrhosis associated bacterial infections. Liver International. 2012 Apr;32(4):603–11.

165. Homann C, Christensen E, Schlichting P, Philipsen EK, Graudal NA, Garred P. Ascites fluid and plasma calprotectin concentrations in liver disease. Scand J Gastroenterol. 2003 Apr 1;38(4):415–20.

166. Pieri G, Agarwal B, Burroughs AK. C-reactive protein and bacterial infection in cirrhosis. Ann Gastroenterol. 2014;27(2):113–20.

167. Dong R, Wan B, Lin S, Wang M, Huang J, Wu Y, et al. Procalcitonin and liver disease: A literature review. Vol. 7, Journal of Clinical and Translational Hepatology. Xia and He Publishing Inc.; 2019. p. 51–5.

168. Gupta K, Hooton TM, Naber KG, Wullt B, Colgan R, Miller LG, et al. International Clinical Practice Guidelines for the Treatment of Acute Uncomplicated Cystitis and Pyelonephritis in Women: A 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. Clinical Infectious Diseases. 2011 Mar 1;52(5):e103–20.

169. Fowler VG, Durack DT, Selton-Suty C, Athan E, Bayer AS, Chamis AL, et al. The 2023 Duke-International Society for Cardiovascular Infectious Diseases Criteria for Infective Endocarditis: Updating the Modified Duke Criteria. Clinical Infectious Diseases. 2023 Aug 22;77(4):518–26.

170. Prystupa A, Kiciński P, Luchowska-Kocot D, Nowicki G, Dzida G, Myśliński W, et al. Analysis of novel serum markers of fibrosis and angiogenesis in patients with alcoholic liver cirrhosis. Annals of Agricultural and Environmental Medicine. 2020;27(4):568–73.

171. Albillos A, Hera Ad A de la, Reyes E, Monserrat J, Muñoz L, Nieto M, et al. Tumour necrosis factor-alpha expression by activated monocytes and altered T-cell homeostasis in ascitic alcoholic cirrhosis: amelioration with norfloxacin. J Hepatol. 2004 Apr;40(4):624–31.

172. Rainer F, Horvath A, Sandahl TD, Leber B, Schmerboeck B, Blesl A, et al. Soluble CD163 and soluble mannose receptor predict survival and decompensation in patients with liver cirrhosis, and correlate with gut permeability and bacterial translocation. Aliment Pharmacol Ther. 2018 Mar 21;47(5):657–64.

ANEXOS

10. ANEXOS

10.1. Tabla suplementaria 1. Análisis de Bonferroni para comparaciones múltiples del análisis de biomarcadores entre los diferentes estadios

Análisis	Contraste	Bonferroni (p)	Contraste	Bonferroni (p)	Contraste	Bonferroni (p)	Contraste	Bonferroni (p)
	PCR		IL-6		Procalcitonina		MDW	
E0 vs E1	-0,4647064	**0,955**	-2,460318	**1,0000**	7,133334	**0,9996**	-9,773684	0,9819
E0 vs E2	-13,59804	**0,085**	-12,88889	**0,7092**	7,075756	**0,9928**	-2,01535	1,0000
E0 vs E3	4,935295	**0,640**	-5,763889	**1,0000**	3,091667	**0,0200**	-5,473684	1,0000
E0 vs E4	-24,16054	**0,000**	-26,32639	**0,0003**	-25,2971	**0,0003**	-28,19369	**0,0005**
E0 vs E5	-22,35561	**0,007**	-24,93889	**0,0145**	-20,89394	**0,0305**	-26,51914	**0,0187**
E1 vs E2	-1,313333	**0,142**	-1,042857	**0,9872**	-14,20909	**0,8334**	7,758333	0,9994
E1 vs E3	5,400002	**0,634**	-3,303572	**1,0000**	-38,05	**0,0143**	4,299999	1,0000
E1 vs E4	-2,369583	**0,003**	-2,386607	**0,0505**	-32,43044	**0,0024**	-18,42	0,2727
E1 vs E5	-2,189091	**0,018**	-2,247857	**0,2063**	-28,02727	**0,0343**	-16,74546	0,6656
E2 vs E3	1,853333	**0,096**	7,125	**1,0000**	-23,84091	**0,2061**	-3,458334	1,0000
E2 vs E4	-105625	**0,152**	-134375	**0,5757**	-18,22135	**0,0510**	-26,17834	**0,0093**
E2 vs E5	-8,757576	**0,313**	-1205	**0,9064**	-13,81818	**0,5522**	-24,50379	0,0903
E3 vs E4	-2,909583	**0,005**	-205625	**0,4709**	-5,619564	**1,0000**	-22,72	0,3605
E3 vs E5	-2,729091	**0,017**	-19175	**0,7205**	10,02273	**0,9951**	-21,04546	0,6386
E4 vs E5	1,804924	**0,811**	1,387501	**1,0000**	4,403164	**0,9999**	1,674545	1,000

Análisis	Contraste	Bonferroni (p)	Contraste	Bonferroni (p)	Contraste	Bonferroni (p)	Contraste	Bonferroni (p)
	CD14		CD163		CD5L		Copeptina	
E0 vs E1	-16,06842	**0,6724**	-3,005262	1,0000	-7,611111	**0,9992**	13,87895	0,8549
E0 vs E2	-2,004786	**1,0000**	-17,92344	0,2840	-27	**0,0136**	12,66986	0,9025
E0 vs E3	1,831579	**1,0000**	-7,505264	0,9999	-24,7	**0,2886**	7,978951	1,0000
E0 vs E4	-14,66009	**0,4345**	-27,39693	**0,0005**	-19,91667	**0,0469**	3,412281	1,0000
E0 vs E5	-13,56842	**0,8698**	-27,10526	**0,0148**	-28,13636	**0,0115**	19,87895	0,3423
E1 vs E2	14,06364	**0,9227**	-14,91818	0,7782	-19,38889	**0,4519**	-1,209091	1,0000
E1 vs E3	17,9	**0,9138**	-4,500002	1,0000	-17,08889	**0,9094**	-5,899998	1,0000
E1 vs E4	1,408333	**1,0000**	-24,39167	**0,0296**	-12,30556	**0,8907**	-10,46667	0,9773
E1 vs E5	2,5	**1,0000**	-24,1	0,1329	-20,52525	**0,3908**	6	1,0000
E2 vs E3	3,836365	**1,0000**	10,41818	0,9981	2,299999	**1,0000**	-4,690907	1,0000
E2 vs E4	-12,6553	**0,8692**	-9,473488	0,9662	7,083332	**0,9981**	-9,257576	0,9901
E2 vs E5	-11,56364	**0,9848**	-9,18182	0,9955	-1,136364	**1,0000**	7,209091	0,9999
E3 vs E4	-16,49167	**0,8965**	-19,89167	0,5298	4,783333	**1,0000**	-4,566669	1,0000
E3 vs E5	-15,4	**0,9738**	-19,6	0,7179	-3,436363	**1,0000**	11,9	0,9980
E4 vs E5	1,091667	**1,0000**	0,2916679	1,0000	-8,219696	**0,9934**	16,46667	0,5857

	Contraste	Bonferroni (p)
	S100A8/S100A9	
E0 vs E1	6,668419	0,9999
E0 vs E2	-13,54067	0,8491
E0 vs E3	7,96842	1,0000
E0 vs E4	-5,923248	0,9995
E0 vs E5	5,56842	1,0000
E1 vs E2	-20,20909	0,4949
E1 vs E3	1,300001	1,0000
E1 vs E4	-12,59167	0,9021
E1 vs E5	-1,099998	1,0000
E2 vs E3	21,50909	0,7234
E2 vs E4	7,617424	0,9987
E2 vs E5	19,10909	0,5859
E3 vs E4	-13,89167	0,9738
E3 vs E5	-2,4	1,0000
E4 vs E5	11,49167	0,9502

10.2. Tabla suplementaria 2. Características de las infecciones con aislamiento microbiológico

Tipo de infección	Microorganismo aislado	Microorganismo MR
Bacteriemia	Escherichia Coli	No
ITU + Bacteriemia	Estreptococo Gallolyticus +Enterococo Faecium	No
ITU	Klebsiella Pneumoniae	Si
Neumonía	Burkhoderia Cenocepacia	No
Colangitis	Enterococo Faecium	No
PBE	Streptococo Viridans y Escherichia Coli	No
ITU	Escherichia Coli	Si
Enteritis + Bacteriemia	Salmonella Enteritidis	No
Endocarditis	Estafilococo Epidermidis	Si
ITU	Klebsiella Pneumoniae	No
Bursitis	Estafilococo Aureus	No
Enterocolitis	Clostridioides Difficile	No

Abreviatura: MR multirresistente, ITU Infección del tracto urinario

10.3. Definiciones

- Se considera **peritonitis bacteriana espontánea**: recuento de > 250 PMN en el líquido ascítico(50)

-**Bacteriemia primaria del cirrótico**: cultivos de sangre positivos sin identificar ningún foco.(50,168)

-**Infección del tracto urinario**: de acuerdo con la definición de los CDC: 1. El paciente tiene al menos 1 de estos signos o síntomas: fiebre, disuria, polaquiuria o urgencia miccional y un urocultivo con > 10 UFC/mL de uno o dos tipos de microorganismos. 2. El paciente presenta al menos 2 de estos signos o síntomas y al menos uno de los siguientes: presencia de esterasa leucocitaria, piuria (>10 leucos/mm3), dos urocultivos repetidos con el mismo microorganismo con > 10 2 UFC/mL. (168)

-El diagnóstico de las infecciones **respiratorias** u otras infecciones **como endocarditis, celulitis, infecciones biliares** se han hecho de acuerdo con los criterios convencionales. (169)

-Si se detecta una bacteriemia en un paciente con infección urinaria, neumonía, peritonitis bacteriana u otra infección bacteriana, se interpreta como secundaria a estas infecciones.

-Sospecha de infección: Fiebre sin foco. Fiebre y leucocitos > 12.000 mm3 o bien hipotensión o alteración de la frecuencia cardíaca, alteración del estado mental, aparición de hiponatremia o insuficiencia renal.

10.4. Tabla suplementaria 3. Resumen de los biomarcadores plasmáticos analizados, función y rangos descritos en invididuos sanos y pacientes con enfermedad hepática crónica avanzada

Biomarcador	Función	Valor de referencia en individuos sanos	Valores descritos en pacientes con EHCA	Referencias bibliográficas
Calprotectina (S100A8/S100A9)	• Facilita la quimiotaxis de neutrófilos y modula su adherencia • Genera especies reactivas de oxígeno	1,52-98,8 ng/ml	477-986ng/ml	Matiollo et al (152) Prystupa et al (170)
CD14	• Promueve la respuesta inmunitaria en respuesta a lipopolisacáridos y endotoxemia	1362-2440 ng/ml	1200-2725 ng/ml	Albillos et al (34) Albillos et al (171) Sandler et al
CD163	• Receptor de superficie en macrófagos para el reconocimiento a bacterias	1,3mg/l	4,2-8,4mg/l	Rainer et al (172)
CD5L	• Promueve una respuesta antiinflamatoria en macrófagos	6.4 ± 0.6 µg/ml	12,5-16 mµ/ml	Sánchez-Rodríguez et al (139)
Copeptina	• Fragmento del extremo C-terminal del precursor de la hormona vasopresina y es considerada como un marcador de ésta	3,9-14,5 pmol/l	2,9-49,5pmol/l	Solà et al (131)

10.5. Publicación relacionada con la tesis

En el contexto de la búsqueda bibliográfica para la elección de las proteínas plasmáticas plasmáticas que se han analizado en el presente estudio, se ha realizado una revisión sistemática publicada en una revista de primer cuartil.

- Fortuny M, Sarrias M-R, Torner M, et al. Systematic review of the role of calprotectin in cirrhosis. *Eur J Clin Invest*. 2024; 54:e14111. doi:10.1111/eci.14111

Received: 17 May 2023 | Accepted: 23 September 2023
DOI: 10.1111/eci.14111

SYSTEMATIC REVIEW

WILEY

Systematic review of the role of calprotectin in cirrhosis

Marta Fortuny[1,2] | Maria-Rosa Sarrias[3,4] | Maria Torner[1] | Ignacio Iborra[1,2] | Ariadna Clos[1] | Alba Ardèvol[1] | Ramon Bartolí[3,4] | Rosa M. Morillas[1,2,3] | Eugeni Domènech[2,3,5] | Helena Masnou[1,3]

[1]Hepatology Unit, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain
[2]Departament de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain
[3]Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD), Madrid, Spain
[4]Germans Trias i Pujol Research Institute (IGTP), Badalona, Spain
[5]IBD Unit, Gastroenterology Department, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain

Correspondence
Helena Masnou, Hepatology Unit, Hospital Germans Trias i Pujol, Carretera del Canyet SN, 08916 Badalona, Spain.
Email: hmasnou.germanstrias@gencat.cat

Funding information
Instituto de Salud Carlos III, Grant/Award Number: PI19/00523

Abstract

Background: Calprotectin is a calcium-binding-S100-protein synthetized mainly in neutrophils which has been demonstrated to be an accurate biomarker of the presence of these cells. Gut barrier dysfunction in patients with advanced chronic liver disease (ACLD), in addition to the lack of noninvasive tools for diagnosis and prognosis of cirrhosis decompensations, has raised interest in this biomarker.

Aims: Our aim is to summarize the current evidence regarding the role of calprotectin in terms of its diagnostic and prognostic utility in ACLD.

Methods: We performed a systematic search (PROSPERO registration no. CRD42023389069) of original articles published without any restrictions on the publication date until January 2023 providing information about calprotectin for the prognosis or diagnosis of ACLD and its decompensations in adult patients.

Results: A total 227 articles were identified, and 26 observational studies finally met the inclusion criteria. In 14 studies, calprotectin was measured in ascitic fluid, all of which reported higher calprotectin values in spontaneous bacterial peritonitis, while cut-off points for its diagnosis were proposed in nine studies. Three studies reported higher faecal calprotectin levels in patients with hepatic encephalopathy and portal hypertension. Four studies evaluated faecal calprotectin and one plasma calprotectin as biomarkers for gut barrier integrity and bacterial translocation.

Conclusions: Calprotectin is emerging as a promising biomarker in ACLD, particularly for the management of bacterial infections and alcohol-related liver disease. Further research with better study designs should help to determine the feasibility of calprotectin measurement in routine clinical practice.

KEYWORDS
bacterial translocation, biomarker, calprotectin, cirrhosis, hepatic encephalopathy, spontaneous bacterial peritonitis

© 2023 Stichting European Society for Clinical Investigation Journal Foundation. Published by John Wiley & Sons Ltd

1 | INTRODUCTION

Calprotectin is a calcium-binding-S100 protein composed of two monomers (S100A8/S100A9), constitutively expressed in neutrophils, representing almost 45% of cytosolic proteins. It can also be expressed by monocytes, dendritic cells, activated macrophages, keratinocytes and squamous epithelium, although this accounts for a smaller amount of total calprotectin. Calprotectin production can be specifically induced during inflammatory conditions, playing a crucial role in several intracellular and extracellular functions related to the inflammatory response.[1] Due to its implication in multiple systemic inflammatory pathways and their immune regulatory functions (mainly in neutrophils), it has been proposed as a surrogate marker of these cells in biological samples. As a result, calprotectin has emerged as an accurate inflammatory biomarker which can be obtained in biological fluids such as serum, faeces, synovial fluid and ascitic fluid (AF).[2]

Faecal calprotectin, particularly, has become the best inflammatory biomarker in inflammatory bowel disease (IBD) due to its ability to discriminate between inflammatory and noninflammatory intestinal conditions. It is a noninvasive, well-validated biomarker that correlates with clinical and endoscopic activity in IBD, in addition to being the best predictor of clinical relapse in IBD patients who are in remission.[3] Moreover, calprotectin has also been proposed as a marker of disease activity in other immune-mediated conditions such as rheumatoid arthritis when measured in synovial fluid.[4] In addition, calprotectin offers advantages as an optimal biomarker: its measurement is easy and cheap (with many ELISA tests but also point-of-care and home tests currently available), and it is stable at room temperature for at least 3 days.[5]

Regarding liver disease, the lack of noninvasive tools for accurate diagnosis and prognosis in advanced chronic liver disease (ACLD) decompensations (i.e. hepatic encephalopathy [HE]) remains a challenge for improving clinical management. The increasing evidence of gut barrier dysfunction in ACLD has also promoted interest in intestinal biomarkers such as calprotectin.[6]

The aim of this systematic review is to summarize current evidence for the potential use of calprotectin for diagnostic and prognostic purposes in ACLD.

2 | MATERIALS AND METHODS

This systematic review was performed according to the updated Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and MetaAnalyses (PRISMA) statement and was registered at the International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO registration no. CRD42023389069). A computerized literature research was performed in the EMBASE and PubMed/MEDLINE databases up to February 2023. A manual search was subsequently carried out to find more relevant papers. All the screened, retrieved and selected data are summarized in Figure 1.

The outcome of interest was the use of calprotectin in adult patients for the diagnosis or prognosis of ACLD or any of its decompensations. We considered decompensation based on Baveno VII Consensus in portal hypertension (HE, ascites or variceal bleeding).[7]

Original articles that provided at least one of the outcomes of interest contributing with one or more new cases in humans, written in English, Spanish, French or German were identified, without date restriction. Automatization tools used were 'human' and 'article'. We excluded those articles reporting animal or paediatric data. Editorials, literature reviews, systematic reviews, conference abstracts, meta-analyses, dissertations, government reports and comments were retrieved.

The search for eligible studies included medical subject heading (MeSH) terms and free words. We combined the terms ("Calprotectin" OR "Calgranulin" OR "S100A8" OR "S100A9") AND ("Liver cirrhosis").

Two reviewers (M.F. and H.M.) independently identified all the articles and screened them based on the title and abstract. Duplicates were identified and removed. The eligible articles were assessed by examining the full-text paper, and the reasons considered for exclusion were recorded. Disagreements were resolved after consensus by a third reviewer (E.D). The risk of bias was evaluated using the Newcastle-Ottawa Scale for case–control studies, cohort studies and adapted to cross sectional studies (Appendix A).[8] Most of the studies reached 6 points (satisfactory studies) but none of them reached the maximal score.

3 | RESULTS

We identified 227 articles (167 through EMBASE, 54 through PubMed and six after a manual search). A total of 138 records were removed before screening (114 by automatization tools and 24 records were duplicates). Eighty-nine reports were assessed for eligibility, and 63 were finally excluded after abstract and title screening. Exclusion criteria are detailed in Figure 1. Twenty-six articles were finally included in this systematic review. Table 1 summarizes the main characteristics of the included studies.

RIGHTSLINK

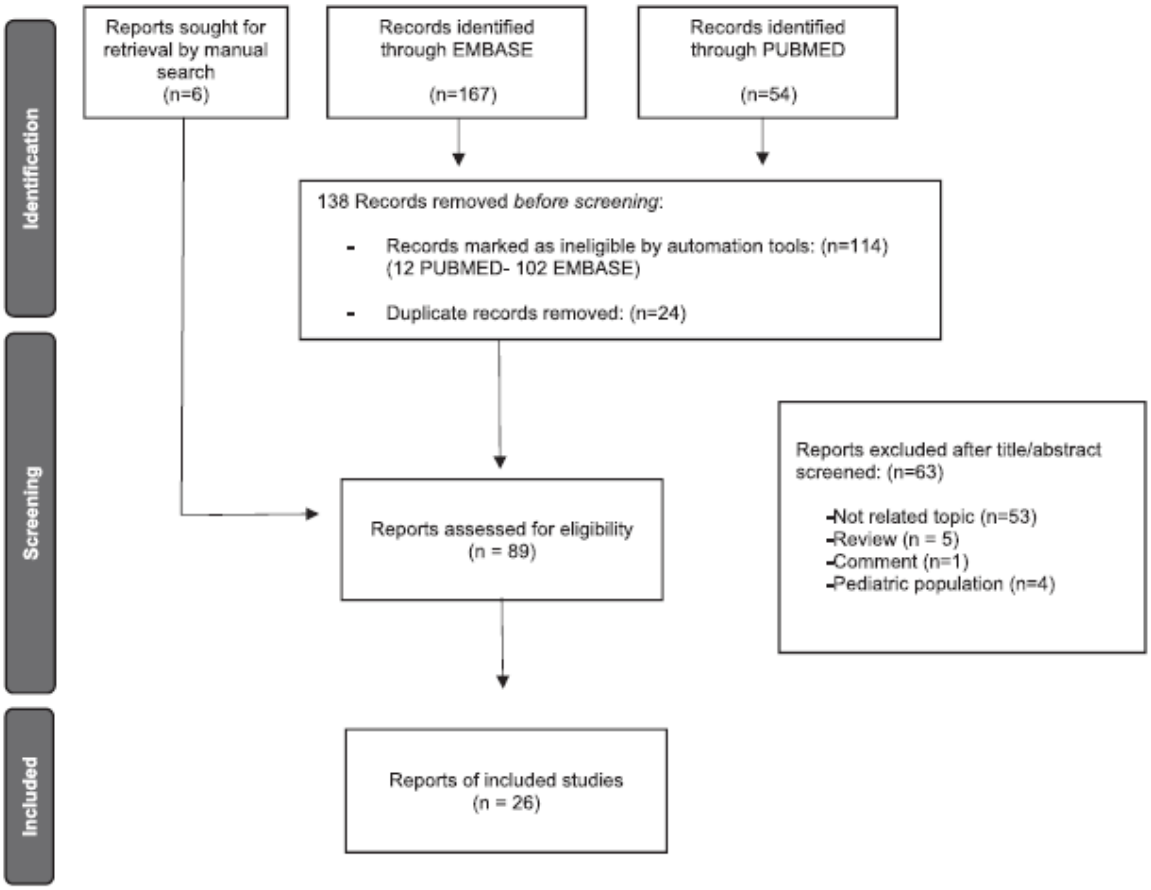


FIGURE 1 PRISMA flow chart.

3.1 | Gut barrier integrity and infection biomarker

Patients with cirrhosis suffer from increased intestinal permeability, dysbiosis and intestinal inflammation, which contribute to bacterial translocation (BT). BT plays an important role in the pathogenesis of cirrhosis and contributes to triggering an inflammatory response as well as bacterial infections. Neutrophilic infiltrates, among other inflammatory cells, are observed in the gastrointestinal mucosa of patients with cirrhosis. Therefore, faecal calprotectin has been studied as a novel biomarker of BT.[34]

In this regard, Riva et al.[6] determined a panel of faecal cytokines and gut barrier integrity markers in healthy controls, compensated cirrhotic patients and patients with acute decompensation. Faecal calprotectin was significantly higher in patients with acute decompensation compared with compensated and healthy controls, without differences between compensated and healthy controls. This novel approach to the intestinal cytokine microenvironment reveals that patients with acute decompensation may present a highly inflamed and permeable gut barrier when compared with compensated, healthy controls. Similar findings were also reported by Gundling et al. in 2011[24] when comparing faecal calprotectin in cirrhotic patients with acute decompensation and healthy controls (65.6 vs. 17.5 mg/kg; $p < .001$), and by Yagmur et al.,[27] who observed higher faecal calprotectin values in patients with cirrhosis as compared to healthy controls ($p < .0001$).

Homann et al.[28] measured plasmatic calprotectin in 84 patients with alcohol-related cirrhosis. Those with a culture-positive infection showed higher values (725 μg/L) than those without infection (415 μg/L) and those with suspected but not confirmed infection (340 μg/L) ($p = .03$ and $p = .04$, respectively). After a median follow-up of 559 days, patients with calprotectin above the median (473 μg/L) developed more infections.

In line with other studies, but using a different approach, Blesl et al.[29] studied changes in the gut–liver axis

RIGHTSLINK

TABLE 1 Summary of observational studies included in the systematic review.

First author	n	Biological sample	Study population	Aims
Abdel-Razik et al.[9]	79	Ascitic fluid	ACLD; any aetiology	To evaluate serum procalcitonin and calprotectin as diagnostic biomarkers for SBP
Burri et al.[10]	71	Ascitic fluid	71% ACLD; any aetiology	To evaluate calprotectin for detecting PMN cell count >250/μL in ascites
Selim et al.[11]	44	Ascitic fluid	ACLD; any aetiology	To evaluate calprotectin as a diagnostic biomarker of SBP
Fernandes et al.[12]	88	Ascitic fluid	ACLD; any aetiology	To evaluate the accuracy of a POCT for calprotectin for the diagnosis of SBP
Gad et al.[13]	80	Ascitic fluid	ACLD; aetiology not specified	To evaluate calprotectin as a diagnostic biomarker of SBP
Heikl et al.[14]	70	Ascitic fluid	Viral ACLD	To evaluate calprotectin as a diagnostic biomarker of SBP
Weil et al.[15]	119	Ascitic fluid	ACLD; any aetiology	To evaluate the accuracy of calprotectin using the Quantum Blue® assay for the diagnosis of SBP
Nabiel et al.[16]	103	Ascitic fluid	ACLD; any aetiology	To combine CD64 (blood), microRNA-155 and calprotectin to diagnose SBP
Lutz et al.[17]	108	Ascitic fluid	92% ACLD, any aetiology 8% malignant ascites	To evaluate ratio of calprotectin/total protein to diagnose SBP
Makhlouf et al.[18]	87	Ascitic fluid	Viral ACLD	To evaluate calprotectin/albumin ratio to diagnose SBP
Nasereslami et al.[19]	87	Ascitic fluid	ACLD; aetiology: not specified	To evaluate calprotectin/total protein ratio to diagnose SBP
Josifovikj et al.[20]	70	Ascitic fluid	ACLD; aetiology: not specified	Monitoring levels of calprotectin in ascitic fluid on the seventh day of antibiotic therapy to predict effectiveness
Abdel-razik et al.[21]	124	Ascitic fluid	ACLD; any aetiology	To evaluate calprotectin as predictor of SBP recurrence in ascitic fluid
Helmy et al.[22]	75	Serum	ACLD; aetiology: not specified	To evaluate serum calprotectin as a noninvasive marker of SBP in comparison with c-reactive protein
Elnaggar et al.[23]	100	Faeces	75% Viral ACLD 25% healthy controls	To evaluate calprotectin as a biomarker of HE or SBP
Gundling et al.[24]	103	Ascitic fluid and faeces	60% ACLD; any aetiology 40% healthy controls	To evaluate calprotectin for diagnosis and assessment of severity of HE and SBP
Tokmak et al.[25]	112	Faeces	82% ACLD; any aetiology 18% healthy controls	To evaluate calprotectin for diagnosis of SBP
Alempijević et al.[26]	97	Faeces	62% ACLD; any aetiology 38% healthy controls	To explore the correlation between calprotectin, liver dysfunction and HE
Riva et al.[6]	63	Faeces	ACLD; any aetiology	To characterize and differentiate gut mucosal inflammation in patients with stable cirrhosis vs acute decompensation using faeces as a biological matrix
Yagmur et al.[27]	71	Faeces	75% ACLD; any aetiology 25% healthy controls	To evaluate intestinal inflammation by measuring calprotectin in ACLD patients
Homann et al.[28]	84	Plasma	Alcohol-related ACLD	To study the degree of activation of neutrophils in alcohol-related ACLD and investigate the prognosis value of calprotectin in survival
Blesl et al.[29]	71	Faeces	29% ACLD; aetiology not specified	To assess the gut–liver axis in secondary sclerosing cholangitis

RIGHTSLINK

13652362, 2024, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/apt.18411 by Universitat Autonoma De Barcelona, Wiley Online Library on [24/10/2024]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

TABLE 1 (Continued)

First author	n	Biological sample	Study population	Aims
Header et al.[30]	250	Faeces	80% Viral ACLD	To evaluate calprotectin as a noninvasive biomarker of gastroesophageal varices
Homann et al.[31]	210	Plasma	74% ACLD; any aetiology	To investigate the prognostic value of calprotectin in cirrhosis
Prytsupa et al.[32]	94	Serum	77% Alcohol-related ACLD	To determinate novel biomarkers of fibrogenesis and angiogenesis in alcohol-related liver cirrhosis
Matiollo et al.[33]	240	Serum	92% ACLD; any aetiology 8% healthy controls	To evaluate calprotectin as a prognostic biomarker in patients hospitalized for decompensated cirrhosis

Abbreviations: ACLD, advanced chronic liver disease; HE, hepatic encephalopathy; N, number of patients included; POCT, point-of-care test; SBP, spontaneous bacterial peritonitis.

in critically ill patients who developed secondary sclerosing cholangitis. They included 71 patients (18 with secondary sclerosing cholangitis in critically ill patients, 11 critically ill patients without liver pathologies, 21 patients with alcohol-related cirrhosis and 21 healthy controls). Among others, they analysed faecal calprotectin and reported no significant differences between secondary sclerosing cholangitis and compensated cirrhosis.

3.2 | Calprotectin as a biomarker for advanced chronic liver disease decompensations

3.2.1 | Portal hypertension

As liver disease progresses, structural and dynamic changes occur in the hepatic parenchyma, causing an increase in hepatic blood flow resistance and a progressive increase in portal pressure.[35] Portal hypertension correlates with the risk of decompensation and is the main determinant of cirrhosis prognosis. The hypothesis investigating faecal calprotectin as a portal hypertension biomarker is that higher portal pressure may correlate with BT and altered permeability of gut barrier, consequently increasing local and systemic inflammation and faecal calprotectin concentration.

Faecal calprotectin was evaluated as a biomarker of portal hypertension in a cohort of 200 patients with hepatitis-c-virus-related cirrhosis and 50 healthy controls. All patients underwent an upper endoscopy for gastroesophageal varices screening.[30] Significant differences in faecal calprotectin were observed between patients with varices, without varices and healthy controls (66.4 ± 10.41, 48.4 ± 10.92 and 32.82 ± 7.95 μg/g; $p < .001$), with a suggested faecal calprotectin screening cut-off value of 55 μg/g (92% sensitivity, 95% specificity, 93% accuracy and AUC 0.918; $p < .0001$).

3.2.2 | Spontaneous bacterial peritonitis

SBP is defined by an AF infection without an identifiable intra-abdominal source of infection in patients with cirrhosis.[36] It is a common complication in patients with ACLD, with a nondespicable prevalence in hospitalized patients (10%–30%) and a high 1-year-mortality rate ranging between 65% and 93%.[37] SBP is often diagnosed in asymptomatic patients in whom a paracentesis is performed because of ascites onset or worsening. Therefore, SBP diagnosis is probably delayed in patients who are diagnosed once the symptoms of infection are apparent leading to a delayed onset of treatment, potentially worsening its prognosis.

RIGHTSLINK

13652362, 2024, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/hepa.14111 by Universitat Autonoma De Barcelona, Wiley Online Library on [24/10/2024]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

The diagnosis of SBP is based upon a polymorphonuclear leukocyte (PMN) count exceeding 250 cells/mm^3 in AF. Similarly, the resolution of SBP is defined by a PMN count <250 cells/mm^3 in the AF. The PMN cell count is performed either manually under a light microscope or with an automatic flow cytometer, reaching a sensitivity and specificity close to 100%.[38] However, the need for laboratory personnel, and a timely and accurate identification of SBP, can delay the diagnosis and the beginning of antibiotic therapy. This has promoted the search for new biomarkers such as calprotectin, in AF but also in serum and faeces. Given the need for PMN in AF to consider SBP diagnosis and resolution, the rationale behind the potential usefulness of calprotectin is clear.

In 2013, Burri et al.[10] evaluate calprotectin in AF for the diagnosis of SBP in 130 ascites samples. Calprotectin levels, measured by ELISA and point-of-care (POC) lateral flow assay, correlated well with the PMN count ($r=0.476$, $p<.001$ and $r=0.473$, $p<.001$). The authors reported that using an optimal cut-off value of the receiver operating characteristic (ROC) of ELISA (0.63 μg/mL), ascitic calprotectin yielded a sensitivity of 95%, a specificity of 89.2% and an accuracy of 90%, reporting comparable results in the case of point-of-care (cut-off value 0.51 μg/mL, sensitivity 100%, specificity 84.7% and overall accuracy 87.7%) for SBP diagnosis. Subsequently, several studies have confirmed the accuracy of AF calprotectin for the diagnosis of SBP. Table 2 summarizes all the studies reporting the optimal calprotectin cut-off values in AF,[9–15,19,20] which ranges from 168 to 783 ng/mL for the diagnosis of SBP. Some studies combined calprotectin with other biomarkers to increase the accuracy. Nabiel et al.[16] reported that a combination of AF calprotectin, blood CD64 and miR-155 provided better accuracy (AUC 0.994; 95% CI 0.984–1.00; $p<.0001$) than any of them used alone. Lutz et al.[17] calculated the ratio between AF calprotectin/total protein in AF and evaluated its role as a predictor of mortality. The obtained AUC was 0.93, yielding a sensitivity of 93%, a specificity of 79%, a PPV of 60% and a NPV of 97% with a cut-off value of 5.24 ng/mL. Moreover, the AF calprotectin to total protein ratio was significantly higher in those patients who died within 30 days after SBP diagnosis and this ratio was posed as a marker of 30-day survival in patients developing SBP.[17] Makhlouf et al.[18] assessed the calprotectin/albumin in AF for SBP diagnosis. After the ROC curve analysis, they suggested a cut-off value of 193.3 ng/mL for SBP diagnosis, yielding a sensitivity of 93.9%, a specificity of 100% and a PPV, NPV and overall accuracy of 100%, 92.7% and 96.6%, respectively. Nasereslami et al.[19] also assessed calprotectin/total protein in AF for SBP diagnosis and reported higher values in the SBP group (median of 252 ng/mL [122–304] compared to 35.68 ng/mL [11–98.8] in the noninfected group).

Josifovikj et al.[20] evaluated the role of AF calprotectin for monitoring the response of SBP to antibiotherapy. They observed a correlation ($r=0.8896$; $p<.0001$) between calprotectin and PMN in AF before and after therapy (1.4 ± 4 vs. 1.0 ± 0.6 μ/mL), suggesting that the measurement of AF calprotectin after 7 days might be useful to monitor the effectiveness of treatment. However, authors do not discuss the real applicability of this finding or the potential benefit over PMN determination in this field.

AF calprotectin has also been studied as a risk factor for SBP recurrence. Abdel-Razik et al.[21] reported that AF calprotectin (>550 ng/mL), as well as other biomarkers

TABLE 2 Summary of studies evaluating ascitic fluid calprotectin as a biomarker of SBP diagnostic and the cut-off values proposed.

			Cut-off value proposed for SBP diagnostic (ng/mL)									
			ELISA					POCT lateral flow assay[a]				
First author	N	Study population	COV	S	SP	PPV	NPV	COV	S	SP	PPV	NPV
Abdel-Razik et al.[9]	79	ACLD; any aetiology	455	95.4	85.2	71	93	-	-	-	-	-
Burri et al.[10]	71	71% ACLD; any aetiology	630	94.8	89.2	60	99	510	100	84.7	52.8	100
Selim et al.[11]	44	ACLD; any aetiology	620	90.9	95.4	95.2	91.3	-	-	-	-	-
Fernandes et al.[12]	88	ACLD; any aetiology	-	-	-	-	-	1570	87.8	97.9	97.3	90.2
Gad et al.[13]	80	ACLD; aetiology not specified	2.89	90	62.5	70.5	86.2					
Heikl et al.[14]	70	Viral ACLD	783	90	100	100	80	-	-	-	-	-
Josifovikj et al.[20]	70	ACLD; aetiology not specified	275	94.3	62.2	-	-	-	-	-	-	-
Weil et al.[15]	119	ACLD; any aetiology	-	-	-	-	-	1510	86.1	92	65.9	97.3
Nasereslami et al.[19]	87	ACLD; aetiology not specified	168	85.7	77.4	-	-	-	-	-	-	-

Abbreviations: COV, cut-off value; ELISA, sandwich enzyme-linked immunosorbent assay; HCV, hepatitis C virus; N, number of patients included; NPV, negative predictive value; POCT, point-of-care testing; PPV, positive predictive value; S, sensitivity; SP, specificity.

[a]Quantum Blue® Reader (BÜHLMANN laboratories AG, Switzerland).

RIGHTSLINK

13652362, 2024, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/liec.14811 by Universitat Autònoma De Barcelona, Wiley Online Library on [24/10/2024]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

such as interferon-gamma-inducible-protein-10, were independently associated with an increased risk of SBP recurrence in patients recovered from a first episode of SBP and who had not received secondary antibiotic prophylaxis.

In a different approach, serum calprotectin has been evaluated as a SBP biomarker in one study performed on 75 patients with cirrhosis. The authors observed that serum calprotectin values were significantly higher ($p < .001$) in patients with SBP (61.6 ± 7.3 μg/mL) compared to noninfected AF (24.8 ± 14.8 μg/mL) and patients without ascites (24.4 ± 11.8 μg/mL), and they proposed a cut-off value of serum calprotectin of 46 μg/mL for SBP diagnosis (AUC 0.976; $p < .001$; sensitivity 100%, specificity 92% and diagnostic accuracy 96%).[22]

Faecal calprotectin has also been evaluated for the diagnosis of SBP. The authors hypothesized that increased faecal calprotectin may be higher in patients with SBP due to bacterial overgrowth and BT. Elnaggar et al.,[23] in a study in patients with hepatitis-C-virus-related cirrhosis, reported higher faecal calprotectin in patients with ascites compared with those without (250.7 vs. 88.9 mg/kg; $p = .003$), as well as in patients with SBP compared with patients with noninfected ascites (358.8 vs. 239.7 mg/kg; $p = .01$). The authors suggested a cut-off value for SBP diagnosis of 292 mg/kg (sensitivity 72%, specificity 80%, PPV 78%, NPV 74% and accuracy 76%). In contrast, Gundling et al.[24] did not find significant differences between faecal calprotectin in patients with ascites compared to patients without but reported higher faecal calprotectin in patients with SBP compared to patients with noninfected ascites (275.4 vs. 48.5 mg/kg; $p = .002$) and proposed a cut-off value of 140 mg/kg that showed a sensitivity and specificity of 71% and 79%, respectively. Finally, Tokmak et al.[25] reported differences in faecal calprotectin between patients with cirrhosis and healthy controls (168.8 vs. 9.8 mg/kg; $p = .039$) and higher faecal calprotectin in SBP compared to Child-Pugh-Turcotte A, B, C, HE ($p = .0002$) without SBP.

3.2.3 | Hepatic encephalopathy

HE is a condition manifested as a wide spectrum of nonspecific psychiatric and neurological abnormalities defined by Baveno VII as West Haven Criteria (WHC) (Appendix B) grade ≥2.[7,39] Currently, there is no gold standard nor objective criteria for its diagnosis and scarce data are available regarding diagnostic and prognostic tests.[40] Faecal calprotectin has been investigated as a diagnostic biomarker for HE upon the hypothesis that patients with ACLD may show alterations in the gut barrier including neutrophil infiltration.

Gundling et al.[24] reported a significant correlation ($p < .001$) between elevated faecal calprotectin and HE. They assess HE according to clinical WHC and according to flicker-fusion frequency. In this study, a cut-off of 164 mg/kg was able to differentiate the initial stages of WHC (stages 0 or I) from more advanced stages with a sensitivity of 94% and a specificity of 95%. They suggested that faecal calprotectin may be useful to establish objective criteria to diagnose HE and could be used as a screening tool. Alempijević et al.[26] reported a significant correlation ($p < .001$) between faecal calprotectin and HE grades 0, I and II, though they did not find a correlation with serum ammonium. In this case, they diagnose HE according to WHC, serum concentration of ammonium ion and the number connection test. Elnaggar et al.[23] evaluated faecal calprotectin in 100 patients with hepatitis-C-virus-related cirrhosis, reporting a positive but not significant association between calprotectin and HE staging according to WHC. Nevertheless, those patients who recently recovered from an HE episode had higher median concentrations of faecal calprotectin than those without a history of HE decompensation (292.3 vs. 239 mg/kg; $p = .04$). A ROC analysis revealed that faecal calprotectin levels over 292.7 mg/kg predicted HE with a sensitivity of 80%, a specificity of 80%, PPV of 80%, an NPV of 80% and accuracy of 80%. Is remarkable that none of the studies above mentioned adjusted their results for laxative or rifaximin.

3.3 | Prognostic value of calprotectin in chronic liver disease

Several studies assessed the prognostic value of calprotectin in liver disease. The analysis of a prospective cohort of patients with alcohol-induced cirrhosis with different degrees of liver dysfunction showed reduced survival in patients with serum calprotectin >700 μg/L ($p = .00004$) and >473 μg/L ($p = .001$). In the multivariate Cox proportional hazard model adjusted by liver function, parameters such as albumin, ascites and bilirubin, plasmatic calprotectin >700 μg/L was independently associated with mortality ($p < .005$).[28] Likewise, in another study from the same group with 210 patients with different stages of liver disease,[31] higher plasmatic calprotectin was associated with higher mortality rate at 10 months in patients with alcohol-induced cirrhosis ($p < .001$), but this association was not observed in other aetiologies. The authors suggested that the immunoinflammatory dysregulation described in these patients seems to play a role in their prognosis, regardless of the severity of liver disease.

Recently, Matiollo et al.[33] reported the results of a prospective study evaluating serum calprotectin in 200 subjects hospitalized for complications of cirrhosis, including

RIGHTSLINK

13652362, 2024, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tmi.14011 by Universitat Autonoma De Barcelona, Wiley Online Library on [26/10/2024]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

20 outpatients with stable cirrhosis and 20 healthy controls. They reported higher calprotectin levels among patients who developed acute on chronic liver failure (ACLF) compared with those with acute decompensation (577.75 vs. 453.05 ng/mL, $p = .047$). However, they did not find that calprotectin was associated with 30-day survival in the univariate Cox regression analysis when all patients were included (HR = 1.012, 95% CI 0.996–1.028; $p = .134$) and when evaluating only those with ACLF at admission (HR = 0.982, 95% CI 0.932–1.034; $p = .491$). Interestingly, when considering patients without ACLF, calprotectin was associated with an increase in the 30-day mortality rate (HR = 1.018, 95% CI 1.002–1.034; $p = .024$).

AF calprotectin and AF calprotectin/total protein ratio have also been evaluated for the prediction 6-month mortality in a study of 87 patients with decompensated cirrhosis (25 with SBP and 62 without SBP). Lower AF calprotectin was observed in those who survived (median 123.4 ng/mL [12–478 ng/mL]) compared to those who died (median 203.5 ng/mL, [67–423 ng/mL]; $p = .038$). Although the AF calprotectin/total protein ratio showed better sensitivity and specificity than AF calprotectin alone, no significant differences were reported in the AF calprotectin/total protein ratio between those who survived (median 44.5 ng/mL, range [11–304]) and those who died (median 44.5 ng/mL, [11–304] vs. median 45 ng/mL, [23–299] ng/mL) ($p = .394$). The authors speculated that this lack of significance might be due to the small sample and the reversed pattern of AF total protein they found in their ratio, with higher values of total protein in SBP.[19]

Prystupa et al.[32] evaluated novel serum biomarkers of neoangiogenesis and liver fibrosis in patients with alcohol-induced cirrhosis. They compared serum levels of S100A8 measured by ELISA in patients with cirrhosis and different stages of liver dysfunction with a healthy control group without history of alcohol consumption. They reported that serum levels of S100A8 in healthy controls were significantly lower compared to those patients with a worse liver function (Child-Pugh-Turcotte C) (8.7 ± 2.4 vs. 12.9 ± 6.5 ng/mL; $p = .001$). They also reported a significant correlation between levels of S100A8 and the duration in years of alcohol consumption ($r = 0.5$; $p < .05$). The authors suggested that the impaired permeability of the intestinal barrier may increase the level of lipopolysaccharides in portal blood, which may lead to upregulated S100A8 and promote fibrosis.

4 | DISCUSSION

In the natural history of ACLD, distinct prognosis stages are defined by the severity of portal hypertension and the presence or absence of clinical decompensations.[41] A multistage model has been proposed, based on the progression of portal hypertension, BT and the activation of systemic inflammation.[42] Although the interplay between systemic inflammation, BT and hepatic dysfunction has not been elucidated, it seems that the dysfunction of the gut–liver axis may play a major role in the risk of decompensation and prognosis. Hence, it is mandatory to investigate noninvasive biomarkers that make it possible to understand this condition.

Calprotectin has emerged as a noninvasive biomarker of inflammation that can be easily measured in many biological fluids and samples, such as faeces, serum and AF. Although its use in routine clinical practice is only established for IBD, recent studies have evaluated its role in other conditions beyond intestinal disorders.[1] In the present review, we summarize the efforts made to determine the potential usefulness of calprotectin in different scenarios of ACLD. In our search, we identified a total of 26 studies matching our selection criteria, that is observational studies involving all aetiologies of ACLD.

There is increasing evidence for the potential usefulness of calprotectin (alone or in combination with other biomarkers) in different clinical settings of ACLD. First, as a noninvasive approach to investigate gut inflammation, loss of gut barrier integrity and BT. Second, as a novel and easier tool for the diagnosis and prediction of outcomes in ACLD decompensations. Globally, there is evidence showing that AF calprotectin might be a valid alternative to PMN count for SBP diagnosis. Moreover, plasmatic calprotectin seems to correlate with portal hypertension and may predict disease-related outcomes.

Most of the studies focused on SBP try to establish a cut-off value for SBP diagnosis by measuring calprotectin either in faeces, plasma or AF. Studies based on AF determination reported high sensitivity, specificity and accuracy. In all studies, infected patients had higher calprotectin than noninfected patients. However, the variability of the results precluded the establishment of a single cut-off value for the diagnosis of SBP based on AF calprotectin.[9–14,20,37,38] Moreover, AF calprotectin determination does not avoid the paracentesis. Finally, the limited number of observational studies that evaluated serum and faecal calprotectin[22–25] proposed a wide range of diagnostic cut-off values, hindering their implementation.

Regarding HE, all studies are based on faecal determination. Although faecal calprotectin seems to be higher in patients with this condition, it does not follow a lineal correlation with the grade of HE. The heterogeneity of study populations (excluding WHC III–IV) and the determination of faecal calprotectin in only one stool sample make it difficult to establish a cut-off value.[23,24,26] Data extracted from IBD patients suggest that a single

RIGHTSLINK

13652362, 2024, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/liv.16111 by Universitat Autonoma De Barcelona, Wiley Online Library on [26/10/2024]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

faecal determination should be not used for therapeutic decisions, due to interpersonal variability in faecal calprotectin even during the same day, particularly if calprotectin is very high.[5] Moreover, patients with HE are usually treated with lactulose or lactitol, and it is known that stool consistency can influence calprotectin extraction and test results.[5]

Calprotectin seems to be a predictive marker of survival particularly in alcohol-related cirrhosis regardless of liver function.[33] One of the mechanisms that would explain the magnitude of systemic inflammation in alcohol-related liver disease is that alcohol consumption increases gut permeability. This favours BT and allows pathogens to interact with liver cells and circulating immune cells, increasing inflammation biomarkers.[43] Only Homan et al.[31] hypothesized about the role of calprotectin as a biomarker in alcohol-induced hepatitis. In their study, calprotectin was a factor of poor survival independently of liver function. However, they suggest that this finding can be biased given that poor liver function is associated to bad prognosis in alcohol-induced hepatitis. They expose that also infections and endotoxemia (involving neutrophil activation) can be increased in these patients contributing to poor prognosis and higher calprotectin levels.

Only one study[33] discuss the potential role of serum calprotectin in ACLF. Although some aspects of the physiopathology of ACLF still unknown systemic inflammation play a crucial role, it seems reasonable that calprotectin may be higher in patients with this condition. In this study, although serum calprotectin was higher in ACLF versus healthy controls, it was not associated with 30-days survival. However, higher values of serum calprotectin were associated with 30-days mortality in patients with acute decompensation. Thus, it seems that circulating inflammatory biomarkers may reflect a dynamic status in ACLD.

Regarding Steatotic Liver Disease, higher levels of plasma calprotectin were associated with Fatty Liver Index >60 vs. <60 (0.57 [IQR: 0.42–0.79] mg/L vs. 0.46 [0.34–0.65]) ($p < .001$), supporting the hypothesis of increased systemic inflammation underlying liver disease.[44]

Although we have not found any study in humans that evaluated the potential impact of nonselective betablockers on calprotectin levels, it is interesting to highlight that Kido et al.[45] observed a significantly increased calprotectin expression in norepinephrine stimulated U-937 cells (human monocyte cell line) via beta-adrenergic receptors. In this scenario, propranolol partially inhibited expression of S100A8/A9 mRNAs. Thus, receiving treatment with nonselective betablockers may somehow modify calprotectin expression. This is an unmet need and should be considered in further studies.

After assessing the risk of bias with Newcastle-Ottawa scale, any of them failed to report the comparability of the groups (most of them were classified as satisfactory).

Our study has some limitations: first, calprotectin mainly represents neutrophil activity, which could explain the discrepancy with other inflammation markers as interleukin-6 and C-reactive-protein.[6] Second, after assessing the risk of bias, none of the studies reached the maximal score, reflecting the need of further studies controlling possible cofounding factors. Finally, the comparability between included studies due to their clinical and statistical heterogeneity.

In conclusion, calprotectin is emerging as a potential biomarker in ACLD, particularly for the management of bacterial infections and alcohol-related liver disease. This systematic review summarizes the current evidence of calprotectin as a biomarker of prognosis and diagnosis in ACLD. Although further research with better study designs and prospective data is needed, calprotectin constitutes a promising tool to approach to noninvasive management of patients with ACLD.

FUNDING INFORMATION

This study was supported by the Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), and ERDFs from the EU, 'Una manera de hacer Europa', grant PI19/00523 to HM and MRS, and 'Joan Rodés' grant from Societat Catalana de Digestologia to HM. This research was supported by the Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBEREHD). The Innate Immunity laboratory (MRS) is accredited as an t Research group by the Catalan Agency for AGAUR 2021 SGR01186, respectively. IGTP is a member of the CERCA network of institutes supported by the Health Department of the Government of Catalonia.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors declare they have no conflict of interest.

ORCID

Marta Fortuny https://orcid.org/0000-0003-4413-7909
Maria-Rosa Sarrias https://orcid.org/0000-0001-6929-8069
Maria Torner https://orcid.org/0000-0002-7652-2484
Ignacio Iborra https://orcid.org/0000-0002-5345-2516
Ariadna Clos https://orcid.org/0000-0002-6414-2097
Alba Ardèvol https://orcid.org/0000-0001-8782-8035
Ramon Bartoli https://orcid.org/0000-0002-0636-0942
Rosa M. Morillas https://orcid.org/0000-0001-9117-5049
Eugeni Domènech https://orcid.org/0000-0002-2315-7196
Helena Masnou https://orcid.org/0000-0003-0632-1393

RIGHTSLINK

13652362, 2024, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/hepa.14111 by Universitat Autònoma De Barcelona, Wiley Online Library on [24/10/2024]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

REFERENCES

1. Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, Tilg H, Adolph TE. Calprotectin: from biomarker to biological function. *Gut*. 2021;1:1-11. doi:10.1136/gutjnl-2021-324855
2. Poullis A, Foster R, Mendall MA, Fagerhol MK. Emerging role of calprotectin in gastroenterology. *J Gastroenterol Hepatol*. 2003;18(7):756-762. doi:10.1046/j.1440-1746.2003.03014.x
3. Guardiola J, Cerrillo E, Gisbert JP, Esteve M. Recomendaciones del Grupo Español de Trabajo en Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa (GETECCU) sobre la utilidad de la determinación de calprotectina fecal en la enfermedad inflamatoria intestinal. *Gastroenterol Hepatol*. 2018;41(8):514-529. doi:10.1016/j.gastrohep.2018.05.029
4. Teh CSJ, Suhaili Z, Lim KT, et al. The value of calprotectin in synovial fluid for the diagnosis of chronic prosthetic joint infection. *Bone Jt Res*. 2020;9(8):450-456. doi:10.1302/2046-3758.98.BJR-2019-0329.R
5. D'Amico F, Rubin DT, Kotze PG, et al. International consensus on methodological issues in standardization of fecal calprotectin measurement in inflammatory bowel diseases. *United Eur Gastroenterol J*. 2021;9(4):451-460. doi:10.1002/ueg2.12069
6. Riva A, Gray EH, Azarian S, et al. Faecal cytokine profiling as a marker of intestinal inflammation in acutely decompensated cirrhosis. *JHEP Rep*. 2020;2(6):100151. doi:10.1016/j.jhepr.2020.100151
7. de Franchis R, Bosch J, Garcia-Tsao G, et al. Baveno VII—renewing consensus in portal hypertension. *J Hepatol*. 2022;76(4):959-974. doi:10.1016/j.jhep.2021.12.022
8. Wells GA, Shea B, O'Connell D, et al. *The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for Assessing the Quality if Nonrandomized Studies in Meta-Analyses*. 2023. http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.htm
9. Abdel-Razik A, Mousa N, Elhammady D, et al. Ascitic fluid calprotectin and serum procalcitonin as accurate diagnostic markers for spontaneous bacterial peritonitis. *Gut Liver*. 2016;10(4):624-631. doi:10.5009/gnl15120
10. Burri E, Schulte F, Muser J, Meier R, Beglinger C. Measurement of calprotectin in ascitic fluid to identify elevated polymorphonuclear cell count. *World J Gastroenterol*. 2013;19(13):2028-2036. doi:10.3748/wjg.v19.i13.2028
11. Selim FO, El-Deeb NA, Farrag HA, Ahmed AM. Assessment of calprotectin in ascitic fluid as a marker for spontaneous bacterial peritonitis diagnosis in cirrhotic patients. *Egypt J Intern Med*. 2018;30(4):223-230. doi:10.4103/ejim.ejim_17_18
12. Fernandes SR, Santos P, Fatela N, et al. Ascitic calprotectin is a novel and accurate marker for spontaneous bacterial peritonitis. *J Clin Lab Anal*. 2016;30(6):1139-1145. doi:10.1002/jcla.21994
13. Gad M, EL-Shewi M, Sabry J, Zawawy A. Role of calprotectin in diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients with ascites. *Afro-Egypt J Infect Endem Dis*. 2015;5(4):226-234. doi:10.21608/aeji.2015.17843
14. Heikl AA, El-Nokeety MM, Roshdy E, Mohey A. Ascitic calprotectin as a diagnostic marker for spontaneous bacterial peritonitis in hepatitis C virus cirrhotic Egyptian patients. *Egypt J Intern Med*. 2018;30(1):1-7. doi:10.4103/ejim.ejim_41_17
15. Weil D, Heurgue-Berlot A, Monnet E, et al. Accuracy of calprotectin using the Quantum Blue Reader for the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis. *Hepatol Res*. 2019;49(1):72-81. doi:10.1111/hepr.13239
16. Nabiel Y, Barakat G, Abed S. Serum CD64 and ascitic fluid calprotectin and microRNA-155 as potential biomarkers of spontaneous bacterial peritonitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2019;31(8):1064-1069. doi:10.1097/MEG.0000000000001443
17. Lutz P, Pfarr K, Nischalke HD, et al. The ratio of calprotectin to total protein as a diagnostic and prognostic marker for spontaneous bacterial peritonitis in patients with liver cirrhosis and ascites. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(12):2031-2039. doi:10.1515/cclm-2015-0284
18. Makhlouf NA, Morsy KH, Mahmoud AA, Hassaballa AE. Diagnostic value of ascitic fluid lactoferrin, calprotectin, and calprotectin to albumin ratio in spontaneous bacterial peritonitis. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*. 2018;7(2):2618-2631. doi:10.20546/ijcmas.2018.702.319
19. Nasereslami M, Khamnian Z, Moaddab Y, Jalali Z. Diagnostic and prognostic role of ascitic fluid calprotectin level: six-month outcome findings in cirrhotic patients. *Scand J Gastroenterol*. 2020;55(9):1093-1098. doi:10.1080/00365521.2020.1794023
20. Josifovikj FL, Stardelova KG, Todorovska B, et al. Diagnostic potential of calprotectin for spontaneous bacterial peritonitis in patients withliver cirrhosis and ascites. *Prilozi*. 2021;42(3):97-106. doi:10.2478/prilozi-2021-0040
21. Abdel-Razik A, Abdelsalam M, Gad DF, et al. Recurrence of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: novel predictors. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2020;32:718-726. doi:10.1097/MEG.0000000000001578
22. Helmy A, El Saady A, Khayyal SM, et al. Serum calprotectin as a non-invasive diagnostic marker for spontaneous bacterial peritonitis in Egyptian cirrhotic patients. *J Med Sci Clin Res*. 2016;4(7):11177-11188. doi:10.18535/jmscr/v4i7.01
23. Elnaggar YA, Zidan HE, Abdelbaky EM, Wadea FM. Association of Increased Fecal Calprotectin levels with hepatic encephalopathy and spontaneous peritonitis in Egyptian cirrhotic patients. *J Gastroenterol Hepatol Res*. 2020;9(3):3217-3222. doi:10.17554/j.issn.2224-3992.2020.09.925
24. Gundling F, Schmidtler F, Hapfelmeier A, et al. Fecal calprotectin is a useful screening parameter for hepatic encephalopathy and spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis. *Liver Int*. 2011;31(9):1406-1415. doi:10.1111/j.1478-3231.2011.02577.x
25. Tokmak S, Harmanci ÖA. Elevated levels of fecal calprotectin in cirrhotic patients and spontaneous bacterial peritonitis. *Duzce Med J*. 2019;21(3):214-217. doi:10.18678/dtfd.653549
26. Alempijević T, Štulić M, Popovic D, Culafic D, Dragasevic S, Milosavljevic T. The role of fecal calprotectin in assessment of hepatic encephalopathy in patients with liver cirrhosis. *Acta Gastroenterol Belg*. 2014;77(3):302-305.
27. Yagmur E, Schnyder B, Scholten D, et al. Erhöhte konzentrationen von fäkalem calprotectin bei patienten mit leberzirrhose. *Dtsch Medizinische Wochenschrift*. 2006;131(36):1930-1934. doi:10.1055/s-2006-949189
28. Homann C, Garred P, Graudal N, et al. Plasma calprotectin: a new prognostic marker of survival in alcohol-induced cirrhosis. *Hepatology*. 1995;21(4):979-985. doi:10.1016/0270-9139(95)90244-9
29. Blesl A, Jüngst C, Lammert F, et al. Secondary sclerosing cholangitis in critically ill patients alters the gut–liver axis: a case control study. *Nutrients*. 2020;12(9):2728. doi:10.3390/nu12092728

RIGHTSLINK

30. Header DA, Ellakany WI, Ellakany AI. El nivel de calprotectina fecal como marcador de várices esofágicas en pacientes egipcios cirróticos por VHC. *Rev Gastroenterol México*. 2022. doi:10.1016/j.rgmx.2021.11.009
31. Homann C, Christensen E, Schlichting P, Philipsen EK, Graudal NA, Garred P. Ascites fluid and plasma calprotectin concentrations in liver disease. *Scand J Gastroenterol*. 2003;38(4):415-420. doi:10.1080/00365520310000870
32. Prystupa A, Kiciński P, Luchowska-kocot D. Analysis of novel serum markers of fibrosis and angiogenesis in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Ann Agric Environ Med*. 2020;27(4):568-573. doi:10.26444/aaem/127621
33. Matiollo C, Rateke ECM, Moura EQA, et al. Elevated calprotectin levels are associated with mortality in patients with acute decompensation of liver cirrhosis. *World J Hepatol*. 2022;14(11):1964-1976. doi:10.4254/wjh.v14.i11.1964
34. Koutsounas I, Kaltsa G, Siakavellas SI, Bamias G. Markers of bacterial translocation in end-stage liver disease. *World J Hepatol*. 2015;7(20):2264-2273. doi:10.4254/wjh.v7.i20.2264
35. Turco L, Garcia-Tsao G. Portal hypertension: pathogenesis and diagnosis. *Clin Liver Dis*. 2019;23(4):573-587. doi:10.1016/j.cld.2019.07.007
36. van der Merwe S, Chokshi S, Bernsmeier C, Albillos A. The multifactorial mechanisms of bacterial infection in decompensated cirrhosis. *J Hepatol*. 2021;75:S82-S100. doi:10.1016/j.jhep.2020.11.029
37. Cohen MJ, Sahar T, Benenson S, Elinav E, Brezis M, Soares-Weiser K. Antibiotic prophylaxis for spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients with ascites, without gastro-intestinal bleeding. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009;2:CD004791. doi:10.1002/14651858.CD004791.pub2
38. Angeli P, Bernardi M, Villanueva C, et al. EASL Clinical Practice Guidelines for the management of patients with decompensated cirrhosis. *J Hepatol*. 2018;69(2):406-460. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.024
39. Vilstrup H, Amodio P, Bajaj J, et al. Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 practice guideline by the European Association for the Study of the Liver and the American Association for the Study of Liver Diseases. *J Hepatol*. 2014;61(3):642-659. doi:10.1016/j.jhep.2014.05.042
40. Montagnese S, Rautou PE, Romero-Gómez M, et al. EASL Clinical Practice Guidelines on the management of hepatic encephalopathy. *J Hepatol*. 2022;77(3):807-824. doi:10.1016/j.jhep.2022.06.001
41. Costa D, Simbrunner B, Jachs M, et al. Systemic inflammation increases across distinct stages of advanced chronic liver disease and correlates with decompensation and mortality. *J Hepatol*. 2021;74(4):819-828. doi:10.1016/j.jhep.2020.10.004
42. D'Amico G, Morabito A, D'Amico M, et al. Clinical states of cirrhosis and competing risks. *J Hepatol*. 2018;68(3):563-576. doi:10.1016/j.jhep.2017.10.020
43. Stankevic E, Israelsen M, Juel HB, et al. Binge drinking episode causes acute, specific alterations in systemic and hepatic inflammation-related markers. *Liver Int*. 2023:1-12. doi:10.1111/liv.15692
44. Bourgonje AR, van den Berg EH, Kieneker LM, et al. Plasma calprotectin levels associate with suspected metabolic-associated fatty liver disease and all-cause mortality in the general population. *Int J Mol Sci*. 2022;23(24):15708. doi:10.3390/ijms232415708
45. Kido J, Hayashi N, Kataoka M, Shinohara Y, Nagata T. Norepinephrine stimulates calprotectin expression in human monocytic cells. *J Periodontal Res*. 2006;41(3):159-164. doi:10.1111/j.1600-0765.2005.00845.x

How to cite this article: Fortuny M, Sarrias M-R, Torner M, et al. Systematic review of the role of calprotectin in cirrhosis. *Eur J Clin Invest*. 2024;54:e14111. doi:10.1111/eci.14111

14602362, 2024, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/eci.14111 by Universitat Autònoma De Barcelona, Wiley Online Library on [24/10/2024]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

RIGHTSLINK

APPENDIX A

Critical appraisal tool for observational studies. Based on Newcastle-Ottawa Quality Assessment Scale for Cohort Studies, Case–Control studies and adapted for Cross Sectional Studies.

	Selection				Comparability	Outcome			Total score
Cohort studies	Representativeness of the exposed cohort	Selection of the nonexposed cohort	Ascertainment of exposure	Demonstration that outcome of interest was not present at start of study	Comparability of cohorts on the basis of the design or analysis	Assessment of outcome	Was follow-up long enough for outcomes to occur?	Adequacy of follow-up of cohorts	
Matiollo et al.[33]	+		++			+	+	+	6/10

	Selection					Outcome		
Cross sectional studies	Representativeness of the exposed cohort	Sample Size	Nonincluded subjects	Ascertainment of the exposure	Comparability	Assessment of outcome	Statistical test	Total score
Abdel-Razik et al.[9]	+			+		++	+	5/10
Burri et al.[10]	+			+		++	+	5/10
Selim et al.[11]	+			+		++	+	5/10
Fernandes et al.[12]	+			+		++	+	5/10
Gad et al.[13]	+			+		++	+	5/10
Heikl et al.[14]	+			+		++	+	5/10
Weil et al.[15]	+			+		++	+	5/10
Nabiel et al.[16]	+			+		++	+	5/10
Lutz et al.[17]	+			+		++	+	5/10
Makhlouf et al.[18]	+			+		++	+	5/10
Nasereslami et al.[19]	+	+		+		++	+	6/10
Josifovikj et al.[20]	+			+		++	+	5/10
Abdel-razik et al.[21]	+			+		++	+	5/10
Helmy et al.[22]	+			+		++	+	5/10
Tokmak et al.[25]	+			+		++	+	5/10
Alempijević et al.[26]	+			+		++	+	5/10
Riva et al.[6]	+			+		++	+	5/10
Yagmur et al.[27]	+			+		++	+	5/10

19032042, 2024, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ene.16111 by Universitat Autonoma De Barcelona, Wiley Online Library on [26/10/2024]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

RIGHTSLINK

Cross sectional studies	Selection				Comparability	Outcome		Total score
	Representativeness of the exposed cohort	Sample Size	Nonincluded subjects	Ascertainment of the exposure		Assessment of outcome	Statistical test	
Blesl et al.[29]	+			+	+	++	+	6/10
Header et al.[30]	+			+		++	+	5/10
Prytsupa et al.[32]	+			+		++	+	5/10

Case–Control studies	Selection				Comparability	Exposure			Total score
	Is the case definition adequate?	Representativeness of the cases	Selection of controls	Definition of controls	Comparability of cases and controls on the basis of the design or analysis	Ascertainment of exposure	Same method of ascertainment for cases and controls	Nonresponse rate	
Nabiel et al.[16]	+	+		+	+	+	+		7/10
Elnaggar et al.[23]	+	+		+	+	+	+		7/10
Gundling et al.[24]	+	+		+	+	+	+		7/10
Homan et al.[31]	+	+		+	+	+	+		7/10
Homann et al.[28]	+	+		+	+	+	+		7/10

APPENDIX B

West Haven criteria for the diagnosis of hepatic encephalopathy.

Stage	Distinguishing features
0	No abnormality detected
1	Trivial lack of awareness Euphoria or anxiety Shortened attention Impaired performance of addition
2	Lethargy or apathy Minimal disorientation for time or place Subtle personality change Inappropriate behaviour impaired performance of subtraction
3	Somnolence to semi stupor, but responsive to verbal stimuli Confusion Gross disorientation
4	Coma (unresponsive to verbal or noxious stimuli)

19652302, 2024, 2, Downloaded from onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/liv.16111 by Universitat Autonoma De Barcelona, Wiley Online Library on [24/10/2024]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

10.6. Ayudas a la investigación

Este estudio ha sido financiado por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), i ERDFs de EU, 'Una manera de hacer Europa', PI19/00523 a la Dra.Helena Masnou y Dra.Maria Rosa Sarrias y la beca "Joan Rodés" de la Societat Catalana de Digestologia a la Dra.Helena Masnou.