



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

**Ascitis y Encefalopatía, Causas de Muerte
y Supervivencia del Paciente por Cirrosis Alcohólica
y su Influencia Inmunológica**

Dña. Raquel Morales Penalva

2021



ASCITIS Y ENCEFALOPATÍA, CAUSAS DE MUERTE Y SUPERVIVENCIA DEL PACIENTE POR CIRROSIS ALCOHÓLICA Y SU INFLUENCIA INMUNOLÓGICA

Tesis para optar al grado de Doctor

Presentada por

RAQUEL MORALES PENALVA

Dirigida por

Prof. ^a Dra. Isabel Legaz Pérez

Dr. Manuel Muro Amador

UNIVERSIDAD DE MURCIA

PROGRAMA DE DOCTORADO “INTEGRACIÓN Y MODULACIÓN DE SEÑALES EN BIOMEDICINA”
Murcia, 2021

Este trabajo es el resultado de mucho esfuerzo y tiempo dedicados, pero jamás hubiera podido llegar a ver la luz sin todas las personas que me han ayudado.

Gracias a Isabel, por su dedicación, paciencia y disposición constante. Gracias por todo ese apoyo y ayuda incondicional...gracias por todo el tiempo dedicado, por darme oportunidades y sobre todo por los consejos, guía y ánimos en el camino, tanto profesional como personalmente, que me ha llevado a emprender este camino y encauzar mi futuro. Mil gracias. Al Dr. Manuel Muro, gracias por aceptar la dirección de esta tesis y por el apoyo y ayuda prestada de forma desinteresada.

Por supuesto, a José Miguel Bolarín su inestimable colaboración en la parte estadística, consiguiendo hacer fácil lo que no lo era y además de una forma agradable.

A todos los miembros del Servicio de Inmunología del Hospital Virgen de la Arrixaca, por la acogida y el buen tratamiento recibido.

A mis alumnos, gracias por preocuparos y vuestra paciencia en la espera de las notas.

A mi familia, gracias por aguantarme en los peores momentos y esperar pacientemente para que yo pudiera trabajar en esta tesis. Por tener siempre una palabra de ánimo para mí. Perdón por no haber estado con vosotros durante tanto tiempo. Espero poder resarciros en el futuro como os merecéis.

A mi hermana, María, gracias por estar siempre dispuesta a escuchar y prestarme tu hombro para llorar, por esos abrazos que me dan fuerzas para seguir adelante.

A mi marido, Elías, mi compañero...Gracias por estar siempre, por tu paciencia, honestidad, templanza, generosidad, fortaleza...siempre dispuesto a ayudarme en lo que fuera, apoyándome en cada decisión que he tomado. Gracias por todo.

Y por último, gracias a ti mamá, que aunque no estés con nosotros, yo sé que estas intercediendo por mí todos los días de mi vida.

Abreviaturas

ABREVIATURAS

AAIS	Escala de participación de alcohol en adolescentes (del inglés “ <i>Adolescent Alcohol Involvement Scale</i> ”)
AcH	Acetaldehído
ACC	Acetil-CoA Carboxilasa
ACL	ATP citrato liasa
ADH	Alcohol deshidrogenasa
AFND	Base de datos de frecuencias alélicas (del inglés, “ <i>Allele Frequency Net Database</i> ”)
AH	Hepatitis alcohólica
aKIR	KIR de activación
ALD	Hepatopatía alcohólica (del inglés “ <i>Alcoholic liver Disease</i> ”)
ALDH	Aldehído deshidrogenasa
ALT	Alanina aminotransferasa
ALP	Fosfatasa alcalina
AMPK	Proteína quinasa activada por AMP (del inglés “ <i>AMP-activated protein kinase</i> ”)
AP-1	Proteína activadora-1
APC	Consumo de alcohol per cápita (del inglés, “ <i>Total alcohol per capita consumption</i> ”)
Arg	Arginina
ARP	Actividad de la renina plasmática
ARNm	ARN mensajero
ASH	Esteatohepatitis alcohólica
Asn	Asparagina
AST	Aspartato aminotransferasa
AUDIT	Test de identificación de los trastornos debidos al consumo de alcohol (del inglés, “ <i>Alcohol Use Disorders Identification Test</i> ”)
BHE	Barrera hematoencefálica
CA	Cirrosis alcohólica
CAGE	Del inglés, “ <i>Cuttingdown, Annoyed, Guilt, Eyeopen</i> ”, que en español significa, problemas relaciones con la reducción de alcohol, molestarse por las críticas, sentimiento de culpa y consumo de alcohol por la mañana.
CB1	Receptor Cannabinoide tipo 1
CBP	Cirrosis biliar primaria
CC	Centímetros cúbicos
CCAA	Comunidad Autónoma
CCL2	Proteína quimioatrayente de monocitos 1
CDC	Centro para el Control y Prevención de enfermedad (del inglés, “ <i>Center for Disease Control and Prevention</i> ”)
CEH	Célula estrellada hepática
CHA	Cirrosis hepática alcohólica
CHESS	Escala de estadificación de encefalopatía hepática clínica (del inglés, “ <i>Clinical Hepatic Encephalopathy Staging Scale</i> ”)
ChREBP	Proteína de unión al elemento sensible a los carbohidratos
CK	Célula de Kupffer
CPT-1	Carnitina palmitoiltransferasa 1
CNV	Variación del número de copias génicas (del inglés, “ <i>gene Copy-Number Variation</i> ”)
CYP2E1	Citocromo P450 subfamilia 2E1
DMID	Diabetes mellitus insulino dependiente
DMSO	Dimetilsulfoxido
DSM-IV	Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (del inglés, “ <i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV</i> ”)
DPI	Índice de Problemas por la Bebida

EA	Espondilitis anquilosante
ECV	Enfermedades cardiovasculares
EDADES	Encuestas sobre alcohol y drogas en España
EEM	Error Estándar de la Media
EH	Encefalopatía hepática
EHA	Esteatosis hepática alcohólica
EHNA	Esteatohepatitis no alcohólica
ELTR	Registro Europeo de trasplante de hígado (del inglés, “ <i>European Liver Transplant Registry</i> ”)
FAS	Ácido graso sintasa
FFA	Ácido graso libre
GALT	Tejido linfoide asociado al intestino
GPAT	Glicerol-3-fosfato aciltransferasa
GR	Glutación reductasa
GSH	Glutación reducido
GSSG	Glutación oxidado
HCUVA	Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca
HESA	Algoritmo de escalado de encefalopatía hepática
HGNA	Hígado graso no alcohólico
HIF	Factor inducible por hipoxia
HLA-1	Moléculas de clase I (en humanos HLA-1, <i>Human Leucocyte Antigen class I</i>) del complejo principal de histocompatibilidad
HNE	Hidroxinenal
HP	Hipertensión portal
HPA	Hepatopatía alcohólica
HS	Heparán sulfato
HSC	Célula estrellada hepática
HUVA	Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca
Ig	Inmunoglobulina
iKIR	KIR inhibitorios
IL	Interleucina
Ile	Isoleucina
IRA	Insuficiencia renal aguda
ITAM	Motivo activador (del inglés, “ <i>Immunoreceptor Tyrosinebased Activating Motifs</i> ”)
ITIM	Motivo inhibidor (del inglés, “ <i>Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motifs</i> ”)
JNK	Quinasa c-jun N-terminal
KDDB	KIR y la base de datos de enfermedades (del inglés, “ <i>The KIR and Diseases Database</i> ”)
KIR	Receptor tipo inmunoglobulina de las células NK (del inglés, “ <i>Killer Immunoglobulin-like Receptor</i> ”)
LDH	Lactato deshidrogenasa
LPS	Lipopolisacárido
LRC	Complejo de receptores leucocitarios (del inglés, “ <i>Leukocyte Receptor Complex</i> ”)
LSEC	Célula endotelial sinusoidal
LVP	Paracentesis de gran volumen
LXRα	El receptor hepático X alfa (del inglés, “ <i>Liver X Receptor alfa</i> ”)
Lys	Lisina
MALT	Test para el diagnóstico de alcoholismo (del inglés, “ <i>Munchner Alkoholismus Test</i> ”)
MAPK	Proteína quinasa activada por mitógeno
MAST	Test de detección de alcoholismo de Michigan (del inglés <i>Michigan Alcoholism Screening Test</i>)
M-CSF	Factor estimulante de colonias de macrófagos
MDA	Malondialdehído
MEOS	Sistema microsomal oxidativo de etanol (del inglés, “ <i>Microsomal ethanol-oxidizing system</i> ”)

MEC	Matriz extracelular
Met	Metionina
MHC	Complejo principal de histocompatibilidad (del inglés, “ <i>Major Histocompatibility Complex</i> ”)
MLN	Ganglios linfáticos mesentéricos
MMP	Metaloproteinasas de la matriz extracelular (del inglés, “ <i>Matrix Metalloproteinase</i> ”)
MSC	Células madre mesenquimales
NAD⁺	Nicotinamida adenina dinucleótido oxidado
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido reducido
NADP⁺	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidado
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido
NF-κB	Factor nuclear-kappa B
NKcs	Células NK
NO_x	Óxidos de nitrógeno
ODS	Objetivos de Desarrollo Sostenible
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONT	Organización Nacional de Trasplantes
OPN	Osteopontina
OPTN	Red de Adquisición y trasplante de órganos (del inglés, “ <i>Organ Procurement and Transplantation Network</i> ”)
PAF	Factor activador de plaquetas
PAS	Peritonitis bacteriana espontánea
Pb	Pares de bases
PCR-SSO	Reacción en cadena de la polimerasa de oligonucleótidos específicos de secuencia (del inglés, <i>polymerase chain reaction- Sequence-Specific Oligonucleotide</i>)
PCR-SSP	Reacción en cadena de la polimerasa con cebadores de secuencia específica (del inglés, “ <i>Polymerase chain reaction- Sequence-Specific primers</i> ”)
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PMN	Leucocito polimorfonuclear
PNPLA3	Dominio de la fosfolipasa-patatina 3
PO	Aceite de pachulí
PPARα	Receptor de peroxisomas proliferador activado alfa
PPARγ	Receptor de peroxisoma-proliferador activado gamma
PPG	Gradiente de presión portal
RAAS	Sistema renina-angiotensina-aldosterona (del inglés, “ <i>Renin-angiotensin-aldosterone system</i> ”)
ROS	Especies reactivas de oxígeno
RNS	Especies reactivas de nitrógeno
SBP	Peritonitis bacteriana espontánea (del inglés, “ <i>Spontaneous bacterial peritonitis</i> ”)
SCD-1	Esteroil-CoA desaturasa 1
SHR	Síndrome Hepatorrenal
SMAD3	Proteína homóloga tanto de la proteína de la mosca <i>Drosophila</i> , la proteína MAD (por su siglas en inglés “ <i>Mothers Against Decantaplegic</i> ”, donde decantapléjico se refiere a una proteína de la mosca homóloga a la proteína morfogénica ósea humana) y la proteína de la especie de nemátodos <i>Caenorhabditis elegans</i> SMA (del gen "sma" de la palabra "small", cuerpo pequeño en vista de su capacidad de alterar el tamaño corporal)
SNS	Sistema nervioso simpático
SOD	Superóxido dismutasa
SP-1	Especificidad proteína-1
SREBP	Proteína de unión al elemento regulador de esteroides
SREBP-1c	Proteína de unión al elemento regulador de esteroides c
SRTR	Registro científico de receptores de trasplantes (del inglés, “ <i>Scientific Registry of Transplant Recipients</i> ”)

SSDH	Succínico semialdehído deshidrogenasa
STAT	Señal de transducción y activación de la transcripción
TB	Translocación bacteriana
TIL	Linfocitos infiltrantes del tumor (del inglés, " <i>Tumour infiltrating lymphocytes</i> ")
TIMP	Inhibidores tisulares de metaloproteinasas (del inglés, " <i>Tissue inhibitor of metalloproteinase</i> ")
TIPS	Derivación portosistémica intrahepática transyugular
TG	Triglicéridos
TGF-β	Factor de crecimiento transformante β
TH	Tiroiditis de Hashimoto
TLR 4	Receptor tipo Toll 4-CD14 (del inglés, " <i>Toll-like receptor 4</i> ").
TRAIL	Receptor ligando inductor de apoptosis
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa
UE	Unión europea
UBE	Unidad de bebida estándar (del inglés, SD " <i>Standard Drink</i> ")
UNOS	Red Unida para compartir órganos (del inglés, " <i>United Network of Organ Sharing</i> ")
Val	Valina
VHB	Virus de la hepatitis B
VHC	Virus de la hepatitis C
VHD	Virus de la hepatitis delta
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
VPH	Virus del papiloma humano
WHO	Organización mundial de la salud (del inglés, " <i>World health organization</i> ")

Índice

ÍNDICE

RESUMEN	21
ABSTRACT	24
1. INTRODUCCIÓN	29
1. Breve referencia histórica sobre el alcohol	29
2. Definición y diagnóstico de alcoholismo	29
3. Clasificación del consumo de alcohol	32
4. Epidemiología del consumo de alcohol en la actualidad	34
4.1. Consumo de alcohol a nivel mundial	35
4.2. Consumo de alcohol en la Unión Europea	38
4.3. Consumo de alcohol en España	39
5. Metabolismo del alcohol	53
5.1. Sistemas enzimáticos implicados en el metabolismo oxidativo del hígado	54
5.1.1. Sistema de la vía alcohol-deshidrogenasa (ADH).....	54
5.1.2. Sistema microsomal oxidativo de etanol (MEOS)	55
5.1.3. Vía de la catalasa.....	56
5.1.4. Vía de la aldehído deshidrogenasa	57
5.2. Polimorfismos de enzimas implicadas en el metabolismo del alcohol.....	57
6. Riesgos y beneficios relacionados con el consumo de alcohol	61
7. Cirrosis hepática	63
7.1. Cirrosis hepática alcohólica.....	63
7.1.1. Generalidades de la cirrosis hepática alcohólica	63
7.1.2. Cirrosis y alcohol.....	65
7.2. Fisiopatología y progresión de la hepatopatía alcohólica crónica	68
7.2.1. Esteatosis hepática.....	69
7.2.2. Hepatitis alcohólica	71
7.2.3. Esteatohepatitis alcohólica	72
7.2.4. Fibrosis hepática.....	75
7.2.5. Cirrosis hepática: cirrosis compensada y descompensada	78
7.3. Factores genéticos de la enfermedad hepática alcohólica	80
7.4. Manifestaciones clínicas y complicaciones de la cirrosis hepática alcohólica	81
8. Cirrosis hepática alcohólica y ascitis	85
8.1. Etiología de la ascitis.....	85
8.2. Tipos de ascitis	88

8.3. Tratamiento de la ascitis	90
9. Cirrosis hepática alcohólica y encefalopatía alcohólica	92
9.1. Etiología de la encefalopatía.....	92
9.2. Tipos de encefalopatía.....	94
9.3. Tratamiento de la encefalopatía.....	97
10. Hígado e inmunidad innata	98
11. Efecto del alcohol sobre el sistema inmune y fisiopatología de la hepatitis alcohólica	101
12. Mecanismos celulares y moleculares del desarrollo de fibrosis hepática inducida por alcohol	112
12.1. Células estrelladas hepáticas	114
12.1.1. Función de la célula estrellada hepática en hígado sano	115
12.1.2. Activación de las células estrelladas del hígado.....	115
12.2. Células de Kupffer.....	119
12.2.1. Amplificación por alcohol del efecto profibrogénico de las células de Kupffer.	120
12.3. Células Natural Killer en el hígado	121
12.3.1. Efecto antifibrótico de las células NK.....	121
12.3.2. Anulación por alcohol del efecto antifibrótico de las células NK	123
13. Receptores de tipo Inmunoglobulina de las células NK (KIRs)	124
13.1. Estructura y nomenclatura	124
13.2. Ligandos de los receptores KIR.....	128
14. Genes <i>KIR</i>	133
14.1. El complejo de receptores leucocitarios (LRC).....	133
14.2. Estructura de los genes <i>KIR</i>	135
14.3. Haplotipos KIR.....	137
14.4. Polimorfismo alélico	142
14.4.1. Polimorfismo de los genes <i>KIR</i>	143
14.4.2. Diversidad de receptores KIR en células NK.....	144
14.4.3. Diversidad de receptores KIR-HLA y relación con enfermedades	144
2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO Y OBJETIVOS	151
3. PACIENTES Y MÉTODOS.....	157
1. Pacientes y controles	157
2. Diagnóstico de cirrosis alcohólica	158
3. Obtención y recogida de muestras.....	159
4. Extracción de ADN	161
5. Cuantificación de ADN.....	163
6. Análisis de los genes <i>KIR</i>	164

6.1. Análisis de los genes KIR por PCR-SSO en tecnología Luminex®	165
6.1.1. Fundamento de la técnica	165
6.1.2. Protocolo de PCR-SSO	166
7. Análisis de los genotipos KIR.....	168
7.1. Análisis de genotipos KIR específicos	169
7.2. Análisis de genotipos KIR generales	169
8. Genotipado de ligandos HLA-C de clase I.....	169
8.1. Genotipado de HLA-C por PCR-SSO	170
8.2. Análisis de genotipaje de HLA-C por PCR-SSO reversa.....	170
8.2.1. Reacción de amplificación	173
8.2.2. Reacción de hibridación	174
8.2.3. Reacción de detección	174
8.3. Genotipado de HLA-B	175
9. Principales causas y hora de muerte en pacientes con cirrosis alcohólica	176
10. Análisis estadístico	177
4. RESULTADOS.....	181
1. Características demográficas y clínicas de pacientes con cirrosis alcohólica	181
1.1. Características demográficas y analíticas del paciente con cirrosis alcohólica	182
1.2. Características bioquímicas del paciente con cirrosis alcohólica que desarrolla ascitis o encefalopatía.....	184
1.3. Índices pronósticos clínicos de la cirrosis hepática alcohólica con ascitis y encefalopatía asociada	189
2. Genes KIR y cirrosis hepática alcohólica.....	194
2.1. Análisis de genes KIR en pacientes con ascitis	194
2.1.1. Análisis de las frecuencias de genes KIR inhibidores en pacientes con cirrosis alcohólica y ascitis	194
2.1.2. Análisis de las frecuencias de genes KIR activadores en pacientes con cirrosis alcohólica y ascitis	195
2.1.3. Analisis de genes KIR en pacientes con distintos grados de ascitis	197
2.2. Análisis en las frecuencias de genes KIR en pacientes con encefalopatía.	201
2.2.1. Análisis de las frecuencias de genes KIR inhibidores en pacientes con cirrosis alcohólica y encefalopatía.....	201
2.2.2. Análisis de las frecuencias de genes KIR activadores en pacientes con cirrosis alcohólica y encefalopatía.....	202
2.2.3 Análisis de genes KIR en pacientes con distintos grados de encefalopatía.....	204
3. Analisis de la frecuencia de epítomos y genotipos HLA-C.	208
3.1. Análisis de las combinaciones de genes KIR y sus correspondientes ligandos HLA-C	214

3.1.1. Análisis de los genotipos KIR y sus ligandos HLA-C en pacientes con cirrosis alcohólica y ascitis.....	214
3.1.2. Análisis de los genotipos KIR y sus ligandos HLA-C en pacientes con cirrosis alcohólica y encefalopatía.....	218
4. Análisis de las principales causas de muerte del paciente alcohólico según genes KIR.....	221
5. Estudio de las supervivencias de los pacientes según la presencia o ausencia de genes KIR225	
5.1. Supervivencia según causas de muerte y genes KIR inhibidores.....	225
5.2. Supervivencia según causas de muerte y genes KIR activadores.....	227
5. DISCUSIÓN	233
6. CONCLUSIONES.....	263
7. ANEXOS	269
Anexo I- Consentimiento informado.....	269
Anexo II- Documento informativo.....	272
Anexo III-Protocolo de estudio	274
8. BIBLIOGRAFÍA.....	277

Resumen

RESUMEN

Introducción: La cirrosis hepática es el estadio final de la enfermedad hepática crónica progresiva, que cursa de forma subclínica durante un largo periodo de tiempo. Se observa fundamentalmente en pacientes con un consumo excesivo y prolongado de alcohol. La ascitis es la manifestación descompensante más común en pacientes con cirrosis hepática. La formación de ascitis en pacientes cirróticos está relacionada con dos mecanismos patogénicos principales: hipertensión portal (HP) y retención renal de sodio. Por otra parte, la encefalopatía hepática (EH) es otra de las complicaciones que se producen en el paciente cirrótico, además de la aparición acumulativa de ascitis, hemorragia varicosa y peritonitis bacteriana espontánea (PAS); debida predominantemente a las complicaciones de la hipertensión portal, donde el pronóstico de la cirrosis se deteriora progresivamente.

Objetivo principal: determinar la incidencia, principales características sociodemográficas, complicaciones, causas de muerte y supervivencia de los pacientes con cirrosis alcohólica sometidos a trasplante hepático, así como, el perfil genético KIR/HLA-C de estos pacientes que desarrollan ascitis o encefalopatía con la finalidad de encontrar biomarcadores que ayuden a establecer los riesgos y pronósticos en el desarrollo la ascitis y/o encefalopatía en el paciente alcohólico y tratamiento farmacológicos personalizados que pudiesen influir en su supervivencia.

Pacientes y métodos: Es un estudio realizado en un total de 281 pacientes con cirrosis alcohólica sometidos a trasplante hepático, que presentaban ascitis (n=162) y encefalopatía (n=91) como complicación de la cirrosis hepática alcohólica, diferenciando el grado alcanzado. Los datos clínicos, analíticos y radiológicos fueron recogidos de la historia clínica del paciente. El ADN genómico fue extraído de sangre periférica y el genotipaje KIR/HLA se realizó por PCR-SSO. El análisis estadístico se realizó con el SPSS 20.0. Las comparaciones se realizaron mediante el test X^2 -cuadrado y el test de Fisher de dos colas. Se aceptó un nivel de $P < 0.05$ como estadísticamente significativo. Para determinar la supervivencia se aplicó el test de Kaplan-Meier. Para establecer el pronóstico de los pacientes con CA se utilizaron tres índices: Child-Pugh, MELD y ALBI.

Resultados: En nuestro estudio, la edad media de los pacientes con cirrosis alcohólica fue de 53.63 ± 0.495 años, siendo en su totalidad hombres ($n=281$). El análisis de los parámetros bioquímicos en la población de varones con cirrosis alcohólica y ascitis mostró valores inferiores de albúmina (3.34 ± 0.62 mg/dl) en comparación con los pacientes sin ascitis ($P=0.0009$); y valores ligeramente elevados de INR, presentando diferencias entre pacientes con o sin ascitis asociada ($P=0.038$). La creatinina, por otra parte, se mostraba aumentada a medida que la gravedad de la enfermedad aumentaba en pacientes con encefalopatía asociada, con valores elevados en los pacientes con encefalopatía de tipo III (1.77 ± 1.57 mg/dl), siendo significativo ($P=0.015$). Los genes KIR2LD2 y KIR2DS2 estaban disminuidos ($P=0.013$ y $P=0.006$, respectivamente) en la población sana (63.3%) respecto al total de pacientes cirróticos (53.0%), y el gen KIR2DS5+ se encontraba aumentado de manera significativa ($P=0.033$) en la población de pacientes respecto al grupo control sano. Este patrón se repite entre los pacientes que presentan encefalopatía frente a los pacientes sin encefalopatía ($P=0.005$ para el gen KIR2DS2 y $P=0.038$ para el gen KIR2SD5). El gen KIR2DL2 disminuye en los pacientes con ascitis de tipo I (43.8%) con respecto a la población control sana (63.3%) ($P=0.036$), además de presentar diferencias entre pacientes con (47.3%) y sin encefalopatía asociada (55.8%) ($P=0.008$). El gen KIR3DL1 disminuye ligeramente entre los pacientes con ascitis asociada frente a los pacientes de cirrosis alcohólica sin ascitis asociada ($P=0.048$). El análisis de epítomos HLA-C mostró que el número de pacientes sin el ligando C1 estaba significativamente disminuido en la población de pacientes con cirrosis alcohólica respecto a la población sana ($P=0.015$). El genotipo C1C2 estaba significativamente aumentado en pacientes con ascitis asociada ($P=0.048$). El genotipo C2C2 estaba significativamente más elevado en los pacientes con cirrosis (23.5%) que en los controles (15.3%) ($P=0.015$). La disminución de la combinación de los genes KIR2DL3 con el ligando C1+ y el aumento del gen KIR2DS4 con el ligando C1+ en pacientes con cirrosis fue significativa con respecto al grupo control sano ($P=0.010$ y $P=0.013$, respectivamente). En pacientes con encefalopatía de grado I, la combinación de los genes KIR2DS1+ y KIR2DS5+ con el ligando C2+ se presentó aumentada (85.7% y 88.9%) con respecto a los pacientes de grado II (78.6% y 63.6%) de forma significativa ($P=0.043$ y $P=0.038$, respectivamente). La distribución de los genes KIR entre los pacientes con cirrosis alcohólica fallecidos según las principales causas de muerte mostró diferencias significativas ($P=0.045$) en los pacientes KIR2DL5+ con encefalopatía (50%), los cuales estaban más representados en

fallecimientos por fallo del injerto hepático que los pacientes que no tenían encefalopatía (45%). Los pacientes KIR3DL1⁻ y KIR2DS1⁺ presentan una supervivencia muy baja por fallo del injerto hepático. Los pacientes con cirrosis alcohólica KIR2DS3⁻ mostraron una mayor supervivencia frente a otros tipos de muerte. Por último, los pacientes que poseen el gen KIR2DS4 mostraron una supervivencia superior en aquellos pacientes con rechazo del injerto hepático.

Conclusiones: La cirrosis alcohólica es una causa creciente de morbilidad y mortalidad en los países más desarrollados. La ausencia del gen KIR2LD2/S2⁻ y la presencia del gen KIR2DS5⁺ parecen predisponer al desarrollo de cirrosis alcohólica. La disminución de la combinación de los genes KIR2DL3 con el ligando C1⁺ podría influir en el desarrollo de cirrosis alcohólica, en cambio la combinación de KIR2DS4 con el ligando C1⁺ podría considerarse un factor de protección frente a la cirrosis alcohólica. La disminución de los genes KIR2DL2/3DL1 podrían ser factores de predisposición de la ascitis. La disminución de KIR2DL3 podría ser un factor de protección frente al desarrollo de encefalopatía, mientras que la carencia del epítipo C1⁺ y el genotipo C2C2 podría considerarse un factor de susceptibilidad de la encefalopatía. La supervivencia de los pacientes se vio afectada en aquellos pacientes que presentaban los genes KIR3DL1, KIR2DS1, KIR2DS4 y KIR2DS4.

ABSTRACT

Introduction: Liver cirrhosis is the end stage of progressive chronic liver disease, which occurs subclinically over a long period of time. It is mainly observed in patients with excessive and prolonged alcohol consumption. Ascites is the most common decompensating manifestation in patients with liver cirrhosis. Ascites formation in cirrhotic patients is related to two main pathogenic mechanisms: portal hypertension (PH) and renal sodium retention. On the other hand, hepatic encephalopathy (HE) is another complication that occurs in cirrhotic patients, in addition to the cumulative appearance of ascites, varicose hemorrhage, and spontaneous bacterial peritonitis (PAS); predominantly due to complications of portal hypertension, where the prognosis of cirrhosis progressively deteriorates.

Objective: To know the incidence, main sociodemographic characteristics, complications, causes of deaths and survival of patients with alcoholic cirrhosis undergoing liver transplantation, as well as the genetic profile KIR/HLA of these patients who develop ascites or encephalopathy in order to find biomarkers that help to establish the risks and prognoses in the development of ascites and/or encephalopathy in the alcoholic patient and personalized pharmacological treatment that could influence their survival.

Patients and methods: This is a study carried out in a total of 281 patients with alcoholic cirrhosis who underwent liver transplantation, who presented ascites (n=162) and encephalopathy (n=91) as a complication of alcoholic liver cirrhosis, differentiating the degree achieved. All clinical, analytical and radiological data were collected from the patient's medical history. Genomic DNA was extracted from peripheral blood and KIR/HLA genotyping was performed by PCR-SSO. Statistical analysis was performed with SPSS 20.0. Comparisons were made using the X²-square test and the two-tailed Fisher test. A level of P <0.05 was accepted as statistically significant. To determine survival, the Kaplan-Meier test was applied. To establish the prognosis of patients with AC, three indices were used: Child-Pugh, MELD and ALBI.

Results: In our study, the mean age of patients with alcoholic cirrhosis was 53.63±0.495 years, being mostly men (n=281). The analysis of biochemical parameters in the male population with alcoholic cirrhosis and ascites showed lower values of

albumin (3.34 ± 0.62 mg / dl) compared to patients without ascites ($P=0.0009$); and slightly elevated INR values, showing differences between patients with or without associated ascites ($P=0.038$). On the other hand, creatinine increased as the severity of the disease increased in patients with associated encephalopathy, with elevated values in patients with type III encephalopathy (1.77 ± 1.57 mg/dl), being significant ($P=0.015$). The KIR2LD2 and KIR2DS2 genes were decreased ($P=0.013$ and $P=0.006$, respectively) in the healthy population (63.3%) compared to the total of cirrhotic patients (53.0%), and the KIR2DS5 + gene was significantly increased ($P=0.033$) in the patient population compared to the healthy control group. This pattern is repeated among patients with encephalopathy versus patients without encephalopathy ($P=0.005$ for the KIR2DS2 gene and $P=0.038$ for the KIR2SD5 gene). The KIR2DL2 gene decreases in patients with type I ascites (43.8%) compared to the healthy control population (63.3%) ($P=0.036$), in addition to presenting differences between patients with (47.3%) and without associated encephalopathy (55.8 %) ($P=0.008$). The KIR3DL1 gene decreased slightly among patients with associated ascites versus patients with alcoholic cirrhosis without associated ascites ($P=0.048$). Analysis of HLA-C epitopes showed that the number of patients without C1 ligand was significantly decreased in the patient population of patients with alcoholic cirrhosis compared to the healthy population ($P=0.015$). C1C2 genotype was significantly higher in patients with ascites ($P=0.048$) and C2C2 genotype was significantly higher in patients with cirrhosis (23.5%) than in controls (15.3%) ($P=0.015$). The decrease in the combination of the KIR2DL3 genes with the C1+ ligand and the increase in the KIR2DS4 gene with the C1+ ligand in patients with cirrhosis was significant with respect to the healthy control group ($P=0.010$ and $P=0.013$, respectively). In patients with grade I encephalopathy, the combination of the KIR2DS1+ and KIR2DS5+ genes with the C2+ ligand was significantly increased (85.7% and 88.9%) compared to grade II patients (78.6% and 63.6%) significantly ($P=0.043$ and $P=0.038$, respectively). The distribution of KIR genes among deceased patients with alcoholic cirrhosis according to the main causes of death showed significant differences ($P=0.045$) in KIR2DL5+ patients with encephalopathy (50%), who were more present in deaths due to liver graft failure than patients who did not have encephalopathy (45%). KIR3DL1- and KIR2DS1+ patients have very low survival due to liver graft failure. Patients with alcoholic cirrhosis KIR2DS3- showed greater survival compared to other types of death. Finally, patients

with the KIR2DS4 gene showed superior survival in those patients with liver graft rejection.

Conclusions: Alcoholic cirrhosis is a growing cause of morbidity and mortality in the most developed countries. The absence of the KIR2LD2/S2- gene and the presence of the KIR2DS5+ gene seem to predispose to the development of alcoholic cirrhosis. The decrease in the combination of the KIR2DL3 gene with the C1 + ligand could influence the development of alcoholic cirrhosis, whereas the combination of KIR2DS4 with the C1+ ligand could be considered a protective factor against alcoholic cirrhosis. Decreased KIR2DL2/3DL1 genes could be predisposing factors for ascites. The decrease in KIR2DL3 could be a protective factor against the development of encephalopathy, while the lack of the C1+ epitope and the C2C2 genotype could be considered a susceptibility factor for encephalopathy. Patient survival was affected in those patients with the KIR3DL1, KIR2DS1, KIR2DS4, and KIR2DS4 genes.

Introducción

1. INTRODUCCIÓN

1. Breve referencia histórica sobre el alcohol

El alcohol es consumido por la sociedad desde hace miles de años. Hay datos que sitúan al origen de las bebidas alcohólicas en el año 3400 a.C., en los montes Zagros de Irán. Aunque, se han encontrado residuos secos de alcohol en jarras de cerámica china de hasta hace 9 mil años (Berkowitz, 1996), a partir de arroz, miel, uvas y frutos de espino. Gracias a las levaduras, presentes naturalmente en algunos alimentos, se llevaba a cabo el proceso de fermentación alcohólica. En las condiciones adecuadas pueden consumir carbohidratos para producir alcohol etílico.

No obstante, la fermentación no puede producir bebidas con una graduación de hasta un 15% en volumen, lo cual hacía que la morbilidad asociada al consumo de alcohol era limitada, aunque esto hizo posible su uso como desinfectante en el neolítico. Por otra parte, se sabe que en la Europa medieval, así como en la América colonial, se producía una bebida alcohólica de poca graduación, la cerveza pequeña del inglés *small beer*, que se servía a niños y sirvientes ya que no estaba tan contaminada como el agua corriente de la época, y era económica (Diarias, 2016).

En los siglos II y III a. de C., Grecia ya practicaba destilaciones para obtener agua potable a partir de agua salada, así como para extraer alcohol del vino. En Egipto y Persia, principalmente, las técnicas de destilación se hicieron cada vez más especializadas y complejas. Para principios del siglo XIII, la Iglesia ya permitía que se fabricasen bebidas alcohólicas en los monasterios utilizando la destilación. Y para finales del siglo XV, se conocían ciertas propiedades curativas de los licores, las bebidas destiladas se consumían en diferentes variedades y graduaciones a lo largo de todo el mundo, y las técnicas de destilación ya se controlaban bien. Con la subida de la graduación alcohólica también aumentaba la morbilidad relacionada con el alcohol (Brunschwig y col., 1500) y actualmente, el alcohol etílico es una droga legal y social de las más consumidas por nuestra sociedad.

2. Definición y diagnóstico de alcoholismo

El término alcoholismo fue acuñado originalmente en 1849 por Magnus Huss, que hasta la década de 1940 hacía referencia principalmente a las consecuencias físicas del consumo masivo y prolongado (WHO, 1994). Según Ochoa, Madoz-Gúrpide y Vicente (2009) el alcoholismo se clasifica como dependencia según los criterios de consenso descritos en el Manual Diagnóstico y Estadístico de los trastornos mentales (DSM-IV, del inglés *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV*). El alcoholismo se define como un patrón desadaptativo de consumo que conlleva un deterioro o malestar clínicamente significativo en un periodo continuado de 12 meses, expresado por tres o más de los siguientes criterios:

- 1) Tolerancia.
- 2) Síndrome de abstinencia.
- 3) Pérdida de control.
- 4) Negligencia en actividades.
- 5) Emplear mucho tiempo en actividades relacionadas con la obtención, consumo o recuperación de los efectos de alcohol.
- 6) Reducción de la vida social ocupacional o recreativa (abandono de las fuentes de placer o diversiones).
- 7) Presencia del consumo a pesar de las consecuencias.

La dependencia al alcohol supone un factor de riesgo y es una causa subyacente necesaria que contribuye a enfermedades infecciosas, cáncer, diabetes, enfermedades neuropsiquiátricas (incluidos los trastornos por consumo de alcohol), enfermedades cardiovasculares, enfermedades del hígado (Legaz y col., 2013; Legaz y col., 2016; Legaz y col., 2019) y páncreas, y lesiones no intencionales e intencionales (Rehm, 2011).

Para el diagnóstico de alcoholismo es necesaria una correcta anamnesis junto con una exploración clínica, la valoración de la cantidad y frecuencia de la ingesta alcohólica, e incluso, se utilizan cuestionarios diagnósticos, eficaces en la detección y diagnóstico de los trastornos relacionados con el uso del alcohol. Los más utilizados son el CAGE (de la siglas en inglés, *Cuttingdown, Annoyed, Guilt, Eyeopen*, que en español significa, problemas relacionados con la reducción de alcohol, molestarse por las críticas, sentimiento de culpa y consumo de alcohol por la mañana).

El cuestionario CAGE (Tabla 1) consiste en cuatro preguntas, en la que dos de ellas contestadas de manera positiva indican dependencia alcohólica con una sensibilidad de más del 70% y especificidad de más del 90% (Buchsbaum y col., 1992; Girela y col., 1994; Canedo, 2011).

Tabla 1. Cuestionario CAGE

¿Ha sentido alguna vez que debe beber menos? *Have you felt the need to Cut down drinking?*

¿Le ha molestado que la gente lo critique por su forma de beber? *Have you ever felt Annoyed by criticism of drinking?*

¿Alguna vez se ha sentido mal o culpable por su forma de beber? *Have you had Guilty feelings about drinking?*

¿Alguna vez ha necesitado beber a primera hora de la mañana para calmar los nervios o eliminar molestias por haber bebido la noche anterior? *Do you ever take a morning Eye opener?*

(Extraído y adaptado de Ochoa y col., 2009)

En este cuestionario se considera que cuanto mayor es la puntuación, mayor es la dependencia de la persona al alcohol (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación del consumo de alcohol según las puntuaciones obtenidas del cuestionario CAGE

Puntuación	Significado
0-1 puntos	Bebedor social
2 puntos	Consumo de riesgo
3 puntos	Consumo perjudicial
4 puntos	Dependencia alcohólica

(Extraído y adaptado de Ferreira González, s. f.; Dervaux y col., 2006)

Otros cuestionarios utilizados son el AUDIT (Test de identificación de los trastornos debidos al consumo de alcohol de las siglas en inglés *Alcohol Use Disorders Identification Test*) y el MALT o Münchner Alkoholismus Test, el MAST o Michigan Alcoholism Screening Test, el DPI o Índice de Problemas por la Bebida (diseñado

específicamente para población mayor de 55 años), el AAIS o *Adolescent Alcohol Involvement Scale* que identifica adolescentes con problemas relacionados con la bebida o el T-ACE y TWEAK (diseñados específicamente para detectar casos de alto riesgo en mujeres durante el embarazo), pero resultan menos simples que el CAGE (Ochoa y col., 2009; Canedo, 2011).

3. Clasificación del consumo de alcohol

Existe una unidad de medida estándar determinada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) que determina el consumo responsable para cada consumidor, el UBE (Unidad de Bebida Estándar) o *standard drink* o *unit* en los países anglosajones, que facilita la estimación de la cantidad de alcohol consumida (Valencia, Gonzalez y Galán, 2014). Pese a su utilidad, la UBE presenta algunas limitaciones debidas, entre otras cosas, a las diferencias en el contenido alcohólico y/o volúmenes de consumo habituales que representa en cada país. Así, en los Estados Unidos 1 UBE equivale a 14 gramos de etanol y en el Reino Unido a 8 gramos, mientras que en España se sitúa en una posición intermedia (10 gramos) (Valencia, Gonzalez y Galán, 2014).

La fórmula para calcular el nivel de alcoholemia es distinta según el sexo, en la que el factor de conversión es de 0.7 en los hombres mientras que, en mujeres es de 0.6 (Figura 1). Esta diferencia es debida a la distinta composición de grasa y agua en los tejidos y órganos de cada sexo, así como sus diferentes cantidades de enzimas de degradación del alcohol (Fundación Alcohol y Sociedad, 2019). La recomendación diaria es de 30 gramos para el varón adulto y 20 para la mujer, es decir 3 UBEs y 2 UBEs respectivamente (WHO, 2018).

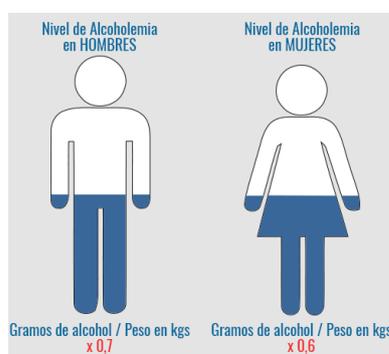


Figura 1. Cálculo de nivel de alcoholemia en hombre y mujeres (Extraída de Fundación Alcohol y Sociedad, 2019).

Existen discrepancias entre los autores para establecer una clasificación del consumo de alcohol. Desde el punto de vista epidemiológico, es importante definir y determinar el consumo de riesgo, concepto difícil de consensuar al depender del tipo de consecuencia que se esté evaluando para establecer el riesgo. Además, el grado de riesgo no estará sólo relacionado con el nivel de consumo de alcohol, sino también con otros factores personales o ambientales relacionados con la historia familiar, ocupación laboral, estilo de vida, pobreza, etc. (Informes de la comisión clínica 2: alcohol, 2007).

En general, se considera bebedor de riesgo a aquel que consume 28 UBEs/semana en el caso de los varones y 17 UBEs/semanas en las mujeres (Tabla 3) (Alcohol en menores no es normal, 2019).

Tabla 3. Niveles de riesgo en el consumo de alcohol

Nivel de riesgo	Hombre	Mujer
Riesgo bajo	<17 UBE/sem	<11 UBE/sem
Consumo de riesgo*	≥28 UBE/sem (40 gr/día)	≥17 UBE/sem (24 gr/día)
Consumo nocivo	Presencia de Trastornos relacionados con el Alcohol	
	>60 gr/día	>40 gr/día
Riesgo alto (Síndrome de dependencia del alcohol)	DSM-IV	
	CIE-10	

*Es consumo de riesgo cualquier consumo en el caso de mujeres embarazadas, menores y personas con actividades, enfermedades y tratamiento que desaconsejen el consumo. (Modificado de Anderson P. Alcohol and Primary Health Care. Copenhagen: WHO Regional Publications 1996; 94)

Según el Informe Mundial sobre la situación de alcohol y salud (WHO, 2018) el consumo diario medio de alcohol es de 33 g de alcohol puro al día, aproximadamente equivalente a 2 vasos de vino (150 ml cada uno), una botella grande de cerveza (750 ml) o dos vasos de bebidas espirituosas (40 ml cada uno). Más de una cuarta parte (27%) de los jóvenes de 15-19 años son bebedores. Las mayores tasas de consumo de alcohol entre los jóvenes de 15-19 años corresponden a Europa (44%), América (38%) y el Pacífico Occidental (38%). Las encuestas escolares indican que, en muchos países, el

consumo de alcohol comienza antes de los 15 años, con diferencias muy pequeñas entre niños y niñas.

A nivel mundial, el 45% del alcohol total registrado se consume en forma de bebidas espirituosas. La cerveza es la segunda bebida alcohólica en términos de alcohol puro consumido (34%), seguida del vino (12%). Desde 2010, solo se han producido cambios menores en las preferencias de bebidas alcohólicas. Los cambios más importantes tuvieron lugar en Europa, donde el consumo de bebidas espirituosas disminuyó en un 3%, mientras que el de vino y cerveza aumentó. En contraste, más de la mitad (57%) de la población mundial de más de 15 años (3100 millones de personas) se abstuvo de beber alcohol en los últimos 12 meses.

Debemos destacar que estos límites no se aplican a niños, adolescentes, mujeres embarazadas, personas que toman medicación que interacciona con el alcohol, personas que desarrollan actividades que requieran concentración, habilidad o coordinación (ej., conducción) o con comorbilidades que puedan verse afectadas por el consumo de alcohol (diabetes, hepatitis C, etc.). Para todos estos grupos la recomendación es la abstinencia (Schwan y Allen, 2005).

En la actualidad existe una práctica habitual que también se encuentra dentro del consumo de riesgo, *binge drinking* o consumo de alcohol en atracón. Considerado como el consumo de 5 o más bebidas alcohólicas (si es hombre) o 4 o más bebidas alcohólicas (si es mujer) en la misma ocasión (seguidas o en un intervalo de dos horas) (EDADES, 2021).

4. Epidemiología del consumo de alcohol en la actualidad

La cirrosis es una causa creciente de morbilidad y mortalidad en los países más desarrollados. Es la decimocuarta causa más común de muerte en adultos en todo el mundo, pero la cuarta en Europa central (Tsochatzis y col., 2014). Resulta en 1,03 millones de muertes por año en todo el mundo, 8.170.000 en Europa, 33.539 por año en los Estados Unidos. En algunos países de América Latina, como Chile y México, esta enfermedad se encuentra ocupando el 5° y 6° lugar como causa de muerte (Matos, 2017).

La cirrosis es la principal indicación de 5.500 trasplantes de hígado cada año en Europa. Las causas principales en los países más desarrollados son la infección por el virus de la hepatitis C (VHC), el uso indebido del alcohol y, cada vez más, la enfermedad hepática no alcohólica; La infección con el virus de la hepatitis B (VHB) es la causa más común en el África subsahariana y en la mayor parte de Asia. La prevalencia de la cirrosis es difícil de evaluar y probablemente es mayor que la informada, ya que las etapas iniciales son asintomáticas, por lo que el trastorno no se diagnostica. La prevalencia se estimó en 0.3% en un programa de detección en Francia, y la incidencia anual fue de 15.3–132.6 por 100.000 personas en estudios en el Reino Unido y Suecia (Tsochatzis y col., 2014).

4.1. Consumo de alcohol a nivel mundial

En un estudio analizaron datos sobre el consumo alcohólico de personas entre 15 y 99 años de edad, de 189 países y sus resultados apuntan a que el consumo de alcohol ha aumentado a nivel mundial en un 70%, desde 1990 (Manthey y col. 2019). Además, señalan que los hábitos difieren notablemente según la región. Mientras en los países prósperos el consumo per cápita se mantiene estable, en los emergentes aumenta con vigor. En 2017, el consumo más alto se registró en los países del norte de África y el Cercano Oriente. El más bajo se midió en Europa del Este. Y, aunque en Alemania la ingesta de bebidas alcohólicas incluso presenta un leve descenso, estiman un promedio de consumo de aproximadamente 12 litros de alcohol por cabeza al año.

Por otro lado, como lo muestran los datos más recientes de la OMS (WHO, 2018), el consumo per cápita (APC) total en la población mundial de 15 años de edad o más equivale a beber en promedio 6.4 litros de alcohol puro por año, que se traduce en 13.9 gramos de alcohol puro por día. Existiendo, una amplia variación en el consumo total de alcohol entre las regiones (Figura 2).

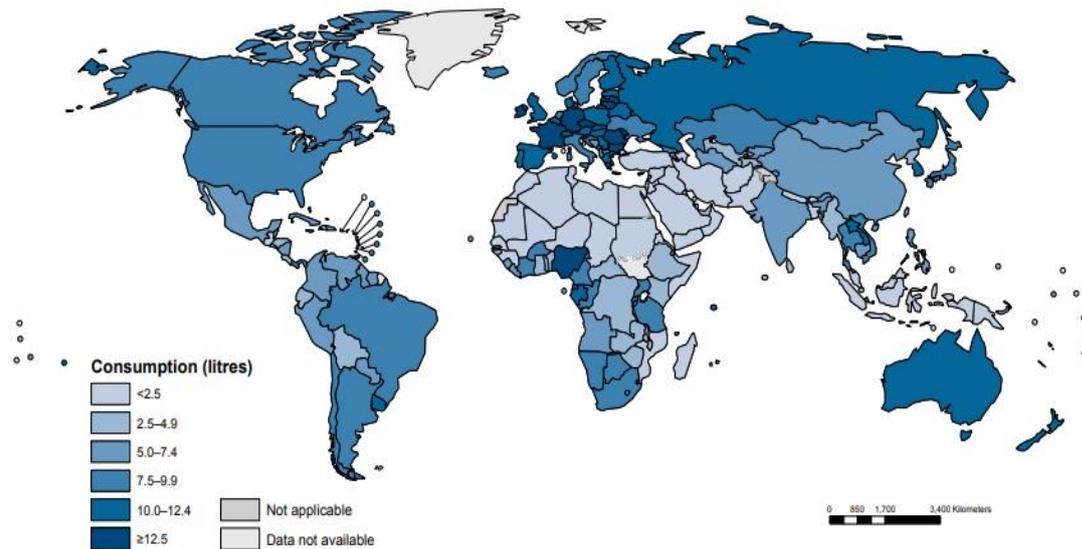


Figura 2. Consumo de APC de la población mayor de 15 años, en litros de alcohol puro, 2016 (WHO, 2018).

Algunas de las excepciones son países de la Región de África, como Nigeria, Uruguay de América o en Australia y Nueva Zelanda, regiones del Pacífico Occidental. El mayor consumo per cápita de alcohol (10 litros o más) se observa en los países de Europa con valores relativamente altos (7.5–9.9 litros de alcohol puro per cápita). La población mundial con el menor consumo per cápita (menos de 2.5 litros) vive en la Región del Mediterráneo Oriental o en otra mayoría musulmana de países como Nigeria en la Región de África de la OMS, Indonesia en el sudeste de la Asia o Azerbaiyán en Europea.

Por último, los resultados de las encuestas escolares indican que en muchos países el consumo de alcohol comienza temprano en la vida, y antes de los 15 años (Figura 3).

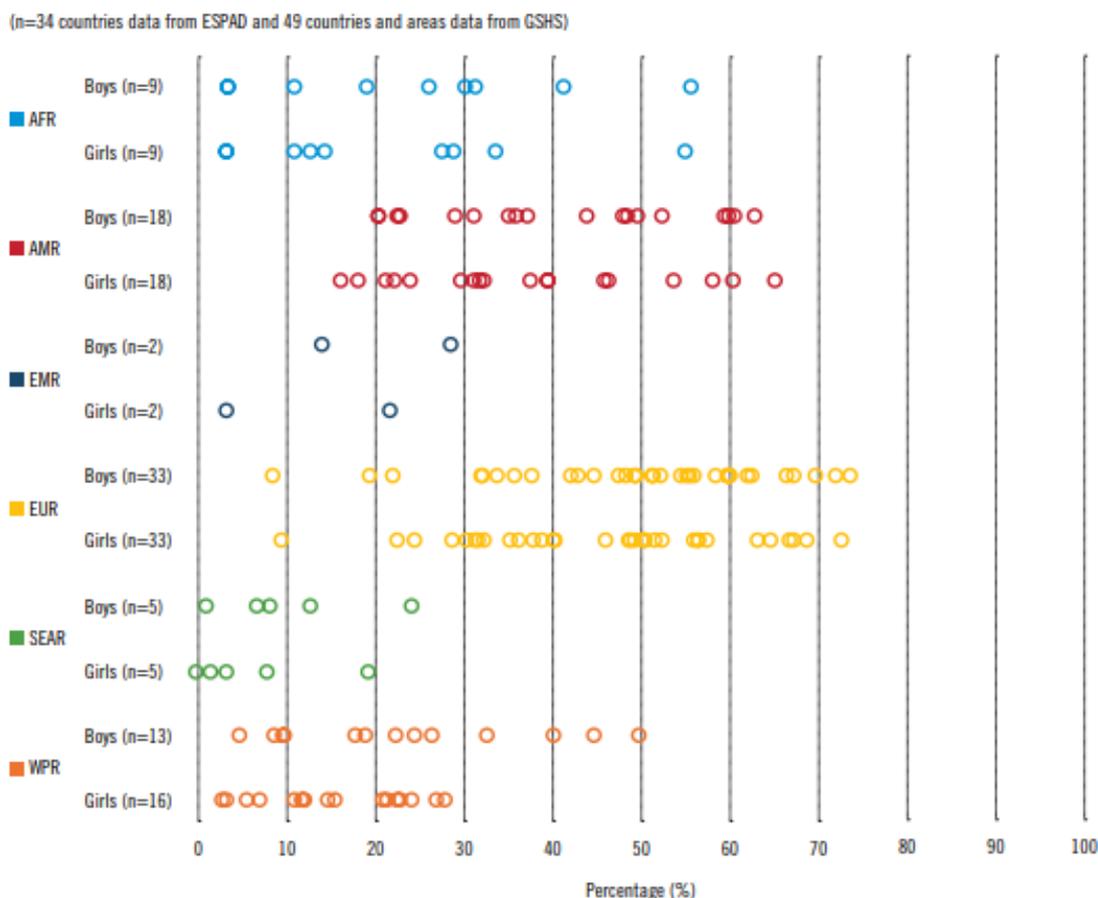


Figura 3. Consumo de alcohol durante los últimos 30 días entre estudiantes de 15 años por país y género (Extraída y adaptada de WHO, 2018).

Nota: Los países y años de la encuesta que se muestran en la figura se indican a continuación:

África: Benin (2009), Ghana (2012), Malawi (2009), Mauritius (Mauritius) (2011), Mauritius (Rodrigues) (2011), Mozambique (2015), Namibia (2013), Seychelles (2015), República Unida de Tanzania (2014); Américas: Antigua y Barbuda (2009), Argentina (2012), Barbados (2011), Belize (2011), Bolivia (2012), Chile (2013), Costa Rica (2009), Dominica (2009), El Salvador (2013), Guatemala (2015), Guyana (2010), Honduras (2012), Jamaica (2010), Perú (2019), Suriname (2009), Trinidad y Tobago (2011), Estados Unidos de América (2015), Uruguay (2012); Mediterráneo Oriental: Líbano (2011), República árabe de Siria (2010); Europa: Albania (2015), Austria (2015), Bélgica (Flanders) (2015), Bulgaria (2015), Croacia (2015), Chipre (2015), Chequia (2015), Dinamarca (2015), Estonia (2015), Finlandia (2015), Francia (2015), Georgia (2015), Grecia (2015), Hungría (2015), Islandia (2015), Irlanda (2015), Italia (2015), Letonia (2015), Lituania (2015), Malta (2015), Mónaco (2015), Montenegro (2015), Países Bajos (2015), Noruega (2015), Polonia (2015), Portugal (2015), Moldavia (2015), Rumanía (2015), Eslovaquia (2015), Eslovenia (2015), España (2015), Suiza (2015), Macedonia del Norte (2015); Sudeste Asiático: Bangladesh (2014), Indonesia (2015), Maldivas (2009) Tailandia (2015), Timor Oriental (2015); Pacífico Occidental: Brunei Darussalam (2014), Camboya (2013), Islas Cook (2015), Fiji (2010), Kiribati (2011), Laos (2015), Malasia (2012), Mongolia (2013), Niue (2010), Filipinas (2015), Samoa (2011), Islas Salomón (2011), Tonga (2010), Tuvalu (2013), Vanuatu (2011), Vietnam (2013).

4.2. Consumo de alcohol en la Unión Europea

En cuanto a la mortalidad por consumo de alcohol, la Unión Europea (UE) encabeza la lista entre las regiones con valores más altos (WHO, 2018), tal y como se muestra en la Figura 4.

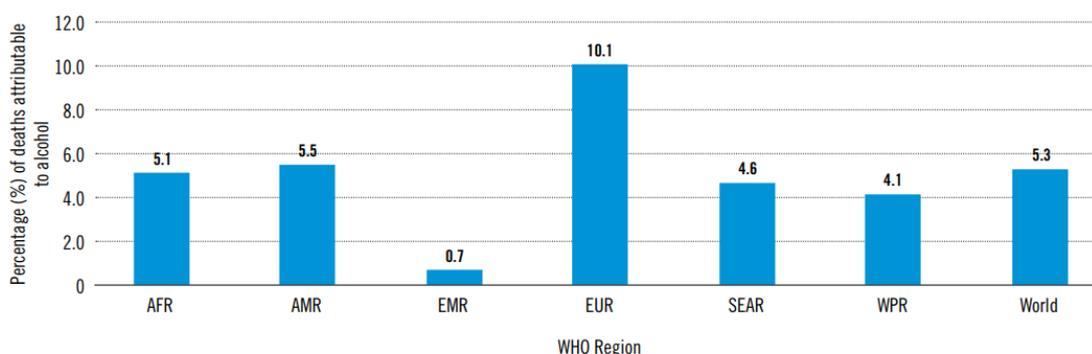


Figura 4. Proporción expresada en % de todas las muertes atribuibles al consumo de alcohol, por región de la OMS, en 2016 (Extraída de WHO, 2018).

Nota: AFR: África; AMR: América; EUR: Europa; SEAR: Sudeste de Asia; EMR: Región Mediterránea oriental; WPR: Región del pacífico oeste.

Las enfermedades digestivas, las lesiones no intencionales, las enfermedades cardiovasculares (ECV) y la diabetes fueron los principales contribuyentes a los 3 millones de muertes atribuibles al alcohol en 2016, y fueron responsables individualmente de 21.3%, 20.9% y 19.0% de estas muertes respectivamente (Figura 5).

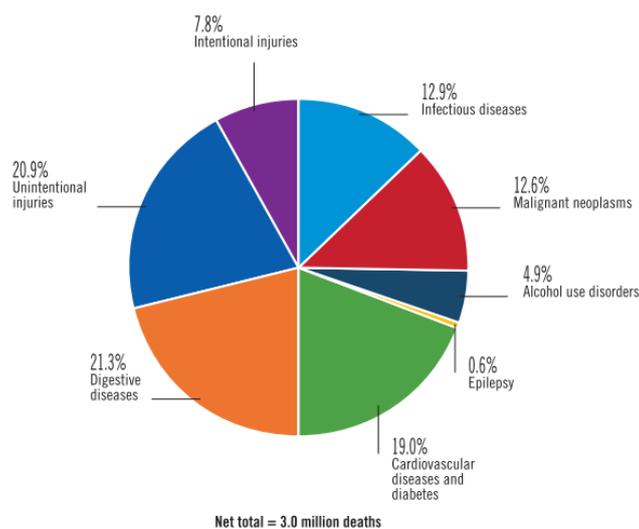


Figura 5. Proporción expresada en % de todas las muertes atribuibles al consumo de alcohol en 2016, por categoría (Extraída de WHO, 2018).

4.3. Consumo de alcohol en España

Los datos del Informe del 2021 de alcohol, tabaco y drogas ilegales en España (EDADES, 2021) confirman que el 93.0% de la población de 15 a 64 años manifiesta haber consumido bebidas alcohólicas alguna vez en la vida, lo que convierte al alcohol en la sustancia psicoactiva con mayor prevalencia de consumo (Tabla 4). En términos evolutivos, la prevalencia desde el año 2009 supera el 90%. El segundo lugar lo ocupa el tabaco (70%) seguido del cannabis (37.5%).

Tabla 4. Prevalencia de consumo de sustancias psicoactivas alguna vez en la vida en la población de 15-64 años (%). España, 1995-2019/2021 (Extraído de EDADES, 2021).

	1995	1997	1999	2001	2003	2005	2007	2009	2011	2013	2015	2017	2019
Tabaco	-	69,7	64,9	68,4	68,9	69,5	68,5	75,0	71,7	73,1	72,5	69,7	70,0
Alcohol	-	90,6	87,3	89,0	88,6	93,7	88,0	94,2	90,9	93,1	93,5	91,2	93,0
Hipnosedantes con o sin receta	-	-	-	-	-	8,7	15,4	13,4	19,5	22,2	18,7	20,8	22,5
Hipnosedantes sin receta	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,7	4,1	3,0	3,1
Cannabis	14,5	22,9	19,6	23,8	29,0	28,6	27,3	32,1	27,4	30,4	31,5	35,2	37,5
Éxtasis	2,0	2,5	2,4	4,0	4,6	4,4	4,3	4,9	3,6	4,3	3,6	3,6	5,0
Alucinógenos	2,1	2,9	1,9	2,8	3,0	3,4	3,8	3,7	2,9	3,8	3,8	4,5	5,5
Anfetaminas/speed	2,3	2,7	2,2	2,9	3,2	3,4	3,8	3,7	3,3	3,8	3,6	4,0	4,3
Cocaína (polvo y/o base)	-	-	-	-	-	-	8,3	10,2	8,8	10,3	9,1	10,3	11,2
Cocaína en polvo	3,4	3,4	3,1	4,8	5,9	7,0	8,0	10,2	8,8	10,2	8,9	10,0	10,9
Cocaína base	0,3	0,4	0,4	0,5	0,5	0,6	1,8	0,9	0,9	1,0	0,8	1,3	1,4
Setas mágicas	-	-	-	-	-	-	-	-	2,4	1,9	2,0	2,4	3,5
Metanfetaminas	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	0,5	0,6	1,2	1,2
GHB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	0,6	0,5	0,9
Heroína	0,8	0,6	0,5	0,6	0,9	0,7	0,8	0,6	0,6	0,7	0,6	0,6	0,7
Inhalables volátiles	0,7	0,8	0,6	0,8	1,0	0,8	1,1	0,6	0,8	0,6	0,5	0,6	0,8

En cuanto al consumo diario de alcohol, se registra un incremento (8.8%) con respecto al año 2017, cuando se registró el menor porcentaje de la serie histórica (7.4%), rompiendo así la tendencia descendente que comenzó en el año 2011.

La media de edad en la que por primera vez se consume alcohol se sitúa en los 16.7 años, manteniéndose estable a lo largo de la serie histórica (Figura 6). Además, analizando el consumo de alcohol en el último año, el 77.2% declara haber bebido en alguna ocasión durante el año previo la realización de la encuesta, cifra que ha

aumentado con respecto a los datos registrados en el año 2017 (75.2). Al observar la prevalencia en los últimos 30 días, el consumo del alcohol se registra en un 63%, muy similar al año 2017 (62.7%). Con respecto al consumo diario de alcohol, el 8.8% de la población española ha declarado haberlo realizado, un porcentaje mayor que en el año 2017, que registraba un descenso con respecto a años anteriores (Figura 6).



Figura 6. Evolución de la prevalencia de consumo de bebidas alcohólicas (%) y edad media en el inicio de consumo de bebidas alcohólicas (años) en la población de 15-64 años. España, 1997-2019/2020 (Extraído de EDADES, 2021).

Atendiendo al sexo, independientemente del tramo temporal y grupo de edad, el consumo de alcohol está más extendido entre los hombres con respecto a las mujeres, con independencia de la bebida consumida, apreciándose una mayor diferencia en el caso de la cerveza (Figura 7).



Figura 7. Prevalencia de consumo de bebidas alcohólicas en la población de 15-64 años, según tipo de bebida alcohólica consumida y según sexo (%). España, 2019/2020 (Extraído de EDADES, 2021).

Las mayores diferencias de consumo se dan entre personas de 55 a 64 años en todos los tramos temporales, y según se reduce el tramo temporal de consumo las diferencias entre sexos se hacen mayores en todos los tramos de edad.

Como se observa en la Tabla 5, el alcohol es la sustancia que obtiene una mayor prevalencia de consumo tanto en hombres (95.5%) como entre las mujeres (90.4%), habiendo sido consumida alguna vez en la vida por la gran mayoría de la población de ambos sexos.

La máxima prevalencia del consumo de alcohol entre los hombres se encuentra en la franja de 55 a 64 años de edad con el 98.3% y entre las mujeres de 45 a 54 años con un 91.9%. Con respecto al consumo de los últimos 12 meses, se registra la diferencia más notable con el 82.7% de los hombres con un máximo del 86.1% en el grupo de 25 a 34 años, proporción que se reduce hasta el 71.6% en el caso de las mujeres que se eleva

hasta el 76.7% entre las jóvenes de 15 a 24 años. En el último mes, el 72% de los hombres españoles declara haber tomado alguna bebida alcohólica frente a las mujeres que alcanzan un menor porcentaje con el 53.9%.

Por último, en cuanto al consumo diario de alcohol la proporción de hombres supera en 4 veces a la proporción que se da entre mujeres (14.2% y 3.4%, respectivamente), patrón de consumo que tiene mayor prevalencia conforme aumenta el rango de edad tanto en hombres como en mujeres.

Tabla 5. Prevalencia de consumo de bebidas alcohólicas en la población de 15-64 años, según edad y sexo (%). España, 2019/2020 (Extraída de EDADES, 2021).

	15-64 años			15-24 años			25-34 años			35-44 años			45-54 años			55-64 años		
	T	H	M	T	H	M	T	H	M	T	H	M	T	H	M	T	H	M
Alguna vez en la vida	93,0	95,5	90,4	88,7	90,2	87,1	93,9	96,1	91,7	93,1	95,3	90,9	94	96,1	91,9	93,8	98,3	89,3
Últimos 12 meses	77,2	82,7	71,6	79,3	81,9	76,7	79,2	86,1	72,3	77,9	82,7	73,0	76,7	81,6	71,9	73,6	81,6	65,6
Últimos 30 días	63,0	72,0	53,9	61,8	68,0	55,1	64,7	75	54,3	62,9	70,9	54,6	64,3	72,5	56,4	61	73,2	48,9
Diariamente en los últimos 30 días	8,8	14,2	3,4	1,3	1,9	0,6	4,0	6,1	1,8	8,4	13,5	3,1	10,9	18,0	4,0	16,6	26,8	6,5
Nunca	7,0	4,5	9,6	11,3	9,8	12,9	6,1	3,9	8,3	6,9	4,7	9,1	6,0	3,9	8,1	6,2	1,7	10,7

Al observar la prevalencia de consumo de alcohol por comunidad autónoma, se obtienen datos similares en cuanto a la edad de inicio en el consumo, siendo la sustancia que comienza a consumirse de manera más temprana en todas las comunidades autónomas de España.

La prevalencia de consumo de alcohol alguna vez en la vida se sitúa en la mayoría de las comunidades por encima del 90%, siendo Asturias la que registra una mayor prevalencia (96.2%), mientras que Melilla obtiene la menor de las prevalencias en España (56.8%). Tanto en el marco temporal de los últimos 12 meses como de los últimos 30 días, las comunidades en las que se aprecia una mayor prevalencia son Asturias y la Comunidad Valenciana, mientras que las comunidades que tienen una menor prevalencia son Melilla y Ceuta (Tabla 6).

Tabla 6. Prevalencia de consumo de bebidas alcohólicas entre la población de 15-64 años por comunidad/ciudad autónoma (%). España, 2019/2020 (Extraída de EDADES, 2021).

	Alguna vez en la vida			Últimos 12 meses			Últimos 30 días		
	Prevalencia	IC95% inferior	IC95% superior	Prevalencia	IC95% inferior	IC95% superior	Prevalencia	IC95% inferior	IC95% superior
Andalucía	92,9	91,7	94,2	74,2	72,0	76,3	57,7	55,4	60,1
Aragón	94,4	92,5	96,3	82,1	78,9	85,3	68,0	64,1	71,9
Asturias	96,2	95,0	97,3	84,6	82,4	86,8	71,9	69,1	74,7
Baleares	92,7	90,5	94,9	78,6	75,1	82,0	65,4	61,4	69,4
Canarias	93,3	91,2	95,5	70,2	66,3	74,1	49,8	45,5	54,0
Cantabria	94,7	92,9	96,6	82,8	79,7	85,9	67,6	63,7	71,5
Castilla y León	95,8	94,7	96,9	80,1	77,9	82,3	65,6	63,0	68,2
Castilla-La Mancha	93,2	91,6	94,7	74,0	71,3	76,7	60,8	57,8	63,8
Cataluña	92,5	91,3	93,7	79,6	77,7	81,4	63,0	60,8	65,3
C. Valenciana	95,8	94,9	96,6	84,5	83,0	86,0	70,4	68,5	72,2
Extremadura	87,6	85,3	90,0	62,8	59,4	66,3	50,3	46,7	53,8
Galicia	90,3	88,7	92,0	74,3	71,9	76,7	63,9	61,3	66,6
Madrid	91,4	90,0	92,7	74,5	72,5	76,6	65,0	62,7	67,2
Murcia	95,2	93,7	96,7	81,6	78,8	84,4	67,9	64,6	71,3
Navarra	91,6	89,2	94,1	80,5	77,0	84,1	62,6	58,3	66,9
País Vasco	93,8	92,2	95,3	79,1	76,5	81,7	67,8	64,8	70,7
La Rioja	95,5	93,6	97,4	81,3	77,7	84,9	65,6	61,2	70,0
Ceuta	59,9	53,8	65,9	47,3	41,1	53,5	35,5	29,6	41,4
Melilla	56,8	48,3	65,4	44,1	35,6	52,7	39,1	30,7	47,4
Media España	93,0	92,6	93,3	77,2	76,6	77,8	63,0	62,3	63,7

La prevalencia de intoxicaciones étlicas agudas (borracheras) en la población española en los últimos 12 meses registra un pequeño aumento continuando la tendencia iniciada en el año 2015, situándose en el 19.4% en el año 2019/2020. Si se atiende al sexo con independencia del tramo de edad, las borracheras tienen una menor prevalencia entre las mujeres que entre los hombres (Figura 8). Según la edad, y con independencia del sexo, se observa que a medida aumenta la prevalencia disminuye. Además, la prevalencia se ha mantenido estable en las mujeres desde al año 2017. En cambio entre los hombres ha aumentado.



Figura 8. Evolución de la prevalencia intoxicaciones etílicas agudas (borracheras) en los últimos 12 meses en la población de 15-64 años, según sexo (%). España, 2003-2019/2020 (Extraída de EDADES, 2021).

Como se observa en la Figura 9, al diferenciar por el sexo y la edad (concretamente de 15 a 34 años y 35 a 64 años), se produce un ligero repunte similar al del año 2017. Independientemente del sexo, la mayor extensión de borracheras se encuentra en el menor grupo de edad (15-34 años), en la que el 41.6% de varones menores de 35 años reconoce haberse emborrachado en el último año, frente al 26.6% de las mujeres en el mismo grupo de edad. Este patrón se repite en el grupo de edad de 35 a 64 años, con porcentajes menores (18% de los hombres y el 6.7% de las mujeres), siendo la prevalencia de borracheras entre las mujeres mayores de 34 años la menor prevalencia de borracheras registrada y el único dato que ha experimentado un descenso desde el año 2017.



Figura 9. Prevalencia de intoxicaciones étlicas agudas (borracheras) en los últimos 12 meses en la población de 15-64 años, según edad y sexo (%). España, 1997-2019/2020 (Extraído de EDADES, 2021).

El 6.8% de la población de 15 a 64 años reconoce haber sufrido alguna intoxicación ética aguda en los 30 días previos a la realización de la encuesta, con un 9.3% de los hombres frente al 4.2% de mujeres. Considerando el sexo de la población, la prevalencia es mayor entre los hombres. Sin embargo, a medida que avanza la edad de los individuos se produce una disminución del registro de borracheras, siendo las más extendidas la de los jóvenes de 15 a 24 años.

Si se observa el tipo de bebida consumida (vino, cerveza o combinado/cubatas) en la última semana, en aquellos que sufrieron intoxicación ética aguda en el último mes, resultan distintos patrones de consumo en relación a la edad del individuo (Figura 10). Así, el consumo de vino aumenta con la edad, siendo el máximo en el grupo de 55 a 64 años. Por otro lado, se produce un descenso progresivo de la prevalencia de combinados/cubatas conforme aumenta la edad, figurando su consumo mayor entre los más jóvenes (67%). La cerveza en cambio, es la sustancia más consumida entre los individuos de 45 a 54 años que se emborracharon en los últimos 30 días (83.6%), siendo del 65.8% entre los 55 a 64 años y menor del 60% entre los 15 a 24 años.

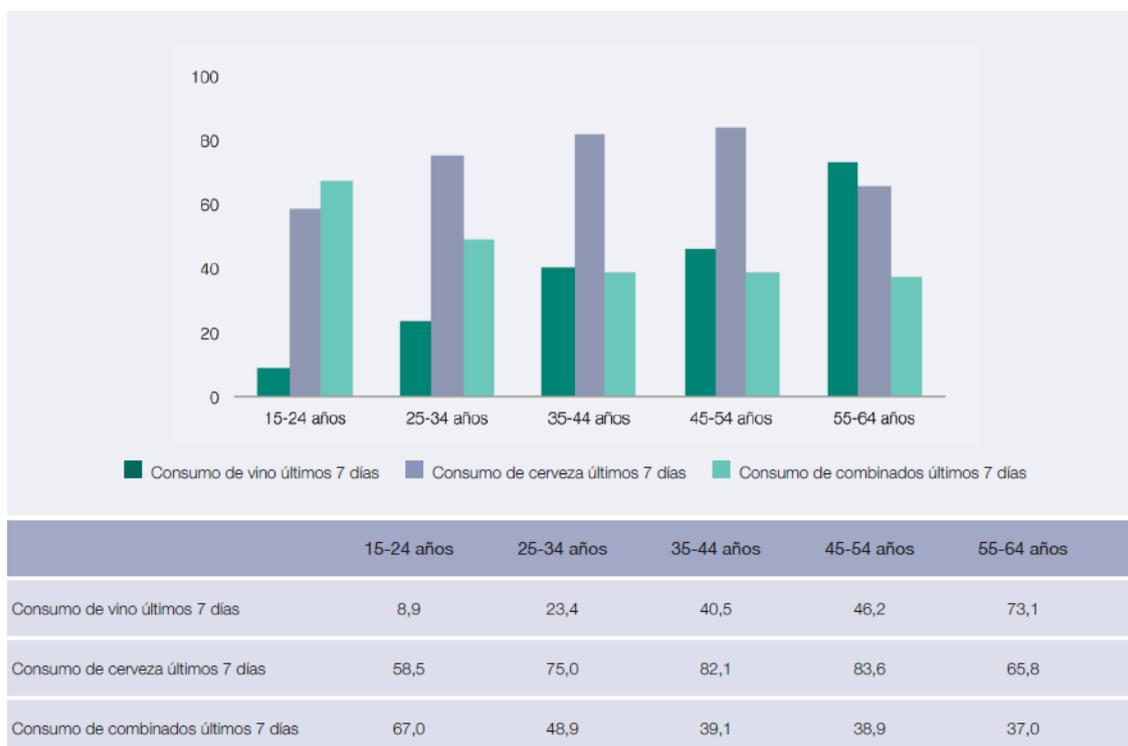


Figura 10. Prevalencia de consumo de vino, cerveza y combinados/cubatas en la última semana en la población de 15 a 64 años que se ha emborrachado en el último mes, según edad (%). España, 2019/2020 (Extraído de EDADES, 2021).

La encuesta EDADES (2021) también ha considerado la percepción de riesgo ante el consumo de bebidas alcohólicas en la población de las personas según se hayan emborrachado o no en el último mes. Así, las personas que si lo han experimentado perciben un menor riesgo del consumo de alcohol. El 32.1% piensa que tomar 5 o 6 cañas/copas durante el fin de semana puede ocasionar muchos o bastantes problemas, frente al 51.6% de aquellos que no se han emborrachado en los últimos 30 días. Sin embargo, el riesgo asociado al consumo de alcohol es muy similar entre ambos grupos al considerar un consumo diario de alcohol de 1 o 2 cañas/copas de vino (40.2%, que se ha emborrachado en el último mes y el 48.9% que no ha experimentado borrachera).

La prevalencia de borracheras entre las comunidades autónomas superan en mayor medida la media nacional en el último año en el caso de Navarra, Baleares y La Rioja, con prevalencias superiores al 25% (Tabla 7); siendo La Rioja, la comunidad que registra un mayor porcentaje de personas que se han emborrachado en el último mes, mientras que Melilla, Ceuta y Andalucía registran los menores porcentajes (inferiores o iguales al 4%).

Tabla 7. Prevalencia de intoxicaciones etílicas agudas (borracheras) en los últimos 12 meses y en los últimos 30 días entre la población de 15-64 años por comunidad/ciudad autónoma (%). España, 2019/2020 (EDADES, 2021).

	Últimos 12 meses			Últimos 30 días		
	Prevalencia	IC95% inferior	IC95% superior	Prevalencia	IC95% inferior	IC95% superior
Andalucía	13,6	12,0	15,3	3,9	3,0	4,9
Aragón	19,5	16,2	22,8	6,3	4,3	8,3
Asturias	19,1	16,7	21,6	6,0	4,5	7,5
Baleares	27,3	23,6	31,1	8,7	6,3	11,1
Canarias	16,4	13,2	19,5	7,1	4,9	9,2
Cantabria	17,7	14,5	20,8	5,4	3,6	7,3
Castilla y León	21,7	19,4	23,9	7,4	6,0	8,8
Castilla-La Mancha	20,8	18,3	23,3	7,8	6,2	9,5
Cataluña	22,3	20,4	24,3	8,7	7,4	10,0
C. Valenciana	22,6	20,8	24,3	7,0	6,0	8,1
Extremadura	19,1	16,3	21,9	6,1	4,4	7,8
Galicia	17,0	14,9	19,1	7,4	5,9	8,8
Madrid	18,5	16,6	20,3	6,6	5,4	7,7
Murcia	21,8	18,9	24,8	6,3	4,6	8,1
Navarra	27,7	23,7	31,7	8,9	6,3	11,4
País Vasco	22,6	19,9	25,3	8,7	6,9	10,5
La Rioja	26,0	22,0	30,1	9,8	7,0	12,5
Ceuta	14,7	10,3	19,1	3,5	1,2	5,8
Melilla	12,4	6,7	18,0	3,4	0,3	6,5
Media España	19,4	18,9	20,0	6,8	6,4	7,1

En la Figura 11, se observa una representación gráfica de los datos mostrados de la Tabla 7.



Figura 11. Prevalencia de intoxicaciones etílicas agudas (borracheras) en los últimos 30 días. España, 2019/2020 (EDADES, 2021).

En cuanto al *binge drinking* o atracón en una misma ocasión durante los últimos 30 días se señala una mayor prevalencia en País Vasco, Navarra, Melilla y Murcia. En el extremo inferior por debajo de la media es Ceuta (Tabla 8).

Tabla 8. Prevalencia de *binge drinking* en los últimos 30 días entre la población de 15-64 años por comunidad/ciudad autónoma (%). España, 2019/2020 (Extraído de EDADES, 2021).

	Últimos 30 días
Andalucía	14,4
Aragón	13,5
Asturias	15,1
Baleares	18,5
Canarias	12,5
Cantabria	13,3
Castilla y León	19,6
Castilla-La Mancha	16,1
Cataluña	13,2
C. Valenciana	16,0
Extremadura	13,4
Galicia	14,4
Madrid	15,6
Murcia	20,3
Navarra	20,5
País Vasco	20,9
La Rioja	16,0
Ceuta	7,9
Melilla	20,4
Media España	15,4

El consumo por atracón en el tramo temporal del último mes en la población española de 15-64 años registra un dato equivalente al del año 2017, muy ligeramente mayor. Como se observa en la Figura 12, tiene mayor prevalencia entre los hombres que entre las mujeres en todos los intervalos de edad, con mayor presencia en los grupos de menor edad. Se encuentra más extendido en el grupo de 20 a 24 años en ambos sexos (33.8% hombres y 19.2% en mujeres).

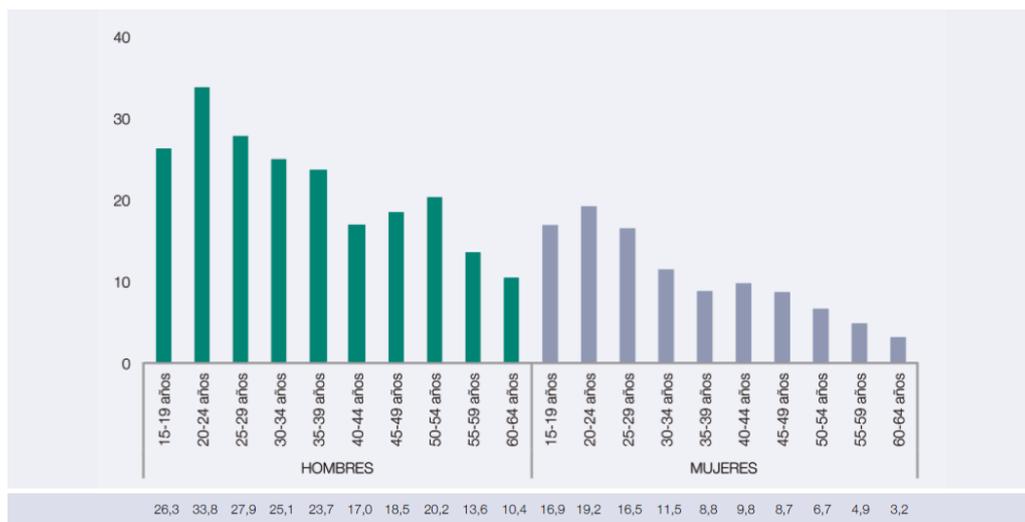


Figura 12. Prevalencia de *binge drinking* o consumo de alcohol por atracón en los últimos 30 días en la población de 15-64 años, según edad y sexo (%). España, 2019/2020 (EDADES, 2021).

Además, la cerveza es la bebida más consumida con mayor porcentaje (81.1%) en el grupo de edad de 45-54 años. Los consumidores de vino aumentan con la edad (10.5% con la edad de 15-24 años, 55.1% con 55-64 años). Por el contrario, el consumo de combinados/cubatas por atracón disminuye con la edad. Incluso, el 64.5% de los jóvenes entre 15-24 años declara haber consumido en los últimos 7 días, porcentaje que disminuye en gran medida entre las personas de 55 a 64 años (Figura 13).

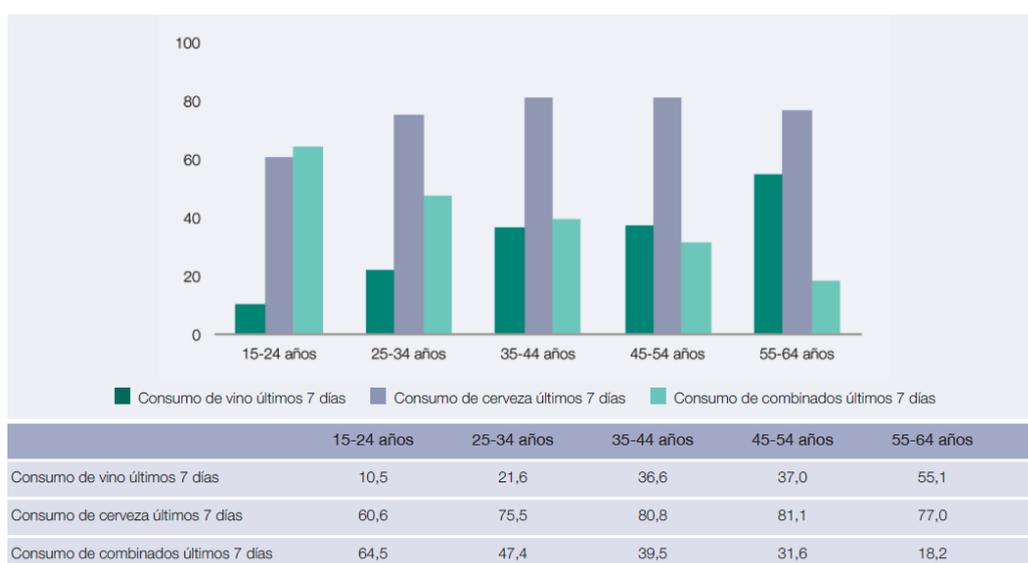


Figura 13. Prevalencia de consumo de vino, cerveza y combinados/cubatas en la última semana entre los que han practicado *binge drinking* en el último mes, en la población de 15-64 años, según edad (%). España, 2019/2020 (EDADES, 2021).

El riesgo percibido al tomarse 5 o 6 cañas/copas el fin de semana es menor entre los individuos que han hecho *binge drinking* en el último mes (31.2%) frente a los que no lo han hecho (53.6%). La situación es similar en cuanto al riesgo asociado al consumo diario de alcohol (54.5% frente a 36.9%).

Respecto a las mayores prevalencias de botellón en los últimos 12 meses (Tabla 9), en los diferentes grupos de edad, destaca el 42% de los jóvenes entre 15 a 24 años, frente al 0.6% de los individuos de 55 a 64 años. Según el sexo, es mayor la prevalencia en hombres frente a mujeres en todos los grupos de edad, habiendo una mayor diferencia entre ambos en el intervalo de 15 a 24 años (46.5 hombres frente al 37.2 de mujeres). El tramo de 15 a 18 años presenta un porcentaje del 36.1%, con una proporción menor en las mujeres (33.5%) frente a los hombres (38.5).

Tabla 9. Prevalencia de botellón, en los últimos 12 meses, en la población de 15-64 años, según edad y sexo (%). España, 2019/2020 (Extraído de EDADES, 2021).

	15-24 años			25-34 años			35-44 años			45-54 años			55-64 años			15-18 años		
	T	H	M	T	H	M	T	H	M	T	H	M	T	H	M	T	H	M
Hacer botellón	42,0	46,5	37,2	13,2	15,3	11,0	3,8	4,3	3,4	1,5	2,0	1,1	0,6	0,8	0,5	36,1	38,5	33,5

De la misma manera que en el caso de las intoxicaciones etílicas agudas y del *binge drinking*, los que han hecho botellón en el último año tienen una percepción menor del riesgo al consumo de alcohol (51.8% de proporción entre los que no han hecho botellón reconocen muchos o bastantes problemas al consumir 5 o 6 cañas en el fin de semana frente al 36.4% entre los que han hecho botellón). También con respecto al consumo diario de alcohol (42.7% de riesgo percibido en los que hicieron botellón frente al 49% que no realizaron botellón).

Atendiendo a la comunidad autónoma destaca una mayor prevalencias de botellón en el último año en La Rioja, Castilla-La Mancha y Murcia, figurando entre las cifras más bajas Asturias y Aragón con porcentajes por debajo del 7% (Tabla 10).

Tabla 10. Prevalencia de botellón en los últimos 12 meses entre la población de 15-64 años por comunidad/ciudad autónoma (%). España, 2019/2020 (Extraído de EDADES, 2021).

	Últimos 12 meses
Andalucía	11,5
Aragón	6,9
Asturias	6,3
Baleares	7,7
Canarias	7,1
Cantabria	10,0
Castilla y León	8,6
Castilla-La Mancha	15,6
Cataluña	9,3
C. Valenciana	10,6
Extremadura	9,9
Galicia	8,3
Madrid	9,6
Murcia	12,6
Navarra	7,8
País Vasco	8,6
La Rioja	18,4
Ceuta	10,3
Melilla	8,9
Media España	9,9

Según se muestra en la Figura 14, Murcia registra una prevalencia por encima de la media.



Figura 14. Prevalencia de botellones en el último año (Extraído de EDADES, 2021).

En cuanto a análisis del policonsumo de sustancias psicoactivas realizado por la encuesta EDADES (2021), en la que se suele consumir alcohol, tabaco, hiposedantes con o sin receta, cannabis, cocaína en polvo, cocaína base, éxtasis, anfetaminas, alucinógenos, heroína y otros inhalables volátiles, se ha observado hay una mayor hábito de consumo de dos o más sustancias entre los individuos que han realizado botellón en los últimos 12 meses (58.5%), en referencia con los que no (38.3%). Además, entre los consumidores de una única sustancia psicoactiva, el alcohol es la sustancia más consumida (85.6%). De forma similar ocurre entre los individuos que consumen dos sustancias psicoactivas, en las que el 94.7% consumieron alcohol y el 80.9% tabaco. Entre los que consumen tres sustancias psicoactivas en el último año, destaca el consumo de cannabis con el 62.5%, tercera consumida después del tabaco y alcohol que es consumida por casi la totalidad del grupo. Por último, entre los que consumen cuatro o más sustancias psicoactivas el alcohol se encuentra con una prevalencia mayor al 90%, junto con el tabaco y cannabis (Tabla 11).

Tabla 11. Prevalencia de consumo de sustancias psicoactivas, según el número de sustancias consumidas en los últimos 12 meses (%). España, 2019/2020 (Extraído de EDADES, 2021).

	Una sustancia	Dos sustancias	Tres sustancias	Cuatro o más sustancias
Alcohol	85,6	94,7	98,9	99,2
Tabaco	10,0	80,9	97,6	96,9
Cannabis	0,3	5,1	62,5	92,8
Éxtasis	0,0	0,0	0,4	25,7
Hiposedantes con o sin receta	4,1	18,6	35,2	54,4
Hiposedantes sin receta	0,1	1,2	3,0	16,6
Analgésicos opioides con o sin receta	5,5	8,1	13,5	20,1
Analgésicos opioides sin receta	0,2	0,6	1,2	5,9
Cocaína en polvo	0,0	0,5	4,5	53,7
Cocaína base	0,0	0,1	0,1	4,4
Anfetaminas/speed	0,0	0,0	0,3	17,4
Alucinógenos	0,0	0,0	0,3	16,6
Heroína	0,0	0,0	0,0	2,1
Inhalables volátiles	0,0	0,0	0,2	3,7

5. Metabolismo del alcohol

El alcohol o etanol, una vez ingerido, es absorbido por el estómago e intestino delgado. El 10% del alcohol se elimina por los riñones, la piel y pulmones. El resto es metabolizado por el hígado, mediante dos procesos oxidativos: la transformación de etanol a acetaldehído (AcH) y éste a acetato (Carreras y Castellano, 2012).

Si el individuo se encuentra en ayunas, el alcohol transita por el estómago vacío de forma rápida y se absorbe principalmente en el duodeno, produciendo un pico de alcoholemia en sangre más fuerte, que además aumenta la sensación de intoxicación y disminuye el ratio de etanol en el metabolismo, que puede llegar a porcentajes del 36%-50% de etanol absorbido directamente a través de las paredes gástricas si el estómago se encuentra lleno (Jones y Jönsson, 1994). Otro estudio señala que la comida sólida y las soluciones hipertónicas retrasan el vaciamiento gástrico por lo que el alcohol permanece más tiempo en el estómago y se absorbe mayor cantidad a este nivel (Cortot y col., 1986).

En la Figura 15, se observa que en el interior del hepatocito existen tres sistemas enzimáticos capaces de oxidar el etanol a AcH: el sistema de la vía alcohol-deshidrogenasa (ADH), el sistema microsomal oxidativo (MEOS, del inglés *microsomal ethanol oxidizing system*) y la vía de la catalasa (Carreras y Castellano, 2012).

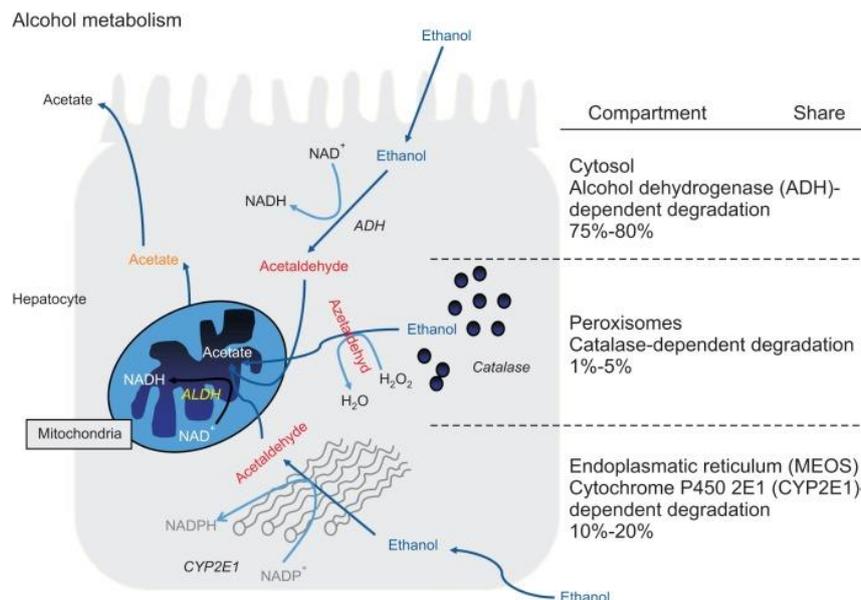


Figura 15. Metabolismo del etanol en el hepatocito a través de los tres sistemas enzimáticos principales (Extraída de Stickel y col., 2017).

5.1. Sistemas enzimáticos implicados en el metabolismo oxidativo del hígado

5.1.1. Sistema de la vía alcohol-deshidrogenasa (ADH)

Es la vía principal de oxidación del etanol, localizada en el citosol y se encarga de transformar el etanol en acetato como producto final, tal como puede observarse en la Figura 16. La ADH es una enzima que utiliza la nicotinamida (NAD) como cofactor, que se reduce para convertirse en NADH, la cual posteriormente pasar a NADPH por transhidrogenación (Marcela, Correa y Navas, 2016).

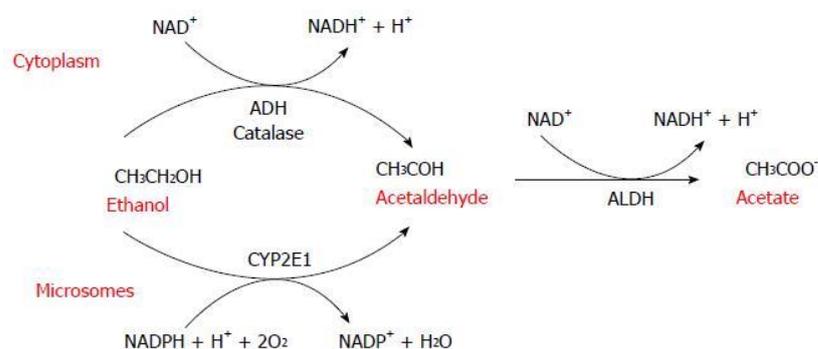


Figura 16. Metabolismo del etanol a través de la ADH y ALDH (Extraída de Ceni, Mello y Galli, 2014).

La oxidación del etanol por la ADH produce acetaldehído, el cual es convertido a acetato. Ambas reacciones reducen la nicotinamida–adenina-dinucleótido (NAD^+) a nicotinamida adenina dinucleótido en estado reducido (NADH), como se indica en la Figura 17. Cuando la concentraciones de acetaldehído se elevan se produce un mecanismo de retroalimentación negativa o *feedback negativo* que inhibe a la enzima ADH (Crabb y col., 1983).

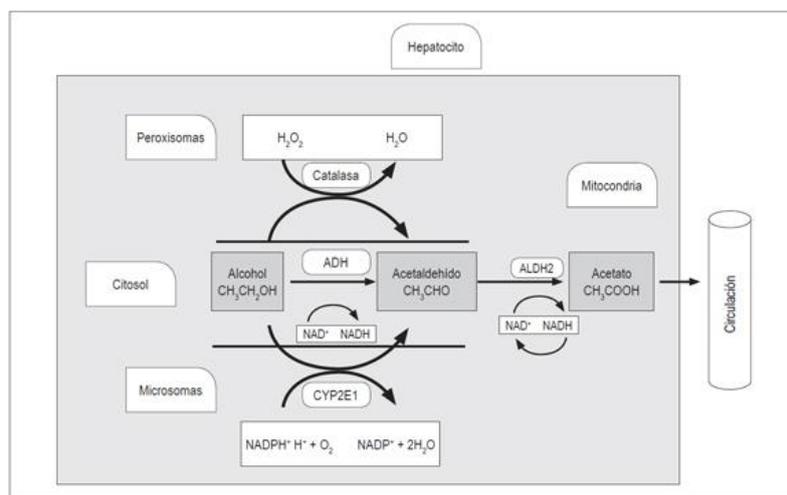


Figura 17. Metabolismo oxidativo del etanol. ADH: Alcohol deshidrogenasa; CYP2E1: citocromo P450 subfamilia 2E1; ALDH: aldehído deshidrogenasa; ALDH2: Aldehído deshidrogenasa mitocondrial (Extraída de Marcela, Correa y Navas, 2016).

5.1.2. Sistema microsomal oxidativo de etanol (MEOS)

Este sistema pertenece a la familia de los citocromos microsomales P-450 por lo que también se le llama citocromo P-450_{2E1} (CYP2E1) (Aragón, C., Miquel, M., Correa y Sanchis-Segura, 2002). Está localizado en el retículo endoplasmático del hepatocito y es el principal mecanismo de adaptación en el alcoholismo crónico, cuando se encuentra saturada la capacidad de la ADH, ya que su K_m es mayor (la ADH es una enzima de baja K_m y se satura fácilmente) (Aragón y col., 2002). El citocromo CYP2E1 es la fracción de este complejo inducido por el alcohol y su hipertrofia produce un exceso de radicales libres (anión superóxido O_2^- , peróxido de hidrógeno H_2O_2 , radical hidróxilo OH^-) y subsiguiente estrés oxidativo con daño hepatocitario.

El etanol, los ácidos grasos y las cetonas actúan como sustratos del CYP2E1 para inducir varios efectos, incluidos el hígado graso, la inflamación y la cirrosis. Se muestran diferentes enlaces entre la peroxidación lipídica mejorada y la producción acelerada de acetaldehído, así como la mayor generación de radicales libres por los microsomas inducidos, con sitios de posibles intervenciones terapéuticas.

Se ilustran en la Figura 18, los bloqueos metabólicos causados por la deficiencia de alcohol en el hígado (a, b) o folato (c), B12 (c) o B6 (d), con los correspondientes agotamientos de S-adenosilmetionina, fosfatidilcolina y glutatión reducido (GSH). Los nuevos enfoques terapéuticos incluyeron la propia regulación de la inducción de

enzimas microsomales, especialmente de CYP2E1; disminución de radicales libres con antioxidantes; y reposición de S-adenosilmetionina y de fosfatidilcolina. ADH, alcohol deshidrogenasa (Sharma, 2013).

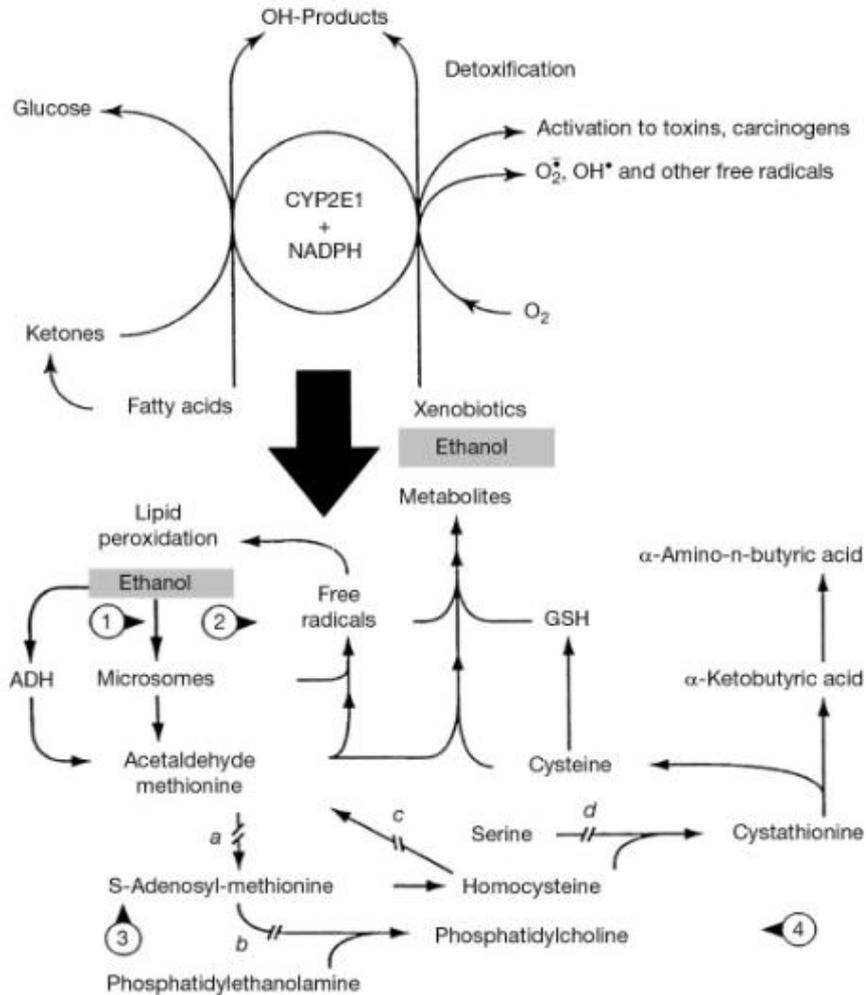


Figura 18. CYP2E1 del Sistema microsomal oxidativo del etanol MEOS (Extraída de Sharma, 2013).

5.1.3. Vía de la catalasa

Su papel en la oxidación del etanol es mínimo ya que se encuentra limitada por la cantidad de H₂O₂ que genera esta reacción. Se localiza en los peroxisomas y mitocondrias de los hepatocitos.

5.1.4. Vía de la aldehído deshidrogenasa

El acetaldehído, producto de la oxidación de etanol, presenta una segunda oxidación hepatocitaria, cuyo producto final es el acetato, el cual se incorpora al ciclo de Krebs en la forma de acetil-CoA, es utilizado en la síntesis de ácidos grasos o puede jugar como sustrato para la acetilación de proteínas. El AcH se metaboliza a acetato a través de la aldehído deshidrogenasa (ALDH) dentro de la mitocondria, obteniéndose también NADH (Marcela, Correa y Navas, 2016). El acetato no transformado en acetil-CoA es metabolizado a CO₂ en el corazón, músculo esquelético y cerebro a través de la vía del ciclo de Krebs (Mathurin y col., 2002). Además, Kendrick y col. (2010) afirman que el acetato podría estar implicado en la regulación de la inflamatoria en pacientes con hepatitis alcohólica a través del mecanismo de acetilación de histonas.

5.2. Polimorfismos de enzimas implicadas en el metabolismo del alcohol

Se ha evidenciado que, de acuerdo con la expresión génica, se puede observar diferentes efectos en la eficiencia del metabolismo en cuanto a la actividad de ADH y ALDH (Harada, Misawa, Agarwal y Goedde, 1980; Poupon y col., 1992; Tanaka y col., 1996).

La ADH es una enzima dimérica, que pertenece a la familia de enzimas deshidrogenasas-reductasas que catalizan la oxidación de alcohol para producir aldehído o cetona. Está conformada por 2 subunidades codificadas por los genes ADH1, ADH4, ADH5, ADH6 y ADH7, ubicados en el brazo largo del cromosoma 4 (4q21-24). Estos genes codifican diferentes subunidades de la ADH hepática (α , β , γ , π , χ), cada subunidad determina las 12 isoenzimas.

Las isoenzimas se han agrupado en 5 clases (I-V) (Tabla 12); en el hígado están presentes las clases I a III (Marcela y col., 2016).

Tabla 12. Isoenzimas de la alcohol deshidrogenasa (ADH).

Clase	Gen	Alelo	Subunidad	Tejido
I	ADH1A	ADH1A	$\alpha\alpha$	Hígado
	ADH1B	ADH1B*1	$\beta1\beta1$	Hígado, pulmón
		ADH1B*2	$\beta2\beta2$	
		ADH1B*3	$\beta3\beta3$	
	ADH1C	ADH1C*1	$\gamma1\gamma1$	Hígado, estómago
ADH1C*2		$\gamma2\gamma2$		
II	ADH4	ADH4	Π	Hígado, córnea
III	ADH5	ADH5	X	Varios tejidos
IV	ADH7	ADH7	μ	Estómago
V	ADH6	ADH6	-*	Estómago

* No se reporta subunidad (Extraída de Marcela y col., 2016).

En la Tabla 13, se observa que las más representativas en el hígado son la clase tipo I con 3 isoenzimas (ADH1A, ADH1B, ADH1C) que presentan homología mayor al 80% en las secuencias, la clase II está presente en bajo nivel en el hígado y la clase III se encuentra en todos los tejidos pero está poco asociada con el metabolismo del alcohol (Persson, Hedlund y Jörnvall, 2008). La isoenzima ADH1B tiene el alelo ADH1B*1 ($\beta1\beta1$) o tipo silvestre, presente en más del 90% de población caucásica; ADH1B*2 ($\beta2\beta2$) se reporta con alta frecuencia en población asiática (~70%) y ADH1B*3 ($\beta3\beta3$) es común en población africana (~16%) (Bosron y Li, 1987; Marcela y col., 2016).

Tabla 13. Polimorfismos de ADH con sus subunidades y su distribución según los grupos étnicos.

Clase	Subunidad	Alelo	Americanos blancos	Europeos blancos	Japoneses negros	Americanos negros
I	α	ADH ₁				
I	β_1	ADH ₂ ¹	<95	85	15	85
I	β_2	ADH ₂ ²	<5	15	85	<5
I	β_3	ADH ₂ ³	<5	<5	<5	15
I	γ_1	ADH ₃ ¹	50	60	95	85
I	γ_2	ADH ₃ ²	50	40	5	15
II	π	ADH ₄				
III	χ	ADH ₅				

(Extraída y adaptada de Bosron y Li, 1987).

Las isoenzimas ADH1B y ADH1C presentan variaciones en su cadena de aminoácido generando enzimas con mayor actividad catalítica (Tabla 14).

Tabla 14. Polimorfismos en el gen ADH1 y relación con su alteración de función relacionada.

Alelo	Polimorfismo secuencia nucleótido	Polimorfismo en secuencias aminoácido	Alteración de función
ADH1B*2	Transición G→A en la posición 100458342	Arg→His posición 47	Ambas presentan mayor actividad (20 veces) catalítica
ADH1B*3	Transición de C→T en la posición 100229017	Arg→Cys posición 369	respecto de la silvestre (ADH1B*1)
ADH1C*2	Sustitución C→T en la posición 100482988 Sustitución de A→G, en posición 100479812	Arg→Gln posición 272 Ile→Val posición 350	ADH1C*1 (silvestre) metaboliza 2,5 veces más rápido que ADH1C*2

La aldehído deshidrogenasa es una súper familia de genes que codifican para proteínas que catalizan la conversión de sustratos de aldehído a carboxilatos vía NAD⁺. Su forma citosólica se codifica por el gen ALDH1 ubicado en el brazo largo del cromosoma 9 en la región 9q21.13 (Hsu, Yoshida y Mohandas, 1986). La forma mitocondrial se codifica por el gen ALDH2 ubicado en el brazo largo del cromosoma 12 en la región 12q24.12; la ALDH2 presenta mayor importancia, ya que metaboliza mayor cantidad de acetaldehído (Hsu, Bendel y Yoshida, 1988).

En la Tabla 15 se muestra la localización cromosómica de los diferentes polimorfismos de ALDH, resaltando la enzima ALDH2, cuya variante es llamada ALDH2*2 y se relaciona con la intolerancia a la ingesta de alcohol. La frecuencia de los alelos ADH2*2, ADH3*1 y ALDH2*2 está disminuida en los pacientes con cirrosis alcohólica (Chao y col., 1994).

Tabla 15. ALDH y localización cromosómica de sus diferentes polimorfismos.

Gen	Nombre	Localización
<i>ALDH1A1</i>	<i>ALDH1</i>	9q21
<i>ALDH1B1</i>	<i>ALDH5</i>	9q13
<i>ALDH1A6</i>	<i>ALDH6</i>	15q26
<i>ALDH2</i>	<i>ALDH2</i>	12q24
<i>ALDH3A1</i>	<i>ALDH3</i>	1/p11.2
<i>ALDH3A2</i>	<i>ALDH10</i>	17p11.2
<i>ALDH3B1</i>	<i>ALDH7</i>	11q13
<i>ALDH3B2</i>	<i>ALDH8</i>	11q13
<i>ALDH4A1</i>	<i>ALDH4</i>	1
<i>ALDH5A1</i>	<i>SSDH</i>	6p22
<i>ALDH7A1</i>	<i>ATQ1</i>	5q31
<i>ALDH8A1</i>	<i>ALDH12</i>	6q24.1-25.1
<i>ALDH9A1</i>	<i>ALDH9</i>	1q22-q23

ALDH: Aldehído deshidrogenasa; ATQ1: antiquitin 1; SSDH: succínico semialdehído deshidrogenasa. (Extraída y modificada de Sophos, Pappa, Ziegler y Vasiliou, 2001).

La ALDH2 es una enzima tetramérica que presenta actividad catalítica para la oxidación de acetaldehído; oxida más del 90% del acetaldehído producido por la oxidación del etanol en la desintoxicación del hígado. Se han descrito 2 polimorfismos, ALDH2*1 de alta actividad y ALDH2*2 que presenta una mutación en el aminoácido 487 (sustitución Glu→Lys), la cual está asociada con una menor actividad específica y con ello, una oxidación del acetaldehído menos eficiente y acumulación de este metabolito, que causa diferentes efectos tóxicos en el hígado y la alteración de proteínas en el hepatocito por unión del compuesto al grupo amino de las proteínas (Tabla 16).

Tabla 16. Polimorfismos de ADH y ALDH y sus diferentes variantes alélicas.

Enzima	Clase	Locus genético	Variante alélica	Subunidad	K _m (coenzima) (μM)	K _m (sustrato) (μM)	V _{max} (min ⁻¹)
ADH	I	<i>ADH1</i>		αα	13	4200	27
			<i>ADH2</i>	<i>ADH2*1</i>	β ₁ β ₁	7.4	49
			<i>ADH2*2</i>	β ₂ β ₂	180	940	400
			<i>ADH2*3</i>	β ₃ β ₃	710	36000	320
		<i>ADH3</i>	<i>ADH3*1</i>	γ ₁ γ ₁	7.9	1000	87
			<i>ADH3*2</i>	γ ₂ γ ₂	8.7	630	35
	II	<i>ADH4</i>			14	34000	20
	III	<i>ADH5</i>		ππ	25	NS	--
	IV	<i>ADH7</i>		χχ	260	29000	1500
	ALDH	I	<i>ALDH1</i>		μμ(σσ)	3.9	33
II		<i>ALDH2</i>	<i>ALDH2*1</i>	Tetramero (E ₄)	42	0.20	33
			<i>ALDH2*2</i>	Tetramero (K ₄)	8100	4.6	0.94

(Modificada de Bosron y Li, 1987).

La población caucásica presenta las 2 isoenzimas, ALDH1 y ALDH2. El alelo de ALDH2 descrito en esta población no presenta la mutación asociada con disminución de la capacidad de la enzima para metabolizar el acetaldehído. Aproximadamente el 50% de la población japonesa pierde la actividad de la isoenzima ALDH2, esto debido a la transición G/C→A/T en el exón 12, con la sustitución del aminoácido Glu→Lys en la posición 14 del COOH terminal, la cual genera una proteína defectuosa en el sitio catalítico y por tanto, presenta actividad metabólica disminuida. (Marcela y col., 2016).

6. Riesgos y beneficios relacionados con el consumo de alcohol

Numerosos estudios epidemiológicos han demostrado que el consumo de cantidades moderadas de vino poseen ciertos efectos beneficiosos como la disminución de la frecuencia de infarto de miocardio, accidentes cerebrovasculares, cálculos vesiculares, demencia vascular o Alzheimer (Martinez-González, Irala y Sanchez-Villegas, 2002; Sadhu y col., 2018). Incluso, se afirma que el consumo de cantidades moderadas de alcohol, de 10 a 30 g de etanol al día, reduce la mortalidad cardiovascular, debida fundamentalmente a cardiopatía isquémica aterosclerótica y a accidentes cerebrales isquémicos, respecto a los abstemios. Aunque, en la literatura se discrepa al respecto, ya que mantiene que sobre la población general, varones con menos de 40 años de edad y mujeres por debajo de los 50, ya aumenta la mortalidad por otras causas (accidentes, cirrosis hepática y algunos tipos de cáncer) sobrepasando los beneficios sobre la enfermedad coronaria, por lo que no se puede recomendar el consumo de alcohol como medida preventiva general (Rayo y Marín, 1998) o en particular, por la fuerte asociación entre el consumo de alcohol y el riesgo de cáncer, lesiones y enfermedades infecciosas (Griswold y col., 2018).

Por otra parte, algunas investigaciones sugieren que los bajos niveles de consumo de alcohol pueden tener un efecto protector sobre la cardiopatía isquémica, la diabetes y varios otros resultados (Griswold y col., 2018).

Sánchez y col. (2010) abordan el posible beneficio de la cerveza de regular el sueño y Sadhu y col. (2018) relacionan un consumo moderado de alcohol con una mayor supervivencia en pacientes mayores de 65 años a los que se les ha diagnosticado una insuficiencia cardíaca en contradicción con otros estudios recientes que aseguran

que no existe una cantidad de ingesta segura de alcohol (Vasanthi, Parameswari, deLeiris y Das., 2012; Burton y Sheron, 2018; Griswold y col., 2018).

El aceite de pachulí (PO) es un tipo de suplemento alimenticio con alto valor medicinal en la hepatoprotección, pero no se ha demostrado su capacidad contra la insuficiencia hepática inducida por etanol. Aunque Huang y col. (2018) a través de un modelo de rata de hepatotoxicidad inducida por etanol, muestran que el pretratamiento con PO podría disminuir drásticamente los niveles de alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), fosfatasa alcalina (ALP) y lactato deshidrogenasa (LDH) en suero, en paralelo con una mejora de las alteraciones histopatológicas. Suprimiendo notablemente el contenido de especies reactivas de oxígeno (ROS), factor de necrosis tumoral alfa (

TNF- α), ácido graso libre (FFA) y triglicéridos (TG), al tiempo que mejora las actividades de glutatión (GSH), glutatión reductasa (GR) y superóxido dimutasa (SOD), así como la relación de glutatión a glutatión oxidado (GSH / GSSG) en el hígado (Figura 19).

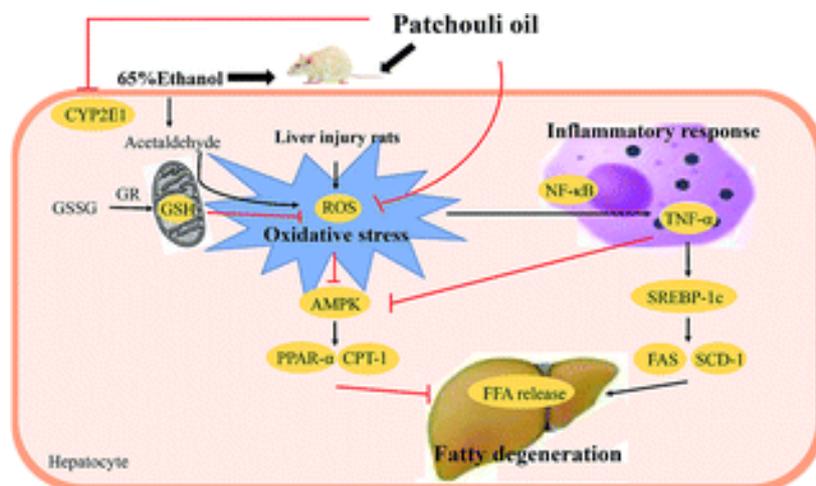


Figura 19. Efecto del aceite de pachuli en la hepatoprotección (Extraído de Huang y col., 2018).

El efecto protector de la PO contra el estrés oxidativo se interrelacionó con la restricción del ARN mensajero (ARNm) y la expresión de proteínas de la enzima microsomal hepática citocromo CYP2E1. Además, el pretratamiento de PO también podría acelerar el lipometabolismo mediante expresiones de regulación positiva de la proteína quinasa activada por monofosfato de adenosina (AMPK), receptor α activado por proliferador de peroxisomas α (PPAR α) y carnitina palmitoiltransferasa 1 (CPT-1) y

expresiones de regulación negativa del factor nuclear-kappaB (NF- κB) p65, proteína de unión a elementos reguladores de esteroides 1 (SREBP-1c), ácido graso sintasa (FAS) y esteroil-CoA desaturasa 1 (SCD-1). En conclusión, PO mostró un potente efecto contra la hepatotoxicidad inducida por etanol aliviando el estrés oxidativo y evitando la acumulación de lípidos (Huang y col., 2018).

Corrao, Bagnardi, Zambon y Arico (1999) observan que de las patologías con más riesgo de desarrollo figura la cirrosis hepática en el Mediterráneo y en otras regiones. Sugieren además, la necesidad de realizar estudios epidemiológicos en varios países para examinar la relación dosis-respuesta entre el consumo de alcohol y el riesgo de varias afecciones relacionadas con su consumo, así como el papel del patrón de bebida en la determinación del riesgo.

7. Cirrosis hepática

La cirrosis hepática es el estadio final de la enfermedad hepática crónica progresiva (Zaieg, Maldonado, Rodríguez, Quaglia y Tarán, 2019; García, González y Moreno-Otero, 2012), que cursa de forma subclínica durante un largo periodo de tiempo.

En cuanto a su etiología, en España, aproximadamente el 90% de la cirrosis tiene su origen en el consumo de alcohol y en las hepatitis virales (Gómez, 2012; Zaieg. y col. 2019), aunque entre las hepatitis crónicas causadas por virus es más frecuente la presencia del VHC con una importancia creciente de la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) (Rincón y Bañares, 2016). Por otro lado, hay otras causas como el VHB o el virus de la hepatitis delta (VHD) o por acumulación de grasas en el hígado graso no alcohólico (HGNA), sobrecarga hepática de hierro en forma de hemosiderina en la hemocromatosis hereditaria, acumulación de cobre en la enfermedad de Wilson, cirrosis autoinmune, colestasis prolongadas intra o extrahepáticas, infecciones entre otras (Gómez, 2012).

7.1. Cirrosis hepática alcohólica

7.1.1. Generalidades de la cirrosis hepática alcohólica

La cirrosis alcohólica (CA) se observa fundamentalmente en pacientes con un consumo excesivo y prolongado de alcohol. La toxicidad hepática del alcohol tiene lugar por un mecanismo complejo que va desde la hepatotoxicidad directa del acetaldehído, metabolito formado en la oxidación del etanol, hasta procesos de fibrogénesis mediados por citocinas. Otros factores como el sexo femenino, variaciones genéticas en la ruta de metabolización del alcohol, desnutrición u otras hepatopatías de origen vírico acrecientan el daño hepático y la rapidez del proceso (Gómez, 2012).

Por otra parte, Gómez (2012) ha comprobado que la lesión hepática típica de la cirrosis no tiene relación con el tipo de bebida, sino con su graduación alcohólica. Concretamente, la dosis de mayor riesgo se sitúa por encima de los 80 gramos de alcohol/día durante al menos 5 años y de forma continuada.

La graduación alcohólica es la proporción de alcohol que contiene una bebida y se expresa en grados referidos al contenido de alcohol absoluto en 100 centímetros cúbicos (cc). Por esta razón, si una bebida destilada tiene 40° significará que 40 cc de cada 100 cc son de alcohol absoluto, es decir el 40%. En la Figura 20, se muestra la expresión matemática para el cálculo de la graduación alcohólica que permite calcular los gramos exactos de alcohol en un vaso de cerveza cuyo volumen es de 250 ml (graduación=4.5°) contiene 9 gramos de alcohol, y una copa de vino (200 ml de volumen y 13 grados) aportará 21 gramos de alcohol aproximadamente.

$$\text{Gramos de alcohol} = \frac{\text{cantidad en mililitros} \times \text{graduación alcohólica}}{100} \times 0.8$$

Figura 20. Expresión matemática para el cálculo de la graduación alcohólica.

En la Tabla 17, se observan las equivalencias aproximadas de las consumiciones en unidades de bebida y gramos de alcohol puro de distintas bebidas.

Tabla 17. Equivalencia aproximada de las consumiciones en unidades y gramos de alcohol puro (Extraída de Escuela

de educación vial San Sebastián de los reyes, 2019).

Tipo de bebida	Volumen	Graduación alcohólica rango (graduación media)	Gramos de alcohol absoluto por consumición	Unidades de bebida estándar
Fermentadas				
Vino	Vaso = 100 ml	10-15 (12)	9.6	1
Cerveza	Caña = 200 ml	4-9 (5)	8	1
Sidra	Vaso = 100 ml	3-8 (5)	8	1
Cava	Vaso = 100 ml	10-15 (12)	9.6	1
Destiladas				
Ginebra	Copa = 50 ml	40-42 (40)	16	2
Ron	Copa = 50 ml	40-42 (40)	16	2
Whisky	Copa = 50 ml	40-45 (42)	16.6	2

La edad y el tipo de consumo de alcohol resultaron ser predictores del riesgo de desarrollar cirrosis hepática de etiología alcohólica, tanto en hombres como mujeres. Aquellos entre 40 y 59 años y con un estado de dependencia fueron los que presentan mayor riesgo (Tsochatzis, Bosch y Burroughs, 2014).

El principal problema que conlleva la cirrosis alcohólica es su irreversibilidad, con independencia de que el enfermo abandone el alcohol. Sin embargo, la cirrosis ha pasado de ser un estadio estático a un proceso dinámico. Actualmente se conoce que, cuando se elimina la agresión fundamental que ha producido la cirrosis, se puede llegar a resolver la fibrosis. Esto se ha observado en pacientes con hemocromatosis tratados con flebotomías satisfactoriamente, enfermos con hepatopatía alcohólica en abstinencia alcohólica, pacientes con cirrosis de etiología autoinmune tratados con inmunosupresores y hepatitis crónica C con estadio de cirrosis con respuesta virológica sostenida al tratamiento antiviral (García y col., 2012; Garcia-Tsao, Friedman, Iredale y Pinzani, 2010).

7.1.2. Cirrosis y alcohol

En la actualidad, se denomina “hepatopatía alcohólica” (HPA) al espectro de lesiones provocadas en el hígado por el etanol, aunque en este concepto se incluyen tres síndromes evolutivos: la esteatosis hepática alcohólica (EHA), la hepatitis alcohólica (HA) y la cirrosis hepática alcohólica (CHA). Se trata de tres entidades anatomoclínicas (Figura 21) de las que la EHA representa la fase inicial, mientras que la HA y la CHA constituyen etapas más graves de la misma enfermedad. Hoy en día se sabe que, la EHA aparece en el 90% de los individuos que abusan del alcohol, que un 10-35% de alcohólicos desarrollan HA y que solo el 8-20% llegan a desarrollar una CHA (Carreras y Castellano, 2012).

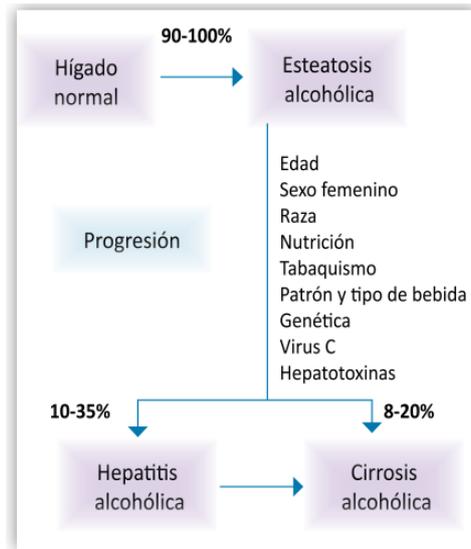


Figura 21. Hepatopatía alcohólica: espectro anatómico-clínico (Extraída de Carreras y Castellano, 2012).

Las lesiones hepáticas producidas por el consumo de alcohol (Figura 22), van desde esteatosis, esteatohepatitis, hepatitis aguda alcohólica, cirrosis hepática hasta carcinoma hepatocelular (sin embargo, solo una minoría de pacientes con esteatosis alcohólica progresa a lesión hepática grave), aunque existen otro tipo de lesiones como fibrosis perivenular, enfermedad veno-oclusiva, colangitis microscópica y hepatitis crónica activa.

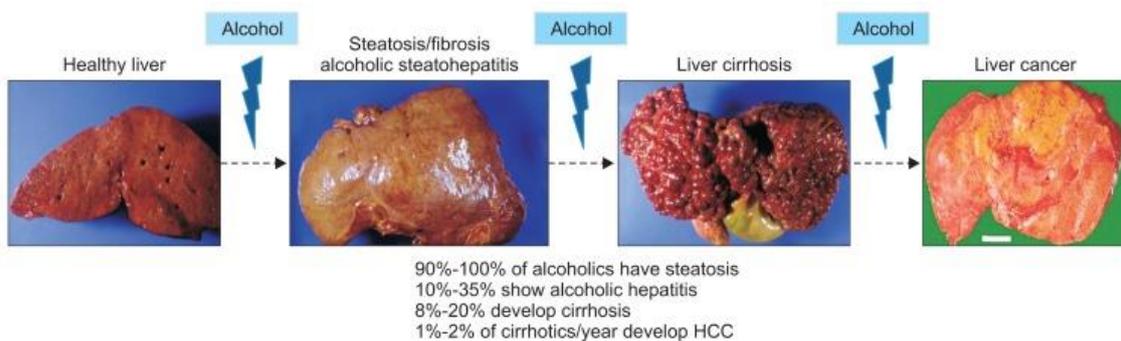


Figura 22. Estadios evolutivos de las diferentes lesiones en el hígado. La progresión de la lesión hepática alcohólica a la esteatosis con cicatrización, inflamación y distorsión arquitectónica que conduce a la cirrosis. Como complicación de la cirrosis, se puede presentar carcinoma hepatocelular (Extraída de Stickel y col., 2017).

Según Griswold y col. (2018), los cánceres fueron la causa principal de muerte relacionada con alcohol en personas mayor de 50 años, constituyendo el 27.1% de las muertes en las mujeres y el 18.9% de los fallecimientos en hombres. Además, destaca

la cirrosis y enfermedades hepáticas crónicas entre las causas principales de muertes y enfermedades relacionadas con el alcohol en los países con bajos ingresos.

Actualmente, el uso nocivo de alcohol es uno de los principales factores de riesgo para la salud de la población en todo el mundo y tiene un impacto directo en muchos objetivos relacionados con la salud de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), en los que se incluyen también los objetivos de salud materno-infantil, enfermedades infecciosas (Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), virus de la hepatitis o tuberculosis), enfermedades no transmisibles y salud mental, lesiones e intoxicaciones (WHO, 2018).

Para tener un riesgo significativo de desarrollar una HPA se precisa un consumo diario de al menos 40-80 g/día de alcohol en los varones y de 20-40 g/día en las mujeres, y durante al menos 10-12 años. Sin embargo, parece que, además de la cantidad y el tiempo de abuso alcohólico, son necesarios algunos factores condicionantes, ambientales y/o genéticos, que expliquen por qué solo aparecen lesiones hepáticas en algunos alcohólicos, por qué la HPA no es progresiva en todos los casos y el motivo de que la lesión no revierta a pesar de abandonar este hábito en todos los casos (Carreras y Castellano, 2012).

La HPA figura como una de las causas más comunes de cirrosis y es una indicación frecuente de trasplante hepático en Europa y Norteamérica según la Red de adquisición y trasplante de órganos (OPTN) y Registro científico de receptores de trasplantes (SRTR) (Israni y col., 2019). En la Figura 23, se puede observar cómo los adultos diagnosticados con hepatopatía alcohólica han aumentado en los últimos años fuera de Europa.

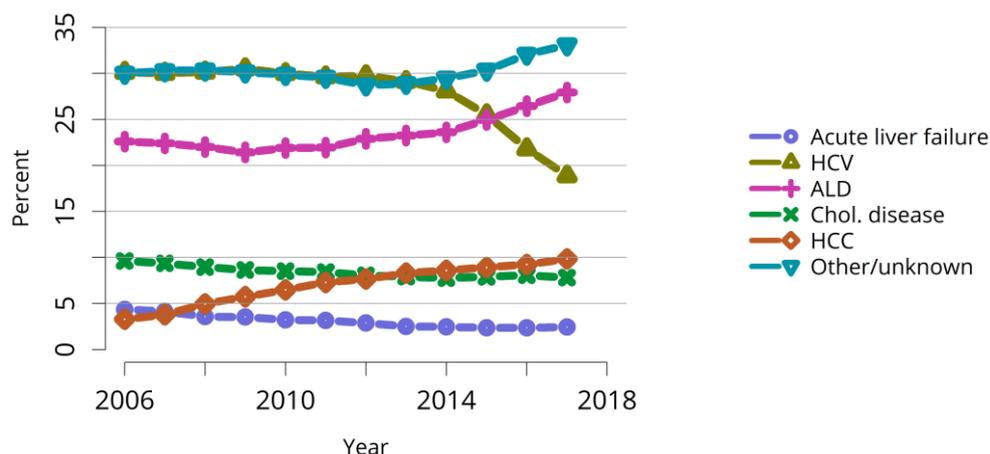


Figura 23. Distribución por diagnóstico de adultos en espera para un trasplante hepático 2006-2018 en EE.UU. HCV (Virus de la hepatitis C del inglés *hepatitis C virus*); ALD (Hepatopatía alcohólica del inglés *alcoholic liver disease*); Chol. Disease (Colestasis del inglés *cholestatic disease*) (Extraída de «OPTN/SRTR 2017 Annual Data Report: Liver», 2017)

7.2. Fisiopatología y progresión de la hepatopatía alcohólica crónica

Las hepatopatía alcohólica comprende un amplio espectro de enfermedades: hígado graso asintomático, esteatohepatitis, fibrosis progresiva, cirrosis terminal y carcinoma hepatocelular superpuesto (Figura 24). Hasta el 90% de los pacientes con un alto consumo de alcohol tienen algún grado de esteatosis, que generalmente es asintomática y rápidamente reversible con abstinencia (Altamirano y Bataller, 2011).

Sin embargo, el consumo continuo de alcohol en exceso conduce a una inflamación del hígado caracterizada por la infiltración de leucocitos polimorfonucleares (PMN) y daño hepatocelular, que definen la hepatitis alcohólica. Finalmente, los pacientes desarrollan depósito de fibrosis hepática (20–40%) y cirrosis (8–20%), lo que confiere un alto riesgo de complicaciones (como ascitis, hemorragia por varices, encefalopatía hepática, insuficiencia renal e infecciones bacterianas).

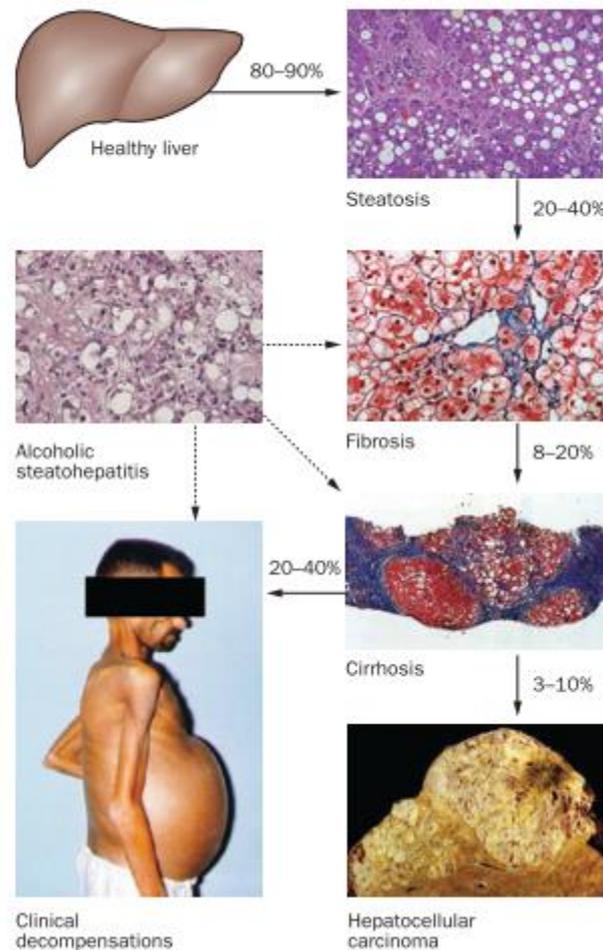


Figura 24. Espectro de la enfermedad hepática alcohólica, con porcentajes de los pacientes que progresan de una etapa a la siguiente (Extraído de Altamirano y Bataller, 2011).

7.2.1. Esteatosis hepática

La esteatosis alcohólica es un proceso complejo que se manifiesta a través de varios mecanismos. Generalmente puede revertirse completamente por abstinencia o mantenerse por la moderación en el consumo de alcohol (Kong y col., 2019). Entre las principales causas patogénicas, figuran el aumento de la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos, el aumento de la entrada hepática de ácidos grasos libres del tejido adiposo y de los quilomicrones de la mucosa intestinal, el aumento de la lipogénesis hepática, la lipólisis inhibida y las mitocondrias y los microtúbulos dañados, todo lo cual resulta en acumulación de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (Altamirano y Bataller, 2011; Sozio, Liangpunsakul y Crabb, 2010).

Los mecanismos moleculares implicados en la esteatosis son en gran medida desconocidos, aunque la sobreexpresión de enzimas lipogénicas resulta de la regulación negativa del receptor $PPAR\alpha$ y la inducción de SREBP (Altamirano y Bataller, 2011). El abuso de alcohol aumenta la expresión de las proteínas de unión al elemento regulador de esteroides c (SREBP-1c) y disminuye la expresión del $PPAR\alpha$ que conduce al desarrollo de esteatosis mediante la inducción de la síntesis de ácidos grasos y la inhibición de la oxidación β de ácidos grasos. Además, el consumo de alcohol induce posteriormente la actividad Acetil-CoA Carboxilasa (ACC) y suprime la actividad de la CPT-1 a través de la AMPK que desarrolla esteatosis mediante el aumento de la síntesis de ácidos grasos y la reducción de la β -oxidación de ácidos grasos (Figura 25) (Kong y col., 2019).

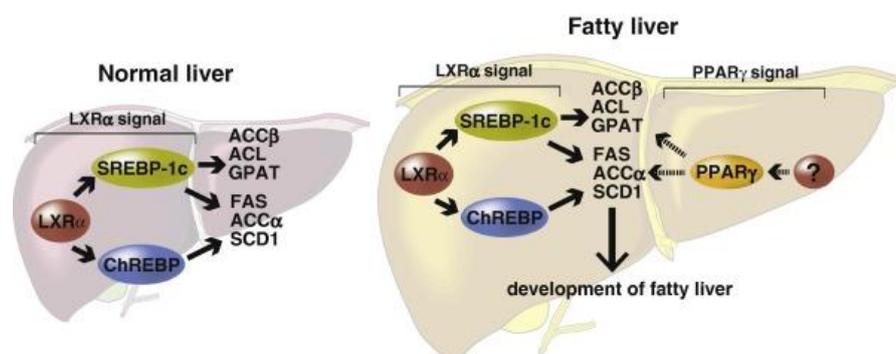


Figura 25. Diagrama ilustrativo de los efectos independientes de $PPAR\gamma$ y $LXR\alpha$ en la lipogénesis hepática. Las señales $LXR\alpha$ -SREBP-1c y la proteína de unión al elemento sensible a los carbohidratos (ChREBP), regulan al alza los genes lipogénicos aguas abajo en hígados de ratón normales y con obesidad. La expresión de $PPAR\gamma$ en hígados normales es baja, pero está regulada por incremento en hígados grasos. La vía hepática $PPAR\gamma$ probablemente sea más activa en el hígado graso que en los hígados normales. Por lo tanto, el $PPAR\gamma$ hepático parece contribuir significativamente al desarrollo de hígado graso en lugar de $LXR\alpha$. ACC, acetil-CoA carboxilasa; ACL, ATP citrato liasa; GPAT, glicerol-3-fosfato aciltransferasa; FAS, ácido graso sintasa; SCD1, esteroil-CoA desaturasa 1 (Extraído de Matsusue y col., 2014).

El consumo de alcohol a través de múltiples vías aumenta la expresión de SREB-1 y regula a la baja $PPAR\alpha$, promoviendo la síntesis de ácidos grasos y deteriorando la β -oxidación, lo que resulta en la acumulación de ácidos grasos. Como se observa en la Figura 26, el consumo de etanol a largo plazo promueve la acumulación de ácidos grasos a través de la autofagia disminuida, mientras que la exposición a etanol a corto plazo promueve la autofagia y la degradación de las gotas de lípidos (Galli y col., 2001; You y col., 2002; Ceni y col., 2014; Seitz y col., 2018).

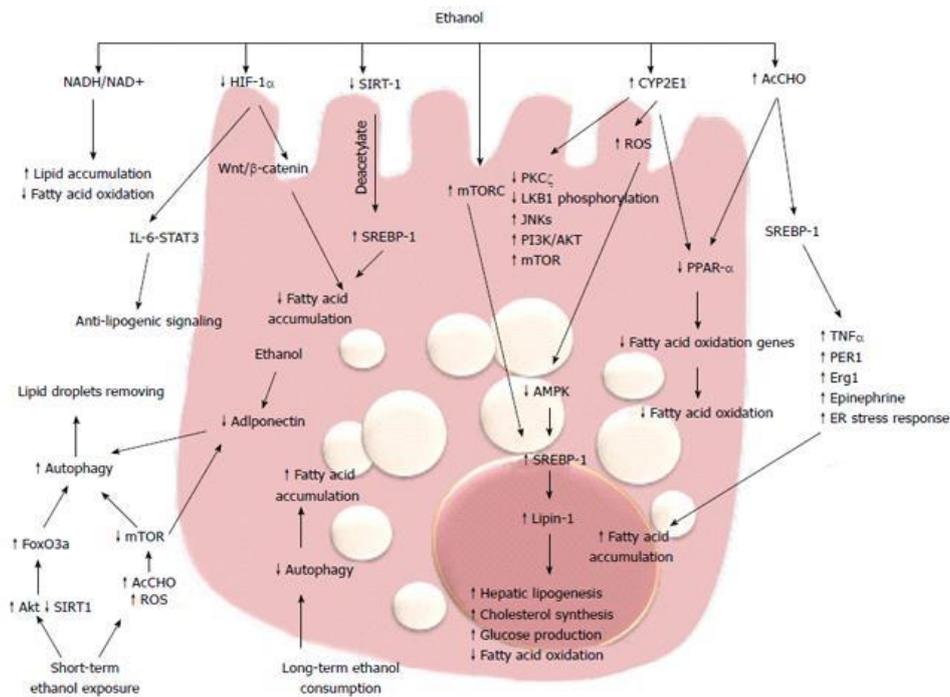


Figura 26. Mecanismos moleculares del hígado graso alcohólico. HIF: factor inducible por hipoxia; ROS: especies reactivas de oxígeno (Extraído de Ceni y col., 2014).

La AMPK, que regula las concentraciones de los metabolitos clave responsables del equilibrio entre la síntesis de grasa y las vías de degradación de la grasa (Malonilcoenzima A intracelular y la Acilcoenzima A de cadena larga), también está implicada en el metabolismo de la grasa hepática. (Altamirano y Bataller, 2011). Por otro lado, cambios en el potencial redox de NADH en el hígado podría inducir lipogénesis mediante la inhibición de la oxidación de ácidos grasos (You y col., 2004); y la administración de etanol a largo plazo, también provoca acumulación de grasas en el hígado, ya que la actividad de la proteína de transferencia de triglicéridos microsomiales se reduce (Sugimoto y col., 2002).

Después de que se desarrolla esteatosis, y si la persona no recibe tratamiento, se puede desarrollar fibrosis y cirrosis, seguida de una eventual insuficiencia hepática (Kong y col., 2019).

7.2.2. Hepatitis alcohólica

La hepatitis alcohólica, es un síndrome clínico de descompensación de la función hepática, se desarrolla en pacientes con antecedentes relacionados con enfermedad hepática alcohólica (Aday, Mitchell y Casey, 2017). No está directamente

relacionado con una dosis de alcohol. Por lo tanto, solo del 10 al 35% de los grandes bebedores la desarrollan. Está asociado con una función hepática deficiente y formación ductular. Además, en estudios anteriores, los niveles inducidos de lipopolisacárido (LPS) y la proliferación de hepatocitos alterada han demostrado ser características de la hepatitis alcohólica (Kong y col., 2019).

7.2.3. Esteatohepatitis alcohólica

La esteatohepatitis alcohólica se define por la presencia de hígado graso, un infiltrado inflamatorio y daño hepatocelular; etapa previa para la progresión a fibrosis y cirrosis. La gravedad de este estadio puede depender de la cantidad de ingesta de alcohol y otros factores ambientales, como la dieta y el estilo de vida, así como los antecedentes genéticos del paciente (Altamirano y col., 2011; Tian y col., 2010). Cuando la inflamación y la lesión hepatocelular son graves, la afección se denomina hepatitis alcohólica (Altamirano y Bataller, 2011).

Los mecanismos moleculares que probablemente contribuyen al desarrollo de esteatohepatitis son varios (Figura 27). El acetaldehído, principal producto del metabolismo del alcohol, se une tanto a las proteínas como al ADN, produciendo alteraciones funcionales y la formación de aductos proteicos. A su vez, estos aductos forman autoantígenos que activan el sistema inmunitario adaptativo (You y Crabb, 2004) y reclutan linfocitos para el hígado dañado. El acetaldehído también induce daño mitocondrial y deteriora la función del glutatión, favoreciendo estrés oxidativo y apoptosis (Altamirano y Bataller, 2011; Zhou, Sun, y Kang, 2001).

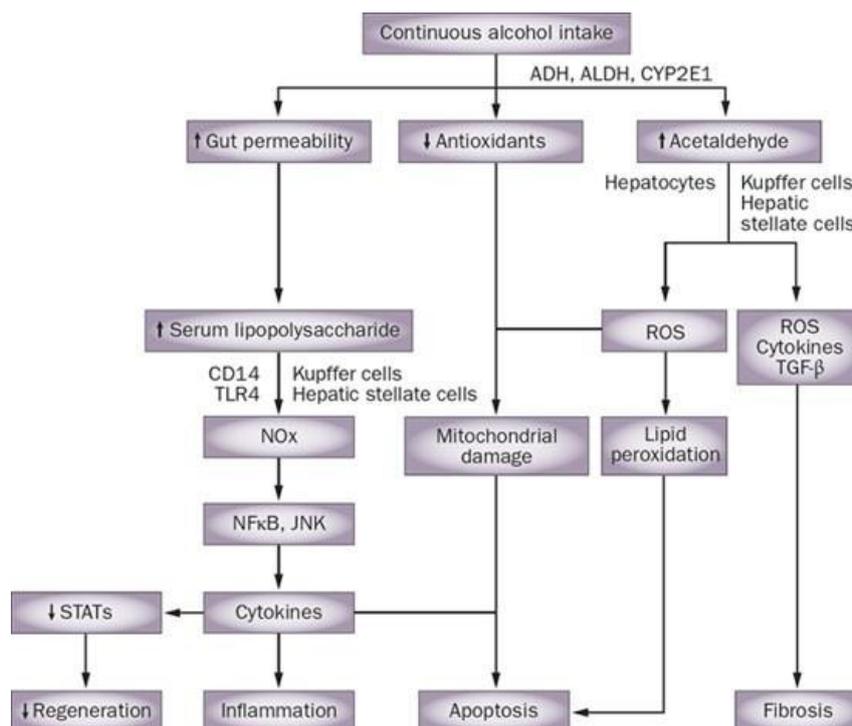


Figura 27. Vías patogénicas que conducen a la progresión de la enfermedad hepática alcohólica. Abreviaturas: ADH, alcohol deshidrogenasa; ALDH, aldehído deshidrogenasa; CYP2E1, citocromo P450 2E1; JNK, quinasa c-jun N-terminal; NFκB, factor nuclear κB; NOx, óxidos de nitrógeno; ROS, especies reactivas de oxígeno; STAT, transductor de señal y activador de transcripción; TGF-β, factor de crecimiento transformante β; TLR4, receptor tipo Toll 4 (Extraído de Altamirano y Bataller, 2011).

Se ha comprobado, que en pacientes con enfermedad hepática alcohólica, hay un aumento del estrés oxidativo, ocasionado por las células hepáticas no parenquimatosas productoras de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Bailey y Cunningham, 1998); en la que las enzimas y vías involucradas en la generación de ROS incluyen el sistema de transporte de electrones microsómico dependiente del citocromo P450 2E1 (CYP2E1) de la cadena respiratoria, la citocromo reductasa dependiente de NADH y la xantina oxidasa. y la nitrosilación proteica resultante y la peroxidación lipídica (Ji y Kaplowitz., 2003; Mansouri y col., 1999; Zhou y col., 2001).

Además, en la Figura 28, se observa como la ingesta crónica de alcohol aumenta notablemente la actividad de CYP2E1, porque esta enzima (además de la alcohol deshidrogenasa y la aldehído deshidrogenasa), metaboliza el etanol a acetaldehído; así, la ingestión de alcohol estimula la generación de ROS y radicales hidroxietilo (Linhart, Bartsch, y Seitz, 2014). Los metabolitos del alcohol y las ROS estimulan las vías de señalización que involucran el factor nuclear κB (NFκB), el transductor de señal y el

activador de la transcripción (STAT) - Janus quinasa (JAK) y la c-Jun quinasa N-terminal (JNK) en las células hepáticas residentes, lo que lleva a síntesis local de mediadores inflamatorios, como el TNF, Interleucina-17 (IL-17), quimiocinas de la subfamilia CXC o alfa (incluida la interleucina-8), así como osteopontina (Linhart, Bartsch, y Seitz, 2014; Horiguchi y col., 2008; Dominguez y col., 2009; Ki y col., 2010; Lemmers y col., 2009).

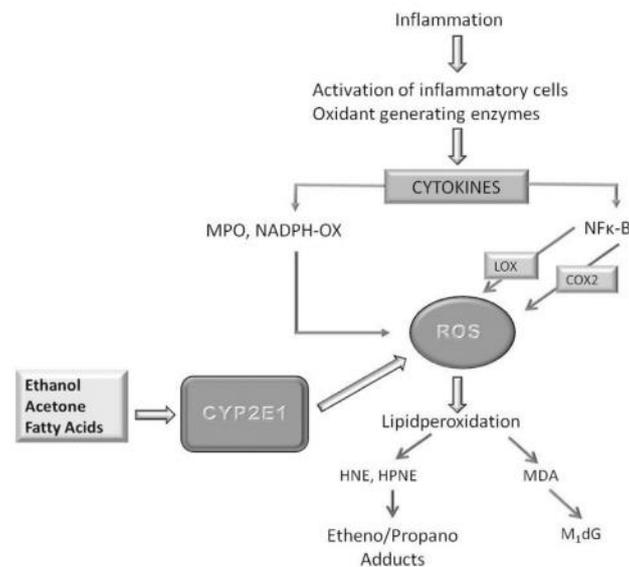


Figura 28. El consumo crónico de alcohol produce la inducción del citocromo P-450 2E1, que participa en la oxidación del etanol a través de la vía de oxidación microsomal del etanol (Extraída de Linhart, Bartsch, y Seitz, 2014).

El abuso de alcohol también produce cambios en la microbiota del colon y una mayor permeabilidad del intestino a la endotoxina bacteriana, lo que conduce a niveles séricos elevados de lipopolisacárido. Este aumento de lipopolisacárido induce acciones inflamatorias en las células de Kupffer a través de la vía del receptor tipo Toll 4-CD14 (Toll-like receptor 4(TLR 4)) (Gao y col., 2011; Horiguchi y col., 2008). El medio inflamatorio resultante en el hígado alcohólico conduce a la infiltración de leucocitos polimorfonucleares, formación de ROS y daño hepatocelular.

Por lo tanto, el ambiente inflamatorio producido en el hígado alcohólico posteriormente conduce a la infiltración de PMN, formación de ROS y daño a los hepatocitos. Finalmente, el deterioro de la degradación de proteínas a través de la vía ubiquitina-proteasoma, que aumentan el estrés del retículo endoplásmico, alteran la autofagia y promueven la lesión de los hepatocitos. También induce el desarrollo de inclusiones hepáticas que agregan citoqueratina, que se conoce como el cuerpo de

Mallory-Denk (Donohue y col., 2007; Kong y col., 2019). En la Figura 29, se observa la implicación de la supresión provocada por etanol de la catálisis del proteasoma en los siguientes eventos: Estabilización de CYP2E1 por etanol (que exagera la producción de ROS); Degradación defectuosa de proteínas oxidadas, lo que conduce a la formación de agregados de proteínas (que inhiben aún más el proteasoma) y finalmente causa la formación del cuerpo de Mallory; Reducción de la generación de péptidos antigénicos por el proteasoma constitutivo y el inmunoproteasoma, lo que resulta en la presentación de antígeno restringido de MHC clase I deteriorado; Señalización de células de citoquinas deterioradas por $\text{IFN}\gamma$ e interleucina (IL) -6 y bloqueo parcial de eventos descendentes y en la producción de IL-8 de regulación positiva.

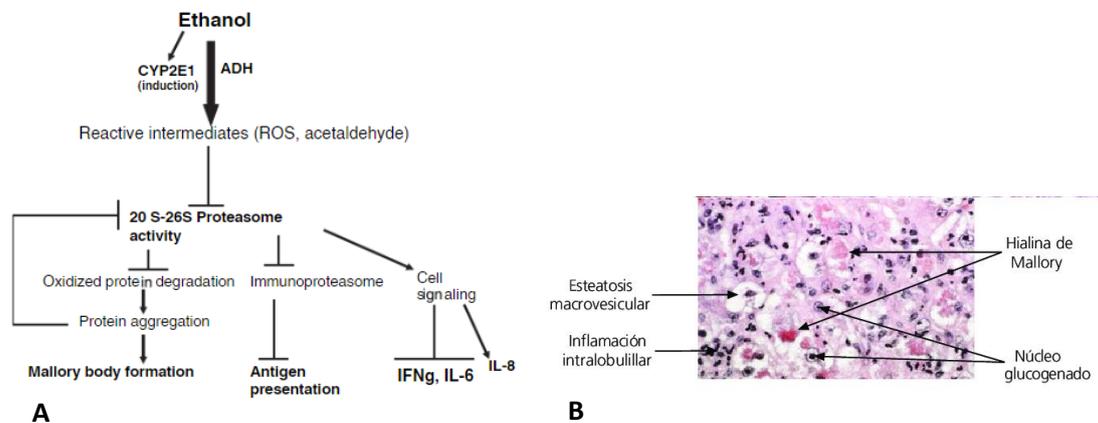


Figura 29. (A) Efectos celulares de la inhibición del proteasoma por el metabolismo del etanol. Símbolos: \downarrow = Activación o aumento; \perp = bloqueo o disminución (Extraída de Donohue y col., 2007) (B) Imagen histológica representativa de la esteatohepatitis, donde se señalan los cuerpos hilanos de Malory (Extraída y adaptada de Buqué, Aspichueta y Ochoa, 2008).

7.2.4. Fibrosis hepática

La fibrosis hepática es una característica histológica importante asociada con la progresión de la enfermedad hepática crónica a cirrosis; se caracteriza por una mayor deposición de componentes de la matriz extracelular (MEC), en particular colágenos fibrilares tipos I y III (Figura 30) (Ceni y col., 2014). El acetaldehído producido por la oxidación del etanol tiene una alta toxicidad y alta actividad que puede destruir la estructura de los microtúbulos del hepatocito, causando disfunción de los microtúbulos y afectando aún más el transporte de nutrientes (Kong y col., 2019).

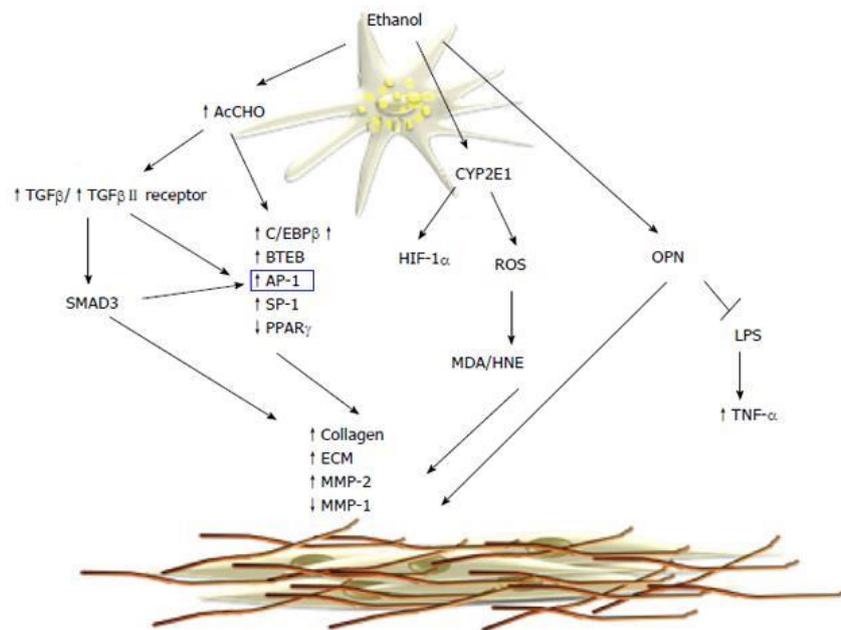


Figura 30. Mecanismos moleculares de la fibrosis alcohólica. El acetaldehído provoca una mayor síntesis de colágeno y componentes de la matriz extracelular (MEC) a través de la activación de la vía de señalización del (TGF) β / SMAD3. El metabolismo microsomal del etanol conduce a la formación de aductos de proteínas que regulan la síntesis de colágeno. MDA: malondialdehído; OPN: osteopontina; LPS: lipopolisacárido; TNF- α : factor de necrosis tumoral- α ; MMP: metaloproteína de la matriz extracelular; HNE: hidroxinenal; AP-1: proteína activadora-1; SP-1: Especificidad proteína-1 (Extraída de Ceni y col., 2014).

Las bandas de colágeno son evidentes y se desarrolla una fibrosis puente (Figura 31), que precede al desarrollo de nódulos de regeneración y cirrosis hepática. La formación de aductos de acetaldehído-proteína conduce aún más a la inactivación de la proteasa de los hepatocitos, anomalías en la reparación del ADN, daños en la estructura mitocondrial de los hepatocitos, trastornos de la utilización de oxígeno, estimulación de la síntesis de colágeno y la acumulación de proteínas de la matriz extracelular para formar fibrosis hepática y cirrosis (Kong y col., 2019). La activación de la célula estrellada hepática (HSC), las principales células productoras de colágeno en el hígado lesionado (S. L. Friedman, 1999) es el paso clave en la patogénesis de la fibrosis hepática alcohólica (Kong y col., 2019).

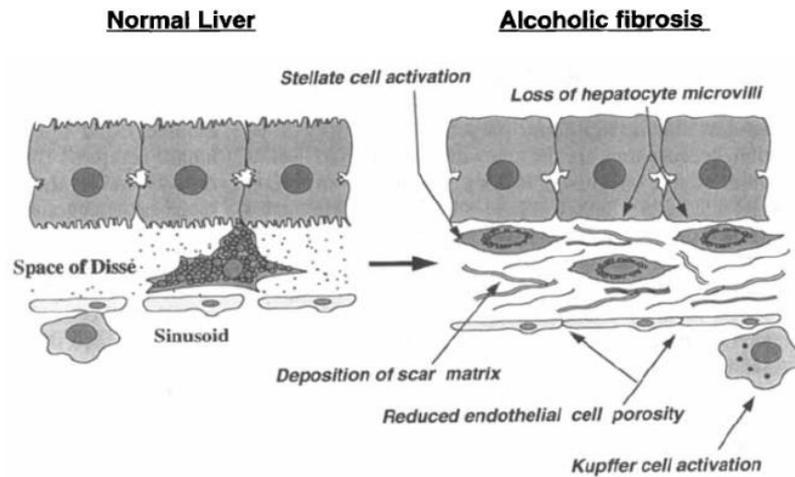


Figura 31. Eventos sinusoidales durante la fibrosis alcohólica. Regulación molecular de la fibrosis hepática (Extraída de Friedman, 1999).

Los hepatocitos dañados, las células de Kupffer activadas y los leucocitos polimorfonucleares liberan una amplia gama de mediadores fibrogénicos: factores de crecimiento, como el TGF- β y el factor de crecimiento derivado de plaquetas; citocinas, que incluyen leptina, angiotensina II, IL-8 y TNF; óxido nítrico; y ROS (superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales anión hidroxilo) (Moreno y Bataller, 2008; Naveau y col., 2006).

Es importante destacar que ROS estimula las vías de señalización intracelular profibrogénica en las células estrelladas hepáticas, incluidas las quinasas reguladas por señal extracelular (ERK1 y ERK2), fosfoinositida 3 quinasa-Akt y JNK (Houstis, Rosen y Lander, 2006; Kluwe y col., 2010). ROS también regulan al alza el inhibidor tisular de metaloproteinasas 1 y disminuyen la acción de las metaloproteinasas, que promueven conjuntamente la acumulación de colágeno (Arthur, Iredale y Mann, 1999; Lieber, Weiss y Paronetto, 2008). Las células distintas de las células estrelladas hepáticas, incluidos los fibroblastos portal y las células derivadas de la médula ósea, también pueden sintetizar colágeno en pacientes con enfermedad hepática alcohólica. Se está investigando si otros mecanismos novedosos, como la transición epitelial a mesenquimal de los hepatocitos, también tienen un papel en la fibrosis hepática (Zhuy col., 2011).

En la Figura 32, se puede observar la fibrosis hepática (Figura 32D) ocasionada por la liberación de la matriz extracelular producida por las células estrelladas activadas;

además del resto de mecanismos moleculares que ocurren en el proceso de enfermedad hepática alcohólica. (Kong y col., 2019).

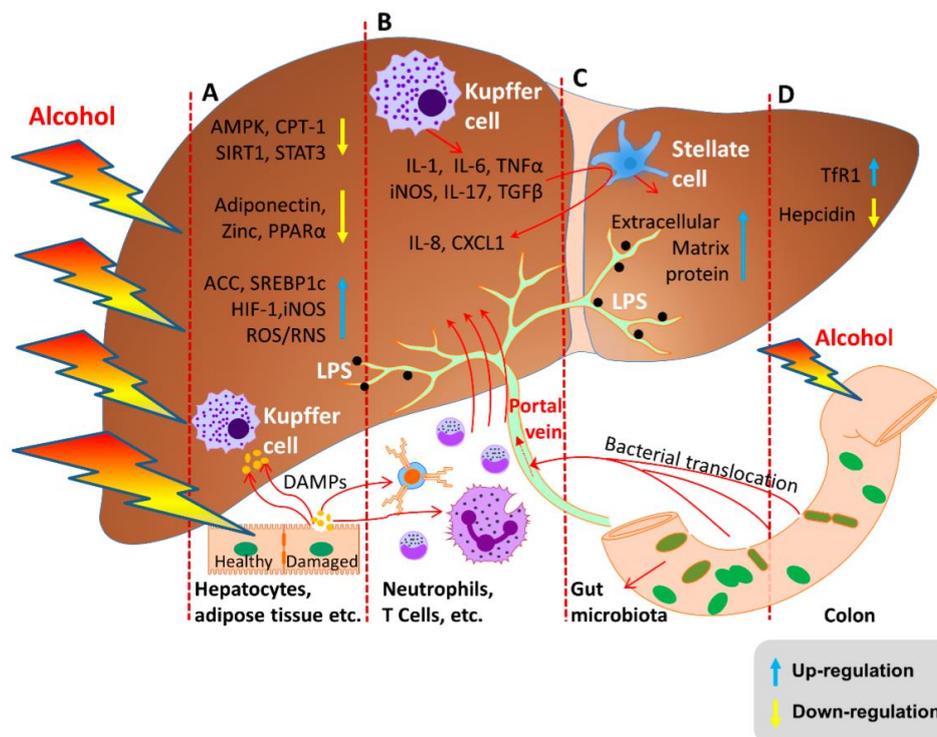


Figura 32. Mecanismos moleculares del proceso de enfermedad hepática alcohólica. (A) El alcohol y sus metabolitos causan esteatosis al aumentar los niveles de ROS/RNS (Especies reactivas de nitrógeno) y la expresión de ACC y SREBP1c. Además, a través de la expresión reducida de AMPK-SIRT1, adiponectina y zinc, los cuales activan PPARα. (B, C) La permeabilidad del colon con un consumo excesivo de alcohol permite que el LPS ingrese al hígado a través de la vena porta. Las células de Kupffer activadas liberan citocinas como IL-1, IL-6, TNF-α, iNOS y IL-17 que activa las células estrelladas y liberan IL-8 y CXCL1 en AH y ASH. Las células estrelladas activadas también liberan la matriz extracelular que produce fibrosis hepática. (D) Regulación de hepcidina, uno de los principales factores patogénicos en la enfermedad hepática alcohólica (Extraída de Kong y col., 2019).

7.2.5. Cirrosis hepática: cirrosis compensada y descompensada

En definitiva, se puede definir la cirrosis hepática como un “síndrome anatomoclínico” que corresponde a la fase terminal de muchas enfermedades hepáticas de etiología diversa (García, González y Moreno-Otero, R., 2012).

Su historia natural se caracteriza por una fase asintomática, denominada cirrosis compensada (Figuras 33 y 34), cuyo curso clínico no se conoce con exactitud debido a su no sintomatología. En esta fase, los pacientes pueden llegar a tener hipertensión

portal y varices esofágicas, y a medida que la enfermedad progresa con el desarrollo de mayor hipertensión portal y mayor deterioro de la función hepática aparecen las complicaciones de la denominada cirrosis descompensada, como ascitis, hemorragia por varices, encefalopatía hepática o ictericia. El desarrollo de cualquiera de estas complicaciones marca la transición de la fase compensada a la descompensada (D'Amico, Garcia-Tsao y Pagliaro, 2006; Altamirano y Bataller, 2011).

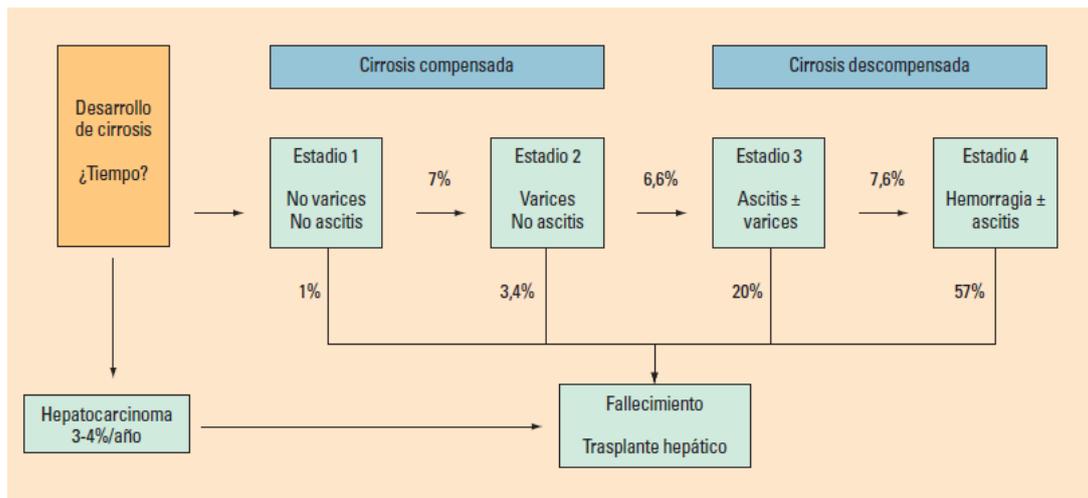


Figura 33. Historia natural de la cirrosis hepática: estadios clínicos y probabilidades de evolución en un año (Extraída y adaptada de D'Amico, Garcia-Tsao y Pagliaro, 2006).

La progresión de la enfermedad parece que se acelera, con riesgo de muerte con el desarrollo de complicaciones tales como el resangrado, insuficiencia renal (ascitis refractaria, síndrome hepatorenal), síndrome hepatopulmonar y sepsis (peritonitis bacteriana espontánea). El desarrollo de hepatocarcinoma puede acelerar el curso de la enfermedad tanto en la fase compensada como descompensada (Garcia y col., 2012).

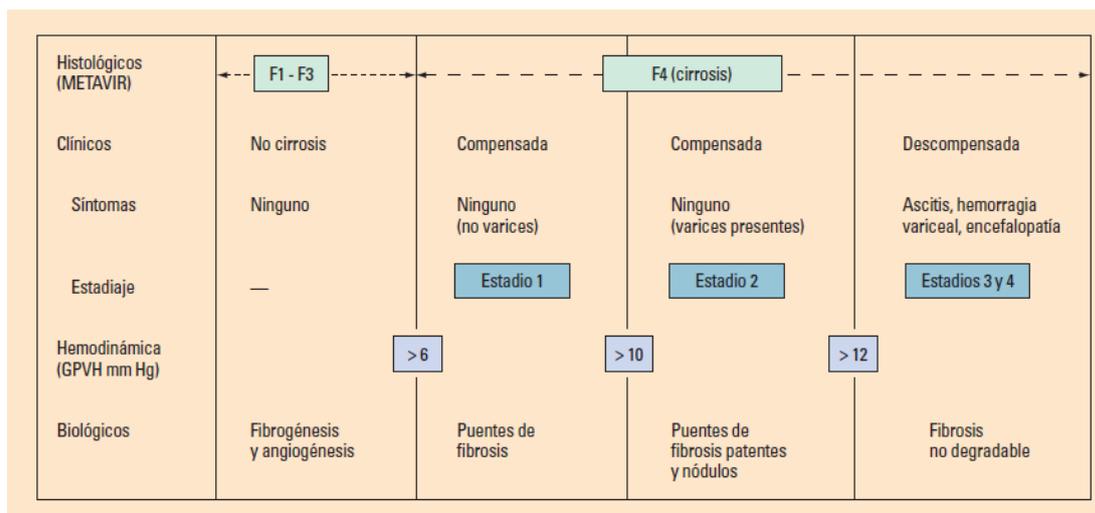


Figura 34. Clasificación de la enfermedad hepática crónica basada en parámetros histológicos, clínicos, hemodinámicos y biológicos (Extraída y modificada de Friedman, 2008; D'Amico, Garcia-Tsao y Pagliaro, 2006).

Una vez alcanzada la fase de cirrosis descompensada, se pueden diferenciar cuatro estadios clínicos con diferente pronóstico (Figura 34). Los estadios 1 y 2 corresponden a pacientes con cirrosis compensadas, mientras que los estadios 3 y 4 se refieren a cirrosis descompensada. La tasa de mortalidad aumenta a mayor estadio, de manera más significativa en el estadio 3, con respecto al 2 (20% por año frente al 3.4% por año, respectivamente), acabando en un 57% de mortalidad anual en el estadio 4. El estadio 1 se caracteriza por la ausencia de varices esofágicas y ascitis, el estadio 2 presenta varices esofágicas sin ascitis y sin sangrado, en el estadio 3 hay presencia de ascitis con o sin varices esofágicas que nunca han sangrado, cuya tasa de mortalidad y, por último, en el estadio 4 se detecta hemorragia digestiva por varices con o sin ascitis. El hepatocarcinoma puede aparecer cualquier estadio de cirrosis con una tasa constante del 3% por año (García y col., 2012; Altamirano y Bataller, 2011).

7.3. Factores genéticos de la enfermedad hepática alcohólica

Según varias investigaciones, más del 95% de los alcohólicos crónicos padecen enfermedad del hígado graso alcohólico. Sin embargo, solo aproximadamente el 30% de los pacientes desarrollan etapas graves y los posibles mecanismos de protección detrás de esto todavía no están claros (Stickel y col., 2017).

Otros estudios previos han concluido que el consumo de diferentes cantidades de alcohol en diversas poblaciones o los diferentes niveles de expresión de las enzimas ALDH y CYP2E1 entre individuos pueden dar lugar a esta variación en la progresión de

la enfermedad. Estudios recientes de casos y controles en los Estados Unidos han demostrado que el polimorfismo de un solo nucleótido rs738409 en el gen de la proteína 3 que contiene el dominio de fosfolipasa similar a la patatina (PNPLA3) está estrechamente relacionado con la incidencia de hígado alcohólico (Figura 35) (Kolla y col., 2018).

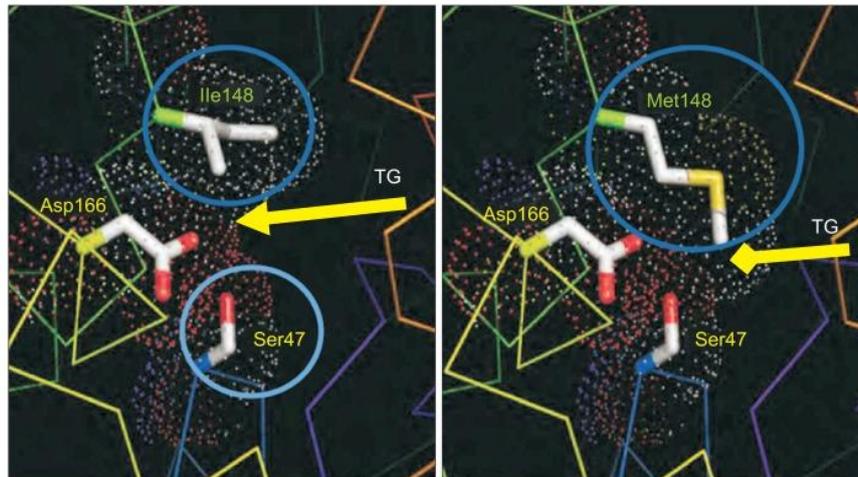


Figura 35. Las modificaciones estructurales en el locus PNPLA3 rs738409 (I148) afectan el surco de unión del sustrato en lugar del centro catalítico de la proteína. Al sustituir la metionina (Met) por isoleucina (Ile) en la posición 148 de la proteína PNPLA3, se reduce la accesibilidad a los sustratos (por ejemplo, triglicéridos) y, por lo tanto, se pierde la función (Extraída de Stickel y col., 2017).

Además, se informó que los polimorfismos rs738409 de un solo nucleótido están fuertemente asociados con enfermedad hepática alcohólica en los hombres chinos (Zhang y col., 2018) y en pacientes con enfermedad hepática avanzada causando un mal pronóstico para el trasplante de hígado (Friedrich y col., 2014). Por lo tanto, I148M puede actuar como un indicador genético para evaluar si un paciente es elegible para un trasplante de hígado (Kong y col., 2019).

7.4. Manifestaciones clínicas y complicaciones de la cirrosis hepática alcohólica

Las formas severas de la hepatitis alcohólica tienen una mortalidad muy alta a corto plazo (Lucey, Mathurin y Morgan, 2009).

Como el abuso de alcohol puede provocar daños graves en el sistema nervioso, el corazón, los riñones y el páncreas, los pacientes con enfermedad hepática alcohólica también pueden desarrollar una variedad de síntomas no relacionados con el hígado,

como manifestaciones psiquiátricas, insuficiencia cardíaca, insuficiencia renal y dolor abdominal (Altamirano y Bataller, 2011).

Como se ha mencionado anteriormente, cuando la enfermedad hepática evoluciona a cirrosis, existe una primera etapa en la que no suelen existir síntomas. Es en la fase de cirrosis compensada, donde el organismo intenta compensar las alteraciones que se producen tanto a nivel hemodinámico como funcional. Los pacientes en esta fase pueden estar asintomáticos o presentar síntomas inespecíficos como astenia, pérdida de peso, anorexia y debilidad o mas específicos en exploración física casual de una hepatomegalia.

Debido a la distorsión de la arquitectura vascular originada por la fibrosis, los nódulos de regeneración y fenómenos de microtrombosis u oclusión vascular, se le suma un elemento dinámico: el aumento de la resistencia vascular hepática que conduce a la aparición de hipertensión portal (aumento del gradiente de presión entre la vena porta y la vena suprahepática o cava inferior), el cual es dependiente de la contracción activa de las células estrelladas perisinusoidales, que se activan en la cirrosis hepática y desarrollan capacidades contráctiles que les permiten funcionar como pericitos sinusoidales. También se incluyen a los miofibroblastos periportales y las células del músculo liso de las vénulas portales. (Bernal y Bosch, 2012).

El aumento de la presión portal determina la apertura y desarrollo de una extensa red de colaterales portosistémicas (shunt portosistémico), cuya finalidad es derivar una proporción significativa del flujo esplácnico hasta la circulación general, sin pasar por el hígado. Ello comporta múltiples consecuencias relevantes, entre las que destaca la formación de varices esofágicas (Bernal y Bosch, 2012). Este fenómeno, tal y como se observa en la Figura 36, contribuye a explicar la disfunción circulatoria observada en la cirrosis hepática con hipertensión portal, con repercusiones sobre el pulmón y la circulación renal (Harry y Wendon, 2001).

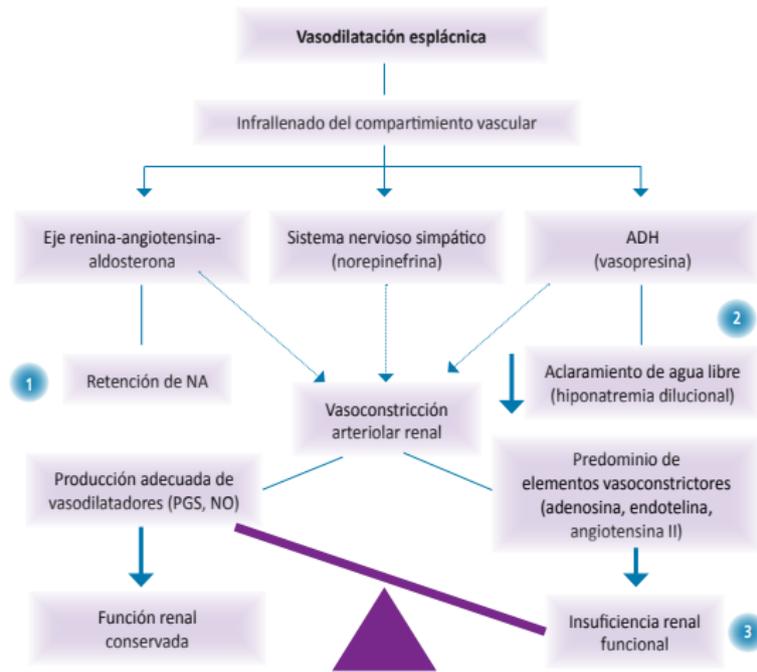


Figura 36. Fisiopatología de los trastornos de la función renal del cirrótico con hipertensión portal (Extraída de Bernal y Bosch, 2012).

La vasodilatación esplácnica es responsable de la circulación hiperdinámica, que se manifiesta por un descenso de la presión arterial y de la resistencia vascular periférica, aumento del gasto cardíaco y elevación del aflujo de sangre al territorio portal (Figura 37) (Ginès y Schrier, 1999).

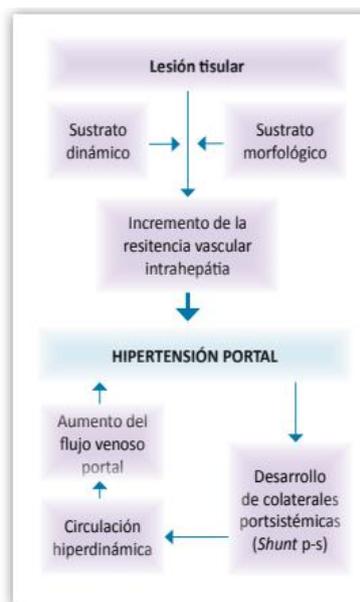


Figura 37. Factores implicados en la hipertensión portal del enfermo con cirrosis hepática (Extraída de Bernal y Bosch, 2012).

En la Figura 38, se resume las principales complicaciones de la cirrosis hepática como pueden ser: ascitis, acumulación de líquido en el abdomen causando hinchazón; encefalopatía hepática portosistémica, en la que la funcionalidad cerebral se puede deteriorar debido a que el hígado dañado no es capaz de eliminar los residuos tóxicos de la sangre; hemorragias digestivas, las venas del esófago y el estómago se dilatan y pueden sangrar debido a la hipertensión portal, que además, contribuye a la ascitis o la causa, al aumento del volumen del bazo (esplenomegalia) y, a veces, a la encefalopatía portosistémica, ya que la vena que transporta la sangre desde el intestino al hígado puede estrecharse o bloquearse, lo que aumenta la presión de la sangre en su interior, aumentando el riesgo de infecciones y hemorragia por pérdida de leucocitos y trombocitos. Coagulopatía, la persona tiende a sangrar o presentar hematomas con facilidad debido a que el hígado lesionado no sintetiza de manera suficiente factores de la coagulación; insuficiencia hepática, el hígado ha perdido funcionalidad dando lugar a muchas complicaciones y, con frecuencia, a un mal estado de salud general pudiendo conducir, por último, a una insuficiencia renal (Orfanidis, 2019).

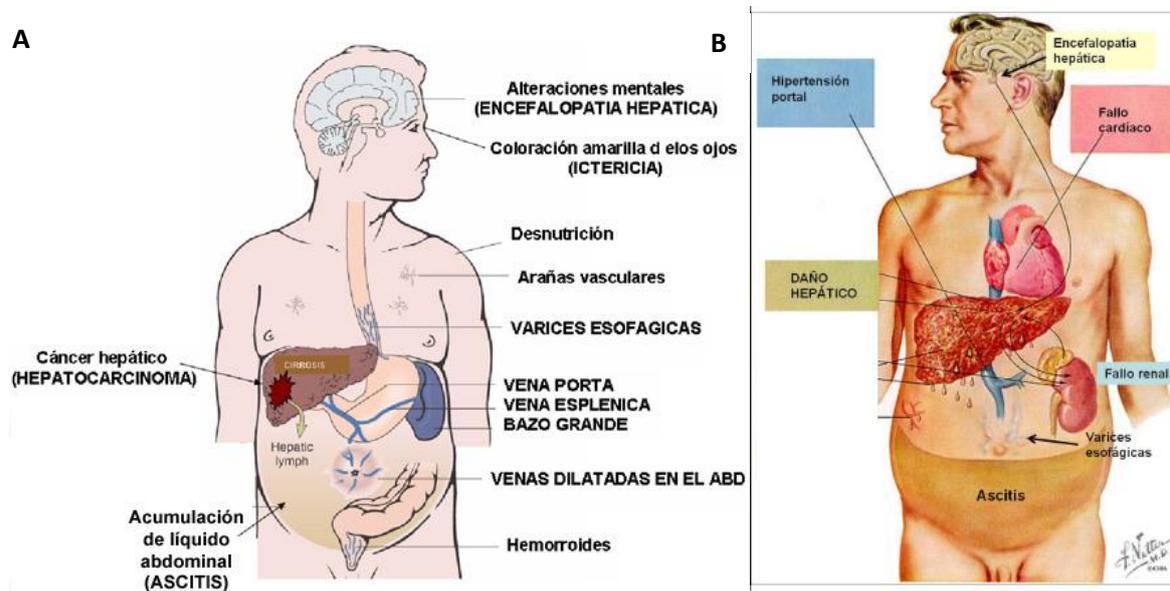


Figura 38. Manifestaciones clínicas más importantes de la cirrosis. (A) Ascitis, encefalopatía hepática (portosistémica), hipertensión portal, hemorragias digestivas, insuficiencia hepática, coagulopatía y esplenomegalia, entre otras (Extraída de «Hígado grasoso: Información sobre enfermedades del hígado», s. f.) (B) Hipertensión portal, que causa o contribuye a la ascitis, hemorragias digestivas, esplenomegalia y, a veces, a la encefalopatía portosistémica; insuficiencia hepática e insuficiencia renal (Extraída de Tapia, 2013).

8. Cirrosis hepática alcohólica y ascitis

La ascitis es la manifestación descompensante más común en pacientes con cirrosis hepática ((D'Amico, Garcia-Tsao y Pagliaro, 2006; Ginés y col., 1987; Pose y Cardenas, 2017; Piano, Tonon y Angeli, 2018), con una incidencia media de 1 a 10 años de 7 a 10% y 60 a 70% en 10 años (Zhao y col., 2019).

Supone una importante disminución de la supervivencia de los pacientes: los pacientes cirróticos con ascitis tienen un alto riesgo de desarrollar complicaciones adicionales tales como hiponatremia dilucional, peritonitis bacteriana espontánea (SBP) y/u otras infecciones bacteriales, insuficiencia renal aguda (IRA) (Fasolato y col., 2007; Planas y col., 2006; Piano, Tonon y Angeli, 2018), y después de la aparición de ascitis, la probabilidad de supervivencia es de hasta 85% y 57% a 1 y 5 años, respectivamente (Fasolato y col., 2007; Pose y Cardenas, 2017; Piano, Tonon y Angeli, 2018; Zhao y col., 2019), y también una disminución de su calidad de vida a menudo conduce a la hospitalización, requiere tratamiento crónico y es una causa directa de complicaciones adicionales, como SBP, disfunción ventilatoria restrictiva o hernias abdominales (Angeli y col., 2018; Piano, Tonon y Angeli, 2018).

8.1. Etiología de la ascitis

La ascitis es causada por el aumento de la retención renal de sodio como resultado del aumento de la actividad del sistema renina-angiotensina-aldosterona en respuesta a la marcada vasodilatación de la circulación esplácnica (Pose y Cardenas, 2017; Angeli y col., 2018). Se asocia con una presión hidrostática elevada en el lecho venoso portal y presión oncótica sérica disminuida, caracterizada por gradiente de presión portal (PPG) y albúmina sérica.

La formación de ascitis en pacientes cirróticos está relacionada con dos mecanismos patogénicos principales: hipertensión portal (HP) y retención renal de sodio (Figura 39). Un aumento de la resistencia al flujo portal a nivel sinusoidal conduce al desarrollo de hipertensión portal sinusoidal (a partir de un gradiente de presión portal por encima de 10 mmHg) (Bernal y Bosch, 2012) y a la transmisión hacia atrás de este aumento de la presión en los capilares espláncnicos. El resultado es que el exceso de líquido se localiza preferentemente en la cavidad peritoneal. La hipertensión

sinusoidal también se asocia con el desarrollo de una vasodilatación arterial periférica, principalmente esplácnica, que conduce a un aumento en la fracción de sangre que fluye a través del área esplácnica con un aumento adicional de la presión portal y con una reducción de la volamia central (o esencial) (Salerno y col., 2010).

El segundo mecanismo, la retención renal de sodio, también está relacionado con la hipertensión portal y precede a la formación de ascitis (Figura 33).

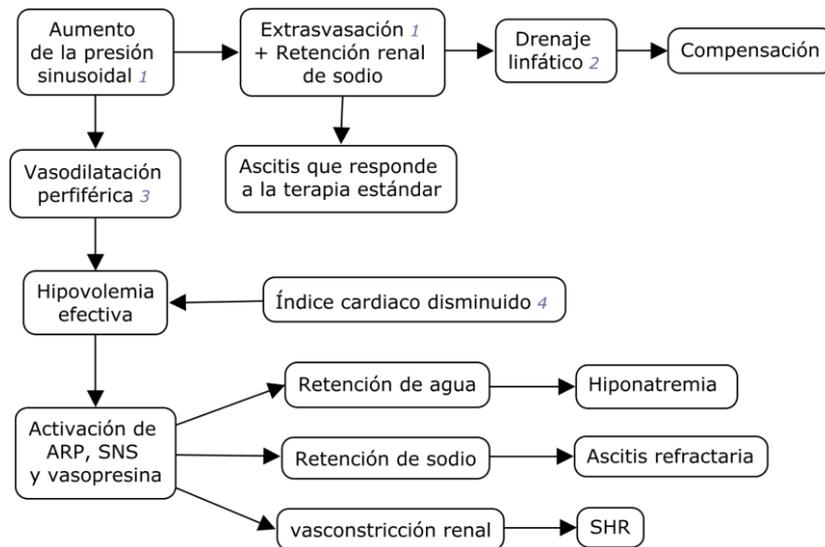


Figura 39. Mecanismos de determinación de ascitis, hiponatremia e insuficiencia renal en cirrosis según la hipótesis de vasodilatación periférica. 1=Extrasvasación causada por hipertensión hidrostática intrasinusoidal; 2=Drenaje linfático como mecanismo compensatorio para la acumulación de líquido intersticial; 3=vasodilatación periférica y 4=Bajo índice cardíaco como mecanismo principal que causa hipovolemia efectiva. ARP: Actividad de la renina plasmática; SNS: Sistema nervioso simpático; SHR: Síndrome Hepatorrenal (Extraída de Salerno y col., 2010).

El mecanismo que inicia la retención renal de sodio aún se debate; se ha implicado tanto un barorreceptor hepatorrenal iniciado por hipertensión portal (Ming, Smyth y Lutt, 2002) como un estado sutil de hipovolemia con activación mínima del sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS). La retención renal de sodio inicial que ocurre antes del desarrollo de ascitis no parece ocurrir en respuesta a una reducción significativa en el volumen sanguíneo arterial. En una etapa posterior de la cirrosis, es necesaria la retención renal de sodio y agua para reponer el volumen intravascular y mantener la estabilidad hemodinámica. La retención continua de sodio renal es un requisito previo para la formación de ascitis, ya que el aumento de la presión

hidrostática sola sin retención de sodio no producirá ninguna ascitis (Salerno y col., 2010).

La principal consecuencia de estas alteraciones hemodinámicas y renales es un escape continuo de líquido de los sinusoides hepáticos y de los capilares espláncnicos en el espacio intersticial. Este derrame se compensa inicialmente por un mayor retorno de los líquidos a la circulación sistémica a través del sistema linfático y el conducto torácico. Sin embargo, a medida que progresa la cirrosis, el escape de fluidos supera el retorno linfático, lo que lleva a una acumulación progresiva de líquido directamente en la cavidad peritoneal. Esto es seguido por una activación adicional de los mecanismos renales de la reabsorción de sodio y agua que es crucial para perpetuar la formación de ascitis (Salerno y col., 2010).

Por lo tanto, el curso clínico de la cirrosis con ascitis puede ser dividido en fases acorde con el inicio de cada una de las alteraciones de la función renal (Figura 40). La hipótesis actualmente más aceptada sobre la formación de la ascitis es la teoría de la vasodilatación arterial periférica, según la cual, el evento inicial en la formación de ascitis es una vasodilatación arterial espláncnica secundaria a la hipertensión portal (Schrier y col., 1988; Guevara y Arroyo, 2012).

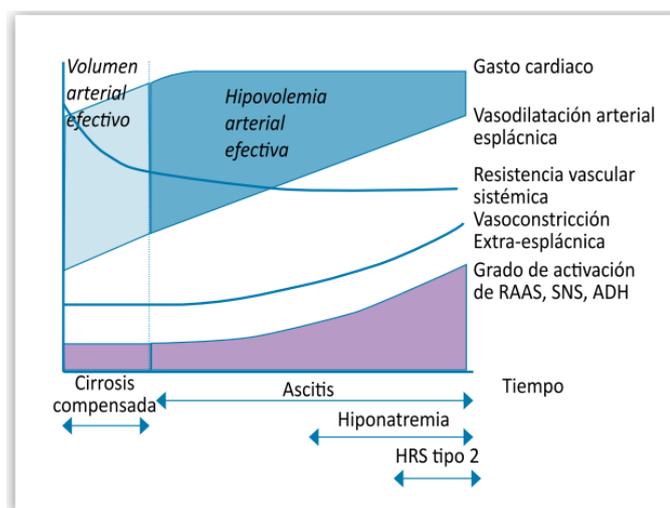


Figura 40. Curso clínico de la cirrosis con ascitis (Extraída de Guevara y Arroyo, 2012).

En las fases iniciales de la enfermedad, cuando la ascitis aún no está presente, la homeostasis circulatoria se mantiene por el desarrollo de una circulación hiperdinámica

(volumen plasmático, gasto cardíaco y frecuencia cardíaca elevados). Sin embargo, a medida que la enfermedad progresa, la vasodilatación arterial esplácnica se hace más intensa y este mecanismo compensador resulta insuficiente para mantener la homeostasis circulatoria (Guevara y Arroyo, 2012).

La presión arterial disminuye, dando lugar a la estimulación de barorreceptores y secundariamente a un aumento de la actividad de los sistemas nervioso simpático, renina-angiotensina-aldosterona y ADH. Todo ello provoca una retención renal de sodio y agua (Bernardi y col., 1983). Esta hipótesis se sustenta en estudios que demuestran cómo el volumen sanguíneo del compartimento vascular central (circulación cardiopulmonar y aorta), donde se encuentran los barorreceptores de alta y baja presión, se encuentra reducido en los pacientes cirróticos con ascitis pero no en los pacientes sin ascitis (Henriksen y col., 1989.). Finalmente, el aumento de la presión hidrostática, debido a la entrada masiva de sangre a alta presión en los capilares del territorio esplácnico, determinaría la extravasación del agua y sodio, retenidos por el riñón, en la cavidad peritoneal (Guevara y Arroyo, 2012).

8.2. Tipos de ascitis

La ascitis en el paciente cirrótico se clasifica en dos grupos (Arroyo y col., 1996; Gines y col., 2010; Guevara y Arroyo, 2012):

a) Ascitis no complicada: es la ascitis no infectada y que no se acompaña de síndrome hepatorenal, la cual a su vez se subdivide en 3 grados (Angeli y col., 2018):

- Grado I: Ascitis de pequeño volumen que sólo se detecta por ecografía.
- Grado II: Ascitis moderada manifestada por distensión simétrica del abdomen.
- Grado III: Ascitis importante con marcada distensión abdominal.

b) Ascitis refractaria: es la ascitis que no disminuye o que recidiva rápidamente (por ejemplo, tras paracentesis terapéutica) a pesar del tratamiento diurético (Salerno y col., 2010). Ocurre en el 5-10% de los pacientes con ascitis, y se subdivide en dos subgrupos:

- Ascitis resistente a diuréticos: es la ascitis que no puede eliminarse o cuya recurrencia no puede evitarse debido a una falta de respuesta a la restricción de la ingesta de sodio y dosis máximas de diuréticos.
- Ascitis intratable: es la ascitis que no puede ser eliminada o cuya recurrencia no puede ser evitada debido al desarrollo de complicaciones (Tabla 18), principalmente encefalopatía hepática, insuficiencia renal, hiponatremia e hiper o hipokalemia, inducidas por los propios diuréticos haciendo inviable el uso de dosis efectivas de estos fármacos.

Tabla 18. Complicaciones de la ascitis inducidas por diuréticos

Encefalopatía	Desarrollo de encefalopatía sin ningún otro factor precipitante que el propio tratamiento diurético.
Insuficiencia renal	Aumento de la concentración plasmática de creatinina superior al 100%, por encima de 2 mg/dl, en pacientes con ascitis que están respondiendo al tratamiento diurético (aumento de la diuresis y natriuresis y disminución del peso corporal).
Hiponatremia	Descenso en la concentración plasmática de sodio superior a 10 mEq/l hasta un nivel inferior a 125 mEq/l.
Hipo o hiperkalemia	Descenso de la concentración plasmática de potasio por debajo de 3 mEq/l o un aumento hasta niveles superiores a 6 mEq/l, respectivamente, a pesar de usar medidas apropiadas para prevenirlas

Extraída y adaptada de Guevara y Arroyo (2012).

Para definir a la ascitis como refractaria, es necesario establecer la duración del tratamiento, ya que los pacientes deben haber sido tratados con dosis máximas de diuréticos (espironolactona, 400 mg/día, más furosemida, 160 mg/día, o dosis equivalente de otros diuréticos de asa) durante al menos una semana. La falta de respuesta al diurético se asume cuando la pérdida de peso es inferior a 200 g/día durante los últimos 4 días de tratamiento diurético máximo, junto a una excreción de sodio inferior a 50 mEq/día con dieta restringida en sodio a 90 mEq/día (Padilla y col., 2009).

Muchos pacientes con ascitis refractaria también tienen una insuficiencia renal crónica que se llama síndrome hepatorenal tipo 2. En estos pacientes, la ascitis puede tratarse con paracentesis periódica o con derivación portosistémica intrahepática transyugular. Sin embargo, solo el trasplante de hígado puede mejorar la supervivencia de dichos pacientes (Salerno y col., 2010).

No obstante, Kashani y col. (2008) según con las complicaciones asociadas (es decir, SBP o SHR) y la respuesta terapéutica, clasifican a la ascitis como complicada, complicada y refractaria (Tabla 19) (Salerno y col., 1999; Bernardi y col., 2015).

Tabla 19. Clasificación de ascitis.

Severity ⁴	
Grade 1 (mild)	Not clinically evident, diagnosed on ultrasound
Grade 2 (moderate)	Proportionate sensible abdominal distension
Grade 3 (severe)	Noticeable tense distension of abdomen
Uncomplicated ⁵	Not infected or associated with HRS
Refractory ⁶	Cannot be mobilized, early recurrence after LVP, not prevented satisfactorily with medical treatment (after 1 week)
Diuretic-resistant	No response to intensive diuretic treatment
Diuretic-intractable	Drug-induced adverse effects preclude diuretic treatment

(Extraída de Kashani y col., 2008)

8.3. Tratamiento de la ascitis

El tratamiento de primera línea de la ascitis no complicada (Tabla 20) es una dieta moderada restringida en sodio combinada con un tratamiento diurético. Aproximadamente el 10% de los pacientes no responden a los diuréticos y se convierten en un verdadero desafío terapéutico (Salerno y col., 2010).

Tabla 20. Clasificación de ascitis y tratamiento sugerido.

Grado de ascitis	Definición	Tratamiento
Ascitis de Grado 1	Ascitis leve sólo detectable por ecografía	Sin tratamiento
Ascitis de Grado 2	Ascitis moderada evidente por	Restricción de inges de sodio y

	distensión simétrica moderada del abdomen	diuréticos
Ascitis de Grado 3	Ascitis abundante con marcada distensión abdominal	Paracentesis de gran volumen seguida de restricción de ingesta de sodio y diuréticos (a menos que los pacientes tengan ascitis refractaria)

(Extraído de Gines y col., 2010)

En pacientes que desarrollan ascitis refractaria, la paracentesis de gran volumen (LVP) asociada con albúmina intravenosa representa la opción más factible. Algunos pacientes también se benefician de las derivaciones portosistémicas intrahepáticas transyugulares (TIPS) (Salerno y col., 2010). La HP es una etapa progresiva típica de la enfermedad hepática crónica avanzada y es responsable de la mayoría de las complicaciones de la cirrosis (Ginés y col., 1987). Se ha demostrado que la disminución de la presión portal por derivación portosistémica, como la TIPS alivia las complicaciones, incluida la ascitis (Zhao y col., 2019; Piano, Tonon y Angeli, 2018).

Cuando no se pueden realizar LVP o TIPS repetidos, se pueden considerar otros tratamientos, como los vasoconstrictores (midodrina) y las bombas automáticas de bajo flujo (Alfapump). Este último es diseñado para mover la ascitis desde la cavidad peritoneal a la vejiga urinaria, donde se elimina espontáneamente a través de la diuresis. Son dos opciones potenciales que aún están bajo investigación (Salerno y col., 2010; Piano, Tonon y Angeli, 2018).

Kockerling y col. (2019) afirman además que, debido a las restricciones del trasplante de hígado, la terapia farmacológica guiada por complicaciones se ha convertido en el pilar del tratamiento a largo plazo de la cirrosis. Señalan a los betabloqueantes no selectivos como reductores eficaces contra el riesgo de hemorragia por varices en pacientes cirróticos con várices moderadas-grandes, aunque parecen ineficaces para la prevención primaria del desarrollo de varices y pueden comprometer la función renal y la estabilidad hemodinámica en la descompensación avanzada.

Por otro lado, destacan la efectividad del antibiótico selectivo intestinal rifaximina para la profilaxis secundaria de la encefalopatía hepática; el potencial de la norfloxacina para la prevención secundaria de la peritonitis bacteriana espontánea y

sugieren que los agonistas de los receptores alfa-adrenérgicos pueden mejorar la respuesta diurética en la ascitis refractaria, en la que Vaptans no ha demostrado efectividad clínica en el tratamiento de la ascitis refractaria, incluso pudiendo causar complicaciones perjudiciales; señalan que se ha demostrado la seguridad de la administración de estatinas en la cirrosis compensada, proponiendo su efectos protectores sobre la progresión de la fibrosis, la descompensación y la mortalidad (Kockerling y col. 2019).

9. Cirrosis hepática alcohólica y encefalopatía alcohólica

La encefalopatía hepática (EH) es otra de las complicaciones que se producen en el paciente cirrótico, además de la aparición acumulativa de ascitis, hemorragia varicosa y peritonitis bacteriana espontánea (PAS); debida predominantemente a las complicaciones de la hipertensión portal, donde el pronóstico de la cirrosis se deteriora progresivamente (Kockerling y col., 2019).

Se presenta como una complicación de la enfermedad hepática avanzada que puede ser aguda o crónica (Acharya y Bajaj, 2018). Se trata de un síndrome reversible caracterizado por un espectro de anomalías neuropsiquiátricas que resultan de la acumulación de sustancias neurotóxicas en el torrente sanguíneo y, finalmente en el cerebro (Merli y col., 2019).

Los síntomas típicamente incluyen confusión, cambios de personalidad, desorientación y un nivel de conciencia deprimido, en la que en la etapa más temprana se caracteriza a menudo por un patrón de sueño-vigilia invertido; y a lo largo de las etapas intermedias, los pacientes tienden a experimentar un empeoramiento de los niveles de confusión, letargo y cambios de personalidad. En las etapas avanzadas, la encefalopatía hepática puede conducir eventualmente al coma (por ejemplo, coma hepático) y finalmente a la muerte (Mandiga, Foris y Bollu, 2020).

9.1. Etiología de la encefalopatía

Los desencadenantes de la EH incluyen insuficiencia renal, hemorragia gastrointestinal (como las várices esofágicas), estreñimiento, infección, incumplimiento de la medicación, ingesta excesiva de proteínas en la dieta, deshidratación (ya sea por restricción de líquidos, diuréticos, diarrea, vómitos, paracentesis excesiva),

desequilibrio electrolítico, consumo de alcohol, o el consumo de ciertos sedantes, analgésicos o diuréticos, todo ello en el contexto de una enfermedad hepática crónica. En algunos casos, la encefalopatía hepática puede ocurrir después de la creación de una TIPS (Kibrit y col, 2018; Kenston y col., 2019).

Entre las neurotóxicas desencadenantes se encuentran el amoníaco, ácidos grasos de cadena corta, mercaptanos, neurotransmisores falsos (por ejemplo, tiramina, octopamina, beta-feniletanolaminas), manganeso y GABA, aunque el amoníaco es el más ampliamente reconocido (Levitt y Levitt, 2018). Así, se considera que la encefalopatía es un síntoma neurológico causado tanto por el daño parenquimatoso como por la hipertensión portal, lo que conlleva un aumento de los niveles de amonio, lo que produciría toxicidad cerebral (Córdoba, 2011).

El análisis del tráfico de amoníaco entre órganos, ha identificado un papel importante del músculo esquelético en la eliminación de amoníaco y ha destacado la importancia del estado nutricional. El amoníaco causa anomalías en los neurotransmisores e induce una lesión en los astrocitos que está parcialmente mediada por el estrés oxidativo. Estas alteraciones provocan inflamación de los astrocitos y edema cerebral, que parecen estar implicados en la patogenia de las manifestaciones neurológicas. Los mediadores inflamatorios empeoran las alteraciones cerebrales (Córdoba y Mínguez, 2008).

En condiciones normales, el amoníaco es producido por bacterias en el tracto gastrointestinal, seguido del metabolismo y la eliminación por el hígado. Sin embargo, en el caso de cirrosis o disfunción hepática avanzada, hay una disminución en el número de hepatocitos funcionales, derivación portosistémica o ambos, lo que resulta en una disminución del aclaramiento de amoníaco e hiperamonemia (Mandiga, Foris y Bollu, 2020).

Una vez que el amoníaco atraviesa la barrera hematoencefálica (BHE), tiene múltiples efectos neurotóxicos. Estos incluyen alteraciones en el transporte molecular de aminoácidos, electrolitos, agua en astrocitos y neuronas, aumento de la síntesis de glutamina a partir del glutamato por parte de los astrocitos, inhibición de la generación de potencial postsináptico excitador e inhibitorio, deterioro del metabolismo de los

aminoácidos y, como resultado, deterioro de la utilización de energía. del aumento de la actividad de GABA (Mandiga, Foris y Bollu, 2020).

9.2. Tipos de encefalopatía

Los pacientes con EH se caracterizan por una infinidad de manifestaciones neurológicas, diversos trastornos hepáticos subyacentes y una variedad de factores desencadenantes (Ferenci y col., 2002), que determinan el abordaje del paciente, que se reconocen en la siguiente clasificación basada en el consenso de Viena (Tabla 21).

Tabla 21. Clasificación de encefalopatía hepática asociada a cirrosis.

Tipos	Subtipos	Características
Episódico	Precipitado	Cambio agudo en el estado mental inducido por: hemorragia gastrointestinal, estreñimiento, ingesta excesiva de proteínas, infección, insuficiencia renal, deshidratación, alteración de electrolitos.
	Espontáneo	Sin factores precipitantes reconocidos. Suele asociarse con grandes derivaciones portosistémicas (espontáneas, quirúrgicas, TIPS)
Mínima		Alteraciones cognitivas que no son obvias en el examen neurológico estándar y se detectan mediante pruebas neuropsicológicas o neurofísicas
Persistente	Suave	Manifestaciones crónicas cognitivas o motoras que impactan negativamente en las actividades sociales y laborales pero que no causan dependencia.
	Severo	Manifestaciones crónicas que provocan dependencia (demencia, paraplejía, parkinsonismo ...)

Los pacientes con EH en el contexto de insuficiencia hepática aguda, derivación portosistémica en ausencia de enfermedad hepática intrínseca e insuficiencia hepática aguda sobre crónica se clasifican por separado (Extraída y adaptada de Córdoba, 2011).

Existen otras escalas neurológicas para EH como la escala de West Haven. Establece cuatro estadios de EH basados en alteraciones en el estado de conciencia, función intelectual y comportamiento, y en signos neuromusculares (Koff y Mullen, 1994). La escala incluye varias manifestaciones para cada etapa, pero carece de definiciones específicas (Tabla 22).

Tabla 22. Etapas de la encefalopatía hepática según la escala West Haven.

Grado	Manifestaciones neurológicas
0	Sin alteración en la conciencia, función intelectual, personalidad o comportamiento.
1	Falta trivial de conciencia, euforia o ansiedad, período de atención reducido, desempeño deficiente de la suma.
2	Letargo o apatía, mínima desorientación por tiempo o lugar, cambio sutil de personalidad, comportamiento inapropiado, desempeño deficiente de la sustracción.
3	Somnolencia al semi-estupor pero sensible a estímulos verbales, confusión; desorientación grave
4	Coma; sin respuesta a estímulos verbales o nocivos

(Extraída y adaptada de Conn, 1994)

Por otro lado, el algoritmo de escalado de encefalopatía hepática (HESA) implementa formas objetivas de medir los parámetros de la escala de West Haven (Hassanein, Hilsabeck y Perry, 2008). Utiliza indicadores clínicos combinados con herramientas neuropsicológicas validadas y criterios bien definidos para cada etapa (Tabla 23). Una buena característica favorable del HESA es que identifica con mayor precisión los grados bajos de EH (grado I y II), pero tiene el inconveniente de requerir capacitación para su uso adecuado.

Tabla 23. Etapas de la encefalopatía hepática según el algoritmo de puntuación de encefalopatía hepática (HESA).

Tiempo |__|__| :|__|__| 24 horas

Evaluación clínica	Evaluación neuropsicológica	Grado de Encefalopatía
<ul style="list-style-type: none"> - No se abren los ojos - No respuesta verbal/voz - No hay reacción a órdenes simples 		Grado IV
<ul style="list-style-type: none"> - Somnolencia - Confusión - Desorientado al lugar - Comportamiento extraño/Ira/Rabia - Clonus/Rigidez / Nysatgmus / Signo de Babinsky 	Control mental = 0	Grado III (Al menos 3 o más aplicables)

- Letargo	Respuestas lentas	Grado II (2/3 o más aplicables)
- Pérdida de tiempo	Ansiedad	
- Dificultad para hablar	Amnesia de hechos recientes	
- Reflejos hiperactivos	Cálculos simples deteriorados	
- Comportamiento inapropiado	Cálculos complejos deteriorados	
- Respuestas lentas	Reducción de la capacidad de atención	Grado I (4 o más aplicables)
- Trastorno del sueño/Patrón del sueño alterado	Capacidad de construcción deteriorada	
- Temblor	Euforia o Depresión	Grado 0 (<4 aplicables)

(Extraída y adaptada de Córdoba, 2011)

Otro método es la Escala de estadificación de encefalopatía hepática clínica (CHESS) (Ortiz y col., 2007), desarrollada sin una definición arbitraria previa de la gravedad de la EH. Es una escala lineal que puntúa HE de 0 (sin alteraciones) a 9 (coma profundo) (Tabla 24).

Tabla 24. Evaluación de la gravedad de la EH según la Escala de estadificación de encefalopatía hepática clínica (CHESS)

Preguntas	Puntuación	
	0	1
1. ¿Sabe el paciente en qué mes se encuentra (es decir, enero, febrero)?	Si	No / No responde
2. ¿Sabe el paciente en qué día de la semana se encuentra (es decir, jueves, viernes, domingo ...)?	Si	No / No responde
3. ¿Puede contar hacia atrás de 10 a 1 sin cometer errores ni detenerse? (se le pide al paciente entre los puntos 2 y 3 que cuente hacia adelante del 1 al 10 y se le ayuda si es necesario)	Si	No / No responde
4. Si se le pide que lo haga, ¿levanta los brazos?	Si	No / No responde
5. ¿Entiende lo que le está diciendo? (basado en las respuestas a las preguntas 1 a 4)	Si	No / No responde
6. ¿Está la paciente despierto y alerta?	Si	No / No responde
7. ¿El paciente está profundamente dormido y le resulta difícil despertarlo?	No	Si

8. ¿Puede hablar?	Si	No / No responde
9. ¿Puede hablar correctamente? En otras palabras, ¿puedes entender todo lo que dice y no tartamudea?	Si	No / No responde / No responde correctamente

La puntuación total es la suma de las respuestas a los 9 ítems. Puntuación mínima = 0. Puntuación máxima = 9 (Extraída y adaptada de Córdoba, 2011).

9.3. Tratamiento de la encefalopatía

El tratamiento de los pacientes con EH no es uniforme y requiere una evaluación precisa de la función neurológica y hepática (Córdoba y Mínguez, 2008). En el caso de la enfermedad hepática crónica, dado que tiende a tener un inicio insidioso, la mayoría de los pacientes no buscan tratamiento hasta una etapa avanzada de la enfermedad, una vez que se desarrollan las complicaciones (Acharya y Bajaj, 2018).

Algunos autores señalan la necesidad de realizar ensayos controlados con placebo y la falta de evidencia para administrar dietas con contenido restringido de proteínas (Córdoba y Mínguez, 2008).

El tratamiento de la EH implica la identificación y el tratamiento adecuados de la causa subyacente. Los antibióticos como Rifaximina, neomicina, paromomicina, metronidazol o vancomicina, a menudo se administran empíricamente debido a la frecuencia de infección como causa subyacente. Las medidas de tratamiento adicionales incluyen lactulosa/lactitol, un laxante osmótico no absorbible que también ayuda a convertir el amoníaco en amonio no absorbible en el tracto gastrointestinal; LOLA, preparación de L-ornitina y L-aspartato para aumentar el uso de amoníaco en el ciclo de la urea para producir urea; zinc, que corrige la deficiencia subyacente común en pacientes cirróticos; ya sea administrados de forma individual o en combinación entre sí con o sin antibióticos (Mandiga, Foris y Bollu, 2020).

Los pacientes con riesgo de aspiración o compromiso respiratorio deben ser intubados profilácticamente y monitoreados en la UCI. En el caso de pacientes con abstinencia de alcohol concomitante, deben evitarse los medicamentos que deprimen el sistema nervioso central (por ejemplo, benzodiazepinas) (Acharya y Bajaj, 2018; Aggeletopoulou y col., 2018; Oey y col., 2018).

El trasplante de hígado mejora la EH, incluso en pacientes con manifestaciones graves (Larsen y col., 1995; O'Brien y col., 2003; Córdoba y Mínguez, 2008). Por otro

lado, estudios que evalúan la función neuropsicológica después del trasplante de hígado no apoyan la reversibilidad completa de la enfermedad (Mechtcheriakov y col., 2004). Pueden persistir algunas secuelas, pero la mayoría de los pacientes presentan una función cognitiva normal (Sotil y col., 2009). Se ha demostrado la mejora de la función neuropsicológica después de un trasplante de hígado hasta los 9 años, pero estos pacientes experimentan una acumulación progresiva de lesiones cerebrales y muestran un volumen cerebral menor que los controles (García y col., 2010).

De esta manera, Córdoba (2011) manifiesta la importancia de prevenir el "envejecimiento prematuro" del cerebro mediante la identificación y el tratamiento de factores de riesgo vascular, como diabetes mellitus e hipertensión arterial, y prescribir la menor dosis posible de fármacos inmunosupresores.

10. Hígado e inmunidad innata

La organización estructural del hígado tiene profundas implicaciones para su función inmunológica. El suministro de sangre del hígado depende de un sistema arterial convencional de la aorta abdominal que soporta predominantemente los conductos biliares y otros tejidos en los tractos portales, y de dos sistemas venosos: un sistema menor del plexo arterial dentro de los tractos portales (plexo peribiliar) y un sistema principal de los órganos esplácnicos (Racanelli y Rehermann, 2006).

La sangre ingresa al parénquima hepático principalmente a través de los vasos portales terminales, luego pasa a través de una red de sinusoides hepáticos, dejando el parénquima a través de las venas hepáticas centrales (Figura 41). Los sinusoides hepáticos están revestidos por una monocapa fenestrada de células endoteliales sinusoidales (LSEC). Cada linfocito que pasa a través de los sinusoides está en estrecho contacto con las células endoteliales flanqueantes, debido al pequeño diámetro de los sinusoides hepáticos (aproximadamente 6-15µm) y al diámetro comparativamente grande de los linfocitos (aproximadamente 7-12µm). El Espacio de Disse´ contiene células estrelladas en una matriz extracelular suelta (Racanelli y Rehermann, 2006).

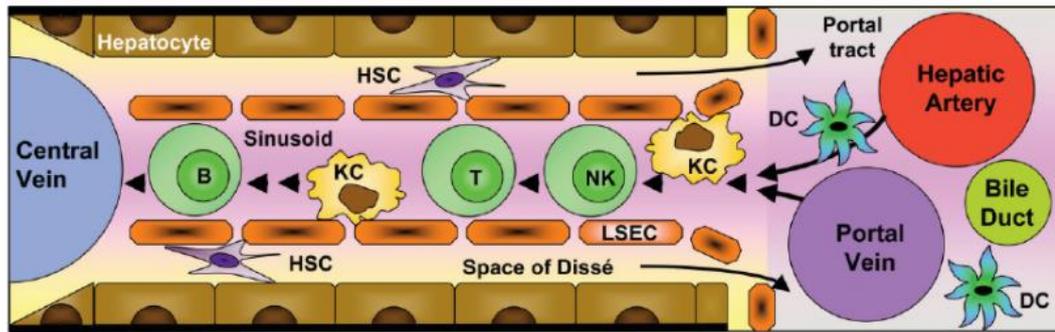


Figura 41. Células inmunes en el hígado sano. B, célula B; DC, célula dendrítica; HSC, célula estrellada hepática; KC, celda de Kupffer; NK, célula natural killer; T, célula T (Extraída de Racanelli y Rehermann, 2006).

La complejidad del sistema inmune hepático está dada por la presencia de tipos celulares convencionales y no convencionales del sistema inmunitario innato (células NKT y NK) y adaptativo (células T y B), y por su función en la respuesta inmune producida en el hígado, ya sea de activación como de inhibición. Los hepatocitos constituyen aproximadamente las dos terceras partes del total de células del hígado (Figura 42). El resto son células que no forman el parénquima hepático, y cuya función está muy relacionada con la defensa del órgano. Esta tercera parte se subdivide en células endoteliales (50%); células de Kupffer (CK; 20%); linfocitos (25%); células biliares (5%) y células estrelladas (menos del 1%) (Racanelli y Rehermann, 2006; Aguilar, 2009).

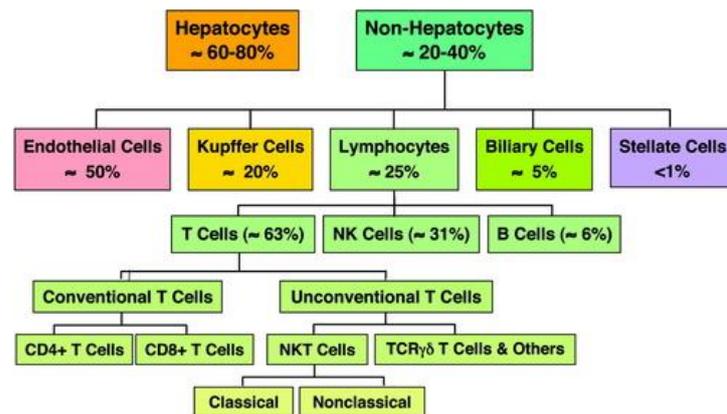


Figura 42. Composición celular del hígado sano. Se indica la frecuencia estimada de cada población en relación con el número total de células parenquimatosas y no parenquimatosas en el hígado (Extraída de Racanelli y Rehermann, 2006).

Como puede observarse en la Figura 43, la vena porta recibe sangre de todo el intestino y del bazo, el páncreas y la vesícula biliar y transporta esa sangre al hígado.

Después de ingresar al hígado, la vena porta se divide en ramas derecha e izquierda y luego en pequeños canales que atraviesan el hígado. Cuando la sangre sale del hígado, regresa a la circulación general a través de la vena hepática. La vena porta aporta el 80% del flujo sanguíneo, en cambio la arteria hepática solo contribuye con un flujo del 20% (Racanelli y Rehermann, 2006; «Portal Hypertension - Liver and Gallbladder Disorders - Merck Manuals Consumer Version», s. f.).

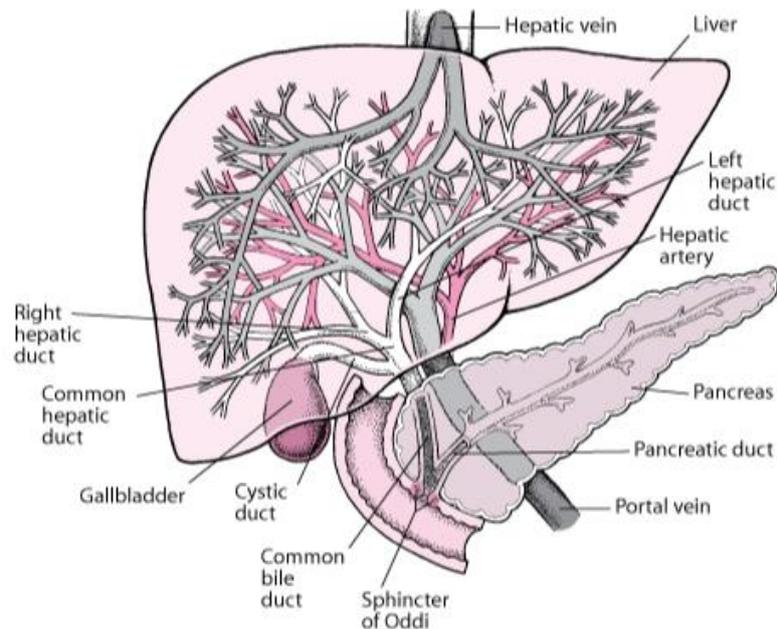


Figura 43. Esquema ilustrativo de la circulación extrahepática (Extraída de «Portal Hypertension - Liver and Gallbladder Disorders - Merck Manuals Consumer Version», s. f.).

La inmunidad innata es una importante primera línea de defensa contras las infecciones, respondiendo de manera rápida a la presencia de patógenos. Numerosos estudios señalan que el consumo crónico de etanol disminuye la actividad hepática de NK, acelerando así la lesión hepática (Pan y col., 2006), además de una fuerte implicación de las células estrelladas hepáticas y la inmunidad innata (células de Kupffer / macrófagos y células NK) en la enfermedad hepática alcohólica, como la esteatosis alcohólica, la esteatohepatitis y la fibrosis hepática (Byun y Jeong, 2010).

11. Efecto del alcohol sobre el sistema inmune y fisiopatología de la hepatitis alcohólica

La enfermedad hepática alcohólica se ha considerado como consecuencias complejas de la interacción entre estas células, especialmente entre los hepatocitos y las células estrelladas hepáticas o las células inmunitarias innatas (Jeong y Gao, 2008; Purohit, Gao y Song, 2009).

La evidencia indica que el consumo de alcohol causa disbiosis entérica y sobrecrecimiento bacteriano (Bode y Bode, 2003; Rao, 2009), cambia la flora intestinal reduciendo la niveles de microorganismos beneficiosos y aumentando los niveles de bacterias dañinas en los intestinos (Lowe y col., 2017; Wiest, Lawson y Geuking, 2014).

De hecho, la translocación bacteriana (TB), definida como la translocación de bacterias y/o productos bacterianos (lipopolisacáridos, peptidoglicanos, muramildipéptidos, ADN bacteriano, etc.) desde el intestino hasta los ganglios linfáticos mesentéricos (MLN) (Berg y Garlington, 1979), es un proceso fisiológico en condiciones saludables y crucial para la inmunidad del huésped.

Por el contrario, en la cirrosis la TB "patológica" se desarrolla con un aumento sostenido en su tasa y/o grado de TB, como se observa en la Figura 44. Se muestra a su lado izquierdo que, en condiciones normales de salud existen unos niveles exclusivamente bajos de translocación de bacterias. Sin embargo, los aumentos en la translocación paracelular de productos bacterianos estimulan una respuesta de citocinas proinflamatoria aumentada y la liberación de ROS y NO, dentro del tejido linfoide asociado al intestino (GALT, imagen central). Estos mediadores impactan sobre la barrera mecánica y secretora y, muy probablemente, sobre la flor. Y en condiciones cirróticas ascíticas (imagen derecha) en presencia de sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado y un estado propuesto de tolerancia epitelial, transcitosis mejorada de bacterias viables se desarrolla en última instancia, lo que conduce a una parálisis inmune en el GALT, lo que podría conducir a un círculo vicioso que perpetúe la TB por una falta relativa de muerte bacteriana (Wiest y col., 2014).

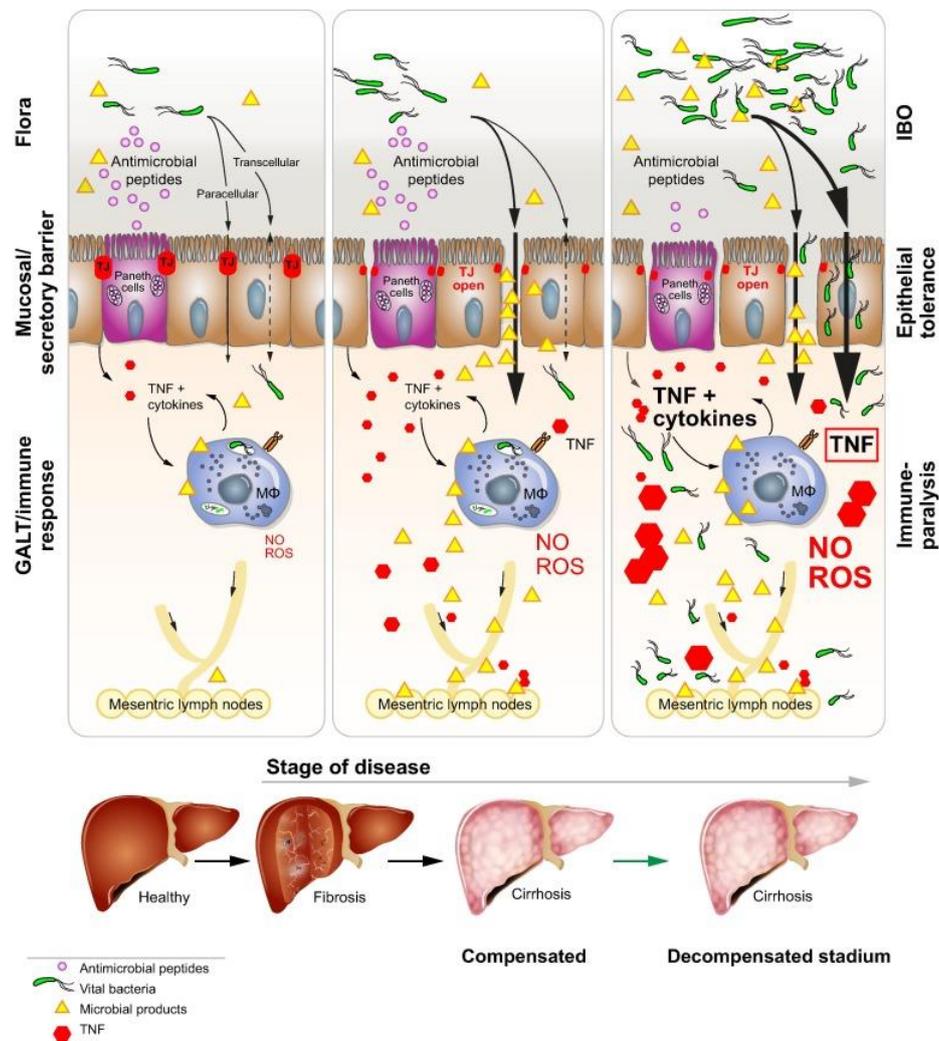


Figura 44. Etapas de la enfermedad hepática e hipótesis sobre el desarrollo de TB patológico (Extraída de Wiest y col., 2014).

Además, los pacientes susceptibles a los enfermedad hepática desarrolla una mayor permeabilidad de la mucosa gastrointestinal y, en consecuencia, niveles altos de LPS en la circulación portal hacia el hígado (Purohit y col., 2008; Rao, 1998; Singal y Shah, 2019).

Los receptores Toll like-4 (TLR4) en los macrófagos hepáticos reconocen la estructura modular patrones en estos patógenos que conducen a la activación de las vías inflamatorias en los macrófagos. Se ha demostrado que esta regulación positiva inflamatoria en los macrófagos y otras células hepáticas está mediada por la activación del inflamasoma, que a su vez conduce a necrosis estéril y o apoptosis, reclutamiento de neutrófilos del circulación periférica en el hígado y diafonía entre los hepatocitos y las células estrelladas hepáticas (Singal y Shah, 2019).

Como se observa en la Figura 45, la ingestión de alcohol resulta en daño hepático a través de múltiples efectos y vías que incluyen por un lado un efecto tóxico en el intestino con aumento de la permeabilidad que resulta en la translocación de LPS bacteriano que conduce a la producción de IL-1 beta a partir de macrófagos hepáticos y, por otro efectos tóxicos directos del alcohol en hepatocitos que producen acetaldehído con el consiguiente estrés oxidativo y apoptosis. La inflamación se perpetúa a través de citocinas con otras células hepáticas como PMN reclutadas, HSC y células endoteliales con desarrollo de hipertensión portal y fibrosis. Los agentes novedosos en los ensayos clínicos actualmente en curso se dirigen a a) el eje intestino-hígado (IgG-LPS, antibióticos, probióticos como Lactobacillus y trasplante fecal o FMT); b) señalización inflamatoria (anakinra, antagonista del receptor de IL-1, o selonsertib, inhibidor de ASK-1, e IL-22); y c) apoptosis, estrés oxidativo y regeneración hepática (IL-22, OCA, metadoxina, selonsertib, emricasan inhibidor de pan caspasa y G-CSF) (Singal y Shah, 2019).

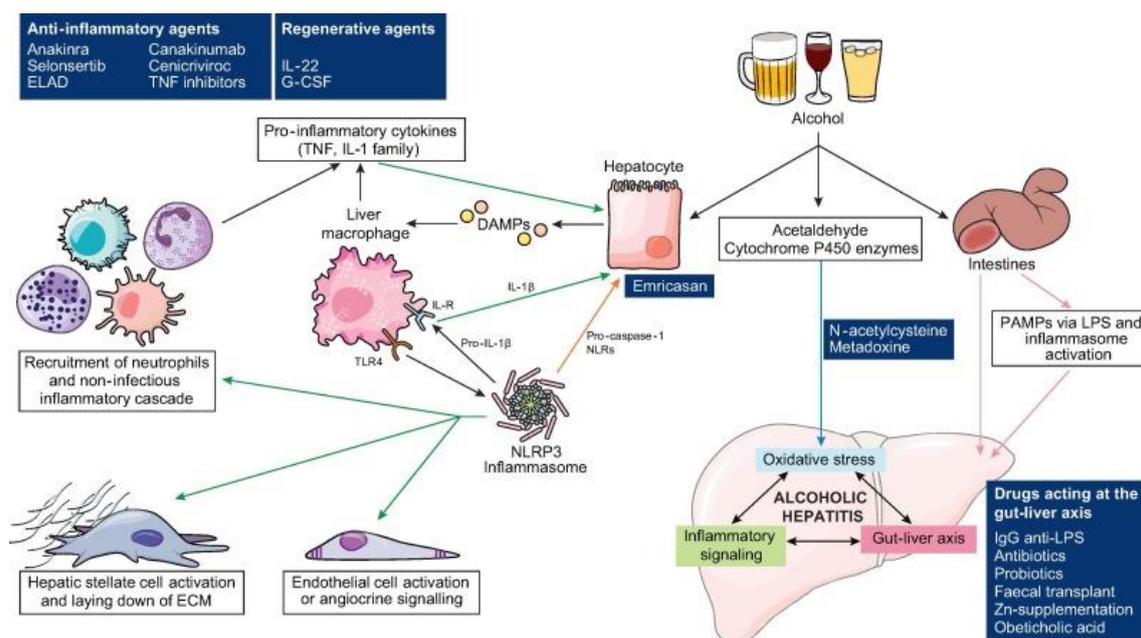


Figura 45. Fisiopatología de la hepatitis alcohólica y nuevas dianas terapéuticas en los ensayos clínicos actuales. FMT, trasplante de microbiota fecal; G-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos; HSC, célula estrellada hepática; IL, interleucina; LPS, lipopolisacárido; OCA, ácido obeticólico; PMN, polimorfonuclear (Extraída de Singal y Shah, 2019).

El acetaldehído contribuye a alterar la función de barrera intestinal y a promover la translocación de endotoxinas al alterar las uniones apretadas y adherentes en la mucosa colónica humana (Tang y col., 2008) mediante el aumento de la fosforilación de tirosina de occludina y E-cadherina. La exposición aguda al etanol regula al alza miRNA-212 en los enterocitos y esto se correlaciona con la regulación por disminución de la proteína zonula occludens-1 (Hritz y col., 2008; Zhao y col., 2008).

El LPS interactúa con el receptor TLR-4, que también reconocen patrones moleculares asociados al daño liberados después del daño celular, para activar las vías de señalización dependientes e independientes de MyD88 (TRIF/IRF-3) e induce a las células de Kupffer a liberar ROS y una serie de citocinas proinflamatorias y quimiocinas que incluyen IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, proteína quimiotáctica de macrófagos (MCP)-1 y RANTES (regulado en la activación, células T normales reguladas expresadas y secretadas) (Gustot y col., 2006). ROS producido por las células de Kupffer en respuesta a la endotoxina induce la expresión hepática de TLR4 (Nagy, 2003; Thakur, 2006), mejora la transducción de señales mediadas por TLR4 a través del NF- κ B y activa las vías de la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) (Cao, Mak y Lieber, 2002; Izevbigie, 2005). Varios datos indican que TLR4 es el jugador principal en el desarrollo y la progresión de la enfermedad hepática alcohólica. TLR4 también se expresa en HSC y células endoteliales, y regula las respuestas proangiogénicas y profibrogénicas inducidas por alcohol (Bautista, 2002).

En los últimos años, la evidencia emergente ha salido a la luz sobre el papel de vesículas extracelulares, que se liberan en la circulación durante la diafonía intercelular entre diferentes tipos de células hepáticas (Singal y col., 2018; Szabo y Momen-Heravi, 2017). Estas extracelulares vesículas no solo perpetúan la fisiopatología de AH, pero también son medibles en el plasma, y están emergiendo como importantes biomarcadores en el manejo de la enfermedad hepática asociada al alcohol. Regulación al alza de la inflamación, daño directo a la mucosa intestinal, y la necroapoptosis de hepatocitos y macrófagos dan como resultado disfunción de las mitocondrias y estrés oxidativo, que son características clásicas de la fisiopatología de las enfermedades hepáticas asociadas al alcohol, incluida la HA. La activación de las células estrelladas y los cambios en el óxido nítrico. en la microcirculación hepática que resultan de la

señalización inflamatoria conduce a la producción de colágeno, fibrosis hepática e hipertensión portal (Singal y Shah, 2019).

La activación de células de Kupffer contribuye al reclutamiento intrahepático y la activación de granulocitos (Gómez-Quiroz y col., 2003; Joshi-Barve y col., 2007; Joshi-Barve, Barve, Butt, Klein y McClain, 2003). El acetaldehído y el LPS (Dominguez y col., 2009; Lemmers y col., 2009) estimulan las células parenquimatosas y no parenquimatosas para producir IL-8, quimiocina, ligando CXC (CXCL) 1 (Gro- α) e IL-17 que contribuyen directa o indirectamente a la infiltración de neutrófilos y la gravedad de la hepatopatía alcohólica (Cohen, Roychowdhury, McMullen, Stavitsky y Nagy, 2010; Pritchard y col., 2007; Roychowdhury y col., 2009). Aunque en ratones, la exposición crónica al alcohol promueve respuestas proinflamatorias sistémicas de IFN- γ e IL-17 (Frank y col., 2021).

Una vía alternativa que contribuye a la expresión de citocinas inflamatorias es el sistema del complemento. La oxidación de etanol activa los componentes C1q, C3 y C5 que a su vez estimulan a las células de Kupffer para que produzcan TNF- α (Petrasek y col., 2012).

En cuanto a los monocitos, se ha demostrado cambios en la producción de TNF- α , TGF- β , IL-6, IL-12, IL-1 e, IL-1 β , y disminución en la capacidad de presentar antígenos a los linfocitos T, inducido por etanol en ensayos in vitro con monocitos humanos. Y los macrófagos alveolares de individuos alcohólicos presentaban menor producción de interleucinas proinflamatorias, iones superóxido, además de una deteriorada función bactericida (Cook, 1998; Szabo, 1998; Watson y col., 1994), lo que produciría mayor susceptibilidad a algunas infecciones, junto con una reducción de la inmunidad celular retardada en alcohólicos crónicos, debido a una disminución de la capacidad de los monocitos para presentar antígenos a los linfocitos T, ya sea por un cambio funcional de los monocitos, una alteración en la interacción linfocito/monocito o la disminución de IL-1 β e incremento de TGF- β que produce el etanol (Cook, 1998; Szabo, 1998; Watson y col., 1994; Zuluaga, 2018).

Un estudio reciente indicó que IL-1 β tiene un papel importante en la esteatohepatitis inducida por alcohol. IL-1 β es una potente citocina proinflamatoria cuyos niveles aumentan en pacientes con ALD y se correlacionan con el estrés

oxidativo. La maduración de IL-1 β depende de la caspasa 1 en el complejo multiproteico denominado inflammasoma. La intervención in vivo con un antagonista del receptor de IL-1 β recombinante mejora la esteatohepatitis alcohólica dependiente del inflammasoma en ratones, lo que sugiere un papel potencial de la inhibición de IL-1 en el tratamiento de ALD (Horiguchi y col., 2008; Mandal, Park, McMullen, Pratt y Nagy, 2010; Miller y col., 2011).

Por el contrario, datos convincentes demuestran que la activación de la inmunidad innata también induce la elevación de las citocinas antiinflamatorias y hepatoprotectoras como la IL-10 y la IL-6. Estas citocinas activan STAT3 en hepatocitos y Kupffer y células endoteliales, previniendo la inflamación y el daño hepático inducido por el alcohol Figura 46 (Horiguchi y col., 2008).

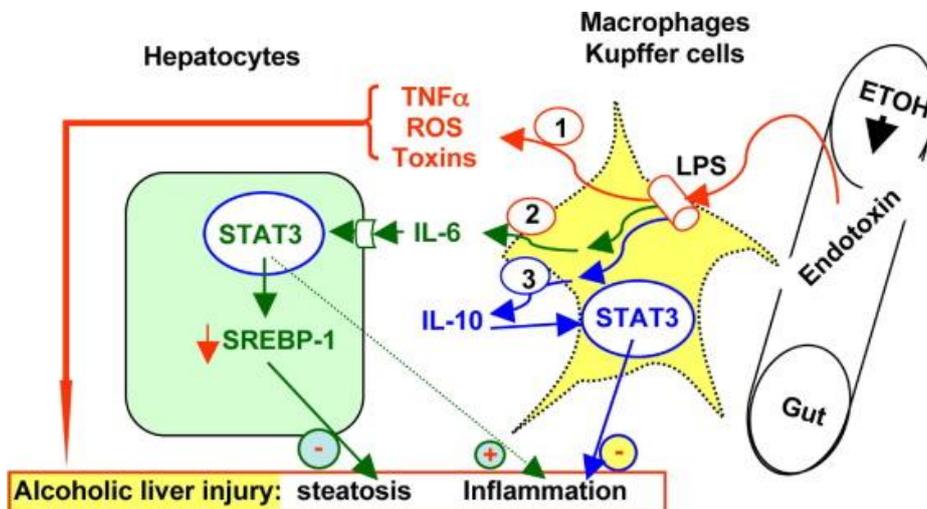


Figura 46. Funciones de STAT3 de hepatocitos y macrófagos en la lesión hepática alcohólica. El alcohol conduce a la acumulación de endotoxinas en el hígado, seguida de la activación de macrófagos/células de Kupffer y la posterior producción de una variedad de mediadores tóxicos, lo que conduce a la esteatosis e inflamación hepáticas. Los macrófagos / células de Kupffer también producen IL-6 e IL-10. La IL-6 activa STAT3 en los hepatocitos, lo que atenúa la esteatosis mediante la inhibición de SREBP1c pero promueve la inflamación. IL-10 activa STAT3 en macrófagos / células de Kupffer, que actúa como una señal antiinflamatoria para inhibir la inflamación durante la lesión hepática alcohólica (Extraída de Horiguchi y col., 2008).

De hecho, el efecto del metabolismo oxidativo del etanol sobre STAT3 en el hígado es complejo. STAT3 es una señal de supervivencia celular y protege contra el daño hepatocelular, que se ha encontrado significativamente deteriorado en pacientes alcohólicos crónicos en comparación con otras enfermedades hepáticas diferentes como la hepatitis C crónica y la enfermedad autoinmune. En la ALD, los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) derivados de la microbiota intestinal y los patrones moleculares asociados al daño que se liberan de las células estresadas o dañadas son reconocidos por diferentes TLR y receptores similares a NOD (NLR) que también se expresan en las células inmunes como células parenquimatosas en el hígado (Pone y col., 2010). Este reconocimiento puede conducir a una inflamación hepática alcohólica (Figura 47).

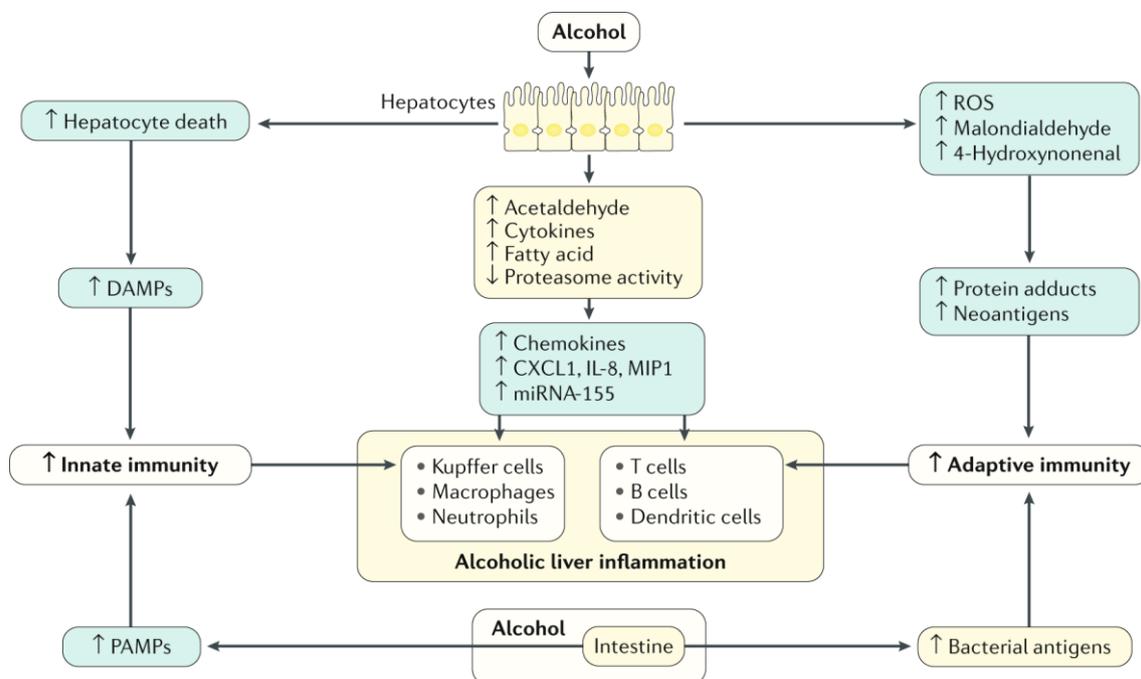


Figura 47. Múltiples mecanismos que intervienen en el desarrollo de la inflamación hepática alcohólica. El consumo de alcohol causa la muerte de los hepatocitos, seguida de la liberación de patrones moleculares asociados al daño. La ingesta de alcohol también aumenta el crecimiento excesivo de bacterias intestinales y la disbiosis, lo que resulta en una elevación de los patrones moleculares asociados a patógenos. Los DAMP y PAMP activan fuertemente la inmunidad innata. El consumo de alcohol también puede activar la inmunidad adaptativa mediante especies reactivas de oxígeno (ROS) que median en la generación de aductos de proteínas y neoantígenos y al aumentar la translocación de antígenos bacterianos. Finalmente, el consumo de alcohol promueve

que los hepatocitos produzcan una variedad de quimiocinas que inducen la infiltración hepática de células inflamatorias. El alcohol aumenta la expresión de microARN (miARN) -155 en las células de Kupffer a través de la regulación transcripcional mediada por el NF κ B, que estimula la producción del TNF desencadenada por LPS de las células de Kupffer, contribuyendo así a la inflamación. CXCL1, ligando 1 de quimiocina CXC; MIP1, proteína inflamatoria de macrófagos 1 (Extraída de Gao y col., 2011).

Por otro lado, como se observa en la Figura 48 el consumo de alcohol conduce a una activación temprana del complemento (C3 y C5). C3a y C5a activados interactúan con sus receptores en las células de Kupffer, lo que lleva a la producción de TNF- α que induce daño a los hepatocitos. 2: El consumo prolongado de alcohol activa las vías dependientes de TLR4 y del complemento que contribuyen a la patogénesis de la ALD (Gao y col., 2011)

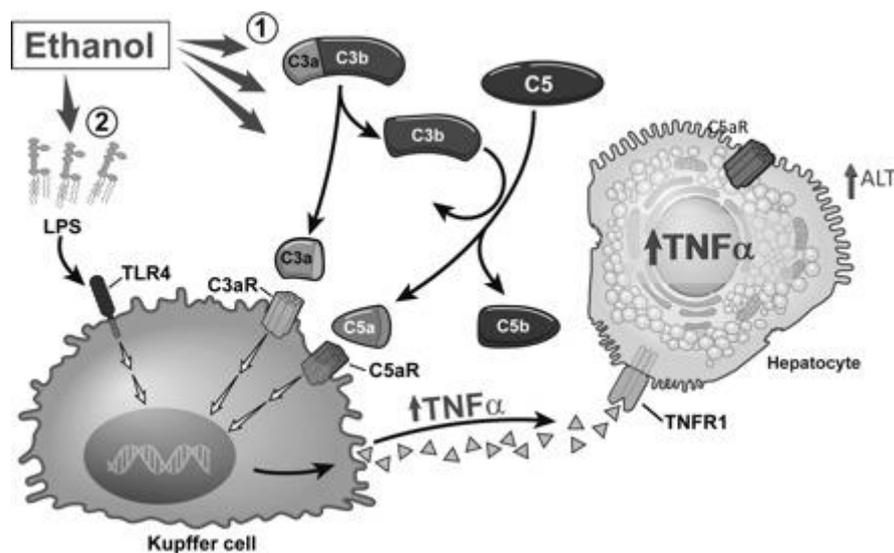


Figura 48. La activación del sistema del complemento contribuye a la patogénesis de la enfermedad hepática alcohólica (Extraída de Gao y col., 2011).

También se ha visto afectado distintos procesos mediados por los neutrófilos: migración, quimiotaxis, y adherencia (Adams y Jordan, 1984; Lamas-Paz y col., 2018; Watson y col., 1994). Se ha surgido que, en casos de hepatopatía alcohólica aguda, los neutrófilos se infiltran en tejido hepático, por el aumento de CD18 en los neutrófilos de sangre periférica, y con ello, la elevada liberación de sustancias quimiotácticas por parte de las células de Kupffer del hígado (Bautista, 1995; Cook, 1998). Otro estudio señala

que en sangre y bazo, son los neutrófilos y las células B los principales responsables del aumento de la expresión de IFN- γ e IL-17 en ratones dependientes del alcohol, además de que las células NK sanguíneas y los macrófagos esplénicos son contribuyentes adicionales al aumento de la expresión de IL-17 e IFN- γ , respectivamente. Sin embargo, no encuentran ningún tipo de célula como principal responsable del aumento de la expresión de citocinas en hígado, aunque sugieren un posible efecto acumulativo de los niveles de IFN- γ e IL-17 en personas dependientes del alcohol. Por otro lado, existe un aumento significativo en la coexpresión general de estas citocinas debido a células T, macrófagos y neutrófilos. También observaron una mayor coexpresión de IFN- γ e IL-17 en neutrófilos sanguíneos (Frank y col., 2021).

Además, la oxidación del etanol está correlacionada con la supresión de la función de las células asesinas naturales (NK) en el hígado. Las células NK tienen una importante función antifibrótica en la enfermedad hepática crónica y varios estudios han indicado que durante la lesión hepática hay una expresión elevada de ligandos de NK. Se ha observado, en estudios *in vitro*, que la exposición aguda al etanol puede incrementar o disminuir la actividad de las NK en humanos, aunque voluntarios sanos a los que se les administró una dosis aguda de etanol no se les detectó cambios en la actividad NK (Li y col., 1997). Incluso, su actividad puede ser normal de en individuos alcohólicos crónicos siempre que exista hepatopatía asociada. Si no existe hepatopatía crónica etanólica, la actividad de las NK tiende a estar disminuida (Cook y col., 1997) o claramente suprimida (Laso y col., 1997).

Diafonía activa entre HSC y células NK a través de las interacciones del receptor ligando inductor de apoptosis (TRAIL), relacionado con el TNF y la consiguiente producción de interferón (IFN)- γ , da como resultado la citotoxicidad de las células NK de las HSC, lo que limita la fibrogénesis hepática (Jeong y Gao, 2008). El estrés oxidativo en el consumo crónico de etanol induce mayores niveles de TGF- β y reduce la señalización de IFN- γ , bloqueando la muerte de células NK de HSC activado (Ness y col., 2008).

Como se observa en la Figura 49, tanto el alcohol como el acetaldehído aumentan la permeabilidad intestinal y el nivel de lipopolisacárido (LPS) en la circulación portal. LPS se une a TLR4 e induce el fenotipo proinflamatorio de las células de Kupffer. El acetaldehído y el LPS también estimulan las células

parenquimatosas y no parénquimales para que produzcan citocinas y quimiocinas proinflamatorias. El sistema inmune innato también libera citocinas antiinflamatorias y hepatoprotectoras que activan la señalización de STAT3 en las células hepáticas (Ceni y col., 2014).

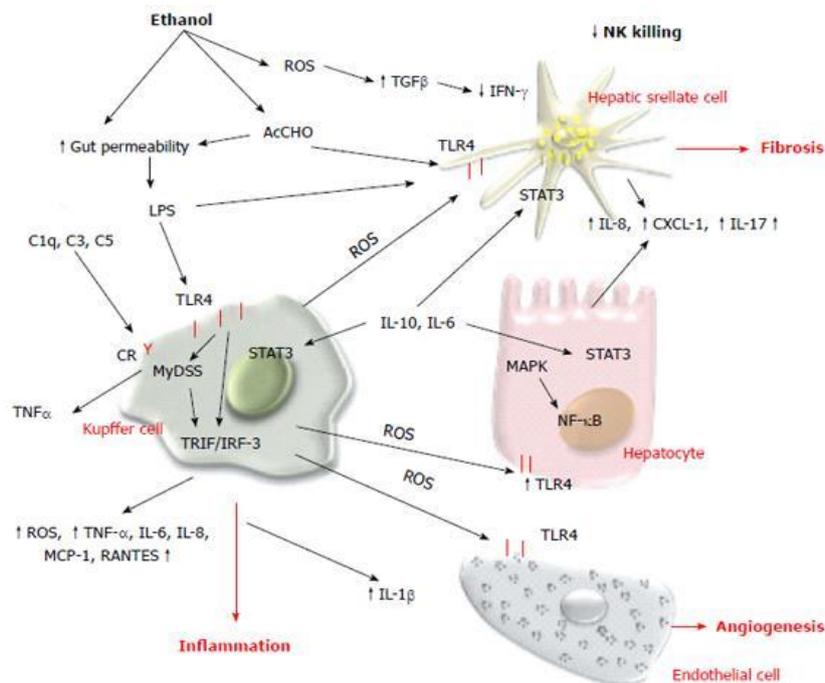


Figura 49. Alcohol y respuesta inmune innata. ROS: especies reactivas de oxígeno; LPS: lipopolisacárido; TLR4: receptor 4 tipo Toll; TNF- α : factor de necrosis tumoral- α ; IFN- γ : interferón- γ ; IL: interleucina; NF- κ B: factor nuclear- κ B. Extraída de Ceni y col. (2014).

La inmunidad adaptativa mediada por células es otro aspecto importante de la defensa del huésped que puede ser alterado por el alcohol y sus metabolitos. Los mecanismos por los cuales el alcohol desencadena la inmunidad adaptativa todavía se caracterizan de manera incompleta. Se ha sugerido que la apoptosis inducida o agravada por el etanol juega un papel relevante (Ewald y Shao, 1993). La ingestión crónica de alcohol puede interferir con la presentación del antígeno que se requiere para activar las células T y B, con menor respuesta proliferativa a la estimulación con agentes inespecíficos o con el receptor de la célula T anti-CD3 (Deviere y col., 1988; Mutchnick y Lee, 1988; Watson y col., 1985), disminución de los linfocitos T en la respuesta inflamatoria además de una menor activación los linfocitos T CD4 con alteración en la secreción de sus citocinas (Chiappelli y col., 1995; Cook, 1998), y puede afectar la diferenciación de las células dendríticas (Albano y Vidali, 2010; Mottaran y col., 2002;

Thiele y col., 2004; Thiele, Freeman y Klassen, 2004). En estudios in vitro con animales de experimentación, se ha demostrado que el etanol acelera el proceso de apoptosis en timocitos, y linfocitos B y T del bazo (Slukvin y Jerrells, 1995).

Los pacientes con AH tienen niveles aumentados de anticuerpos circulantes contra aductos de proteínas modificadas con HER y aldehídos derivados de la peroxidación lipídica, lo que justifica la activación de la respuesta inmune adaptativa (D'Souza y col., 2013; Donohue y col., 2007). Se han detectado anticuerpos HER y MDA en ratas crónicas alimentadas con etanol, así como en personas que abusan del alcohol, y están asociadas con la detección de células T CD4 + de sangre periférica que responden a estos aductos. Las citocinas liberadas por las células T CD4 + activadas pueden estimular aún más la activación de las células de Kupffer, contribuyendo a la lesión del parénquima, la inflamación hepática y la fibrogénesis.

También se produce un desequilibrio de la respuesta inmunitaria TH1/TH2, pudiendo desarrollar enfermedades inmunológicas. Concretamente enfermedades autoinmunes se encuentran asociadas al exceso de respuesta TH1, mientras que la inmunodeficiencia y las alergias a TH2 (Cook, 1998). Además, algunos estudios señalan que la exposición aguda al etanol induce una respuesta de tipo TH2 con incremento de citoquinas IL-4 e IL-10, disminución de la respuesta TH1 al observarse disminución de IL-12 e IFN- γ (Friedman, 1998; Girouard, Mandrekar, Catalano y Szabo, 1998; Waltenbaugh, Vasquez y Peterson, 1998).

Resumiendo, el estudio de la patogenia de la ALD debe considerar que el etanol se metaboliza principalmente en acetaldehído por la ADH y, en menor medida, por el CYP2E1. Una vía terciaria para la oxidación del etanol es llevada a cabo por la catalasa, una enzima peroxisomal que también cataliza la eliminación de especies reactivas de oxígeno. El acetaldehído se metaboliza posteriormente a acetato por la acción de la ALDH. Como resultado, el metabolismo del etanol produce disbiosis intestinal, inflamación y aumento de la permeabilidad, que afectan bidireccionalmente al hígado en términos de una acumulación significativa de lípidos, causada por un aumento de los ácidos grasos libres circulantes, infiltración de células inmunitarias hepáticas, daño de los hepatocitos, colestasis y fibrosis (Figura 50).

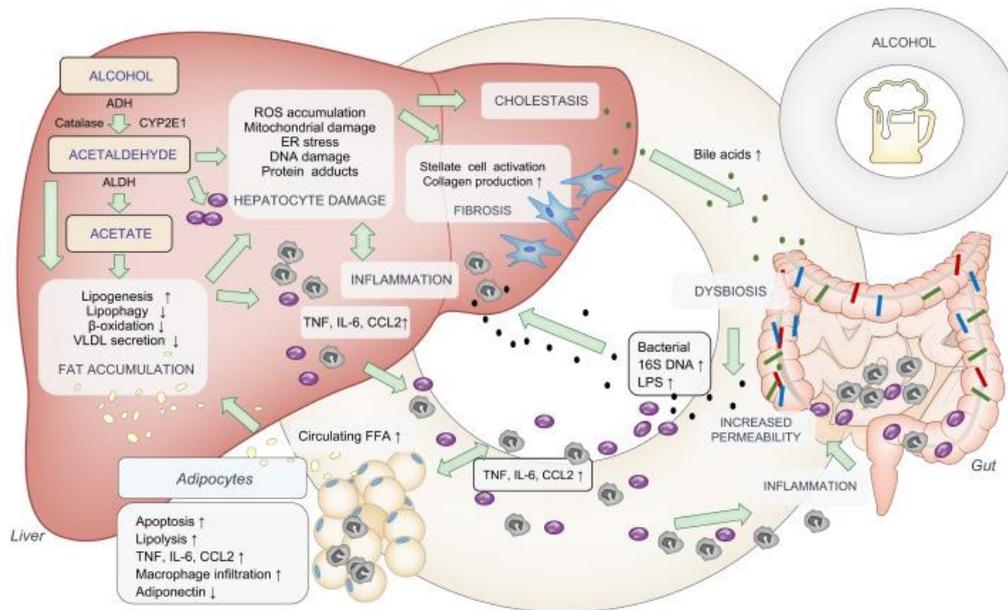


Figura 50. Resumen de ALD humana. ADH, alcohol deshidrogenasa; ALDH, acetaldehído deshidrogenasa; CCL2, ligando 2 de quimiocina de motivo C-C; CYP2E1, isoenzima 2E1 del citocromo P450; RE, retículo endoplásmico; FFA, ácidos grasos libres; IL-6, interleucina 6; LPS, lipopolisacárido; ROS, especies reactivas de oxígeno; TNF, factor de necrosis tumoral; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad (Extraída de Nevzorova, Boyer-Diaz, Cubero y Gracia-Sancho, 2020).

12. Mecanismos celulares y moleculares del desarrollo de fibrosis hepática inducida por alcohol

Los mecanismos celulares y moleculares responsables de la progresión de la fibrosis hepática son complejos. El consumo de alcohol puede inducir la acumulación de grasas en el hígado a través de alteraciones del metabolismo de las grasas por varios mecanismos. En primer lugar, el consumo de alcohol eleva la proporción de NAD reducido/NAD oxidado (NADH/NAD^+) en los hepatocitos, lo que interrumpe la β -oxidación mitocondrial de los ácidos grasos y produce esteatosis (Lieber, 1974).

En segundo lugar, el consumo de alcohol puede regular al alza la expresión hepática de SREBP1c, un factor de transcripción que estimula la expresión de genes lipogénicos (You y col., 2002), lo que da como resultado una mayor síntesis de ácidos grasos.

En tercer lugar, el alcohol inactiva el PPAR α , un receptor de hormonas nucleares que regula al alza la expresión de muchos genes implicados en el transporte y oxidación de ácidos grasos libres (Galli y col., 2001). La evidencia sugiere que el alcohol puede alterar directamente la transcripción de SREBF1 (que codifica SREBP1c) y PPARA (que codifica PPAR α) a través del metabolito acetaldehído o controlar indirectamente la expresión de estos genes mediante la regulación de múltiples factores. Por ejemplo, la translocación bacteriana de PAMPs como lipopolisacárido (LPS), 2-araquidonoilglicerol, activación del complemento, estrés del RE, aumentos de adenosina, disminución de adiponectina, disminución del transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3) y la homeostasis del zinc desregulada) que afectan su expresión y activación (Figura 51) (Purohit y col., 2009).

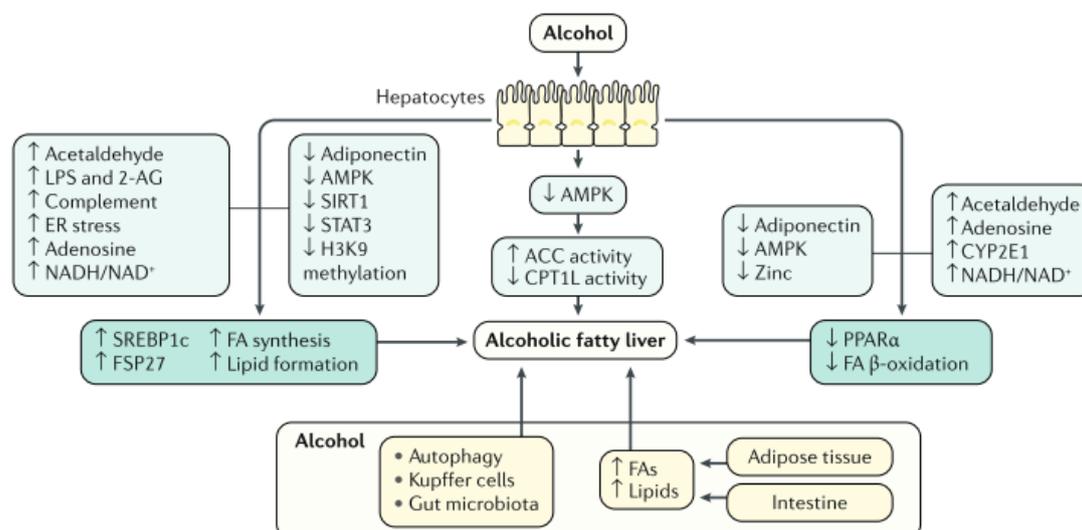


Figura 51. Mecanismos implicados en la formación del hígado graso alcohólico (Extraído de Seitz y col., 2018)

Como se observa en la Figura 51, primero el alcohol aumenta la síntesis de ácidos grasos (FA) a través de la regulación positiva de la proteína de unión al elemento regulador de esteroides 1c (SREBP1c) y los genes lipogénicos posteriores. Así, el alcohol activa SREBP1c al aumentar el acetaldehído, el lipopolisacárido (LPS), el 2-araquidonoilglicerol (2-AG), el complemento, el estrés del retículo endoplásmico (ER), la adenosina y el NADH/NAD⁺ o mediante la inhibición de la adiponectina, la proteína quinasa activada por 5'-AMP (AMPK), dependiente de NAD proteína deacetilasa

sirtuina 1 (SIRT1), transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3) y metilación de H3K9 (trimetilación de lisina 9 de histona 3) (Seitz y col., 2018).

En segundo lugar, el alcohol inhibe la oxidación de β -ácidos grasos a través de la inactivación del receptor α -activador del proliferador de peroxisomas (PPAR α) y los genes de β -oxidación posteriores a través de la modulación de varios factores. Por ejemplo, el alcohol suprime PPAR α mediante la elevación de acetaldehído, adenosina, CYP2E1 y NADH/NAD⁺ o mediante la inhibición de los niveles de adiponectina, AMPK y zinc (Seitz y col., 2018).

Tercero, el alcohol inhibe la AMPK y posteriormente eleva la actividad acetil-CoA carboxilasa (ACC) pero inhibe la actividad de la carnitina O-palmitoiltransferasa 1, isoforma hepática (CPT1). Cuarto, el alcohol promueve la movilización de FA y lípidos del tejido adiposo y el intestino al hígado. Por último, el alcohol también puede alterar la autofagia, las células de Kupffer y la microbiota intestinal, regulando así la esteatosis hepática. Por ejemplo, el consumo de alcohol activa las células de Kupffer para liberar citocinas proinflamatorias, como factor de necrosis tumoral, que promueven la acumulación de grasa en el hígado (Seitz y col., 2018).

El consumo de alcohol también induce sobrecrecimiento bacteriano intestinal y disbiosis, que causan la elevación de los patrones moleculares asociados con el patógeno que promueven la inflamación y la activación de las células de Kupffer, lo que induce la esteatosis. FSP27, homólogo de la proteína específica de grasa FSP27 (también conocido como CIDEC) (Seitz y col., 2018).

12.1. Células estrelladas hepáticas

Las células estrelladas son células mesenquimales, también llamadas lipocitos, células almacenadoras de grasa o células de Ito, perisinusoidales ubicadas a lo largo de los sinusoides en el espacio perisinusoidal de Disse, aunque también pueden observarse entre las células parenquimatosas (Vinay y Abbas, 2015; Ramadori, 1992).

Clásicamente el espacio de Disse se define como la zona limitada por los hepatocitos y la pared sinusoidal formada por las células endoteliales sinusoidales (Geerts, Schuppan, Lazeroms, De Zanger y Wisse, 1990; Vinay y Abbas, 2015). Normalmente este espacio contiene fibras nerviosas y algunos componentes de la

matriz extracelular (MEC) como, por ejemplo, fibras colágenas de tipos I y III y componentes de la membrana basal que, por lo general, no llegan a formar una membrana basal verdadera (Sarem, Znaidak, Macías y Rey, 2006).

12.1.1. Función de la célula estrellada hepática en hígado sano

En condiciones normales, las células estrelladas hepáticas (CEH) cumplen varias funciones en el hígado, en las que se encuentran el almacenamiento de la vitamina A, controlar la comunicación intercelular por medio de la liberación de varios mediadores intercelulares (Pinzani y Marra, 2001; Sarem y col., 2006; Solín, 2000) y remodelar gran parte de la poca MEC presente en un hígado normal.

La remodelación de la MEC se lleva a cabo mediante la producción de los componentes colágenos y no colágenos de la MEC (Gressner y Bachem, 1990; Hautekeete y Geerts, 1997; Sarem y col., 2006), la síntesis de metaloproteinasa de la matriz extracelular (MMP), que son un grupo de enzimas capaces de catabolizar los componentes de la MEC (Bonis, Friedman y Kaplan, 2001; Friedman, 2000); y la síntesis de los inhibidores de las MMP o inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMP), que tienden a controlar la actividad catalítica de las MMP a fin de mantener las sustancias de la matriz intersticial en una concentración estable (Arthur, Mann y Iredale, 1998; Iredale, 1997). Estas últimas funciones de las CEH tienen como propósito básico controlar la homeostasis tisular y mantener una especie de equilibrio fisiológico entre la síntesis y la degradación de los componentes de la MEC (Pinzani y Marra, 2001).

12.1.2. Activación de las células estrelladas del hígado

Cuando el hígado sufre alguna agresión, las CEH sufren un proceso anormal que se denomina «activación» (Sarem y col., 2006).

La activación de las CEH es un proceso patológico que se caracteriza por el cambio de su morfología y su actividad biológica (Sarem y col., 2006). Desaparecen las gotas de vitamina A, se alargan, adoptan la morfología de los miofibroblastos, desarrollan un amplio retículo endoplásmico rugoso, expresando actina en su citoplasma (Friedman, 1999) y receptores del PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas) y del TGF β en la membrana celular, producen factores de crecimiento, citocinas inflamatorias y

fibrogénicas (TGF β , M-CSF [factor estimulante de colonias de macrófagos], PAF [factor activador de plaquetas], IL-10, IL-6) (Tsukamoto, 1999) y, por último, sintetizan y segregan gran cantidad de prácticamente todos los componentes de la MEC (Maher y McGuire, 1990).

La activación de las CEH es un factor que tiene un papel decisivo en la fibrogénesis hepática (Solín, 2000; Bataller y Brenner, 2005; Friedman, 2008). La fibrogénesis hepática se define como un complejo y dinámico proceso fisiopatológico caracterizado por el depósito de tejido fibroso en el hígado como consecuencia de un desequilibrio entre la producción y la degradación de los componentes de la MEC en respuesta a varias agresiones repetitivas o crónicas de intensidades suficientes para conducir a este proceso de cicatrización. Independientemente de la causa, existe una progresiva deposición de múltiples tipos de proteínas colágenas y no colágenas en el intersticio y en el espacio de Disse (Sarem y col., 2006).

Como se observa en la Figura 52, después de una lesión hepática aguda, necrótico o apoptótico las células serán reemplazadas por células parenquimatosas regeneradas. Conectado a la inflamación la activación de las células estrelladas hepáticas tiene lugar y la transdiferenciación en células similares a mioblastos que alcanzan la capacidad contráctil, propiedad proinflamatoria y fibrogénica. Si la lesión hepática es crónica, fallará la regeneración y sustitución de hepatocitos con abundante ECM y colágeno fibrilar. En estadio avanzado, el hígado fibrótico contiene de tres a diez veces más ECM que el hígado normal que incluye colágenos (I, III y IV), fibronectina, elastina, laminina, ácido hialurónico (HA) y proteoglicanos (Nallagangula, Nagaraj, Venkataswamy y Chandrappa, 2018)

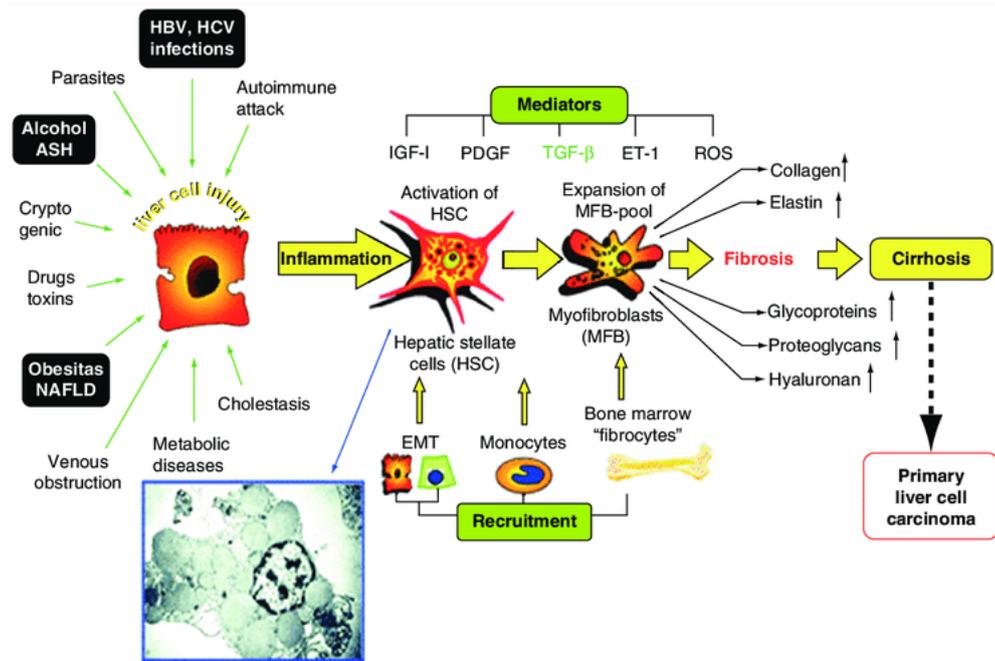


Figura 52. Fisiopatología de la fibrosis hepática. ASH: esteatohepatitis alcohólica; EMT: transición epitelial mesenquimática; ET-1: endotelina-1; HSC: célula estrellada hepática; NAFLD: no alcohólico enfermedad del hígado graso; ROS: Especies reactivas de oxígeno (Extraído de Nallagangula y col., 2018).

Las CEH activadas regulan el reclutamiento de células inflamatorias a través de la secreción de factores quimiotácticos, incluidas quimiocinas como CCL2 (proteína quimioatrayente de monocitos 1) y CXCL8 (interleucina 8), implicadas así en la respuesta inmune a través de la secreción de citoquinas y quimioquinas activadas, y de la interacción con otras células del sistema inmunitario. (Bonacchi y col., 2003; Friedman, 2000). También contribuyen a la angiogénesis y la regulación del estrés oxidativo (Urtasun y Nieto, 2007).

Según Sarem y col. (2006) el inicio del proceso de la activación de las CEH se produce por el impacto de la lesión de las células parenquimatosas o las células del tracto biliar sobre la homeostasis tisular, los efectos de los estímulos citocínicos provenientes tanto de células inflamatorias como de células vecinas y las modificaciones en la composición de la MEC (Gressner, 1996; Joya-Vazquez, Bruguera, Sanchez-Tapias, Ampurdanes y Ventura, 2000).

Todas estas alteraciones provocan en las CEH importantes cambios en la expresión genética que generan una serie de modificaciones fenotípicas que les

permiten responder a los crecientes estímulos patológicos locales. Estas modificaciones fenotípicas en las CEH activadas se sostienen por medio de una compleja y sofisticada señalización intercelular autocrina y paracrina (Pinzani y Marra, 2001; Massimo Pinzani, Marra y Carloni, 1998). Entre los mediadores intercelulares que intervienen en este proceso se encuentran:

- Mediadores inductores de la proliferación y/o motilidad celulares: el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, el factor de crecimiento básico de los fibroblastos y el factor de crecimiento insulinoide 1.

- Mediadores fibrogénicos: los 2 más importantes son el factor transformador del crecimiento tipo b1 (TGF-b1) y la interleucina 6.

- Mediadores inductores de la contracción de las CEH, tales como la endotelina-1, la trombina, la angiotensina II y la vasopresina.

- Mediadores con actividad antiinflamatoria y antifibrogénica: la interleucina-10 y el interferón gamma.

También es importante recordar el papel del estrés oxidativo en la activación de las CEH. Varios estudios experimentales señalan que las especies reactivas de oxígeno, están implicadas en el desarrollo y la progresión de diversas enfermedades como la esclerosis múltiple, el sida, la enfermedad de Alzheimer y la lesión hepática crónica, entre otros. Estos productos metabólicos son tóxicos para el organismo y conducen a alteraciones del metabolismo celular, inhibición del crecimiento y finalmente la muerte celular. Por fortuna el organismo dispone de un grupo de sistemas de enzimas antioxidantes para contrarrestar los efectos tóxicos de las especies reactivas de oxígeno (Friedman, 2000).

Según otros autores (Friedman, 2000; Sarem y col., 2006; Taghdouini y van Grunsven, 2016) la vías de activación constan de dos fases principales: las fases de iniciación y perpetuación (Figura 53). Se sabe que el estrés oxidativo, cFn y cuerpos apoptóticos inician la activación de las HSC. Factores como PDGF, ET-1, TGF β y MCP1 perpetuarán una activación adicional mediante la inducción de cambios importantes en el comportamiento celular: aumento de la proliferación y contractilidad, fibrogénesis, quimiotaxis, pérdida de retinoides y quimioatracción de glóbulos blancos.

Si la lesión cede a tiempo, es posible la reversión de la fibrosis y, al menos en modelos animales de fibrosis hepática, se asocia con la apoptosis y la inactivación de las HSC.

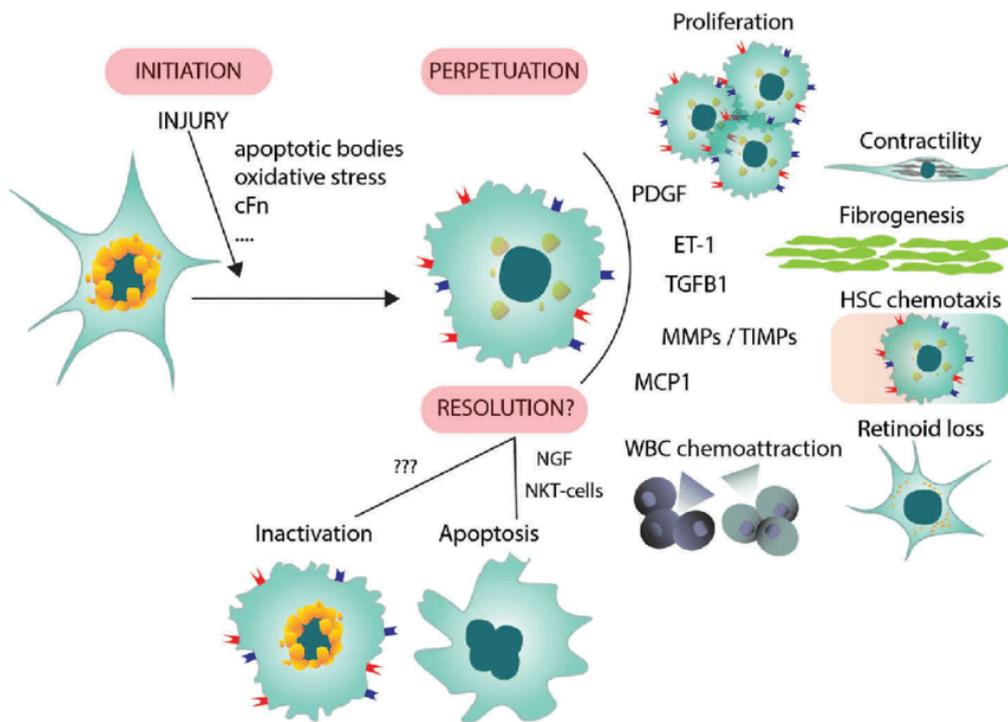


Figura 53. Vías de activación de las CEH que conducen al desarrollo de fibrosis hepática y su resolución (Extraída de Taghdouini y van Grunsven, 2016).

12.2. Células de Kupffer

Las células de Kupffer representan el grupo más grande de macrófagos fijos en el cuerpo y representan aproximadamente el 20% de las células no parenquimatosas en el hígado (Mackay, 2002). Derivan de los monocitos circulantes que surgen de los progenitores de la médula ósea (Gale, Sparkes y Golde, 1978).

Una vez localizadas en el hígado, las células de Kupffer residen dentro del espacio vascular sinusoidal, predominantemente en el área periportal. En esta ubicación, están perfectamente situados para eliminar las endotoxinas del paso de sangre y fagocitar los restos y los microorganismos. Su lenta migración a lo largo de los sinusoides hepáticos provoca frecuentes perturbaciones e incluso estasis temporal del flujo sanguíneo sinusoidal (MacPhee, Schmidt y Groom, 1995) facilitando así el contacto cercano con los linfocitos que pasan. Las células de Kupffer también

atraviesan el espacio de Dissé, entran en contacto directo con los hepatocitos y fagocitan los hepatocitos apoptóticos (Racanelli y Rehermann, 2006).

Además, las células de Kupffer también contribuyen significativamente a la patogénesis de la lesión hepática, la fibrosis y la regeneración. En general, se cree que, después de una lesión, las células de Kupffer se activan y liberan una variedad de citocinas proinflamatorias e intermediarios de oxígeno reactivo, que luego activan las HSC, lo que conduce a la fibrosis hepática (Rivera y col, 2001; Urtasun y Nieto, 2007). Por otro lado, las células de Kupffer o los macrófagos también juegan un papel importante en la resolución de la fibrosis hepática a través de la producción de metaloproteinasa (Fallowfield y col., 2007; Duffield y col., 2005; Racanelli y Rehermann, 2006)

12.2.1. Amplificación por alcohol del efecto profibrogénico de las células de Kupffer.

Existe una creciente evidencia de que el consumo crónico de alcohol conduce a la fibrosis hepática a través de la regulación positiva de los efectos profibrogénicos de las células de Kupffer (Figura 54).

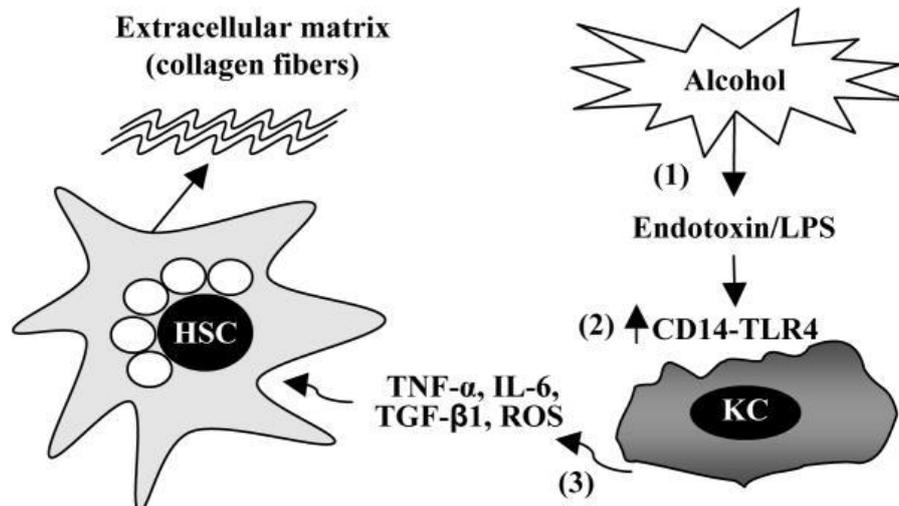


Figura 54. El alcohol amplifica los efectos profibrogénicos de las células de Kupffer.

El consumo crónico de alcohol aumenta la fuga de endotoxinas intestinales en humanos y roedores, lo que conduce a endotoxemia, que probablemente contribuye al

desarrollo de hepatitis alcohólica, fibrosis y cirrosis (Stern, Carter y Walker, 1986; Parlesak, Schäfer, Schütz, Bode y Bode, 2000).

La concentración de LPS aumenta en pacientes alcohólicos y modelos de roedores expuestos a etanol (Fukui, Brauner, Bode y Bode, 1991; Nanji, Khettry, Sadrazadeh y Yamanaka, 1993) y el consumo crónico de alcohol aumenta la expresión de CD14 en las células de Kupffer, aumentando su sensibilidad al LPS (Enomoto y col., 2001; Wheeler y Thurman, 2003). Las células de Kupffer activadas producen una variedad de citocinas proinflamatorias y mediadores inflamatorios (McVicker, Tuma, Kharbanda, Kubik y Casey, 2007) como TNF- α , IL-6, TGF- β 1 y ROS que luego activan las CEH, lo que lleva a la producción de matriz extracelular (fibras de colágeno) e hígado: fibrosis. El consumo crónico de alcohol también aumenta la sensibilidad de las células de Kupffer a la endotoxina mediante la regulación positiva de la expresión de CD14 (Enomoto y col., 2001; Wheeler y Thurman, 2003).

12.3. Células Natural Killer en el hígado

Muchos estudios han demostrado que las células NK hepáticas desempeñan un papel importante en la respuesta inmunitaria innata contra tumores y patógenos microbianos, incluidos virus, bacterias y parásitos.

Cada vez hay más evidencia que sugiere que las células NK también pueden estar involucradas en la patogénesis de daño hepático, fibrosis y regeneración.

12.3.1. Efecto antifibrótico de las células NK

Se ha demostrado que la activación de las células NK inhibe la fibrosis hepática in vivo (Chen y col., 2007; Melhem y col., 2006; Radaeva y col., 2006; Jeong, Park, Radaeva y Gao, 2006).

Otros estudios sugieren que los efectos inhibidores de las células NK sobre la fibrosis hepática están mediados por múltiples mecanismos, reflejado en la Figura 55. Durante la activación de las CEH se produce la metabolización de retinol a ácido retinoico (RA), mediante las enzimas ADH y deshidrogenasa de retina (Radhs). RA induce la expresión de RAE-1, ligando activador para las células NK, que inicia la muerte de las NK de las HSC activadas mediante la liberación de TRAIL, que se dirige

a los receptores de TRAIL que están regulados positivamente en las HSC activadas (Taimr y col., 2003).

Además, la expresión del ligando inhibidor de células NK MHC de clase I en las CEH activadas se regula a la baja, lo que reduce la señal inhibidora de las CEH a las células NK y una mayor activación de las células NK (Melhem y col., 2006). Después de la activación, las células NK producen $\text{IFN-}\gamma$, que no solo puede amplificar las funciones de las células NK mediante la regulación positiva de la expresión de TRAIL y NKG2D, sino que también puede inducir la detención del ciclo celular y la apoptosis de las HSC de una manera dependiente de STAT1 (Jeong y col., 2006).

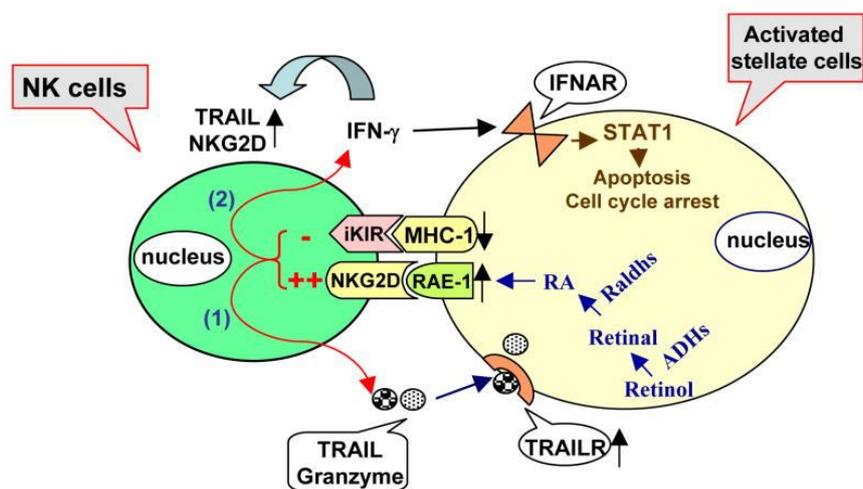


Figura 55. Mecanismo de destrucción de las células NK de las células estrelladas hepáticas activadas tempranamente (Extraída de Jeong y Gao, 2008).

En primer lugar, las células NK pueden destruir directamente las CEH activadas de forma temprana en formas dependientes de las moléculas NKG2D, TRAIL, MHC de clase I y de las granzimas. Se ha comprobado que las células NK no destruyen las CEH inactivas o completamente activadas, ya que sólo las CEH activadas de forma temprana expresan niveles aumentados de ligando activador de NKG2D gen 1 inducible temprano del ácido retinoico (RAE-1) pero niveles reducidos de ligando inhibidor de células NK (MHC-1).

En segundo lugar, las células NK también pueden mejorar la fibrosis hepática mediante la liberación de $\text{IFN-}\gamma$, que posteriormente induce la detención del ciclo

celular de las CEH y la apoptosis a través de un mecanismo dependiente del transductor de señal y el activador de la transcripción 1 (STAT1) (Jeong y col., 2006).

Finalmente, la actividad de las células NK en pacientes con VHC se correlacionaron negativamente con el grado de fibrosis hepática.(Melhem y col., 2006; Morishima y col., 2006).

Por lo tanto, las células NK parecen tener funciones antifibróticas y la activación de las células NK podría ser una estrategia novedosa para tratar la fibrosis hepática (Gao, Radaeva y Jeong, 2007).

12.3.2. Anulación por alcohol del efecto antifibrótico de las células NK

El etanol tiene un efecto inmunosupresor, que incluye la supresión de la actividad de las células NK (Collier, Wu y Pruett, 2000; Pan y col., 2006). La inhibición por alcohol de NK/IFN- γ podría ser un mecanismo que contribuye y acelera a la fibrosis hepática inducida por alcohol.

Como se observa en la Figura 56, en primer lugar, el consumo crónico de alcohol reduce el número de células NK en el hígado y la citotoxicidad de las células NK contra las CEH, inhibiéndose la muerte de las células NK de las CEH activadas mediante la regulación a la baja de NKG2D, TRAIL, granzima, perforina e IFN- γ en las células NK (Pan y col., 2006; Jeong y col., 2008).

En segundo lugar, el consumo de alcohol estimula a las CEH a producir TGF- β , que puede inhibir las funciones de las células NK. En tercer lugar, el alcohol suprime el efecto antifibrótico de poli I:C e IFN- γ mediante la inhibición de la activación de STAT1 de señalización aguas abajo. Se ha demostrado que el tratamiento con poli I: C o IFN- γ activa STAT1 hepático e inhibe la fibrosis hepática en ratones alimentados con control, pero no en ratones alimentados con etanol. El tratamiento in vitro con IFN- γ activa STAT1 en HSC cultivadas, pero dicha activación fue suprimida en CEH de ratones alimentados con etanol. Otros estudios sugieren que la inhibición por etanol de la activación de STAT1 por IFN- γ está mediada por la inducción de la expresión de SOCS1 y la estimulación de los hepatocitos para producir ROS, que posteriormente inhibe la señalización de IFN- γ / STAT1 en CEH (Jeong y Gao, 2008).

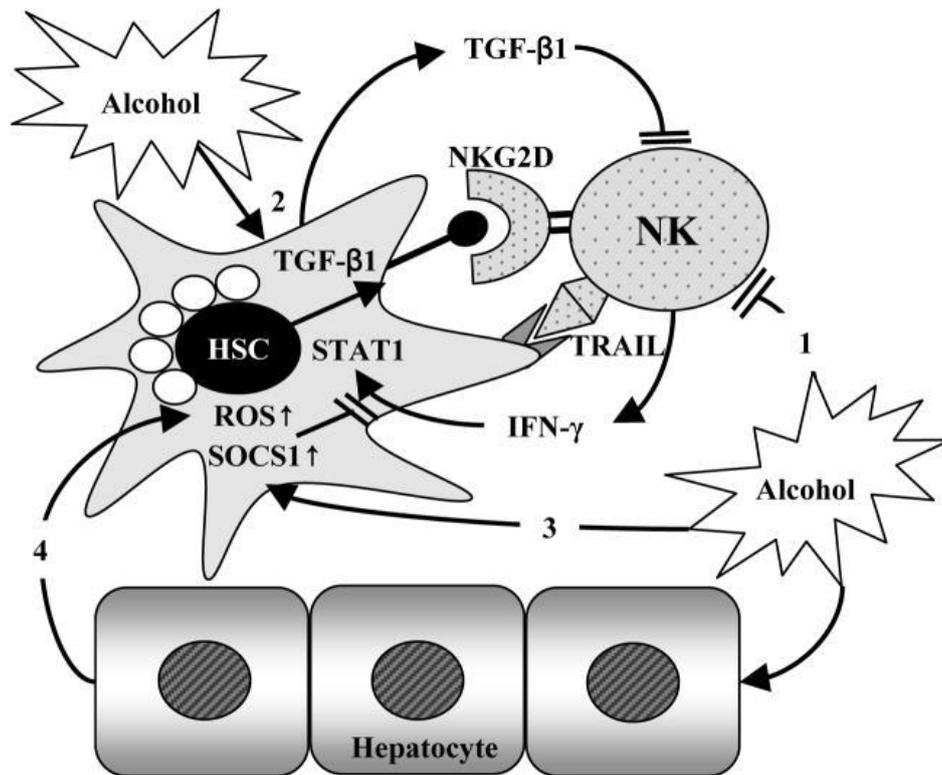


Figura 56. El alcohol inhibe los efectos antifibrogénicos de NK / IFN- γ . Se produce a través de múltiples mecanismos que incluyen (1) el alcohol reduce el número de células NK y la citotoxicidad de las células NK contra las CEH (HSC); (2) el alcohol estimula las CEH para producir TGF- β 1, seguido de la inhibición de la muerte de las CEH por las células NK; (3) el alcohol induce la expresión de la proteína supresora de señalización de citoquinas 1 (SOCS1) en las CEH, seguido de la inhibición de la señalización de IFN- γ en las HSC; (4) el etanol estimula a los hepatocitos para que produzcan estrés oxidativo, que luego inhibe la señalización de IFN- γ en las HSC. (Figura extraída de Jeong y Gao, 2008).

13. Receptores de tipo Inmunoglobulina de las células NK (KIRs)

13.1. Estructura y nomenclatura

Los receptores tipo Inmunoglobulina (Ig) de las células NK (en inglés, *Killer Immunoglobulin-like Receptor*, KIRs) son una familia de glicoproteínas transmembrana con dominios extracelulares de tipo Ig (involucrada en la unión al ligando), una región transmembrana y una cola intracitoplásmica que definen el tipo de señal transducida por la célula NK (Barrow y Trowsdale, 2008). La actividad efectora de las células NK

(Figura 57), está regulada por el balance entre señales de activación y de inhibición como resultado de la expresión de moléculas KIR con diferentes propiedades funcionales y de los genotipos HLA (Torres-garcía, Barquera y Zúñiga, 2008).

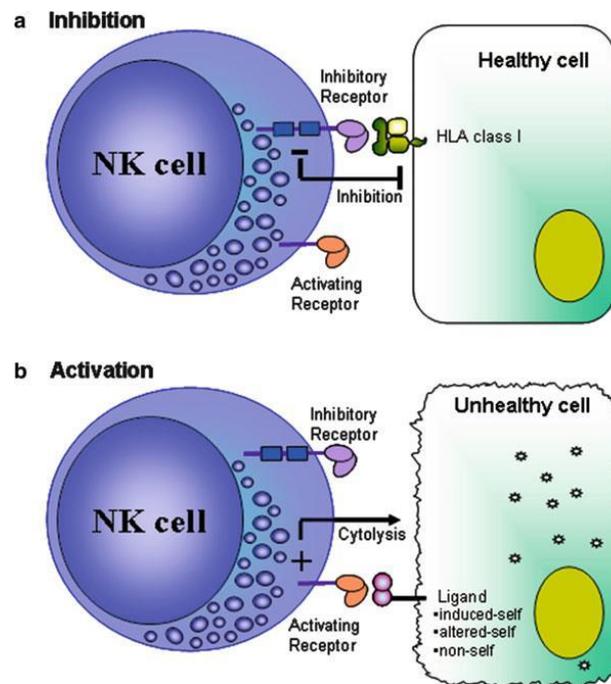


Figura 57. Respuesta de inhibición y activación de las células NK (Extraída de Coscojuela, 2019).

Los KIRs se expresan predominantemente por las células NK pero también por ciertas poblaciones de células T (CD4+ y CD8+) (Vilches y Parham, 2002).

La nomenclatura más comúnmente empleada para clasificar los KIRs está basada en su estructura proteica (Marsh y col., 2003), que consiste en cuatro principales subdivisiones basadas en dos características: el número de dominios extracelulares tipo inmunoglobulina y las características de la cola intracitoplásmica (Torres-garcía, Barquera y Zúñiga, 2008).

Como se observa en la Figura 58, existen KIR con 2 o 3 dominios extracelulares de tipo Ig (denominados KIR2D y KIR3D, respectivamente):

- Los KIR3D presentan, del extremo N- al C-terminal, dominios D0, D1 y D2.
- Los KIR2D se subdividen dependiendo del dominio Ig más distal que presenten:
 - Tipo I, presentan un dominio D2 y un dominio distal D1.
 - Tipo II tienen un dominio D2 y un dominio distal D0.

Por otro lado, los pseudogenes se designan con una P (KIR2DP/KIR3DP). El último dígito indica el número del gen que codifica un receptor con esa estructura.

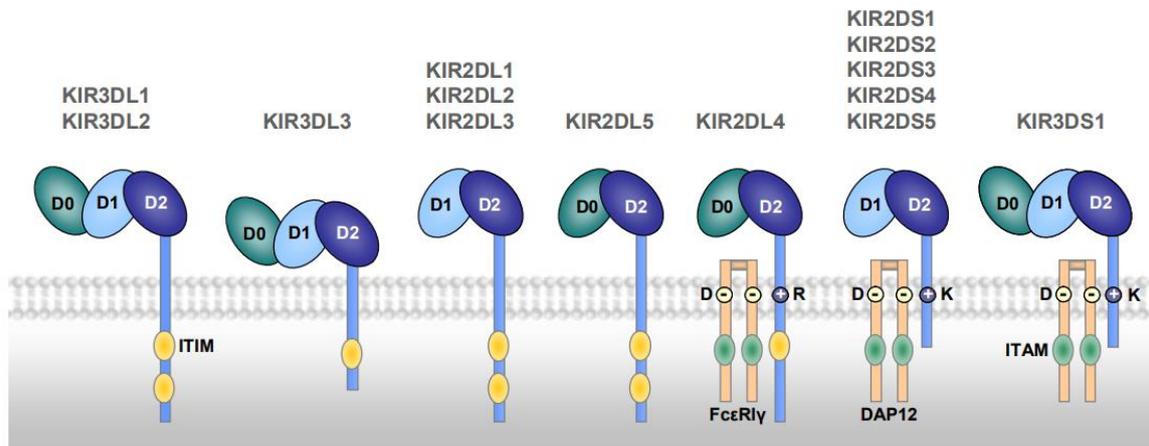


Figura 58. Estructura de los receptores KIR (Extraída de Cisneros, 2017).

En cuanto a su cola intracitoplasmática, existen KIR con una cola intracitoplásmica larga (“*long*”, L) o corta (“*short*”, S), que determina su funcionalidad:

- KIR inhibitorios (iKIR), con una cola citoplasmática larga (de 76 a 96 aminoácidos), con dos motivos ITIM (*Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motifs*) compuestos por secuencias características (I/VxYxxL/V), separadas por 24 aminoácidos. Una vez fosforilados, tras la interacción con el ligando, reclutan las proteínas tirosina fosfatasas SHP-1 y 2 (*Scr-homology domain-bearing tyrosine phosphatase*), que son críticas para mediar su función inhibidora (Burshtyn y col., 1996; Campbell y col., 1996).
- KIR de activación (aKIR), con una cola citoplasmática corta (de 20 a 30 aminoácidos) en la que los motivos ITIM están ausentes, pero contiene un residuo básico de lisina (Lys) cargado positivamente en la región transmembrana que les permite asociarse con la molécula adaptadora DAP-12 y generar señales activadoras a través de motivos ITAM (*Immunoreceptor Tyrosinebased Activating Motifs*) (López Alvarez, 2011; Olcese y col., 1997; Parham, 2005; Rajalingam, 2011).

Cabe destacar que existen varias excepciones a las estructuras descritas. KIR3DL3 carece del tallo que une la región transmembrana con los dominios Ig y posee

una cola citoplasmática de longitud intermedia con un solo ITIM (Torkar y col., 1998). Por otro lado, los receptores KIR2DL4 y KIR2DL5 poseen una cola citoplásmica más larga que la del resto de iKIR (en 20-39 aminoácidos) (Vilches y Parham, 2002). Además, el receptor KIR2DL4 posee un solo motivo ITIM presentando en su región transmembrana el aminoácido arginina (Arg) cargado positivamente, que le permite asociarse a FcR γ (Kikuchi-Maki, Catina y Campbell, 2005) y transmitir señales intracelulares tanto activadoras como inhibitoras (López Alvarez, 2011; Parham, 2005; Rajalingam, 2011).

Los receptores KIR2D pueden tener los dominios D1-D2 (tipo I) o los dominios D0-D2 (tipo II), siendo el tipo I de receptores KIR2D el más frecuente, mientras que en el tipo II sólo se engloban el KIR2DL4 y el KIR2DL5 (López Alvarez, 2011; Parham, 2005; Rajalingam, 2011).

Así, se han identificado catorce receptores KIR (Figura 59) (más 2 pseudogenes; 2DP1 y 3DP1) (Rajalingam, 2011): seis iKIR (KIR3DL1-3, KIR2DL1-3), seis aKIR (KIR3DS1 y KIR2DS1-5) genes y un KIR2DL4 gen que codifica un receptor con funciones inhibitoras y activadoras (Legaz y col., 2013).

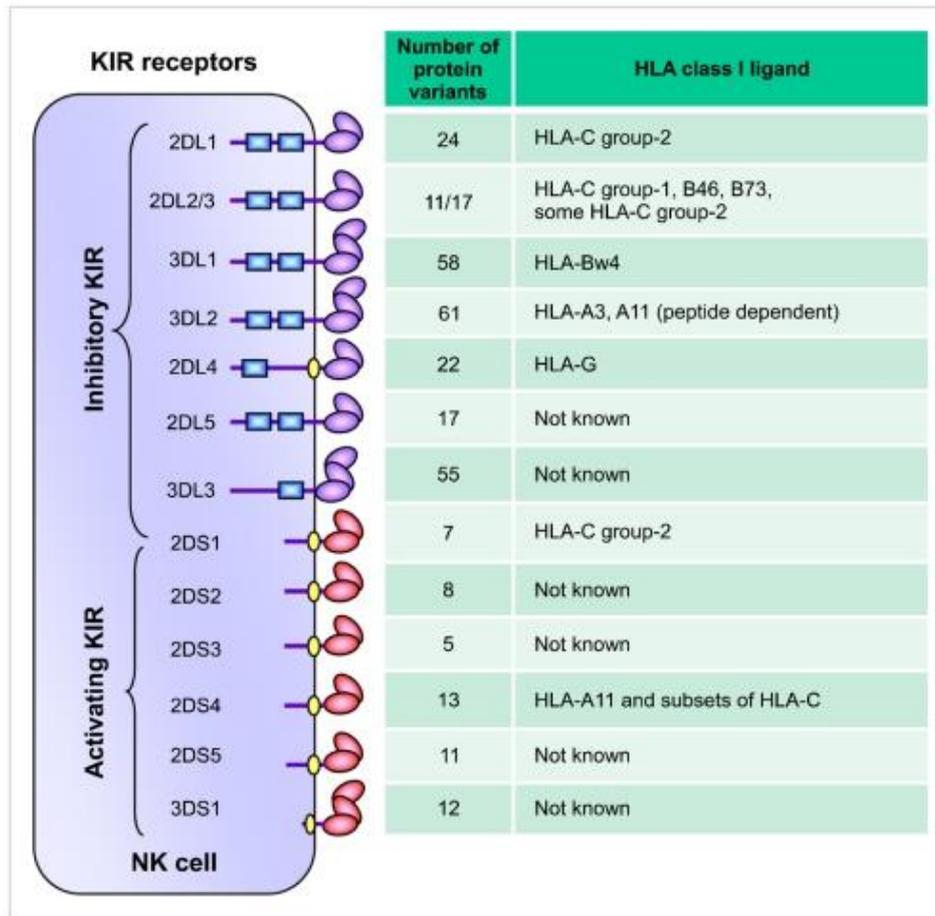


Figura 59. Receptores KIR. Los motivos ITIM en las colas citoplasmáticas de los iKIR se muestran como cuadros azules, y los residuos cargados positivamente en las regiones transmembrana de los aKIR se muestran como círculos amarillos (Extraída de Rajalingam, 2011).

13.2. Ligandos de los receptores KIR

Se han identificado, que en su mayoría, los iKIR reconocen motivos específicos de las moléculas de clase I (en humanos HLA-1, *Human Leucocyte Antigen class I*) del complejo principal de histocompatibilidad (en inglés, *Major Histocompatibility Complex*, MHC) (Klein y Sato, 2000; Marsh y col., 2010). Sin embargo, los ligandos para la mayoría de los aKIR son desconocidos (Tabla 25).

Curiosamente, la expresión de los KIR en la superficie de las células NK parece estar influenciada por la presencia de ligandos HLA-I específicos (Pegram y col., 2011). Los genes HLA-I se encuentran en la superficie de todas las células nucleadas, localizadas en el brazo corto del cromosoma 6. Se subdividen en dos grupos: "proteínas

clásicas", que incluyen HLA-A, -B y -C, y "proteínas no clásicas", que se refieren a moléculas HLA-E, -F y -G (Rizzo y col., 2021).

El nivel de expresión de HLA-I es modificado por citocinas proinflamatorias (Van den Elsen, 2011; Van Den Elsen y col., 2004), que promueven una regulación positiva de las moléculas de HLA-1 y acivar al sistema inmune durante una infección, incluso si se disminuye la expresión de HLA-I y, en consecuencia, la exposición de los epítomos virales en las células infectadas, evitando los linfocitos T CD8+. matando pero consecuentemente induciendo la activación de matanza de células NK (Rizzo y col., 2021).

Una vez unidos por ligandos HLA-I, la señal de transducción inhibitoria de KIR es desencadenada por la activación de tirosina quinasas y fosfatasas, con el fin de inducir la inhibición de las células NK.

Los KIR inhibidores se han descrito como tres isoformas proteicas distintas. Los KIR implicados en el reconocimiento de HLA-C (KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3) (Colonna y col.,1995). KIR2DL2 / 3 se une preferentemente a HLA-C1, mientras que KIR2DL1 se une preferentemente a HLA-C2, mostrando una afinidad más fuerte que la primera. Sin embargo, HLA-C1 también es ligando para el receptor activador KIR2DS1, mientras que aún quedan por identificar ligandos para los restantes KIR activadores (Stewart y col., 2005). Por otra parte, el KIR implicado en el reconocimiento de HLA-B es KIR3DL1, mientras que KIR3DL2 se une a HLA-A (Colonna y col.,1995) (Tabla 25).

Tabla 25. Receptores KIRs (activadores e inhibidores) y ligandos.

Familia de receptores	Receptor	Ligando conocido	Función
KIR	KIR2DL1	HLA-C2 (Lys 80)	Inhibidora
	KIR2DL2 / 3	HLA-C1 (Asn 80)	Inhibidora
	KIR2DL4	HLA-G	Activadora
	KIR2DL5	Desconocido	Inhibidora
	KIR2DS1	HLA-C2 (Lys 80)	Activadora
	KIR2DS2	HLA-C1 (Asn 80)	Activadora
	KIR2DS3	Desconocido	Activadora
	KIR2DS4	HLA-Cw4	Activadora
	KIR2DS5	Desconocido	Activadora
	KIR3DL1	HLA-Bw4	Inhibidora
	KIR3DS1	HLA-Bw4 (posible)	Activadora
	KIR3DL2	HLA-A3 / A11	Inhibidora

(Extraída y modificada de Rizzo y col., 2021).

Por consiguiente, HLA-C es el locus HLA de clase I dominante que proporciona ligandos para muchos receptores KIR. HLA-C es el ligando principal de los receptores KIR2D.

Existen dos grupos de alelos HLA-C definidos por la variación en el aminoácido presente en la posición 80 de la hélice α -1 de la molécula de HLA-C (Boyington y Sun, 2002). Todos los alelos HLA-C llevan el aminoácido valina (Val) en la posición 76, mientras que la posición 80 muestra un dimorfismo de asparagina (Asn) o lisina (Lys). Casi la mitad de los alelos HLA-C (Cw2, Cw4, Cw5, Cw6 y Cw15) portan Lys en la posición 80 (epítipo C2) que se une al receptor inhibidor KIR2DL1 y con menor afinidad a su homólogo activador KIR2DS1 (Colonna y col., 1993; Winter y Long, 1997) (Stewart y col., 2005). Los alelos HLA-C restantes (Cw1, Cw3, Cw7 y Cw8) aportan Asn80 (epítipo C1) y se unen a los receptores inhibidores KIR2DL2 y 2DL3 (Rajalingam, 2011).

Así, las proteínas codificadas por los alelos del grupo C1 son ligandos específicos para los receptores KIR2DL2/S2 y KIR2DL3 (o moléculas CD158b/j), mientras que las codificadas por los alelos del grupo C2 son los ligandos específicos de

los receptores KIR2DL1/S1 (o moléculas CD158a/h) (Figura 60) (Boyington y Sun, 2002).

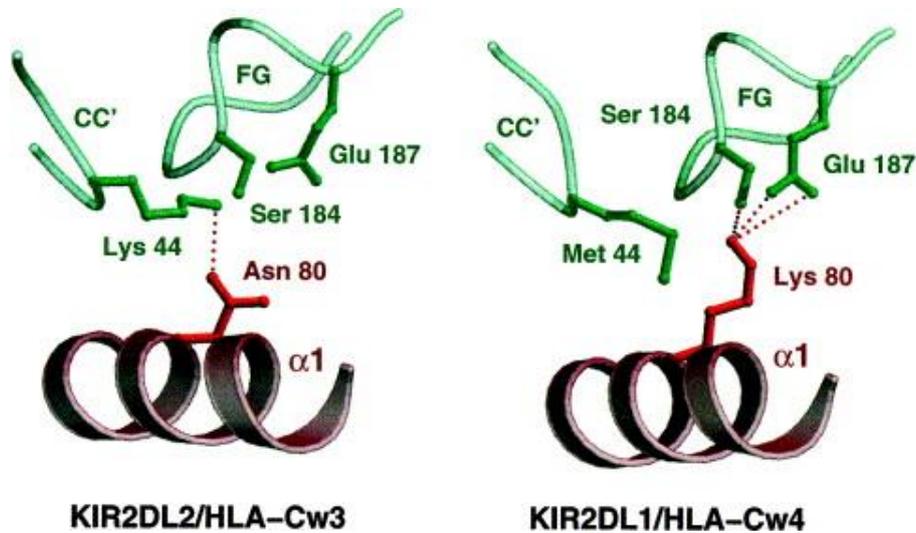


Figura 60. Interacción KIR/HLA-C. (A) KIR2DL2 interactúa con un ligando del grupo C1 (HLA-C*03); (B) KIR2DL1 interactúa con un ligando del grupo C2 (HLA-C*04). Los receptores KIR se muestran de color verde y la molécula de HLA-C de color marrón-rojo (Extraída de Boyington y Sun, 2002).

Además de interactuar con el epítipo C1, KIR2DL2 y 2DL3 también puede interactuar con varios alelos C2 y con dos alelos HLA-B, B46 y B73, ambos con motivos Val76 y Asn80 (Moesta y col., 2008). Las señales inhibitorias activadas por la interacción 2DL2/L3-C1 son relativamente más débiles en comparación con las activadas por la interacción 2DL1-C2. En cuanto a sus homólogos activadores, varios estudios afirman no detectar afinidad de KIR2DS2 por HLA-C1 (Moesta y col., 2008; Winter y col., 1998), aunque otros posteriores detectan una unión de baja afinidad con el epítipo C1, e incluso, con moléculas HLA-A*11 (David y col., 2013; Liu y col., 2014).

KIR2DS4 es el receptor activador más antiguo y más frecuente y tiene una especificidad de ligando única para subconjuntos de alelos HLA-C que portan epítipos C1 o C2 y HLA-A*11 (Graef y col., 2009).

Dado que C1 y C2 son subconjuntos no superpuestos de alelos HLA-C, los individuos pueden ser C1 homocigotos, C2 homocigotos o C1/C2 heterocigotos. Por el contrario, el epítipo Bw4 presente en el 40% de los alelos HLA-B y en HLA-A (HLA-A23, 24, 25 y 32) funcionan como ligandos para el receptor KIR3DL1 (Cella y col.,

1994; Gumperz y col., 1995; Thananchai y col., 2007) (Figura 41, anteriormente mencionada). KIR3DL2 sólo se une a los alelos HLA-A*03 y A*11, y la fuerza de esta interacción parece ser altamente sensible a la secuencia del péptido unido (Hansasuta y col., 2004; Pende y col., 1996). (Burshtyn et al., 1996). Rajagopalan y Long (1999) proponen que el receptor KIR2DL4 se une a moléculas de HLA-G e induce una producción rápida de IFN- γ (Kikuchi-Maki y col., 2003), pero hay controversia al respecto (Le Page, y col., 2014). Las especificidades de ligando para KIR2DS3, 2DS5, 3DS1 y 2DL5 aún no se conocen. Algunos estudios epidemiológicos señalan al alotipo Bw4 con isoleucina en la posición 80 en la interacción con KIR3DS1 (Alter y col., 2007; 2009; Martin y col., 2002), aunque no ha sido demostrada una interacción directa entre KIR3DS1 y Bw4 (Carr y col., 2007; O'Connor y col., 2007).

Por otro lado, se han descrito también interacciones de varios KIRs cuyo ligandos no son ligandos HLA. Es el caso de KIR3DL2 (y en menor medida KIR3DL1, 3DS1 y 2DL4), Sivori y col. (2010) señala su interacción con oligodesoxinucleótidos de tipo CpG, a través de su dominio D0, y los internaliza permitiendo su reconocimiento por TLR9 en los endosomas (Carr y col., 2007). También por medio de su dominio D0, KIR2DL4 interacciona directamente con moléculas de heparán sulfato (HS) que podrían involucrarlo en su actuación como un regulador alostérico para modular la capacidad del receptor de interacción con otros ligandos (Brusilovsky y col., 2013; 2014).

Destacar que numerosos estudios han demostrado la importancia de las combinaciones KIR-HLA en la susceptibilidad y resistencia a enfermedades de etiología infecciosa, autoinmune, cáncer, así como con complicaciones en la reproducción humana. Destacan la asociación de los genotipos homocigotos KIR2DL3/2DL3 y HLA-C1/C1 en el control de la infección VHC (Torres-garcía, Barquera y Zúñiga, 2008; Parham, 2005; Khakoo y Carrington, 2006; Rajagopalan y Long, 2005) y, estudios recientes sobre receptores similares a los KIRs y ligandos HLA sugirieron que desempeñan un papel en la inmunopatología hepática (Carrington y Martin, 2005; Legaz y col., 2013).

14. Genes *KIR*

14.1. El complejo de receptores leucocitarios (LRC)

La organización genómica de los KIR (Complejo KIR), comprende la región 19q13 (Figura 61), que ocupa una ~150 kb dentro del complejo de receptores leucocitarios (LRC, del inglés *Leukocyte Receptor Complex*) (Dupont, Selvakumar, y Steffens, 1997; Wilson y col., 2000; Harry y Wendon, 2001; Carrington y Martin, 2005; Barrow y Trowsdale, 2008).

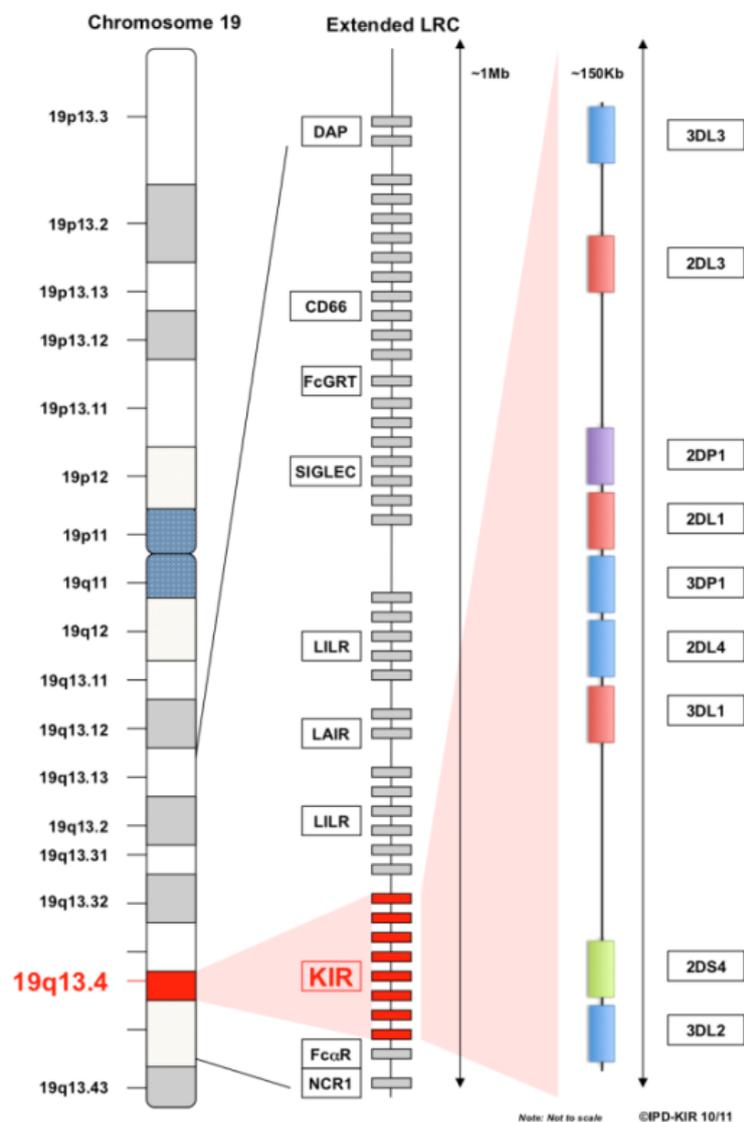


Figura 61. El LRC extendido (cromosoma 19q13.4) junto con un haplotipo KIR. Además, el LRC codifica las proteínas adaptadoras DAP, los antígenos CD66, así como receptores SIGLEC, FcγRT, LILR, LAIR, FcαR y NCR1 (Extraída de («IPD - KIR Introducción | EBI», s. f.).

Como se observa en la Figura 43, además del Complejo KIR, en LRC también hay genes que codifican otras familias de receptores tales como la familia LILR (del inglés *Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor*), la familia LAIR (del inglés *Leukocyte-Associated Inhibitory Receptor*) y el receptor de Fc α (Wilson y col., 2000). Los genes KIR están flanqueados por Fc α R, el gen que codifica el Fc receptor (FcR) para IgA (Fc α R) y los genes LILR (Barrow y Trowsdale, 2008).

El complejo KIR incluye combinaciones de 15 genes (KIR2DL1-4, KIR2DL5A-B, KIR3DL1-3, KIR2DS1-5 y KIR3DS1) y 2 pseudogenes (KIR2DP1 y KIR3DP1) (Tabla 26).

Tabla 26. Genes KIR

Name	Alias	Tail	Ig domains	Ligands
KIR2DL1	CD158a	ITIM	2	HLA-C2 group
KIR2DL2	CD158b1	ITIM	2	HLA-C1 group
KIR2DL3	CD158b2	ITIM	2	HLA-C1 group
KIR2DL4	CD158d	ITIM	2	HLA-G
KIR2DL5A	CD158f	ITIM	2	
KIR2DL5B		ITIM	2	
KIR2DS1	CD158h	K+TM	2	HLA-C2 group
KIR2DS2	CD158j	K+TM	2	HLA-C1 group
KIR2DS3		K+TM	2	
KIR2DS4	CD158i	K+TM	2	HLA-Cw4
KIR2DS5	CD158g	K+TM	2	
KIR2DP1				
KIR3DL1	Cd158e1	ITIM	3	HLA-Bw4
KIR3DL2	CD158k	ITIM	3	HLA-A3/A11
KIR3DL3	CD158z	ITIM	3	
KIR3DS1	CD158e2	K+TM	3	HLA-Bw4
KIR3DP1	CD158c			

(Extraída de Barrow y Trowsdale, 2008)

Se encuentran organizados en tándem, con una orientación cabeza-cola y separados por regiones intergénicas de ~2,5 kb (Wilson y col., 2000), con la excepción de 3DP1 y 2DL4 a los que les separa una región intergénica de ~5 kb (Gómez-Lozano y col., 2005). Además, el pseudogen KIR3DX1 se encuentra intercalado entre los LILR, localizados en una posición más centromérica dentro del LRC (Figura 62) (Sambrook y col., 2006).

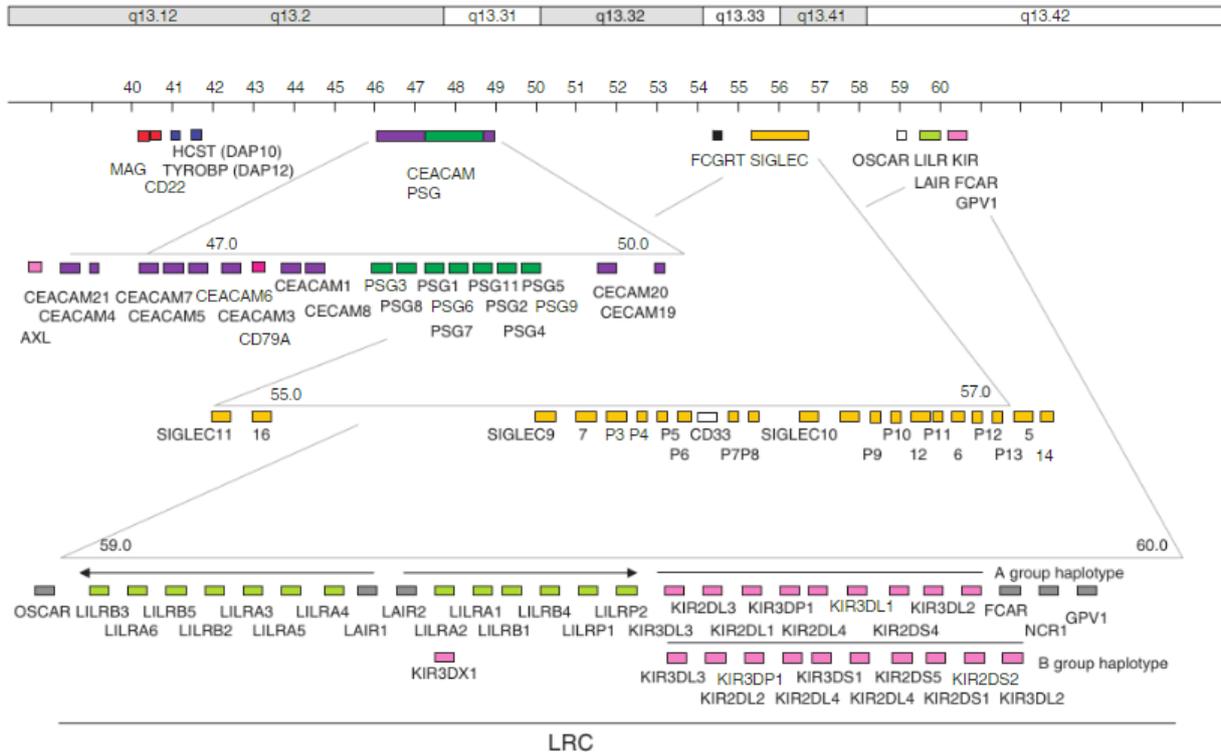


Figura 62. Organización de los genes inmunorreceptores y adaptadores en el LRC (abajo) y el LRC extendido (Extraída de Barrow y Trowsdale, 2008).

14.2. Estructura de los genes *KIR*

Aunque la estructura básica de los genes *KIR* es altamente similar y pueden presentar diferencias de tan sólo un nucleótido, los distintos alelos codifican proteínas con características muy diversas en cuanto a unión con el ligando, expresión en la superficie celular y señalización intracelular (Bashirova, Martin, McVicar y Carrington, 2006).

Los genes *KIR* poseen regiones promotoras independientes localizadas hasta 500 pares de bases (pb) antes del primer codón de transcripción. La organización de la estructura exón-intrón de los diversos genes *KIR* (Figura 63) consiste en la siguiente disposición básica: una secuencia de señal codificada por los dos primeros exones, un dominio tipo Ig (D0, D1 y D2, siempre comenzando desde el extremo N-terminal) correspondiente a cada uno de los exones siguientes (exones 3-5, respectivamente), las regiones de unión y transmembrana se encuentran cada una en un exón (exones 6 y 7), y por último la región intracitoplasmática codificada por dos exones finales. Los genes *KIR* de dos dominios de tipo 1, *KIR2DL1*, *2DL2/3*, y todos los genes *2DS*, tienen una organización genómica idéntica a la que codifican las moléculas *KIR* con tres dominios

Ig, pero el exón 3 (que codifica D0) de estos dos dominios KIR es un pseudoexón (púrpura claro). El exón 3 también es un pseudoexón en KIR2DP1, que también contiene un pseudoexón 4 (verde claro) (Trowsdale y col., 2001; Wilson, Torkar y Trowsdale, 1997; Wilson y col., 2000; Torres-garcía, Barquera y Zúñiga, 2008).

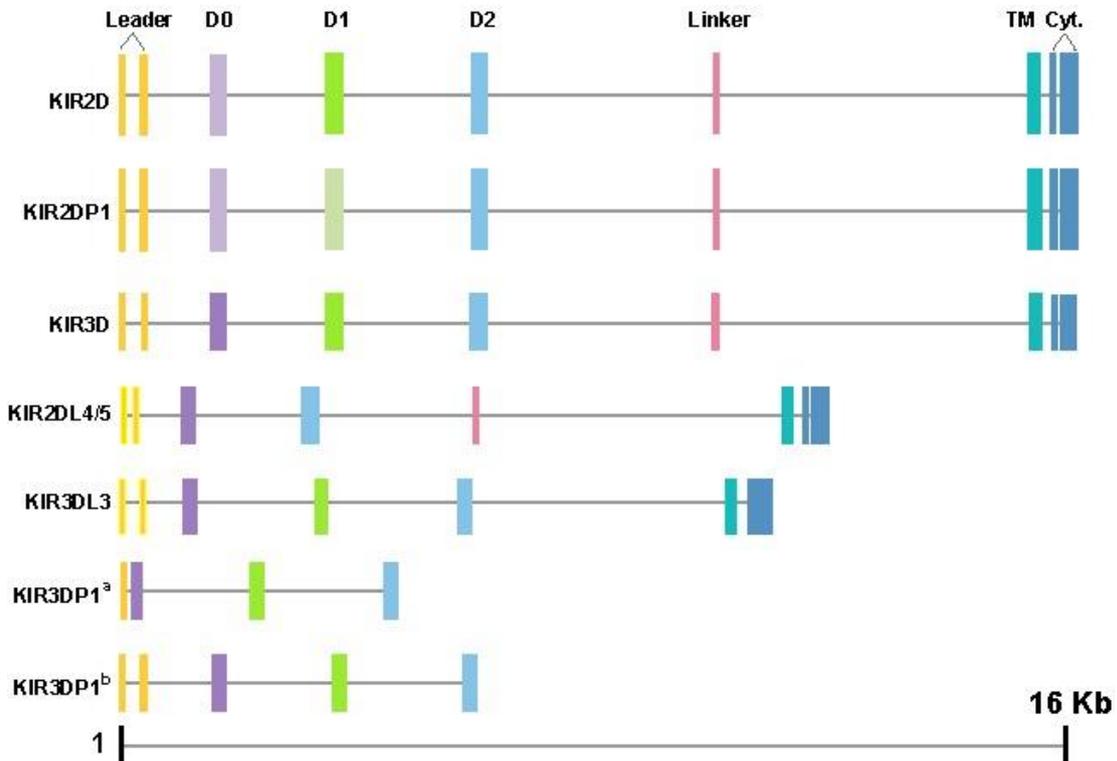


Figura 63. Estructura exón-intrón genes *KIR*. Exones codificantes de diversos dominios KIR: exones 1 y 2, secuencia líder (señal) en color amarillo; exones 3–5, dominios Ig D0 (púrpura), D1 (verde) y D2 (azul), azul; exones 6 y 7, regiones enlazadoras (rosa) y transmembrana (turquesa); y exones 8 y 9, dominio citoplásmico (azul oscuro) (Extraída de Carrington y Norman, 2003).

Por lo tanto, a los productos proteicos del tipo 1 de dos dominios KIR les falta el dominio D0 (Vilches, Pando y Parham, 2000). Todas las células NK expresan al menos un tipo 1 2D KIR (Watzl, Peterson y Long, 2000). El tipo 2 de dos dominios KIR, que incluye 2DL4, 2DL5A y 2DL5B (Vilches y Parham, 2002), se caracterizan por la ausencia total del exón 4 (Selvakumar y col., 1997), y por lo tanto su producto proteico no tiene dominio D1. El gen 3DL3 se parece mucho a los otros genes 3D, excepto que le falta el exón 6 (Carrington y Norman, 2003).

Se han identificado y nombrado dos pseudogenes KIR, aunque pueden existir otros que se parecen mucho a los genes KIR intactos (y por lo tanto no se detectan) en ciertos haplotipos. KIR2DP1 (KIRZ) está estrechamente relacionado con 2DL2/3 y

2DL1 (> 97% de homología a nivel de nucleótidos), y contiene dos pseudoexones, 3 y 4. El pseudoexón 3 de 2DP1 contiene las mismas aberraciones que las identificadas en el Tipo 1 (dos genes KIR de dominio), y una eliminación de un solo par de bases en el pseudoexón 4 de 2DP1 provoca un cambio de marco que introduce un codón de parada. Un segundo pseudogen KIR, 3DP1 (KIRX), está severamente truncado y las formas alternativas del gen se diferencian por una deleción de 1.5kb, que elimina el exón 2 (Wilson y col., 2000). Hasta la fecha no se han identificado transcripciones para 2DP1 o 3DP1 (Carrington y Norman, 2003).

14.3. Haplotipos KIR

La diversidad en los haplotipos KIR puede contribuir a mejorar la supervivencia de la población (Misra y col., 2018). El complejo KIR es extremadamente diverso debido al polimorfismo alélico y la variación del número de copias génicas (CNV). Solo tres regiones "marco" del complejo KIR están relativamente bien conservadas en su contenido genético: los genes en los extremos 5' y 3' (KIR 3DL3 y 3DL2, respectivamente), y un grupo central formado por KIR 3DP1 y 2DL4. Estos genes KIR marco definen los límites de dos intervalos, centromérico (5') y telomérico (3'), que contienen combinaciones variables de los otros genes (Wilson y col., 2000; Martin y col., 2000; Roe y col., 2017).

Como se puede observar en la Figura 64, ciertos arreglos genéticos o "motivos" son particularmente comunes dentro de cada uno de esos intervalos; a su vez, los diferentes motivos de genes centroméricos y teloméricos se ven en cualquier asociación combinatoria, posiblemente debido a un punto de recombinación entre KIR 3DP1 y 2DL4 (Cisneros y col., 2020).

Los valores de desequilibrio de ligamiento relativo positivo y negativo se representan con flechas rojas y grises, respectivamente. Las líneas punteadas indican que no se produce una significación estadística, mientras que el grosor de las líneas continuas indica el nivel de significancia estadística ($p < 0.05/0.01/0.0001$). Los genes "marco" conservados se representan como cajas sólidas. Los genes y los espacios intergénicos no están representados a escala.

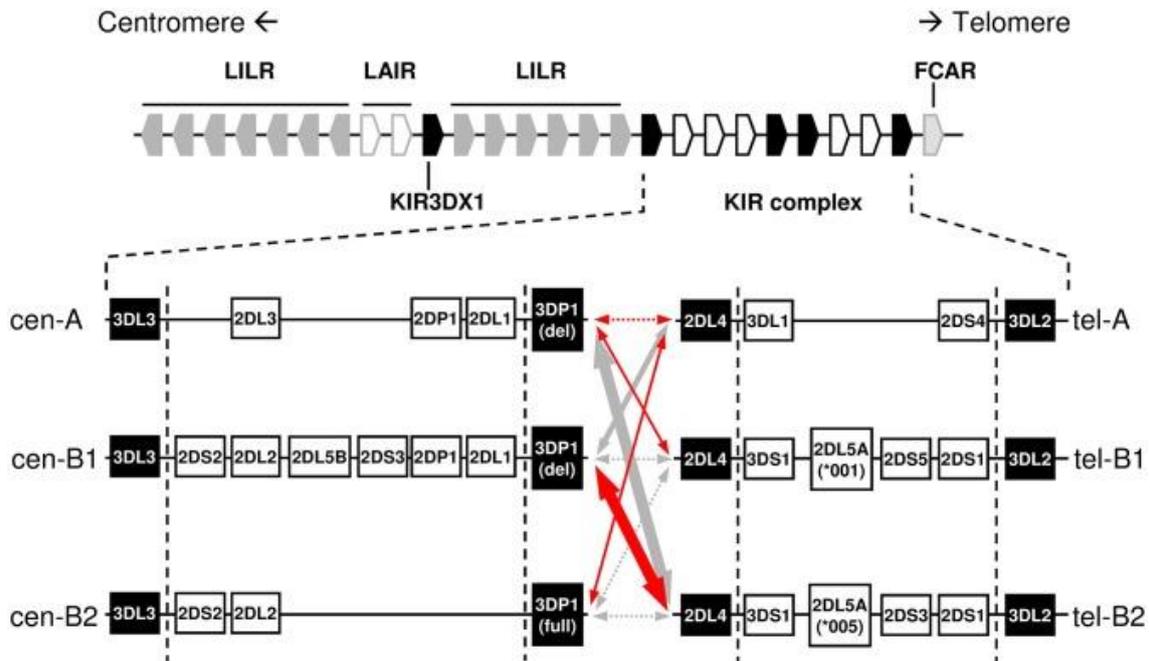


Figura 64. Haplotipos centroméricos y teloméricos del gen KIR observados comúnmente en caucasoides, y su desequilibrio de ligamiento en individuos españoles (Extraída de Cisneros y col., 2020).

Los estudios de polimorfismo de longitud de fragmento de restricción publicados en 1997 clasificaron los genotipos KIR en las categorías "A" y "B", en función de la presencia variable de una banda Hind III de 24 Kbp de longitud, que luego se demostró que deriva del gen KIR2DL5 (Uhrberg y col., 1997; Vilches, Rajalingam, y col., 2000).

Esta definición fue refinada y adaptada (Marsh y col., 2003), de modo que "un haplotipo" ahora designa oficialmente una combinación casi fija de siete genes y pseudogenes, que codifica el KIR 2DL3 y 2DL1 específico de HLA-C en el intervalo centromérico variable, y 3DL1 y 2DS4 en el telomérico. En caso contrario, "B" designa colectivamente una amplia gama de haplotipos que llevan cualquier gen KIR adicional (incluso cuando también tienen, como sucede a menudo, partes de un haplotipo A). De relevancia inmunológica, el haplotipo "A" codifica el KIR inhibitorio para todos los ligandos HLA conocidos; y, a lo sumo, un solo KIR activador expresado en la superficie de la célula NK, KIR2DS4 a menudo representado por un alelo aberrante (Maxwell y col., 2002). En contraste, los haplotipos "B" se distinguen por una o más de las siguientes características: codifican varios KIR activadores; carecen de uno o más genes para el KIR inhibitorio mencionado anteriormente; y/o portan KIR2DL5, de papel

biológico incierto (Cisneros y col., 2012). Esta diversidad parece influir en muchas condiciones de salud humana (Parham y Guethlein, 2018).

Ciertos genes vecinos KIR tienden a aparecer fuertemente vinculados en el mismo haplotipo. Entre ellos destaca el par formado por KIR 2DL5 y 2DS3 o 2DS5, que se heredan como alotipos del mismo locus (Ordóñez y col., 2008). Este grupo KIR 2DL5 - 2DS3/S5 se duplicó y diversificó conjuntamente durante la evolución humana, y se ve en uno o ambos intervalos centroméricos o teloméricos de muchos haplotipos B (Ordóñez y col., 2008; Pyo y col., 2010; Cisneros y col., 2012; Gómez-Lozano y col., 2002). La existencia de dos tramos de secuencia tan largos y muy similares favoreció una recombinación asimétrica adicional entre las regiones paralógicas, dando como resultado haplotipos expandidos y acortados con duplicaciones en tándem o deleciones de los genes que intervienen (Cisneros y col., 2012; Hou y col., 2012; Norman y col., 2002; Pyo y col., 2013; Roe y col., 2017). Las consecuencias adicionales de la recombinación asimétrica son genes de fusión novedosos que codifican KIR quimérico que combinan características estructurales y funcionales de sus receptores parentales (Cisneros y col., 2020).

Se han caracterizado más de 30 haplotipos KIR distintos con contenido genético distinto mediante secuenciación de clones genómicos y análisis de segregación de haplotipos en familias (Rajalingam, 2011). Uno de ellos se puede observar en todas las poblaciones, y de forma convencional se le ha denominado “haplotipo A” (Figura 65). Los genes se organizan de la cabeza a la cola, y cada gen tiene una longitud de aproximadamente 10-16 kb con una secuencia de aproximadamente 2 kb que separa cada par de genes, excepto por un tramo de 14 kb de secuencia única aguas arriba de 2DL4 (Carrington y Norman, 2003). El haplotipo A consiste en nueve genes (3DL3-2DL3-2DP1-2DL1-3DP1-2DL4-3DL1-2DS4-3DL2) y algunos individuos son homocigotos para este haplotipo. El resto de haplotipos se denominan de forma colectiva como “haplotipos B”, y pueden poseer diversos genes, varios de ellos siempre ausentes en el haplotipo A (2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS5, 2DL2, 2DL5 y 3DS1).

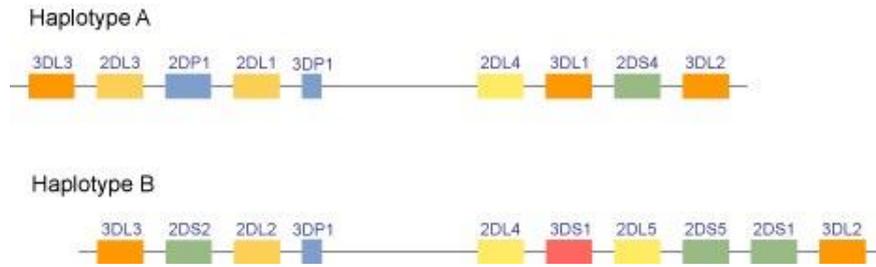


Figura 65. Orden genérico de dos haplotipos KIR completamente secuenciados (Extraída de Carrington y Norman, 2003).

Por lo tanto, los haplotipos B contienen mayor número de genes KIR activadores que el haplotipo A, el cual posee un solo gen activador, KIR2DS4 (Figura 66, haplotipos 2-22) (Rajalingam, 2011).

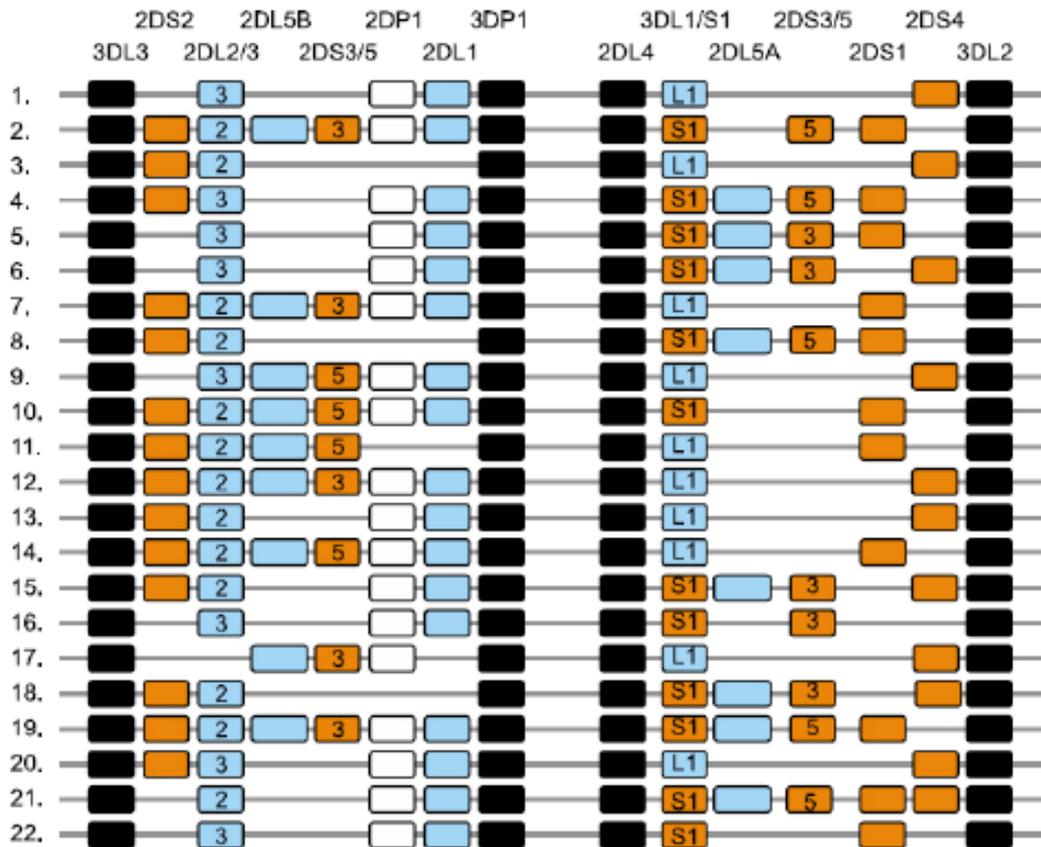


Figura 66. Mapa de haplotipos KIR. El haplotipo 1 representa el haplotipo A, mientras que el resto (nº2-22) representan los haplotipos B. Cuadros negros: Genes constitutivos; Cuadros naranjas: Codifican para KIR activadores; Cuadros azules: Codifican para KIR inhibidores. *KIR2DP1* y *3DP1* son pseudogenes y no se expresan (Extraída de Rajalingam, 2011).

Cabe resaltar que la región se encuentra regulada por ciertas señales genómicas que aseguran recombinación de genes homólogos entre haplotipos; así, la región donde

se encuentra el complejo génico está flanqueada por genes conservados (3DL3 y 3DL2 en las regiones centroméricas y teloméricas del transecto, respectivamente, así como 3DP1 y 2DL4 en los límites de la región de recombinación recíproca), cuya posición y permanencia en los haplotipos es prácticamente universal (Norman y col., 2009; Torresgarcía, Barquera y Zúñiga, 2008).

Rajalingam (2011) afirma que la mayoría de los haplotipos de contenido de genes KIR se pueden explicar por la recombinación de 10 motivos de contenido de genes centroméricos y 10 teloméricos (Figura 60). Por ejemplo, el haplotipo 1 listado en la Figura 59 es un recombinante de la mitad centromérica cA01 y la mitad telomérica tA01, de manera similar, el haplotipo 8 es un recombinante de la mitad centromérica cB02 y la mitad teloméricas tB02. La recombinación recíproca también da como resultado haplotipos que portan motivos específicos de haplotipo tanto del grupo A como del grupo B. Por ejemplo, el haplotipo 6 listado en Figura 59 es un recombinante de la mitad centromérica cA01 y la mitad telomérica tB04, y el haplotipo 9 es un recombinante de la mitad centromérica cB03 y la telomérica tA01. Los eventos de recombinación también se informan fuera de la región entre 3DP1 y 2DL4. Estos son generalmente cruces no alélicos que generan varios haplotipos inusuales, incluidos los haplotipos truncados a los que les faltan algunos genes marco (Hsu y col., 2002; Shilling y col., 2002) o haplotipos alargados que contienen genes duplicados (Ordóñez y col., 2008).

Así, como se observa en la Figura 67 un tramo de ADN de 14 kb con numerosas repeticiones L1 que interconecta KIR3DP1 y KIR2DL4 divide el haplotipo KIR en dos mitades. La mitad centromérica está delimitada por 3DL3 y 3DP1, mientras que la mitad telomérica está delimitada por 2DL4 y 3DL2. Múltiples eventos de recombinación meiótica recíproca entre 3DP1 y 2DL4 barajan los motivos centroméricos (c) y teloméricos (t) y, por lo tanto, diversifican el contenido genético de los haplotipos KIR entre individuos y poblaciones.

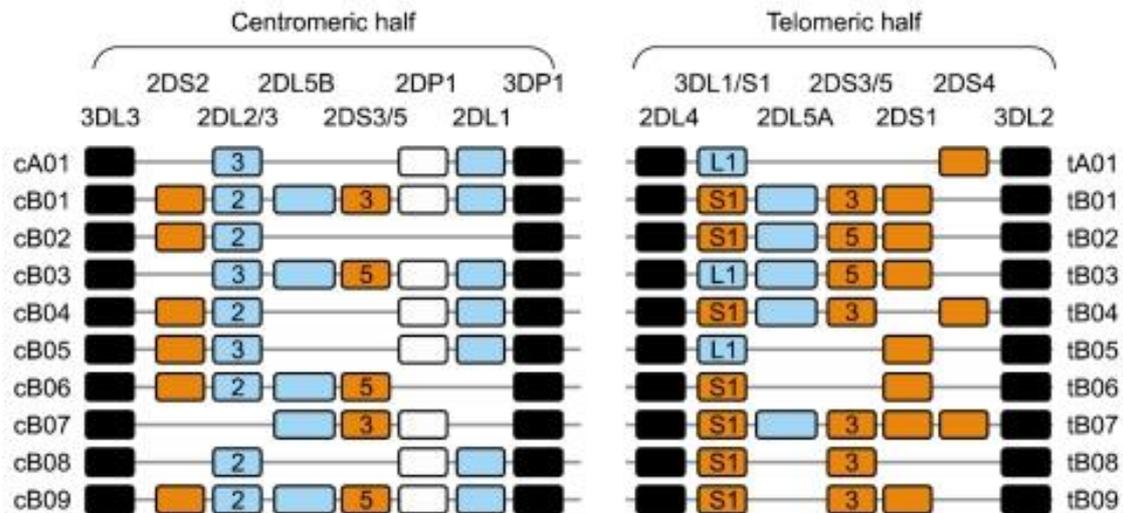


Figura 67. Mitades centroméricas y teloméricas de haplotipos KIR. Los genes marco, presentes en todos los haplotipos, se muestran en cajas oscuras; los genes que codifican la activación de KIR están en cuadros naranjas; y aquellos para receptores inhibitorios están en cajas azules. El KIR2DP1 y 3DP1 son pseudogenes que no expresan un receptor. La letra 'A' en la identificación de motivos de contenido genético indica partes de los haplotipos del grupo A, mientras que 'B' indica partes de los haplotipos del grupo B (Extraída de Rajalingam, 2011).

Estas características tan peculiares hacen indispensable el análisis de los haplotipos con base en estudios de familias para establecer las asociaciones presentes en cada población, en vez de inferirlas por métodos estadísticos, ya que son las interacciones propiciadas por los distintos genes presentes en un solo genoma, en parte responsables de la actividad de las NK en distintos contextos de salud y enfermedad (Torres-garcía y col., 2008).

Los estudios realizados en los últimos años han puesto de manifiesto una amplia diversidad KIR, que deriva tanto de su polimorfismo genético como alélico (Selvakumar y col., 1997; Uhrberg y col., 1997). Como consecuencia de ello, Shilling y col. (2002) mantienen la existencia de una pequeña probabilidad de que dos individuos seleccionados aleatoriamente tengan el mismo genotipo KIR.

14.4. Polimorfismo alélico

El complejo del gen KIR se caracteriza por una variación estructural que crea múltiples haplotipos de contenido genético. Además, cada uno de los genes KIR exhibe variabilidad alélica (Robinson y col., 2010), que genera una considerable diversidad

intra e interpoblacional (Parham y col., 2012). Esta diversidad puede influir en las respuestas inmunes contra los patógenos (Carrillo-Bustamante, Keşmir y de Boer, 2013; Knapp y col., 2010).

La base de datos *Allele Frequency Net Database* (AFND) ha recopilado conjuntos de datos KIR de 245 poblaciones en todo el mundo. Recientemente desarrolló el llamado *KIR and Disease Database* (KDDB), que reunió asociaciones KIR de 204 artículos publicados, e indica un creciente interés en KIR en estudios epidemiológicos. El complejo polimorfismo observado en esta familia de genes, cuando se combina con la alta similitud de secuencia entre los genes KIR (Middleton y Gonzelez, 2010; Barten y col., 2001), impone dificultades técnicas para secuenciar y genotipar a resolución alélica completa. Por lo tanto, a pesar de que el polimorfismo del contenido del gen KIR ha sido ampliamente estudiado, la diversidad alélica de KIR se ha caracterizado solo en un conjunto de poblaciones bien definidas (Misra y col., 2018).

14.4.1. Polimorfismo de los genes KIR

Cada gen KIR exhibe un considerable polimorfismo en la secuencia nucleotídica. Las variantes de la secuencia alélica de los genes KIR se nombran de forma análoga a la utilizada para los alelos HLA. Después del nombre del gen, se utiliza un asterisco como separador antes de una designación numérica de alelo (Coscojuela, 2019).

Los primeros tres dígitos indican alelos que difieren en las secuencias de sus proteínas codificadas (Figura 68) y los dos siguientes dígitos distinguen alelos que solo difieren por diferencias sinónimas (codifican la misma proteína). Los dos dígitos finales distinguen alelos que solo difieren por sustituciones en un intrón, promotor u otra región no codificante de la secuencia.

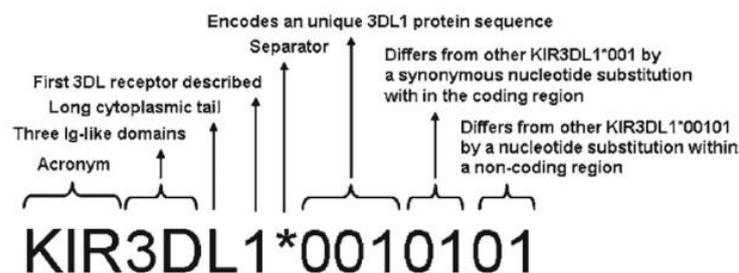


Figura 68. Polimorfismo de los Genes KIR (Extraído de Coscojuela, 2019).

Los polimorfismos en la secuencia influyen en la expresión, la unión del ligando y en funciones citolíticas y de secreción de citoquinas. Como sucede en el HLA, algunas secuencias KIR son también alelos nulos.

El nivel de expresión de ARNm también varía entre los genes y alelos KIR, que junto con el *splicing* alternativo existente de ARNm y esta variedad de isoformas puede hacer que la expresión en la superficie de la célula se vea reducida.

14.4.2. Diversidad de receptores KIR en células NK

Según Coscojuela (2019) los receptores KIR se expresan clonalmente en células NK maduras, de tal manera que cada clon de células NK dentro de un determinado individuo no expresa el conjunto completo de genes KIR presentes en el genoma de ese individuo, sino solo una parte de los genes en una combinación aparentemente aleatoria. Esto produce una amplia gama de clones de células NK funcionalmente distintos que son críticos para una rápida detección de expresión reducida de HLA clase I en células objetivo.

Cada clon de células NK mantiene su repertorio de receptores KIR adquiridos a lo largo de las divisiones celulares posteriores. Aunque el repertorio KIR está determinado en gran medida por factores genéticos, cada vez hay más pruebas de que los mecanismos epigenéticos modulan los patrones de expresión del receptor KIR.

Las células NK pueden activarse de manera individual a través de varios receptores independientemente o en combinación, según los ligandos presentados por la célula objetivo en un encuentro determinado; que si en esa presentación se activan tanto los receptores inhibidores como los activadores, la acción de esa célula NK dependerá del equilibrio entre estas señales dispares.

Además de las células NK, los receptores KIR se expresan en un subconjunto de linfocitos T (en particular, células $T\gamma\delta$ y células $T CD8^+$), indicando que los KIR pueden regular la respuesta inmune de células T específica de antígeno.

14.4.3. Diversidad de receptores KIR-HLA y relación con enfermedades

A pesar de que la mayoría de las personas tienen los cuatro receptores KIR inhibidores (3DL1, 3DL2, 2DL1 y 2DL2/3), solo un subconjunto expresa todos los

ligandos HLA clase I relevantes: HLA-Bw4 (3DL1), HLA-A3/11 (3DL2), HLA-C2 (2DL1) y HLA-C1 (2DL2/3). La mayoría de los caucásicos, hispanos y afroamericanos poseen dos o tres combinaciones inhibitoras de KIR-HLA, en la que uno de cada cinco individuos en estas poblaciones contiene un solo par receptor-ligando: KIR2DL3 + HLA-C1 (Coscojuela, 2019).

La interacción entre KIR2DL3 y HLA-C1 es débil en contraste con las señales activadas a través de las interacciones inhibitoras más fuertes de KIR2DL1 + HLA-C2. La variación de fuerza en las señales inhibitoras mediadas por KIR-HLA parece tener implicaciones clínicas. Individuos portando la combinación de genes KIR2DL3 + HLA-C1 poco inhibitora resuelve más fácilmente la infección con el virus de la hepatitis C que individuos infectados de otros genotipos. Por otro lado, la interacción inhibitora más fuerte de KIR2DL1 + HLA-C2 afecta al desarrollo placentario causando problemas reproductivos como preeclampsia, aborto espontáneo recurrente y restricción de crecimiento fetal (Coscojuela, 2019).

Los receptores KIR y sus ligandos HLA clase I se han asociado a una gran variedad de enfermedades, como enfermedades autoinmunes, infecciosas y tumorales. Puede manifestarse como una inmunodeficiencia primaria severa causada por déficit de HLA-I, de HLA-II o de ambas en el Síndrome de linfocito desnudo de tipo I, tipo II o tipo III, respectivamente (DeSandro, Nagarajan y Boss, 1999; Raghavan, 1999), como narcolepsia (Nishino, Okura y Mignot, 2000) o la susceptibilidad a padecer ciertas infecciones como malaria (Hill y col., 1992; Hill, Jepson, Plebanski y Gilbert, 1997).

Se ha relacionado con un riesgo incrementado para padecer ciertas enfermedades autoinmunes como la espondilitis anquilosante (EA) (Feltkamp, Khan y Lopez de Castro, 1996) por la presencia de los receptores KIR3DS1 y el KIR2DS1 (Jiao y col., 2008).

Con respecto al desarrollo de tumores, algunos estudios señalan una posible predisposición (Mendez y col., 2009; Möller., 2010; Martínez-Sánchez y col., 2016). En pacientes con tumores de vejiga, melanoma y ovario se encontró una reducción de proporción de CD226/iKIR afectando negativamente a la supervivencia del paciente (Guillamon y col., 2018) y otros no confirman su relación al desarrollo de melanoma o a un peor pronóstico de la enfermedad (Kageshila y col., 1997; Luongo y col., 2004;

Nagore y col., 2002). Además, la expresión reducida de CD226 en células NK (NKcs) con genotipos ricos en aKIR puede ser un biomarcador indicativo de hiporreactividad de NKc en pacientes que podrían beneficiarse de nuevas terapias inmunoestimuladoras, ya que aumenta la sensibilidad de las NKcs educadas a la modulación descendente de CD226 inducida por tumores o al contribuir directamente a reducir la expresión de CD226 en las NKcs educadas, desempeñando un papel perjudicial temprano en la vigilancia inmune del cáncer sólido (Guillamón y col., 2019).

Por el contrario, se señala a ciertos alelos HLA de clase I (HLA A11 y HLA A19) a una mejor respuesta a la inmunoterapia con IL-2 o con linfocitos infiltrantes del tumor (TIL, del inglés, *Tumour - infiltrating lymphocytes*) (Marincola y col., 1992). Incluso, también se ha asociado con el desarrollo de inmunotolerancia en trasplantes (Colvin, 1990) y respuestas diversas frente a la inmunoterapia (Collins y Frelinger, 1998; Yee, Riddell y Greenberg, 1997) y efectos perjudiciales sobre el resultado del post-trasplante hepático como una mayor frecuencia de rechazo celular aguda en pacientes con desajuste de HLA-DRB1 entre donante y receptor (Boix y col., 2020). En la que las infecciones virales y la encefalopatía no parecen influir en la supervivencia del paciente con cirrosis alcohólica (Legaz y col., 2018).

Con respecto a su asociación con el melanoma, estudios serológicos iniciales identificaron un incremento de los antígenos HLA-A9, principalmente con las formas metastásicas o recidivantes de la enfermedad (Cavelier y col., 1980; Rovini y col., 1988) y HLA-B13 en pacientes con melanoma, además de una disminución de la frecuencia de HLA-B61 (Muto y col., 1996). También se describió asociación de la expresión de HLA-B51 en pacientes con melanoma acral, el cual no estaba presente en otros pacientes con melanoma. De forma contradictoria, en otro estudio no se evidenció asociación negativa entre los antígenos HLA de clase I y el melanoma (Kageshita y col., 1996). García, (2016), ha encontrado un aumento en la frecuencia de alelos HLA de clase II entre la población española, como HLA-DR4 en pacientes caucásicos con mayor riesgo de desarrollar melanoma (Barger y col, 1982) y HLA-DR5 en pacientes con melanoma de extensión superficial (Mueller-Eckhardt y col., 1984), observando que HLA DR3 podría ser un factor genético asociado a larga supervivencia en pacientes con melanoma (Barger y col., 1982).

Se ha descrito una fuerte asociación con HLA-B27 en la EA en la que se forman un complejo con HLA-B27 que induciría fenómenos de autoinmunidad (Taurog, 2010).

Respecto al papel de los locus HLA-C y HLA-E, diversos estudios han analizado el papel de HLA-C en la susceptibilidad y/o pronóstico del melanoma (Muto y col., 1996; Rovini y col., 1988; Mueller-Eckhardt y col., 1984) con resultados contradictorios.

Agentes ambientales como las infecciones virales que afecten a la expresión de HLA-C en individuos portadores de esta combinación única KIR-HLA pueden romper la auto-tolerancia y favorecer la autoinmunidad. Por otra parte, se asocia a HLA-C6 con psoriasis, otras enfermedades severas de la piel y, de formas más leve, con artritis psoriásica (García, 2016). Y en pacientes con CA se encontró que la presencia de KIR2DL2 parece tener un efecto protector, frente a KIR2DS5 que favorece el proceso fibrótico, particularmente en pacientes sin infección viral asociada (Legaz y col., 2019)

Se ha observado que la activación del receptor KIR2DS1 en pacientes con artritis reumatoide, solo o en combinación con el genotipo HLA-C1C1 (que indica la ausencia de los ligandos HLA para su receptor inhibidor homólogo KIR2DL1) está asociado con la susceptibilidad a la enfermedad, mientras que el receptor KIR2DL2 en combinación con el ligando HLA-C1, está asociado con un efecto protector frente al desarrollo de la misma (Salgado, 2019; Sun y col., 2019).

Por otro lado, otro estudio realizado en el año 2018, ha asociado el grupo de ligandos HLA-C1 con un mayor riesgo de sufrir Lupus Eritematoso sistémico (LES) (Gambino y col., 2018). También se ha observado una relación importante entre los genes KIR y sus ligandos HLA con la tasa de incidencia de esclerosis sistémica en la población iraní (Mahmoudi y col., 2017).

En cuanto a la Tiroiditis de Hashimoto (TH), un estudio realizado en el año 2016, en la población china, sugiere que la interacción KIR2DS2/HLA-C1 se correlaciona con la patogénesis de la TH, por el contrario, el predominio de la interacción inhibitoria entre los receptores KIR2DL2/3 y los ligandos HLA-C1, en ausencia de KIR2DS2, sugiere un posible papel protector en la patogénesis de esta enfermedad (Li y col., 2016). También se ha encontrado una asociación entre el receptor

KIR3DL1 en combinación con el ligando HLA-Bw4, y un efecto protector frente al desarrollo de la EM en la población afroamericana (Hollenbach y col., 2016). Sin embargo, para FM, en especial la asociada a depresión, en la que se sabe que existe una implicación de las células NK y de sus receptores KIR (Carvalho y col., 2008), hasta el momento, no se han publicado estudios científicos relevantes.

Ciertas enfermedades que cursan con inflamación, han demostrado que los genotipos HLA-C son determinantes. Por ejemplo, en individuos con infección por *Chlamydia trachomatis* que causa tracoma caracterizada por inflamación conjuntival crónica y fibrosis han presentado heterocigosidad KIR2DL2/KIR2DL3 aumentando aún más el riesgo de cicatrices conjuntivales en individuos portadores de HLA-C2 (Roberts y col., 2014).

Justificación del estudio

y

Objetivos

2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO Y OBJETIVOS

El consumo de alcohol es un factor principal en la salud de los individuos, que además de tener una gran repercusión en diversos ámbitos (familiar, social, económico) puede afectar al estilo de vida, consumo de otras drogas, relaciones sociales, asociaciones con enfermedades mentales y físicas, etc (Shield, Parry y Rehm, 2014).

El alcohol destaca como la sustancia más consumida en la población española, entre las más precoces (16.6 años). Además, la Región de Murcia se encuentra entre las comunidades con una prevalencia superior a la media en cuanto a la realización de botellones (Plan Nacional sobre Drogas, 2019).

Una de las consecuencias del consumo excesivo de alcohol es la cirrosis. En España, aproximadamente el 90%, es ocasionada por el consumo de alcohol (Gómez, 2012; Zaieg. y col. 2019). Además, cuando el grado de fibrosis es elevado es una indicación del trasplante de hígado (Israni y col., 2019).

La Región de Murcia, a través de las actuaciones del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca (HUVA), se encuentra entre los 10 primeros centros con un total de 1.364 trasplantes hepáticos realizados entre los años 1984-2018 (Sánchez F. y col., 2018), con un aumento de 39 casos por año en el 2014 a 72 casos en el año 2018. Su realización conlleva un gran gasto económico tanto por la gestión sanitaria y humana, ya que implican un alto grado de complejidad y en principio conllevan un importante consumo de recursos.

Además, los pacientes con enfermedad hepática alcohólica también pueden desarrollar una variedad de complicaciones (Altamirano y Bataller, 2011). La ascitis es la manifestación descompensante más común en pacientes con cirrosis hepática (Ginés y col., 1987; D'Amico col., 2006; Pose y Cardenas, 2017), supone una importante disminución de la supervivencia de los pacientes con un alto riesgo de desarrollar complicaciones adicionales (Fasolato y col., 2007; Planas y col., 2006; Zhao y col., 2019), y también una disminución de su calidad de vida (Angeli y col., 2018; Piano, Tonon y Angeli, 2018). Por otra parte, la encefalopatía es una de las complicaciones que se producen, debida predominantemente a las complicaciones de la hipertensión portal,

donde el pronóstico de la cirrosis se deteriora progresivamente (Kockerling y col., 2019).

Destacar que numerosos estudios demuestran la participación de la inmunidad innata a través de las células NK, junto con otros linajes celulares hepáticos en el desarrollo y control de los procesos de fibrogénesis hepática. En cuanto a las combinaciones KIR-HLA han demostrado su importancia en la susceptibilidad y resistencia a enfermedades de etiología infecciosa, autoinmune, cáncer, así como con complicaciones en la reproducción humana y, estudios recientes sugirieron su papel en la inmunopatología hepática (Carrington y Martin, 2005; Legaz y col., 2013).

Por lo tanto, se han propuesto los siguientes objetivos:

1. Determinar los parámetros clínicos y características sociodemográficas en pacientes con cirrosis alcohólica que desarrollan con ascitis o encefalopatía.
2. Analizar la frecuencia y distintos grados de ascitis y encefalopatía en la población de pacientes con cirrosis alcohólica.
3. Estudiar la influencia de los genes KIR y HLA-C en pacientes cirróticos alcohólicos que desarrollan ascitis o encefalopatía, estableciendo una comparación con una población control sana.
4. Conocer si existe alguna relación entre los receptores KIR y sus ligandos (moléculas de HLA-C) que condicionen el desarrollo de cirrosis alcohólica en presencia y ausencia de ascitis o encefalopatía.
5. Analizar las principales causas de muerte del paciente con cirrosis alcohólica según la influencia de los genes KIR.
6. Estudiar la supervivencia de los pacientes según la presencia o ausencia de los genes KIR.

Si se confirma el papel de los genes KIR y HLA-C como dianas moleculares de susceptibilidad o de protección a través de su expresión como receptores KIR y sus ligandos HLA-C, interviniendo en los procesos de control y desarrollo de ascitis y encefalopatía en el paciente alcohólico, se podrían desarrollar tratamientos farmacológicos personalizados dirigidos a la modulación de estas moléculas en estos pacientes, y por otra parte, sería posible establecer protocolos de información, asesoramiento y prevención para el paciente alcohólico, con la intención de evitar en el

futuro el desarrollo de complicaciones en pacientes con cirrosis alcohólica que pudiesen influir en su supervivencia.

Pacientes y Métodos

3. PACIENTES Y MÉTODOS

1. Pacientes y controles

En esta tesis, se seleccionaron a 303 pacientes con CA del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, entre los años 1988 y 2013, a los que se realizó una revisión retrospectiva.

Posteriormente, para el desarrollo de la tesis de la cohorte de pacientes con CA (n=303), 281 eran hombres frente a 22 mujeres.

Finalmente, la serie final a estudio quedó integrada por un total de 281 pacientes varones con cirrosis hepática alcohólica, debido al bajo tamaño muestral de mujeres. Entre los pacientes analizados presentaban ascitis y encefalopatía como complicación de la cirrosis hepática alcohólica, diferenciando el grado alcanzado.

De estos pacientes, 119 (42.34%) cursaron sin ascitis asociada y 162 (57.65%) presentaron ascitis. De estos últimos, 32 (19.7%) presentaron tipo I, 66 (40.74%) tipo II y 56 (34%) tipo III.

En cuanto a la encefalopatía, del total de 281 pacientes, 190 (67.61%) cursaron sin encefalopatía asociada y 91 (32.38%) presentaron encefalopatía. De estos, 36 (39.56%) presentaron tipo I, 40 (43.95%) tipo II y 10 (10.91%) tipo III.

Para el estudio caso-control, se seleccionó un grupo control formado por un total de 319 individuos varones sanos (n=319), equiparables en edad y sexo con el grupo de pacientes. Los individuos controles sanos fueron donantes de órganos de diferentes áreas geográficas de España, con una edad media de 51.10 ± 0.38 años (media \pm EEM, error estándar de la media).

Ambos grupos de individuos (pacientes y controles) estaban formados por individuos caucásicos.

En la Figura 69, se muestra un esquema representativo de la selección del grupo pacientes.

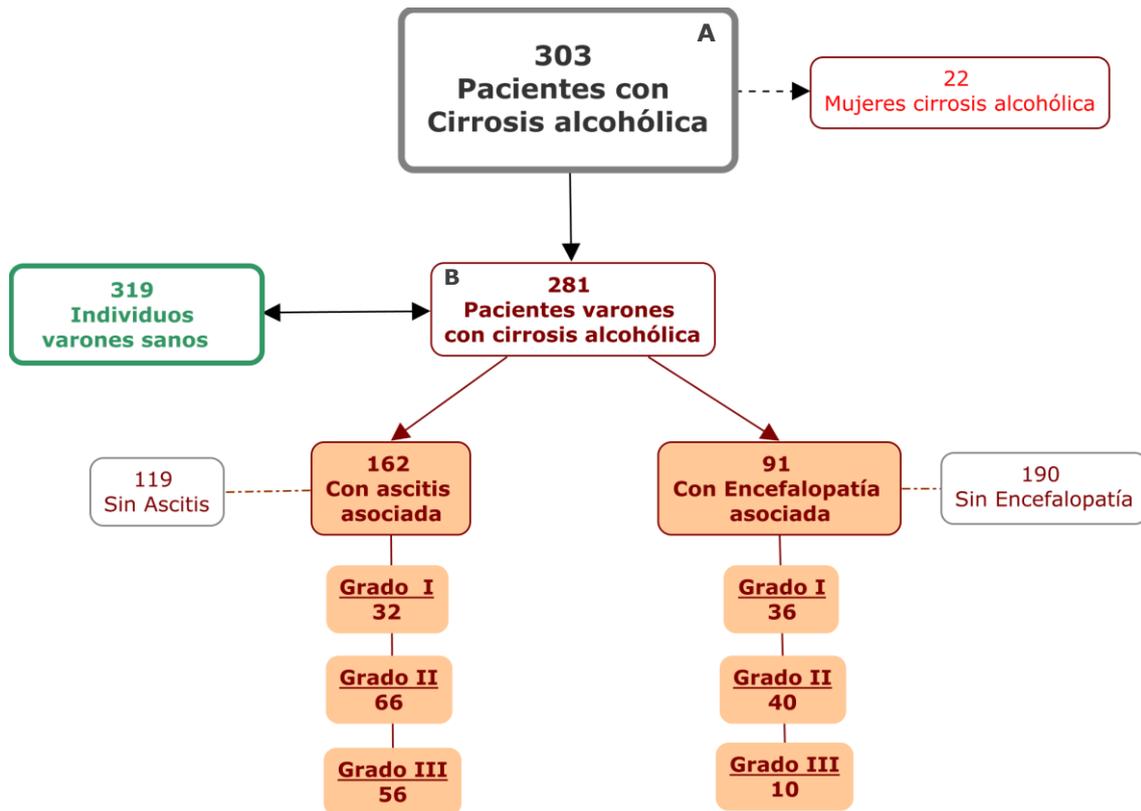


Figura 69. Esquema representativo de los pacientes con cirrosis alcohólica analizados en este estudio. **(A)** Este grupo de pacientes con cirrosis alcohólica fueron estudiados demográficamente en el capítulo I; **(B)** Este grupo de pacientes varones con cirrosis alcohólica se analizaron en el capítulo II para estudiar los genes KIR de dicha población.

Al analizar la media de edad en el total de pacientes con cirrosis alcohólica se observa una frecuencia similar de pacientes en ambos grupos con y sin ascitis y encefalopatía, siendo de 53.63 ± 0.495 (media \pm EEM).

Se obtuvo el consentimiento informado (Anexo 1) de todos los pacientes, se les entregó un documento informativo (Anexo II), y el comité ético institucional aprobó el protocolo del estudio.

2. Diagnóstico de cirrosis alcohólica

El diagnóstico de la CA se ha determinado en base a los datos recogidos de las historias clínicas de los pacientes, según parámetros clínicos, analíticos y radiológicos (Heidelbaugh y Bruderly, 2006). Aunque los datos respecto al consumo de alcohol, se

confirmaron mediante familiares o amigos, ya que la información proporcionada por el paciente podría haberse infraestimado o, simplemente imprecisa.

Debido al curso clínico de la cirrosis hepática, en la que las fases iniciales pueden ser asintomáticas o haber manifestaciones clínicas inespecíficas a causa de una compensación, el diagnóstico de algunos de los pacientes de este estudio fue causal tras la realización de un TAC o una ecografía, o incluso a partir de una analítica que mostraba datos sugestivos de hepatopatía. En otros casos, no se diagnosticó la enfermedad hasta el comienzo de la segunda etapa de cirrosis, llamada “cirrosis descompensada”, en la que comienzan a aparecer síntomas derivados de diversas complicaciones (ascitis, hemorragia digestiva alta, encefalopatía, etc.), a la que pertenecen nuestros pacientes.

3. Obtención y recogida de muestras

Se ha trabajado con muestras de sangre periférica en el paciente trasplantado, y de sangre periférica, bazo o nódulos linfáticos en los correspondientes donantes.

La sangre extraída fue recogida en tubo estéril Vacutainer con el anticoagulante ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), tal y como se muestra en la Figura 70.



Figura 70. Tubo vacutainer con anticoagulante EDTA.

En la extracción de células a partir de muestras de nódulos linfáticos o bazo se utilizó los siguientes materiales:

- Pinzas
- Placa de Petri
- Bisturí
- Suero fisiológico

- Pipetas Pasteur de plástico
- Pipetas de 10 ml
- Tubos de 15 y 50 ml estériles
- 20 Criotubos
- Medio de cultivo cardio-condicionado.
- Dimetilsulfoxido (DMSO)

Y se siguió el siguiente procedimiento para la obtención y separación de células para el proceso de extracción:

1. Colocar el bazo en una placa de Petri, y añadir suero fisiológico para evitar su desecación.
2. Mediante el uso del bisturí cortar el bazo en tramos de espesor de 2-3 cm.
3. Colocar, uno a uno, cada trozo cortado a otra placa de Petri, para añadir suero fisiológico y presionar el trozo con el bisturí para provocar la salida de las células.
4. Mediante una pipeta Pasteur de plástico, transportar la mezcla de células a un tubo de 50ml, y completar con suero fisiológico hasta unos 40 ml de volumen aproximadamente.
5. Añadir 15 ml de Ficoll en un tubo estéril de 50 ml.
6. Añadir el suero con las células, muy lentamente, de manera que se produzca el deslizamiento de la mezcla de células por la pared del tubo, sin que se produzca mezcla y la rotura de la interfase.
7. Centrifugar a 1800 rpm, 25 minutos, a temperatura ambiente.
8. Trasferir el de la interfase, conteniendo las células, a los tubos de 15 ml estériles. Completar volumen con suero fisiológico (Usar en este proceso una pipeta Pasteur estéril).
9. Centrifugar a 2000 rpm, 10 minutos, a temperatura ambiente.
10. Eliminar el sobrenadante por sustracción al vacío, disgregar el botón celular y resuspender en 1 ml de suero salino y después completar volumen.
11. Volver a centrifugar, a 1800 rpm, 10 minutos, a temperatura ambiente.
12. Repetir el procedimiento anterior de lavado dos veces. Eliminar el sobrenadante por vacío, disgregamos el pellet y añadimos el medio de cultivo cardio-condicionado hasta un total de 3 lavados.

13. Resuspender en 10 ml de medio de cultivo cardio-condicionado. Coger 100 μ l para proceder a contar las células. Poner el botón celular en 1 ml de medio de cultivo cardio-condicionado y completar hasta 10 ml. Contar las células y referenciarlas a número de células/ml.
14. Pasar estos 10 ml a un tubo de 50 ml y añadir 10 ml de DMSO gota a gota sin dejar de agitar el tubo (en hielo).
15. Rotular previamente estos 20 tubos con la leyenda: Bazo nº, Fecha, nº de cels x 10^6 .
16. Repartir el contenido del tubo de 50 ml en los 20 tubos de congelación rotulados (se reparte un total de 20 ml, 1 ml por cada tubo de congelación).
17. Guardar los 20 tubos en una gradilla de corcho en un congelador a -80°C .
18. Al día siguiente transferir a nitrógeno líquido.

Todo el procedimiento (manipulación de sangre, bazo y ganglios linfáticos) se realiza bajo condiciones de esterilidad, en una campana de flujo laminar usando material autoclavado, con guantes y equipamiento de protección adecuado, ya que toda muestra se considera potencialmente peligrosa, además de la posibilidad de hacer análisis funcionales posteriores.

4. Extracción de ADN

La extracción de ADN se llevó a cabo mediante un proceso automático de extracción con Maxwell® 16 System (Figura 71), compuesto por Maxwell® 16 Blood DNA (nº de cal. AS1015) y Maxwell® 16 Instrument (nº de cal. AS3050, AS2050). Este sistema se utiliza para aislar el ADN de forma automatizada en muestras de sangre total y capa leucocitaria humanas, usando como principio de separación la lisis celular y la unión de ADN a partículas de sílice magnetizadas.

La extracción de DNA se realiza cada 16 muestras. El procedimiento a seguir es el siguiente:

1. Colocar los cartuchos (del inglés "*cartridges*") necesarios en la bandeja numerada del 1- llevando un control de las muestras de sangre colocadas, previamente identificadas.
2. Retirar el plástico que cubre cada cartucho e insertar un tubo especial (del inglés

“plunger”) en el pocillo 7 de cada cartucho.

3. Transferir 400 µl de sangre de la muestra al pocillo número 1 del cartucho correspondiente mediante un micropipeta automatizada.

4. Colocar los tubos de elución en la bandeja y añadir a cada uno 300 µl de tampón de elución.

5. Encender la máquina y seguir la siguiente sucesión: presionar "Run/Stop", "ONA" y de nuevo, "Run/Stop". Posteriormente "Blood/cells" y finalmente "Run/Stop".

6. Verificar las opciones elegidas y si todo esta correcto presionar "Run/Stop"

7. Extraer la bandeja y colocar en ella, en orden, los cartuchos y los tubos de elución correspondientes y presionar "Run/Stop" comenzando el programa de extracción de ADN.

El proceso tiene una duración de 36 minutos. Una vez finalizado, sacar la bandeja presionando "Run/Stop" para obtener los tubos de elución y colocarlos en su bandeja correspondiente magnetizada. Los cartuchos utilizados se desechan en una bolsa indicada para su posterior incineración y se limpia la bandeja con alcohol al 70%.

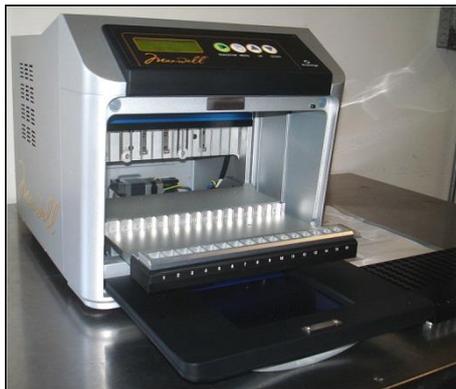


Figura 71. Sistema de extracción de ADN Maxwell (Extraída de Labx, s. f.).

El extracto de ADN obtenido se almacena en tubos eppendorf debidamente etiquetados que se guardan a -20°C para su posterior utilización.

5. Cuantificación de ADN

Para determinar la cantidad y la pureza del ADN extraído se utilizó el sistema de cuantificación NanoDrop One (Thermo Scientific) (Figura 72), que proporciona una precisa y simple estimación de una muestra.



Figura 72. Sistema de cuantificación de ADN NanoDrop One (Extraída de Thermofisher scientific, s. f.)

Este espectrofotómetro capilar cuantifica la absorbancia del ADN a 260 nm, que se utiliza para calcular la concentración de ADN, teniendo en cuenta que 1 unidad de densidad óptica equivale a 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de ADN. La pureza de la muestra la determina directamente, calculando el cociente de absorbancia a 260nm/280nm y 260nm/230nm, obteniendo resultados en órdenes de medida de concentración de DNA en $\text{ng}/\mu\text{I}$.

Los resultados de ambos cocientes deben de estar alrededor de 1,8 para que el ADN cuantificado sea puro, valores inferiores indican que la muestra está contaminada con proteínas y ácidos nucleicos, respectivamente.

El procedimiento a seguir para la cuantificación del ADN por NanoDrop One es el siguiente:

1. Encender NanoDrop One y seguir el procedimiento para "dsDNA" (DNA de doble cadena).
2. Limpiar el pedestal donde será depositada la muestra con 5 μl de agua destilada sobre el pedestal, secados posteriormente suavemente con un papel que interfiera con la medida.

3. Realizar un blanco a partir de 1 µl de agua destilada en el pedestal.
4. Secar y proceder con las medidas de las muestras: depositar en el pedestal 1,2 µl de la muestra de ADN a cuantificar, cerrar la tapa y seleccionar la opción "Medir". Secar el pedestal entre medidas.
5. Al finalizar, se realiza la medida de 1,2 µl de agua destilada para comprobar que los resultados que hemos obtenidos son coherentes, se limpia el pedestal y se guardan los resultados obtenidos seleccionando "Fin del experimento".

6. Análisis de los genes *KIR*

El análisis de genes *KIR* en pacientes con CA y controles sanos de este estudio se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa de secuencias específicas de oligonucleótidos (PCR-SSO, del inglés *polymerase chain reaction- Sequence-Specific Oligonucleotide*).

La técnica de biología molecular PCR-SSO, se realizó mediante tecnología Luminex® (*Tepnel Lifecodes*, Stamford, CT, USA), con el equipo que se muestra en la Figura 73.



Figura 73. Luminex® technology. Analiza los resultados mediante el programa QuickType software (versión 3.5).

El método es capaz de identificar la presencia de los genes *KIR* *KIR2DL1-5* inhibidores, *KIR3DL1-3* y *KIR2DS1-S5* activadores, así como a los genes *KIR3DS1* y *KIR2DL4*, y los pseudogenes *KIR2DP1* y *KIR3DP1*. Además, permite conocer determinadas formas alélicas de *KIR2DS4*. Los genes *KIR2DL5A* y *KIR2DL5B* no pudieron ser discriminados con estos sistemas de tipaje.

6.1. Análisis de los genes KIR por PCR-SSO en tecnología Luminex®

El fundamento del procedimiento de tipificación mediante tecnología Luminex (*Tepnel, Life codes*) se basa en la hibridación con sondas de oligonucleótidos específicos de secuencia del ADN monocatenario.

Cada sonda puede ser homóloga de una secuencia del ADN amplificado de forma exclusiva para un alelo o grupo de alelos. Ya que, cada una de las sondas se han creado para hibriden preferentemente con una región complementaria, que puede o no estar presente en el ADN amplificado. Además, el ADN amplificado hibrida también con una o más sondas de consenso homólogas a secuencias presentes en todos los alelos de un locus.

El tipo de material biológico, el método de purificación y la cantidad e integridad del ADN genómico pueden afectar a la tipificación con este método. Por lo tanto, la señal obtenida con la(s) sonda(s) consenso puede servir de indicador del éxito de la amplificación e hibridación. De igual forma, puede utilizarse para normalizar la señal de las sondas alelo específico y efectuar los ajustes necesarios según las variaciones de la cantidad de producto amplificado en la reacción de hibridación.

El análisis de los resultados de la tipificación puede aplicarse para determinar la presencia o ausencia de secuencias concretas de ADN en el producto amplificado que permiten identificar los posibles alelos en la muestra.

6.1.1. Fundamento de la técnica

Las sondas se unen a microesferas Luminex, que son ideadas para utilizarse con el equipo. Se pueden llegar a mezclar hasta 100 poblaciones diferentes de microesferas Luminex. Cada una de ellas emite un color de fluorescencia característico, que las permite diferenciarla entre sí. A cada microesfera de color puede unirse una sonda diferente. Por lo tanto, en una mezcla compuesta por varias sondas es posible analizar y distinguir unas de otras por su unión a microesferas de un color determinado.

El equipo Luminex Instrument también mide las cantidades relativas de producto de PCR marcado que hibrida con cada microesfera Luminex. Así, al igual que ocurre con otros métodos SSO, la señal relativa obtenida con las sondas SSO en el ensayo

(LIFECODES) puede utilizarse para asignar a las sondas una reactividad positiva o negativa con la muestra de ADN amplificado. Esto, a su vez, ofrece la información necesaria para determinar el genotipo KIR de la muestra.

Los materiales utilizados para realizar el genotipado de KIR mediante Luminex® fueron:

- Equipo de genotipaje de KIR que incluye: primers (K1 y K2), tampón de dilución, los *beads* (microesferas) y estreptavidina.
- Micropipetas y puntas estériles.
- Tubos de PCR
- Etanol al 70%
- Termociclador
- Agua libre de nucleasas
- Taq proteasa (*Hot Start*) de Promega
- Solución emulsionante
- Placas de 96 pocillos de lectura
- Tubos eppendorfs de 1,5 ml estériles

6.1.2. Protocolo de PCR-SSO

Se procede en el siguiente orden:

A) Amplificación del ADN

Se calcula la cantidad de cada uno de los reactivos necesarios, según la cantidad de muestras y del locus a analizar. Se producen dos reacciones para la amplificación, según las mezclas de cebadores (Tabla 27).

Tabla 27. Amplificación del ADN mediante la utilización de dos cebadores

Cebador Mix 1. Amplificaciones de los exones (del 4 al 11) de los genes KIR										
3DP1	2DS2	3DS3	2DS5	2DP1	3DS1	3DL1	2DS1	2DL1	2DS4	2DL2*1-3
Cebador Mix 2. Amplificaciones de los exones (del 5 al 8 de 7) de los genes KIR										
3DL3	2DL2	3DL2	2DL4	2DS4*003	2DL3	2DL5				

La mezcla de cebadores (master mix) se prepara según se resume en la Tabla 28.

Tabla 28. Concentraciones de los reactivos para realizar una master mix

Nº muestras	Master mix (primers)	Muestra (ADN)	TAQ	H ₂ O sin nucleasas
1	3µl	1µl (50ng/µl)	0,1µl	5,9µl

Se realiza todo por duplicado, para corregir errores de manipulación con la pipeta. La concentración de ADN de las muestras se debe ajustar a un valor entre 30 y 50 ng/µl mediante diluciones.

Posteriormente, se procede de la siguiente forma:

1. Mezclar mediante agitador (tipo vortex) tanto las muestras como las Master mix.
2. Preparar las mezclas (MIX) según la Tabla 28.
3. Añadir 1µl de ADN a cada pocillo (por duplicado).
4. Añadir 9 µl de MIX a cada tubo (que ya contiene la muestra).
5. Meter los tubos/placa en el Termociclador, rotulados previamente. Comprobar el cierre de cada tubo.
6. Programar y realizar de amplificación en modo PCR según condiciones establecidas (Tabla 29).

Tabla 29. Programa de amplificación por PCR

Temperatura	Tiempo	Ciclos
95°C	2 min	1
94°C	30 seg	40
59°C	90 seg	
72°C	30 seg	
72°C	15 min	1
4°C	∞	

B) Hibridación

1. Pre-calentar las esferas a 55-60°C durante 5-10 min.

2. Pasar las esferas por el ultrasonido durante 1 minuto.
3. Agitar las esferas.
4. Añadir a cada pocillo de la placa de lectura 2.5 µl de ADN amplificado y 7.5 µl de esferas. Los 2,5 µl de ADN estarán previamente añadidos en los pocillos.
5. Agitar las esferas después de ser añadidas a cada fila de ocho pocillos.
6. Sellar bien la placa con una pegatina antes de meterla al termociclador.

Realizar doble mezcla, ya que las muestras van por duplicado (K1 y K2).

C) Lectura de resultados

Los resultados se analizan mediante el programa Quick-Type (versión 3.5).

7. Proceso de hibridación:

Las muestras hibridan en el termociclador a 56° durante 20 minutos. Al terminar los 20 minutos de hibridación y manteniendo la placa en el termociclador a esa temperatura, preparar la mezcla de la solución de dilución y la estreptavidina para (n+1) muestras.

8. Añadir 100 µl de solución de dilución 0,4 µl estreptavidina a cada pocillo.
9. Sacar de forma inmediata las muestras del termociclador.
10. Meter las muestras en el analizador (que estará previamente encendido al menos una hora antes).

Los resultados obtenidos pueden ser observados en el Anexo III (Modelo de informe de Luminex®).

7. Análisis de los genotipos KIR

Un individuo concreto porta un repertorio genes KIRs que constituye su “genotipo KIR”, y es variable de un individuo a otro. En este estudio, los genes KIR han sido analizados de manera general, teniendo en consideración la presencia o ausencia de cada uno de los 16 genes, y de manera especial, teniendo en cuenta algunas combinaciones entre ellos. Ambos tipos de análisis se describen a continuación.

7.1. Análisis de genotipos KIR específicos

Los genotipos específicos KIR fueron definidos y clasificados utilizando como referencia la clasificación numérica establecida en la web de frecuencias de alelos («The Allele Frequency Net Database - Allele, haplotype and genotype frequencies in Worldwide Populations», s. f.) de tal manera que cada genotipo fue nombrado según el número de genotipo (ID) definido por esta web. Para su clasificación ID se tuvieron en cuenta los dos pseudogenes (KIR2PD1 y KIR3DP1).

7.2. Análisis de genotipos KIR generales

Se distinguen según el haplotipo KIR A y B, y se asignan tres genotipos: AA, AB, y BB a cada persona (Middleton y col., 2003).

Los individuos portadores solamente de genes del haplotipo A, tales como KIR3DL3, 2DL3, 2DL1, 2DP1, 3DP1, 2DL4, 3DL1, 2DS4, 3DL2 se consideran homocigotos para dicho haplotipo y por lo tanto clasificadas como genotipo AA (Middleton y col., 2003). Por otra parte, los individuos que carecían de los genes KIR2DL1, 2DL3, 3DL1, y 2DS4, se consideraron como portadores homocigotos del haplotipo B clasificando al individuo con el genotipo BB.

El resto de individuos fueron considerados portadores heterocigotos de ambos haplotipos (genotipo AB).

Por lo tanto, los individuos con el genotipo AB poseen los nueve genes del haplotipo A, así como uno o más genes específicos del haplotipo B (KIR2DL2, 2DL5, 2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS5 y 3DS1).

En algunos de los análisis realizados en este estudio, los genes KIR se han ordenado y clasificado según su posición centromérica y telomérica (Hou y col., 2012; Pyo y col., 2010).

8. Genotipado de ligandos HLA-C de clase I

La tipificación de los alelos que son ligandos HLAC de clase I se ha realizado por la técnica de PCR-SSO y por PCR-SSE reversa.

8.1. Genotipado de HLA-C por PCR-SSO

El genotipado de alelos de HLA-C clase I (A, B, C) fue llevado a cabo por la técnica de luminex de reacción en cadena de la polimerasa, usando oligonucleótidos específicos de secuencia (PCR-SSO), mediante tecnología *Luminex*® y *Dynal Biotech* (ASA, Oslo, Noruega). Esta técnica permite identificar el dimorfismo en la posición 80 de la hélice- α 1 de los alelos de este locus.

Los alelos HLA-C fueron asignados a dos grupos principales: C1, para los alelos HLA-C*01, C*03, C*07, C*08, C*12, C*14 y C*16:01 que presentan el aminoácido asparagina en la posición 80 de la hélice- α 1, y C2, para los alelos HLA-C*02, C*04, C*05, C*06, C*15, C*16:02, C*17 y C*18 que presentan el aminoácido lisina en la posición 80 de la hélice- α 1.

Los aminoácidos asparagina (Asn) o lisina (Lys) en posición 80 de la hélice- α 1 de la molécula de HLA-C determinan que los distintos alelos de HLA-C actúen como ligandos de los receptores KIR2DL2/3/S2 o de los KIR2DL1/S1 y se puedan clasificar en dos grupos de alelos HLA-C (HLA-C1 y HLA-C2).

Considerando estos grupos de alelos HLA-C, tanto receptores como donantes se clasificaron en: C1/C1 homocigotos, individuos que solo portaban alelos del grupo C1, C2/C2 homocigotos, individuos portadores de alelos del grupo C2, e individuos C1/C2 heterocigotos, que eran portadores de alelos de HLA-C de ambos grupos (Moya-Quiles y col., 2003; López-Alvarez y col., 2009). En este estudio, hay algunos pacientes sin tipar su HLA-C.

8.2. Análisis de genotipaje de HLA-C por PCR-SSO reversa

La técnica de PCR-SSO reversa determina el genotipo de HLA-C a través de tres procesos, representados en la Figura 74:

- 1) Amplificación de una región del ADN específica del locus mediante PCR, en este caso HLA-C.
- 2) Hibridación del segmento amplificado con sondas de oligonucleótidos de secuencia específica inmovilizadas en una membrana de nylon (soporte sólido).

3) Detección del producto amplificado unido a la sonda mediante método colorimétrico.

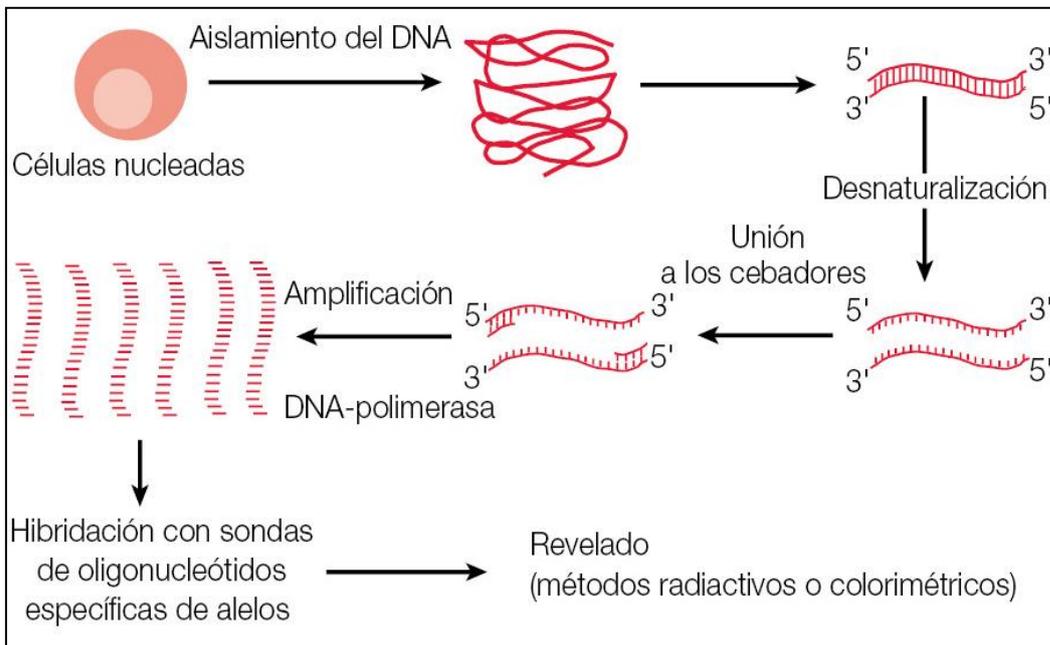


Figura 74. Esquema del tipaje de HLA-C mediante PCR-SSO reversa. Esta prueba consiste en la obtención de una pequeña cantidad de ADN utilizando una ADN-polimerasa, en ciclos repetidos de desnaturalización para conseguir la separación de las hebras de ADN, y de síntesis de la cadena complementaria, que forma millones de copias. Tras este proceso se utilizan sondas de oligonucleótidos específicos de diferentes alelos HLA para detectar las especificidades alélicas presentes en el ADN estudiado (Figura extraída de López, Ruiz, San y Rodrigo, 2019).

Las microesferas llevan fijadas las sondas de ADN características. Tras la amplificación por PCR, el ADN a estudio se hibrida a una microesfera, y se marca con un fluorocromo. Dado que cada microesfera tiene un color característico, la combinación del color específico de la esfera y del fluorocromo del ADN permite la lectura mediante un citómetro de flujo, la cual será interpretada por el programa de tipado (Erlich y col 2001). Este proceso se muestra en la Figura 75.

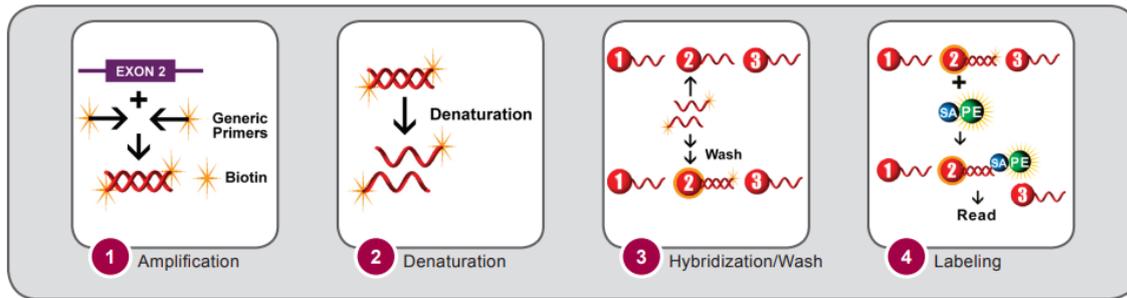


Figura 75. Proceso del genotipado de HLA-C por PCR-SSO reversa (Extraída de Rafer, 2019).

El análisis de los alelos de HLA-C se realiza utilizando el kit HLA-C Dynal RELI-SSO (Invitrogen, Carlsbad, California, EE.UU.), mediante la técnica de PCR-SSO reversa, en la que se utilizan los siguientes materiales:

1. Mezcla principal para HLA-C: es una solución de Tris- HCL que contiene glicerol al 30%, KCL 100mM, dATP, dCTP y dGTP a 400 uM, dUTP 800uM, cebadores biotinilados (0,5 uM), AmpliTaq® (Taq DNA polimerasa) 100u/ml y azida sódica al 0,05 % como conservante.
2. Tiras reactivas que contienen sondas de oligonucleótidos con las secuencias específicas de los alelos HLA-C fijadas en una membrana de nylon.
3. Solución de dodecil sulfato sódico al 20% con ProClin® 150 al 1,0% como conservante (concentrado SDS).
4. Solución de 6,0 mM MgCl₂ con ProClin® 300 al 1% como conservante.
5. Conjugado estreptavidina-peroxidasa de rábano (HRP) en una solución ACES con NaCl y ProClin® 150 al 1,0% como conservante.
6. Solución de desnaturalización con EDTA al 3%, hidróxido de sodio al 1,6% y azul de timol.
7. Solución de citrato con un 0,01% de H₂O₂ y 0,1% de ProClin® 150 al 1,0% como conservante (sustrato A).
8. Solución de fosfato sódico con NaCl, EDTA y ProClin® 150 al 1,0% como conservante (concentrado SSPE).
9. Solución de 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) al 0,1% en dimetilformamida (DMF) al 40% (sustrato B).
10. Solución de citrato de sodio.

La técnica para la realización del tipado de HLA-C por PCR-SSO reversa consiste en los siguientes pasos:

8.2.1. Reacción de amplificación

Se prepara una mezcla de los componentes para la PCR en cantidad suficiente teniendo en cuenta el número total de muestras a analizar, más un exceso de dos. A cada tubo de PCR se le añade la mezcla de reactivos más el ADN a estudio, en las cantidades reseñadas en la Tabla 30.

Tabla 30. Volumen de los reactivos utilizados en la amplificación por PCR.

Componentes en la PCR	Solución 6,0 mM MgCl ₂	Mezcla principal	ADN
Volumen	15 µL	30 µL	15 µL

El ADN utilizado fue el extraído según se indica en el apartado 6, obteniendo una concentración entre 90-150 µg/ml.

Una vez preparadas las muestras, se introducen en un termociclador 9600 Perkin-Elmer (Waltham, Massachusetts, EE.UU.) o Gene Amp® PCR System 9700 (Applied Biosystems, Foster City, California, EE.UU.) donde se produce el proceso de amplificación con las condiciones descritas en la Tabla 31.

Tabla 31. Condiciones de amplificación de los alelos del locus HLA-C.

Temperatura	Tiempo	Paso	Ciclos
95°C	15 seg	1	35
60°C	45 seg	2	
72°C	15 seg	3	
72°C	5 min	1	1
4°C	-	1	1

La amplificación se lleva a cabo mediante el siguiente procedimiento: se calienta a 95°C, la mezcla de reactivos para PCR que contiene la muestra de ADN, que produce la separación de la doble hélice y expone las secuencias complementarias a la de los cebadores. Al enfriarse la mezcla, los cebadores biotinilados se alinean con las secuencias que reconocen.

La Taq (polimerasa recombinante termoestable) extiende, en presencia de un exceso de desoxinucleótidos trifosfato (dNTPs), los cebadores alineados a las secuencias complementarias hasta producir una secuencia de ADN biotilado denominada amplicón.

Este proceso se repite durante 35 ciclos en cada uno de los cuales se duplica la cantidad de ADN con la secuencia buscada.

8.2.2. Reacción de hibridación

A continuación, se pretende la desnaturalización química de los amplicones para obtener ADN de cadena simple.

Para ello se añaden 60 µL de la solución de desnaturalización y se incuba durante, al menos, 10 minutos.

En una bandeja de 48 pocillos, se colocan las tiras de tipificación de HLA-C con 60 µL del amplicón desnaturalizado de cada muestra. La bandeja se colocó en un equipo DynalAutoRELI™ lo que permitió automatizar el proceso, que consistió en los pasos que se describen a continuación:

- Adición del tampón de hibridación e incubación durante 30 minutos a 50°C con agitación constante.
- Aspiración del tampón de hibridación tras la incubación.
- Lavado de las muestras con tampón de lavado (dos veces).
- Adición de la solución de conjugado de trabajo (tampón de lavado y estreptavidina) e incubación durante 15 minutos.
- Aspiración de la solución de conjugado de trabajo.
- Lavado de las muestras con tampón de lavado (dos veces).
- Adición del tampón de citrato e incubación durante 5 minutos.
- Aspiración del tampón de citrato.
- Lavado con agua desionizada (dos veces).

8.2.3. Reacción de detección

Tras concluir el proceso de hibridación se revelan las tiras con estreptavidina-peroxidasa y se observan las bandas azules con distinta intensidad de color según la hibridación producida entre las sondas de oligonucleótidos de secuencia específica y el ADN a estudio. La lectura de las tiras se realizó mediante un escáner y la interpretación de los resultados con el software Dynal RELI™ SSO.

En la Figura 76, se puede observar una representación de este proceso.

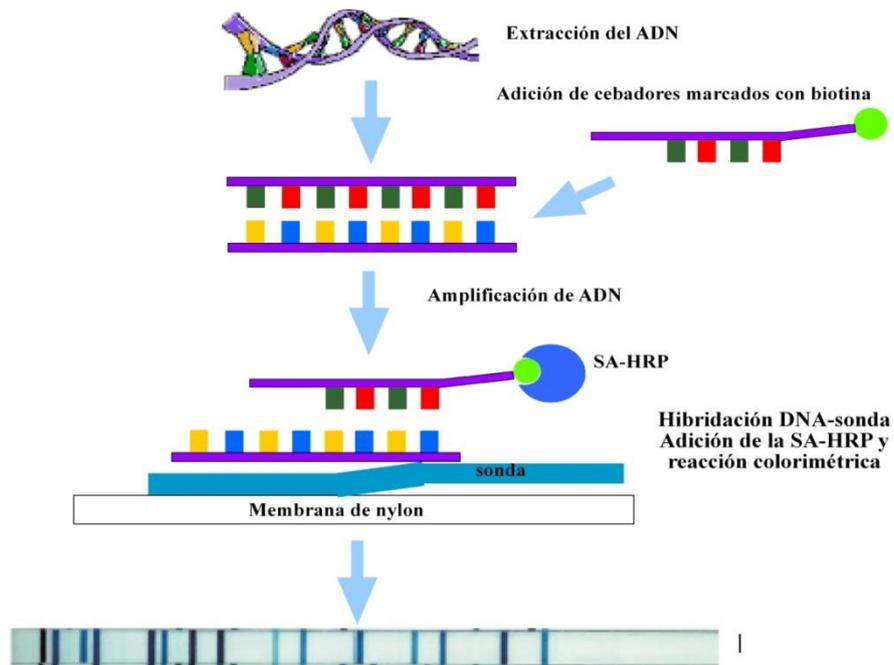


Figura 76. Esquema del tipaje de HLA-C mediante PCR-SSO inversa

8.3. Genotipado de HLA-B

El genotipaje de HLA-B se realiza mediante la técnica de PCR-SSP (Reacción en cadena de la polimerasa con cebadores de secuencia específica del inglés, “*Polymerase chain reaction- Sequence-Specific primers*”). Para la amplificación se tienen en cuenta las siguientes cantidades: 60 μL de ADN de la muestra, 540 μL de D-mix y 3 μL de Taq DNA polimerasa.

Tras agitar la mezcla, se dispensan 10 μL en cada pocillo de la placa Micro SSP™ y se introducen en el termociclador 9600 Perkin-Elmer (Waltham, Massachusetts, EE.UU.) o Gene Amp® PCR System 9700 (Applied Biosystems, Foster City, California, EE.UU.), donde se llevó a cabo el proceso de PCR. Las condiciones de amplificación se resumen en la Tabla 32.

Tabla 32. Condiciones de amplificación de los alelos de los loci HLA-B

Temperatura	Tiempo	Paso	Ciclos
96°C	130 seg	1	1
63°C	60 seg	2	
96°C	10 seg	1	9
63°C	60 min	2	
96°C	10 seg	1	20
59°C	50 seg	2	
72°C	30 seg	3	
4°C	-	1	1

Posteriormente, la visualización del producto amplificado se realiza mediante electroforesis en gel de agarosa al 2,5% para lo que se utilizaron 30 ml de Tampón Tris-borato-EDTA (TBE) 1X, 0,75 gramos de agarosa y bromuro de etidio.

9. Principales causas y hora de muerte en pacientes con cirrosis alcohólica

Se determinaron las principales causas de muerte y el momento de la muerte de los pacientes con cirrosis alcohólica a partir de los certificados médicos de defunción o las autopsias hasta diez años posteriores al trasplante hepático. Además, los pacientes quedan sujetos a un seguimiento y control durante toda su vida.

La autopsia y el análisis de explantes de hígado es una práctica estándar en la valoración de la muerte. No se realizó autopsia en aquellos casos en los que la muerte era desconocida.

Con respecto a las causas de muerte, fueron la principal razón de muerte precisada por parte del médico involucrado en la atención del paciente.

Las causas de muerte se clasificaron en tres grupos principales según Arroyo y col. (1996): muerte súbita, muerte no súbita y muerte desconocida.

- La muerte súbita se define como la muerte dentro de las 24 horas del inicio de los síntomas, a menudo instantánea, cuando se tiene la certeza de la información que

consta en los registros hospitalarios, los informes médicos forenses o la práctica general.

- La muerte no súbita es registrada cuando hay pruebas claras de que la muerte se había producido en un tiempo mayor de 24 horas tras el inicio de los síntomas.
- La muerte desconocida es aquella en la que no se encontraron registros del tipo o causa de muerte.

Por otro lado, las causas de muerte se agruparon en dos grupos: hepático y no hepático; todo el ello con el objetivo de descubrir la posible influencia del hígado trasplantado sobre la causa de muerte. Por último, las causas de muerte fueron analizadas en distintos momentos tras el trasplante de hígado: ≤ 1 mes, $> 1-6$ meses y ≥ 6 meses-10 años.

10. Análisis estadístico

Los datos sociodemográficos y clínicos de los pacientes y los resultados del análisis de los genes KIR/HLA fueron recogidos en una base de datos (Microsoft Access 11.0; Microsoft corporation, Seattle, WA). El análisis estadístico fue realizado usando el SPSS 20.0 software (SPSS Inc., Chicago IL, USA). Para detectar diferencias en las frecuencias de los genes KIR, HLA y genotipos correspondientes, se utilizó el test X^2 -cuadrado y el test de Fisher de dos colas, que permitían comparar y categorizar variables entre grupos. En los casos en el que el análisis se realizó utilizando poblaciones con una muestra muy pequeña o con una evidente falta de normalidad se utilizó la prueba de Mann-Whitney. Se aplicó también un análisis multivariable de regresión logística para confirmar asociaciones positivas, y se consideró estadísticamente significativo un nivel de $P < 0.05$. La Odds Ratio (OR) y su intervalo de confianza (CI al 95%) fueron calculados para estimar el riesgo relativo. Para determinar la supervivencia se aplicó el test de Kaplan-Meier. Para establecer el pronóstico de los pacientes con CA se utilizaron tres índices: Child-Pugh, MELD (del inglés, "Model for End Stage Liver Disease") y ALBI.

Resultados

4. RESULTADOS

Este capítulo se ha centrado en el estudio de pacientes varones con ascitis. En ellos se estudió la frecuencia de los genes KIR/HLA con la presencia o ausencia de ascitis. Para ello, se comparó con un grupo de individuos sanos con la finalidad de conocer la influencia del sistema KIR/HLA en su desarrollo y adoptar las medidas preventivas en estos pacientes.

El grupo control de este estudio la conforma una población total de 319 individuos varones sanos frente a total de 281 individuos con CA. Entre la población de pacientes, 119 individuos (42.34%) no presentan ascitis frente a 162 individuos (57.65%) que sí la padecen.

1. Características demográficas y clínicas de pacientes con cirrosis alcohólica

Debido al escaso número de mujeres, éstas fueron excluidas del estudio, centrándonos en exclusivamente a la cohorte de hombres.

Una vez delimitado el sexo de los pacientes a estudiar, se igualaron en edad con los controles sanos varones, de tal manera que la población de pacientes varones con cirrosis alcohólica definitiva quedó reducida a 281 individuos, siendo el grupo de pacientes-control concordante en sexo y edad.

La media de edad del grupo de individuos varones fue de 53.63 ± 0.495 años (media \pm EEM), representada por un 92.7 % de la población. Todos estos datos se resumen en la Tabla 33.

Tabla 33. Datos demográficos de los pacientes con cirrosis alcohólica.

Parámetros		Pacientes con cirrosis alcohólica	
		Pacientes varones	Pacientes mujeres
		n (%)	n (%)
Edad media	Años \pm EEM	53.63 ± 0.495	52.98 ± 0.46
Nº de pacientes	n (%)	281 (92.7)	22 (7.3)

N, número total de pacientes; n, número de individuos en cada subgrupo. EEM; error estándar de la media

1.1. Características demográficas y analíticas del paciente con cirrosis alcohólica

A efectos de análisis, los pacientes con CA se clasificaron en dos grupos, de acuerdo a la presencia o ausencia de ascitis (n=162 y n=119, respectivamente) y según la presencia o ausencia de encefalopatía (n= 90 y n=190, respectivamente).

En la Tabla 34, se ofrece un resumen de las características demográficas y clínicas de los pacientes incluidos en esta serie según la presencia o ausencia de ascitis y encefalopatía.

a) Presencia de ascitis

La presencia o ausencia de **ascitis** se pudo examinar en un total de 281 pacientes, siendo más frecuente en los pacientes con cirrosis alcohólica con un 57.7% (n=162), mientras que un 42.3% de pacientes cirróticos no la presentaron (n=119). El valor medio de edad fue de 53.91 ± 0.644 (años \pm EEM) en los pacientes con ascitis, obteniéndose valores muy similares en los pacientes sin ascitis 53.24 ± 0.775 (años \pm EEM).

Cuando se estudió el grado de ascitis en el total de pacientes se observó que el 43.2% (n=66) de los pacientes con cirrosis alcohólica presentaba ascitis de grado II, un 36.1% (n=56) de los pacientes tenía ascitis de grado III y solamente un 20.7% (n=32) desarrolló ascitis de grado I. Como se observa en la Tabla 34, las diferencias fueron estadísticamente significativas (OR=0.349; 95% IC: 0.212-.0.574, P<0.001).

La cifra de individuos que presentan ascitis según el grado de ascitis se reduce con respecto al total de 281 pacientes varones con cirrosis alcohólica, ya que en alguno de los casos, no se pudo conocer este dato de la historia clínica del paciente.

b) Presencia de encefalopatía

La presencia o ausencia de **encefalopatía** en los pacientes con cirrosis alcohólica, también fue analizada en este estudio en un total de 281 pacientes. Del total de éstos, el 32.3% (n=91) presentaba encefalopatía y un 67.6% (n=190) no la desarrollaron (Tabla 34). Los pacientes con encefalopatía mostraron una edad media de 55.37 ± 0.838 (años

\pm EEM) mayor en comparación a los pacientes sin encefalopatía 52.79 ± 0.604 (años \pm EEM) siendo la diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.001$).

Posteriormente se evaluó el grado de encefalopatía y se observó que el 41.9% de los pacientes analizados presentaban encefalopatía grado I, un 46.5% ($n=40$) presentaban una encefalopatía de grado II y el restante 11.6% ($n=10$) tenían un grado III. Las comparaciones realizadas del grupo con encefalopatía de grado II con el resto de grupos mostraron diferencias significativas (OR=0.157; 95% IC: 0.072-.0.342, $P < 0.001$).

Tabla 34. Caracterización de la población de estudio.

		Pacientes varones con cirrosis alcohólica	
		Variables demográficas	
		n (%)	Edad media (Años \pm EEM)
		281 (92.7)	53.63 \pm 0.495
Variables clínicas	P (+/-)		
Ascitis	+	162 (57.7)	53.91 \pm 0.644
	-	119 (42.3)	53.24 \pm 0.775
Grado de Ascitis	I	32 (20.7)	53.22 \pm 1.381
	II	67 (43.2)^a	52.73 \pm 1.001
	III	56 (36.1)	56.21 \pm 1.074
Encefalopatía	+	91 (32.3)	55.37 \pm 0.838
	-	190 (67.6)	52.79 \pm 0.604
Grado de encefalopatía*	I	36 (41.9)	53.36 \pm 1.356
	II	40 (46.5)^b	56.95 \pm 1.097
	III	10 (11.6)	57.00 \pm 3.432

N, número total de individuos; n, número de individuos en cada subgrupo. P, presencia (+) o ausencia (-). ; EEM: Error estándar de la media; INR; ratio internacional normalizado. El valor de P fue obtenido al comparar el grupo de pacientes sin ascitis o encefalopatía y el de ascitis o encefalopatía en individuos cirróticos. Las comparaciones fueron realizadas mediante el test exacto de Fisher de dos colas. ^a Las comparaciones fueron realizadas comparando el grupo con ascitis grado II con el resto de grupos (ascitis grado I y III); OR=0.349; 95% IC: 0.212-.0.574, $P < 0.001$. ^b Las comparaciones fueron realizadas comparando el grupo con encefalopatía de grado II con el resto de grupos (encefalopatía grado I y III); OR=0.157; 95% IC: 0.072-.0.342, $P < 0.001$. *No se ha incluido el grado IV en la tabla por no haber encontrado ningún paciente con ese estadio.

1.2. Características bioquímicas del paciente con cirrosis alcohólica que desarrolla ascitis o encefalopatía

Se han estudiado un total de nueve parámetros bioquímicos en pacientes con cirrosis alcohólica que desarrolla ascitis (Tabla 35) y encefalopatía (Tabla 36).

Tabla 35. Parámetros bioquímicos de pacientes varones con cirrosis alcohólica y ascitis asociada según su grado previos al trasplante hepático

Parámetros	Valores normales	Pacientes varones con cirrosis alcohólica			Tipos de ascitis				
		Pacientes totales	Con Ascitis	Sin Ascitis	P1	Ascitis Tipo I	Ascitis Tipo II	Ascitis Tipo III	P2
		N=281	N=162	N=119		N=91	N=190	N=190	
		n	n	n	n	n	n	n	
Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD			
Creatinina (mg/dl)	0.7 – 1.2	228	155	73		30	64	55	
		1.09 ± 0.75	1.14 ± 0.81	0.99 ± 0.61	0.1614	1.01 ± 0.26	1.11 ± 1.05	1.25 ± 0.74	0.413
Albúmina (g/dl)	3.5 – 5.2	174	118	56		21	53	39	
		3.46 ± 0.66	3.34 ± 0.62	3.69 ± 0.68	0.0009	3.46 ± 0.65	3.28 ± 0.60	3.40 ± 0.63	0.455
Bilirrubina total (mg/dl)	0.05-1.2	180	124	56		25	52	41	
		3.15 ± 4.15	3.33 ± 4.00	2.74 ± 4.47	0.3785	2.62 ± 1.78	2.87 ± 2.39	4.42 ± 6.14	0.3785
GOT (U/l)	5 – 40	172	119	53		20	52	41	
		97.44 ± 189.61	88.15 ± 101.21	118.30 ± 307.14	0.3371	62.10 ± 47.54	102.36 ± 128.92	84.34 ± 83.10	0.114
GPT (U/l)	5- 41	174	120	54		21	52	41	
		74.35 ± 158.57	66.60 ± 100.49	91.55 ± 242.83	0.3384	72.90 ± 168.28	69.50 ± 89.13	60.43 ± 73.56	0.877
FA (U/l)	40 – 130	163	112	51		20	49	37	
		175.28 ± 114.61	176.41 ± 110.41	172.80 ± 124.45	0.0153	155.65 ± 62.95	178.12 ± 121.85	163.32 ± 88.39	0.655
GGT (U/l)	10 – 71	161	111	50		19	50	37	
		103.07 ± 91.75	99.90 ± 95.66	110.10 ± 82.88	0.5156	75.42 ± 58.33	108.06 ± 92.82	93.13 ± 104.53	0.405
INR	0.9-1.2	215	148	67		30	59	55	
		1.44 ± 0.35	1.46 ± 0.34	1.38 ± 0.38	0.1251	1.38 ± 0.20	1.42 ± 0.22	1.55 ± 0.46	0.038

N, número total de individuos; n, número de individuos en cada subgrupo; SD, desviación estándar; GOT, transaminasa glutámico oxalacética; GPT, transaminasa glutámico pirúvica; FA, fosfatasa alcalina; GGT, gamma glutamil transferasa; INR, ratio internacional normalizado. Las comparaciones fueron hechas por el test de student en P1, valor de P al comparar a los pacientes con y sin ascitis. Las comparaciones fueron hechas mediante análisis de varianza en P2, valor de P al comparar a los pacientes con ascitis según su grado.

La **creatinina** (mg/dl) se determinó en un total de 228 pacientes, y sus valores quedaron dentro del rango de normalidad, establecido como 0.7-1.2, con un valor medio de 1.09 ± 0.75 mg/dl. Valores similares fueron obtenidos en los pacientes con ascitis (n=155) y sin ascitis asociada (n=73), incluso según el tipo de ascitis. Se obtuvieron resultados semejantes en los pacientes con encefalopatía (n=86) y sin encefalopatía asociada (n=142) (Tabla 35). Además, se observa un crecimiento de la creatinina a medida que la gravedad de la enfermedad aumenta, con valores elevados en los pacientes con encefalopatía de tipo III (1.77 ± 1.57 mg/dl), siendo significativo ($P=0.015$) (Tabla 36).

La **albúmina** (g/dl) fue considerada en un total de 174 pacientes, observándose que presentaba valores cercanos o menores que los establecidos para el límite inferior de la normalidad (3.46 ± 0.66 g/dl). En los pacientes con ascitis asociada (n=118) se observaron valores bastante similares, frente a los pacientes sin ascitis (n=56) cuyos valores quedaron dentro del rango de normalidad. En este caso, la comparación ambos grupos mostró diferencias significativas ($P=0.0009$) (Tabla 35). Por otro lado, entre los pacientes con (n=67) y sin encefalopatía (107) no mostraron diferencias significativas, cuyos valores eran similares a los valores de normalidad (Tabla 36).

La **bilirrubina total** (mg/dl) se determinó en 180 pacientes, y su valor medio fue de 3.15 ± 4.15 mg/dl, elevada con respecto a valores normales. En pacientes con ascitis asociada fue de 3.33 ± 4.00 mg/dl; n=56, y en los pacientes sin ascitis algo inferiores, con valores de 2.74 ± 4.47 mg/dl; n=56. No presentaron diferencias estadísticamente significativas entre grupos (Tabla 35). En pacientes con encefalopatía asociada fue de 3.52 ± 3.28 mg/dl; n=68, y en los pacientes sin encefalopatía presentaron valores disminuidos, 2.92 ± 4.60 mg/dl; n=112. No presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 36).

La **GOT** (transaminasa glutámico-oxalacética) se analizó en un total de 172 pacientes, observándose valores medios de 97.44 ± 189.61 U/l, algo superiores al límite superior de la normalidad. En pacientes con presencia o ausencia de ascitis, se observó que las cifras eran menos elevadas en el grupo de ascitis (88.15 ± 101.21 U/l; n=119), mientras que en pacientes sin ascitis fueron mayores (118.30 ± 307.14 U/l; n=53), sin significación (Tabla 35). En pacientes con encefalopatía los valores eran algo más

elevadas (100.20 ± 139.58 U/l; $n=69$), mientras que en pacientes sin encefalopatía eran inferiores a la media (95.59 ± 217.42 U/l; $n=103$) (Tabla 36).

También se determinó la **GPT** (transaminasa glutámico-oxalacética) en un total de 174 pacientes, con valores medios de 74.35 ± 158.57 U/l. Como se observa en las tablas 35 y 36, se obtienen valores similares a la de los pacientes con ascitis (66.60 ± 100.49 U/l; $n=120$) y encefalopatía (69.28 ± 100.76 U/l; $n=70$), mientras que en los pacientes sin ascitis las cifras fueron más altas con valores medios de 91.55 ± 242.83 U/l ($n=54$), al igual que en pacientes sin encefalopatía (77.75 ± 188.16 U/l; $n=104$). No mostraron significación entre grupos y según el tipo ascitis o encefalopatía.

La **FA** (fosfatasa alcalina) fue analizada en 163 pacientes con un valor medio de 175.28 ± 1114.61 U/l. En pacientes según la presencia de ascitis (Tabla 35), se observaron valores medios de 176.41 ± 110.41 U/l ($n=112$) en el grupo de pacientes con ascitis, y 172.80 ± 124.45 U/l ($n=51$) en el de pacientes sin ascitis. La comparación de ambos grupos mostró diferencias significativas ($P=0.0153$), aunque no se encontraron resultados significativos según su tipo. Por otra parte, los pacientes con ($n=59$) y sin encefalopatía (102) mostraron valores similares a los valores de normalidad, sin mostrar diferencias significativas (Tabla 36).

El análisis de la **GGT** (gamma glutamil transpeptidasa) se realizó en 161 pacientes, y reflejó unos valores medios de 103.07 ± 91.75 U/l. Estos valores resultaron menores en los pacientes con ascitis (99.90 ± 95.66 U/l; $n=111$) y algo elevados en los pacientes sin ascitis (110.10 ± 82.88 U/l; $n=55$) pero sin alcanzar diferencias significativas (Tabla 35). De igual similar ocurrió en pacientes con encefalopatía (95.06 ± 87.66 U/l; $n=59$) y sin encefalopatía asociada (107.70 ± 94.14 U/l; $n=102$) pero sin alcanzar diferencias significativas (Tabla 36).

El **INR** (International normalized ratio) también se analizó en un total de 215 pacientes, con un valor medio ligeramente elevado de 1.44 ± 0.35 , respecto a los valores normales (0.9-1.2). Esta misma distribución fue observada tanto en pacientes sin y con ascitis y según su tipo, siendo significativa esta diferencia ($P=0.038$) (Tabla 35). Los valores medios de INR eran superiores en pacientes sin y con encefalopatía y según su tipo, respecto a los valores normales, sin significación estadística (Tabla 36).

Tabla 36. Parámetros bioquímicos de pacientes varones con cirrosis alcohólica y encefalopatía asociada según su grado previos al trasplante hepático.

		Pacientes varones con cirrosis alcohólica							
Parámetros	Valores normales	Pacientes totales	Con Encef.	Sin Encef.		Enc. Tipo I	Enc. Tipo II	Enc. Tipo III	
		N=281	N=91	N=190	P1	N=36	N=40	N= 10	P2
		n	n	n		n	n	n	
		Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD		Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD	
Creatinina (mg/dl)	0.7 – 1.2	228 1.09 ± 0.75	86 1.16 ± 0.66	142 1.05 ± 0.80	0.2845	35 1.09 ± 0.49	38 1.08 ± 0.39	9 1.77 ± 1.57	0.015
Albúmina (g/dl)	3.5 – 5.2	174 3.46 ± 0.66	67 3.42 ± 0.62	107 3.47 ± 0.68	0.6261	26 3.38 ± 0.55	31 3.45 ± 0.69	6 3.23 ± 0.49	0.713
Bilirrubina total (mg/dl)	0.05-1.2	180 3.15 ± 4.15	68 3.52 ± 3.28	112 2.92 ± 4.60	0.3486	28 3.99 ± 3.40	30 3.36 ± 3.36	6 3.26 ± 3.56	0.751
GOT (U/l)	5 – 40	172 97.44 ± 189.61	69 100.20 ± 139.58	103 95.59 ± 217.42	0.8763	28 78.00 ± 72.79	31 119.03 ± 189.05	6 131.50 ± 117.06	0.485
GPT (U/l)	5- 41	174 74.35 ± 158.57	70 69.28 ± 100.76	104 77.75 ± 188.16	0.7308	28 49.42 ± 52.33	31 80.35 ± 129.50	7 114.71 ± 122.18	0.260
FA (U/l)	40 – 130	163 175.28 ± 114.61	59 175.15 ± 121.58	104 175.36 ± 111.07	0.9911	25 184.72 ± 142.18	25 166.12 ± 111.36	5 175.00 ± 130.58	0.877
GGT (U/l)	10 – 71	161 103.07 ± 91.75	59 95.06 ± 87.66	102 107.70 ± 94.14	0.4013	25 97.80 ± 85.48	27 90.74 ± 93.28	5 91.40 ± 82.43	0.958
INR	0.9-1.2	215 1.44 ± 0.35	82 1.47 ± 0.35	133 1.42 ± 0.36	0.3186	34 1.48 ± 0.25	35 1.45 ± 0.37	10 1.45 ± 0.52	0.930

N, número total de individuos; n, número de individuos en cada subgrupo; SD, desviación estándar; GOT: transaminasa glutámico oxalacética; GPT: transaminasa glutámico pirúvica; FA: fosfatasa alcalina; GGT: gamma glutamil transferasa; INR: ratio internacional normalizado. Las comparaciones fueron hechas por el test de student en P1, valor de P al comparar a los pacientes con y sin encefalopatía; Las comparaciones fueron hechas mediante análisis de varianza en P2, valor de P al comparar a los pacientes con encefalopatía de tipo I, II y III.

1.3. Índices pronósticos clínicos de la cirrosis hepática alcohólica con ascitis y encefalopatía asociada.

En este estudio se considera la clasificación de Child-Pugh sobre un total de 108 pacientes con ascitis (Tabla 37). La mayoría de los pacientes analizados, se clasificaron como Child-Pugh “B” con un 54.62% de representación (n=59), mientras que un 39.81% (n=43) presentaban un Child-Pugh “C”, y el restante 5.55% de los pacientes se clasificaron como Child-Pugh “A” (n=6). Esta distribución fue similar entre los grupos con distintos grados de ascitis, no existiendo diferencias significativas.

Los valores de MELD, fueron calculados en un total de 112 pacientes con ascitis (Tabla 37). La mayoría, tenían valores de MELD comprendidos entre 10-19 con un 71.42% de frecuencia (n=80), un 19.64 % tenían un MELD superior a 19 (n=22), y tan solo un 8.03% presentaron valores inferiores a 9 (n=9). También se obtiene el mismo patrón de distribución en los pacientes con ascitis según su grado, con una mayor supervivencia a los 3 meses en pacientes comprendidos en valores de MELD entre 10-19 entre los pacientes con ascitis de grado I, II y III (82.60% (n=19), 68.18% (n=30) y 68.29% (n=28), respectivamente.

Así como ocurría con el Child-Pugh, el MELD también se distribuyó de manera equitativa cuando los pacientes con cirrosis alcohólica se subdividían en cirrosis alcohólica sin ascitis y con ascitis.

Los valores de ALBI, fueron calculados en un total de 110 pacientes con ascitis (Tabla 37). Al igual que en los casos anteriores, según esta puntuación la mayoría de los pacientes se clasifican en grado 2 con un 65.45% de frecuencia (n=72), un 24.54% tenían un MELD de grado 3 (n=27) y, el 10% presentaron grado 1 (n=11). El ALBI mostró resultados similares en pacientes con distintos grados de ascitis o sin ascitis.

Tabla 37. Índices pronósticos de supervivencia en pacientes varones con cirrosis alcohólica y ascitis asociada.

		Pacientes varones con cirrosis alcohólica				
		Sin Ascitis	Con Ascitis	Ascitis Tipo I	Ascitis Tipo II	Ascitis Tipo III
		N=35	N=108	N=22	N=42	N=41
Supervivencia a los 2 años (%)						
Índice pronóstico	Clasificación	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Child-Pugh^a	A	19 (54.28)	6 (5.55)	6 (27.27)	0	0
	B	15 (42.85)	59 (54.62)	11 (50)	22 (52.38)	23 (56.09)
	C	1 (2.85)	43 (39.81)	5(22.72)	20 (47.61)	18 (43.90)
Supervivencia a los 3 meses (%)						
Índice pronóstico	Clasificación	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
MELD^b	<9	12 (24)	9 (8.03)	2 (8.69)	5 (11.36)	2 (4.87)
	10-19	35 (70)	80 (71.42)	19 (82.60)	30 (68.18)	28 (68.29)
	20-29	2 (4)	22 (19.64)	2 (8.69)	9 (20.45)	10 (24.39)
	30-39	1 (2)	1 (0.89)	0	0	1 (2.43)
Supervivencia a los 3 meses (%)						
Índice pronóstico	Clasificación	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
ALBI^c	1	17 (33.3)	11 (10)	2 (10)	4 (8.16)	5 (13.88)
	2	28 (54.9)	72 (65.45)	13 (65)	36 (73.46)	21 (58.33)
	3	6 (11.76)	27 (24.54)	5 (25)	9 (18.36)	10 (27.77)
Supervivencia a los 3 meses (%)						
Índice pronóstico	Clasificación	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Puntuación MELD		51 (42.9)	112 (69.1)	23 (71.9)	44 (65.7)	41 (73.2)
		52 (43.7)	110 (67.9)	20 (62.5)	49 (73.1)	36 (64.3)

bilirrubina sérica, el INR y la creatinina sérica: >40, mortalidad a los tres meses 71.3%; 30-39, mortalidad a los tres meses 52.6%; 20-29, mortalidad a los tres meses 19.6%; 10-19, mortalidad a los tres meses 6%; >9, mortalidad a los tres meses 1.9% (Malinchoc y col., 2000). En nuestros pacientes media de puntuación MELD de 14.23 ± 0.37 . ^c ALBI basado en la albúmina y bilirrubina séricas: Grado 1: riesgo de mortalidad más bajo, puntuación de ALBI $\leq 2,60$; Grado 2: riesgo de mortalidad intermedio, puntuación de $-2,60 < y \leq 1,39$; Grado 3; mayor riesgo de mortalidad, puntuación $> -1,39$.

La puntuación de MELD (Tabla 37), muestra una menor supervivencia de los pacientes con ascitis (69.1%) con respecto a los pacientes sin ascitis (42.9%). Estos datos coinciden con la puntuación de ALBI obtenida (67.9% en pacientes con ascitis en comparación con los pacientes sin ascitis asociada (43.7%), considerando además que los pacientes con ascitis asociada presentaron una disminución de los valores de albúmina disminuida, presentando diferencias estadísticamente significativas con respecto a los pacientes sin ascitis ($P=0.0009$).

También fue considerada la población de pacientes con encefalopatía (Tabla 38). La clasificación de Child-Pugh se consideró en este estudio sobre un total de 59 pacientes con encefalopatía. La población estaba repartida en su mayoría como Child-Pugh “B” con un 50.84% de representación (n=30) y Child-Pugh “C” con 45.76% (n=27), y el restante 3.38% de los pacientes se clasificaron como Child-Pugh “A” (n=2). Esta distribución fue similar entre los grupos con distintos grados de encefalopatía, siendo incluso similar en el grado III (n=3 y 50% de frecuencia, tanto en Child-Pugh “A” y “B”, no existiendo diferencias significativas.

Los valores de MELD, fueron calculados en un total de 61 pacientes con encefalopatía (Tabla 38). La mayoría, tenían valores de MELD comprendidos entre 10-19 con un 68.85% de frecuencia (n=42), un 26.22% tenían un MELD superior a 19 (n=16), y tan solo un 4.91% presentaron valores inferiores a 9 (n=3). Los valores de MELD mostraron una distribución equitativa cuando los pacientes con cirrosis alcohólica se subdividían en cirrosis alcohólica sin encefalopatía y con encefalopatía.

Los valores de ALBI, fueron calculados en un total de 59 pacientes con encefalopatía (Tabla 38). Al igual que en los casos anteriores, según esta puntuación la mayoría de los pacientes se clasifican en grado 2 con un 71.18% de frecuencia (n=42), un 18.64% tenían un MEL de grado 3 (n=11) y, el 10.16% presentaron grado 1 (n=6). El ALBI mostró resultados similares en pacientes con distintos grados de encefalopatía y sin encefalopatía.

La puntuación de MELD (Tabla 38), muestra una menor supervivencia de los pacientes con encefalopatía (68.1%) con respecto a los pacientes sin encefalopatía (53.2%). Estos datos coinciden con la puntuación de ALBI obtenida en pacientes con encefalopatía (65.9%) en comparación con los pacientes sin encefalopatía asociada (53.2%), considerando además un aumento de los valores de creatinina a medida que la gravedad de la enfermedad aumenta, con valores elevados en pacientes con encefalopatía de tipo III (P=0.015), aunque la puntuación de MELD y ALBI fueron más elevados en los pacientes con encefalopatía de tipo I.

Tabla 38. Índices pronósticos de supervivencia en pacientes varones con cirrosis alcohólica y encefalopatía asociada.

		Pacientes varones con cirrosis alcohólica				
		Sin Encefal. N=84	Con Encefal. N=59	Encefal. Tipo I N=23	Encefal. Tipo II N=27	Encefal. Tipo III N=6
Supervivencia a los 2 años (%)						
Índice pronóstico	Clasificación	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Child-Pugh ^a	A	23 (27.38)	2 (3.38)	2 (8.69)	0	0
	B	44 (52.38)	30 (50.84)	8 (34.78)	16 (59.25)	3 (50)
	C	17 (20.23)	27 (45.76)	13 (56.52)	11 (40.74)	3 (50)
Supervivencia a los 3 meses (%)						
Índice pronóstico	Clasificación	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
MELD ^b	<9	18 (17.82)	3 (4.91)	0	3 (11.53)	0
	10-19	73 (72.27)	42 (68.85)	20 (76.92)	17 (65.38)	3 (50)
	20-29	8 (7.92)	16 (26.22)	6 (23.07)	6 (23.07)	3 (50)
	30-39	2 (1.98)	0	0	0	0
Supervivencia a los 3 meses (%)						
Índice pronóstico	Clasificación	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
ALBI ^c	1	22 (21.56)	6 (10.16)	1 (4.16)	4 (16)	0
	2	58 (56.86)	42 (71.18)	18 (75)	18 (72)	4 (66.66)
	3	22 (21.56)	11 (18.64)	5 (20.83)	3 (12)	2 (33.33)
Puntuación MELD		101 (53.2)	62 (68.1)	27 (75.0)	26 (65.0)	6 (60.0)
Puntuación ALBI		102 (53.7)	60 (65.9)	25 (69.4)	25 (62.5)	6 (60.0)

N, número total de individuos; n, número de individuos en cada subgrupo. ^a Child-Pugh basado en cinco variables que incluyen niveles séricos de bilirrubina, albúmina, tiempo de protrombina o INR, ascitis y encefalopatía: Clase A: supervivencia al año 100%, a los 2 años del 85%; Clase B: supervivencia al año 80%, a los 2 años del 57%; Clase C: supervivencia al año 45%, a los 2 años del 35% (Child y Turcotte, 1964). ^b MELD se ha obtenido considerando la bilirrubina sérica, el INR y la creatinina sérica: >40, mortalidad a los tres meses 71.3%; 30-39, mortalidad a los tres meses 52.6%; 20-29, mortalidad a los tres meses 19.6%; 10-19, mortalidad a los tres meses 6%; >9, mortalidad a los tres meses 1.9% (Malinchoc y col., 2000). En nuestros pacientes media de puntuación MELD de 14.23 ± 0.37. ^c ALBI basado en la albúmina y bilirrubina séricas: Grado 1: riesgo de mortalidad más bajo, puntuación de ALBI ≤ 2,60; Grado 2: riesgo de mortalidad intermedio, puntuación de -2,60 <y ≤1,39; Grado 3; mayor riesgo de mortalidad, puntuación > -1,39.

2. Genes KIR y cirrosis hepática alcohólica

Se realiza el análisis de genes KIR en individuos controles sanos y en pacientes con ascitis con distintos grados de ascitis y/o encefalopatía asociada y los diferentes estados de gravedad.

En el análisis de frecuencias de genes KIR se han excluido los genes constitutivos, ya que se encuentran en todos los individuos, y los pseudogenes porque no codifican proteína y por tanto no contribuyen al repertorio de receptores NK, tal y como se ha comentado en materiales y métodos. Para su interpretación y estudio, los genes KIR fueron clasificados según su función en inhibidores (iKIR) o activadores (aKIR).

2.1. Análisis de genes KIR en pacientes con ascitis

En este estudio se ha analizado la frecuencia de la presencia o ausencia de cada uno de los genes KIR en una población control sana constituida por 319 individuos sanos (N=319) frente a una población de pacientes de individuos con cirrosis alcohólica (N=281), distinguiendo entre pacientes la presencia (N=162) o ausencia de ascitis (N=119).

2.1.1. Análisis de las frecuencias de genes KIR inhibidores en pacientes con cirrosis alcohólica y ascitis.

En la Tabla 39 se analiza y se compara la frecuencia de genes KIR en pacientes y controles. No se detectaron diferencias significativas en el análisis univariable entre la frecuencia de genes iKIR de controles y pacientes, excepto para el gen KIR2DL2, cuya frecuencia era significativamente más baja en pacientes que en controles (63.3% en controles frente al 53.0% en pacientes; OR= 0.654; 95% IC: 0.472-0.906, P=0.013). Además, parece como la frecuencia de KIR2DL2 está significativa disminuida en pacientes con cirrosis alcohólica y ascitis frente al grupo de control sano (OR=0.632; 95% IC: 0.431-0.927, P=0.024).

Se observó como la frecuencia de distribución del resto de genes iKIR fue similar entre el grupo de pacientes y controles sanos. Sin embargo, en el gen KIR3DL1 se muestra una frecuencia ligeramente disminuida entre los pacientes con ascitis asociada frente a los pacientes de cirrosis alcohólica sin ascitis asociada (93.2% frente al 98.3%, respectivamente; OR=4.262; 95% IC: 0.927-19.599, P=0.048).

Tabla 39. Análisis de la frecuencia de genes KIR inhibidores en pacientes con cirrosis alcohólica y en controles sanos

		Pacientes varones con cirrosis alcohólica							
		Controles sanos N=319	Pacientes totales N=281		Ausencia de ascitis N=119	Presencia de ascitis N=162			
KIR genes*	P/A	n (%)	n (%)	P1	n (%)	n (%)	P2	P3	P4
iKIRs									
2DL1 (S1-)	+	197 (61.8)	160 (56.9)	0.244	64 (53.8)	96 (59.3)	0.155	0.622	0.394
	-	122 (38.2)	121 (43.1)		55 (46.2)	66 (40.7)			
2DL2	+	202 (63.3)	149 (53.0)	0.013^a	64 (53.8)	85 (52.5)	0.079	0.024^b	0.904
	-	117 (36.7)	132 (47)		55 (46.2)	77 (47.5)			
2DL3	+	279 (87.5)	249 (88.6)	0.707	106 (89.1)	143 (88.3)	0.743	0.883	1.000
	-	40 (12.5)	32 (11.4)		13 (10.9)	19 (11.7)			
2DL5	+	170 (53.3)	158 (56.2)	0.511	70 (58.8)	88 (54.3)	0.322	0.847	0.468
	-	149 (46.7)	123 (43.8)		49 (41.2)	74 (45.7)			
3DL1	+	304 (95.3)	268 (95.4)	1.000	117 (98.3)	151 (93.2)	0.174	0.394	0.048^c
	-	15 (4.7)	13 (4.6)		2 (1.7)	11 (6.8)			

P, presencia; A, ausencia; N, número total de individuos; n, número de individuos con presencia o ausencia de un gen KIR. Las comparaciones fueron hechas por el test exacto de Fisher de dos colas. P1, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica totales con los controles sanos; P2 y P3, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica sin y con ascitis asociada con los controles sanos, respectivamente; P4, valor de P obtenido al comparar cirrosis alcohólica sin ascitis con cirrosis alcohólica asociada a ascitis. ^a OR=0.654; 95% IC:0.472-0.906, P=0.013. ^b OR=0.639; 95% IC:0.436-0.938, P=0.024 ^cOR=4.262; 95% IC: 0.927-19.599, P=0.048.

* Genes constitutivos y pseudogenes no están incluidos.

2.1.2. Análisis de las frecuencias de genes KIR activadores en pacientes con cirrosis alcohólica y ascitis.

En este estudio se analizaron un total de once genes aKIR (Tabla 40). Se ha observado una frecuencia de distribución de los genes aKIR similar entre pacientes y controles sanos, no detectándose diferencias significativas salvo por la presencia del gen KIR2SD2 y KIR2SD5.

La presencia de KIR2SD2 es significativamente más baja en pacientes con cirrosis alcohólica que en controles (52% y 63%, respectivamente; OR=0.635; 95% IC: 0.458-0.880, P=0.006). Además, al comparar el grupo de pacientes sin ascitis (51.9%) se encuentra una frecuencia de distribución más baja respecto a los controles sanos (63%) siendo esta diferencia estadísticamente significativa (OR=0.639; 95% IC: 0.417-0.977, P=0.048). De forma similar, la frecuencia de distribución del gen KIR2DS2 entre los pacientes con ascitis

asociada (51.9%) se encuentra disminuida significativamente si la comparamos con la población control sana (63%), siendo en esta última mayor (OR=0.632; 95% IC: 0.431-0.927, P=0.024).

Por otro lado, la presencia de KIR2SD5 es significativamente mayor en pacientes con cirrosis alcohólica que en controles (35.2% y 27%, respectivamente; OR=1.474; 95% IC: 1.041-2.087, P=0.033) y, entre pacientes sin ascitis con respecto a los controles, la frecuencia de distribución es más alta en pacientes sin ascitis asociada (39.5%) (OR=1.769; 95% IC: 1.136-2.754, P=0.014), presentando esta diferencia estadísticamente significativa.

Las frecuencias del resto de genes aKIR también se analizaron en la población sana y enferma, donde su distribución fue similar, y por tanto, sin diferencias significativas.

Tabla 40. Análisis de la frecuencia de genes KIR activadores en pacientes con cirrosis alcohólica y ascitis y en controles sanos.

KIR genes*	P/A	Pacientes varones con cirrosis alcohólica							
		Controles sanos N=319	Pacientes totales N=281	P1	Ausencia de ascitis N=119	Presencia de ascitis N=162	P2	P3	P4
		n (%)	n (%)		n (%)	n (%)			
aKIRs									
2DS1 (L1+)	+	119 (37.3)	119 (42.3)	0.211	55 (46.2)	64 (39.5)	0.100	0.691	0.274
	-	200 (62.7)	162 (57.7)		64 (53.8)	98 (60.5)			
2DS2 (L2+)	+	201 (63.0)	146 (52.0)	0.006^a	62 (52.1)	84 (51.9)	0.048^c	0.024^e	1.000
	-	118 (37.0)	135 (48)		57 (47.9)	78 (48.1)			
2DS3	+	107 (33.5)	93 (33.1)	0.931	41 (34.5)	52 (32.1)	0.910	0.838	0.702
	-	212 (66.5)	188 (66.9)		78 (65.5)	110 (67.9)			
2DS4	+	305 (95.6)	266 (94.7)	0.704	115 (96.6)	151 (93.2)	0.790	0.281	0.285
	-	14 (4.4)	15 (5.3)		4 (3.4)	11 (6.8)			
2DS5	+	86 (27.0)	99 (35.2)	0.033^b	47 (39.5)	52 (32.1)	0.014^d	0.243	0.209
	-	233 (73.0)	182 (64.8)		72 (60.5)	110 (67.9)			
3DS1	+	129 (40.4)	132 (47.0)	0.117	60 (50.4)	72 (44.4)	0.066	0.434	0.335
	-	190 (59.6)	149 (53.0)		59 (49.6)	90 (55.6)			

P, presencia; A, ausencia; N, número total de individuos; n, número de individuos con presencia o ausencia de un gen KIR. Las comparaciones fueron hechas por el test exacto de Fisher de dos colas. P1, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica totales con los controles sanos; P2 y P3, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica sin y con ascitis asociada con los controles sanos, respectivamente; P4, valor de P obtenido al comparar cirrosis alcohólica sin ascitis con cirrosis alcohólica asociada a ascitis. ^aOR=0.635; 95% IC: 0.458-0.880, P=0.006. ^bOR=1.474; 95% IC: 1.041-2.087, P=0.033. ^cOR=0.639; 95% IC: 0.417-0.977, P=0.048. ^dOR=1.769; 95% IC: 1.136-2.754, P=0.014. ^eOR=0.632; 95% IC: 0.431-0.927, P=0.024. * Genes constitutivos y pseudogenes no están incluidos.

2.1.3. Analisis de genes KIR en pacientes con distintos grados de ascitis

A continuación, se analizaron las frecuencias de genes KIR en pacientes con distintos grados de ascitis.

De una población paciente total de individuos con cirrosis alcohólica y ascitis asociada (N=162), se ha distinguido pacientes con ascitis de Tipo I (N=32), Tipo II (N=66) y Tipo III (N=56) (Tabla 41).

2.1.3.1. Análisis de las frecuencias de genes KIR inhibidores en pacientes cirróticos con distintos grados de ascitis

Se ha observado una frecuencia de distribución de los genes iKIR similar entre los pacientes con ascitis asociada según el grado de ascitis, no detectándose diferencias significativas en ninguno de los genes KIR inhibidores asociados, a pesar de que se había mostrado diferencias significativas entre la población de pacientes con ascitis asociada frente al grupo control para el gen KIR3DL1 (Tabla 39), encontrándose ligeramente aumentada la frecuencia de distribución entre los pacientes con ascitis de tipo II frente a los de tipo I (95.5% frente a 87.5% respectivamente; P=0.211) (Tabla 41).

Por otra parte, se ha comparado la población de controles sanos frente a las poblaciones de pacientes con ascitis asociada según el grado ascitis. En la mayoría de los casos las frecuencias de distribución son similares, aunque se han encontrado que las frecuencias de los genes iKIR se presentaron disminuidas en pacientes con ascitis de tipo I, sin resultados significativos con excepción del gen KIR2DL2. Como puede observarse en la tabla 41, el gen KIR2DL2 se encuentra disminuido en la población de pacientes con ascitis tipo I (43.8%) frente a la población control sana (63.3%) resultando esta diferencia significativa (P=0.036). Al observar las frecuencias de distribución de este mismo gen en los pacientes con ascitis de tipo II y tipo III también se observa que su presencia es menor (51.5% y 51.8%, respectivamente), pero no son resultados significativos.

Tabla 41. Análisis de la frecuencia de genes KIR inhibidores en pacientes con cirrosis alcohólica con distintos grados de ascitis frente al grupo control sano.

		Pacientes varones con cirrosis alcohólica											
		Controles sanos N=319	Pacientes totales N=281	Tipos de ascitis			P2	P3	P4	P5	P6	P7	
KIR genes*	P/A			n (%)	n (%)	P1							Tipo I N=32 n(%)
iKIRs													
2DL1 (S1-)	+	197 (61.8)	160 (56.9)	0.244	16 (50)	41 (62.1)	34 (60.7)	0.281	0.375	1.000	0.254	1.000	0.883
	-	122 (38.2)	121 (43.1)		16 (50)	25 (37.9)	22 (39.3)						
2DL2	+	202 (63.3)	149 (53.0)	0.013^a	14 (43.8)	34 (51.5)	29 (51.8)	0.523	0.512	1.000	0.036^b	0.095	0.104
	-	117 (36.7)	132 (47)		18 (56.3)	32 (48.5)	27 (48.2)						
2DL3	+	279 (87.5)	249 (88.6)	0.707	26 (81.3)	61 (92.4)	51 (91.1)	0.169	0.198	1.000	0.406	0.299	0.655
	-	40 (12.5)	32 (11.4)		6 (18.8)	5 (7.6)	5 (8.9)						
2DL5	+	170 (53.3)	158 (56.2)	0.511	18 (56.3)	36 (54.5)	30 (53.6)	1.000	0.828	1.000	0.853	0.893	1.000
	-	149 (46.7)	123 (43.8)		14 (43.8)	30 (45.5)	26 (46.4)						
3DL1	+	304 (95.3)	268 (95.4)	1.000	28 (87.5)	63 (95.5)	52 (92.9)	0.211	0.455	0.702	0.083	1.000	0.504
	-	15 (4.7)	13 (4.6)		4 (12.5)	3 (4.5)	4 (7.1)						

P, presencia; A, ausencia; N, número total de individuos; n, número de individuos con presencia o ausencia de un gen KIR. Las comparaciones fueron hechas por el test exacto de Fisher de dos colas. P1, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica totales con los controles sanos; P2, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con ascitis asociada de grado I y II; P3, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con ascitis asociada de grado I y III; P4, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con ascitis asociada de grado II y III; P5, P6 y P7 valor de P obtenido al comparar a los controles sanos con ascitis asociada de grado I, grado II y grado III, respectivamente. ^a OR=0.654; 95% IC:0.472-0.906, P=0.013. ^b OR=0.450; 95% IC:0.216-0.939, P=0.036.

* Genes constitutivos y pseudogenes no están incluidos.

2.1.3.2. Análisis de las frecuencias de genes KIR activadores en pacientes cirróticos con distintos grados de ascitis

Como muestra la Tabla 42, se han obtenido resultados similares en el análisis de los genes KIR activadores sin diferencias significativas entre las frecuencias de distribución entre los pacientes cirróticos con ascitis asociada según su grado.

Se han obtenido diferencias en las frecuencias entre los pacientes con distintos grado de ascitis con respecto a la población de control sana. El gen KIR2DS2 se encuentra disminuido en los pacientes con ascitis de tipo I, II y III (43.8%, 51.5%, 50%, respectivamente) frente a los controles sanos (63%). Esta diferencia es estadísticamente significativa sólo para el caso de la ascitis tipo I ($P=0.037$).

Por otra parte, el gen KIR2DS3 se encuentra aumentado en los pacientes con ascitis tipo I (43.8%) con respecto a la población sana (33.5%), mientras que en los individuos con ascitis tipo II y III se encuentra disminuido (27.3% y 30.4%, respectivamente), de forma no significativa. Por último, el gen KIR2DS5 se ha presentado aumentado en los pacientes con ascitis tipo I (31.3%), II (34.8%) y III (30.4%) con respecto a la población control sana (27%), pero sin significación estadística (Tabla 42).

Tabla 42. Frecuencia de genes KIR activadores en pacientes con cirrosis alcohólica con distintos grados de ascitis frente al grupo control sano.

		Pacientes varones con cirrosis alcohólica											
		Controles sanos N=319		Pacientes totales N=281		Grado de ascitis							
KIR genes*	P/A	n (%)	n (%)	P1	Tipo I	Tipo II	Tipo III	P2	P3	P4	P5	P6	P7
					N=32	N=66	N=56						
aKIRs													
2DS1 (L1+)	+	119 (37.3)	119 (42.3)	0.211	15 (46.9)	25 (37.9)	21 (37.5)	0.511	0.500	1.000	0.341	1.000	1.000
	-	200 (62.7)	162 (57.7)		17 (53.1)	41 (62.1)	35 (62.5)						
2DS2 (L2+)	+	201 (63.0)	146 (52.0)	0.006^a	14 (43.8)	34 (51.5)	28 (50)	0.523	0.659	1.000	0.037^c	0.096	0.075
	-	118 (37.0)	135 (48)		18 (56.3)	32 (48.5)	28 (50)						
2DS3	+	107 (33.5)	93 (33.1)	0.931	14 (43.8)	18 (27.3)	17 (30.4)	0.114	0.249	0.841	0.249	0.387	0.758
	-	212 (66.5)	188 (66.9)		18 (56.3)	48 (72.7)	39 (69.6)						
2DS4	+	305 (95.6)	266 (94.7)	0.704	28 (87.5)	63 (95.5)	52 (92.9)	0.211	0.455	0.702	0.070	1.000	0.325
	-	14 (4.4)	15 (5.3)		4 (12.5)	3 (4.5)	4 (7.1)						
2DS5	+	86 (27.0)	99 (35.2)	0.033^b	10 (31.3)	23 (34.8)	17 (30.4)	0.821	1.000	0.700	0.678	0.230	0.627
	-	233 (73.0)	182 (64.8)		22 (68.8)	43 (65.2)	39 (69.6)						
3DS1	+	129 (40.4)	132 (47.0)	0.117	16 (50)	29 (43.9)	24 (42.9)	0.667	0.657	1.000	0.347	0.680	0.769
	-	190 (59.6)	149 (53.0)		16 (50)	37 (56.1)	32 (57.1)						

P, presencia; A, ausencia; N, número total de individuos; n, número de individuos con presencia o ausencia de un gen KIR. Las comparaciones fueron hechas por el test exacto de Fisher de dos colas. P1, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica totales con los controles sanos; P2, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con ascitis asociada de grado I y II; P3, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con ascitis asociada de grado I y III; P4, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con ascitis asociada de grado II y III; P5, P6 y P7 valor de P obtenido al comparar a los controles sanos con ascitis asociada de grado I, grado II y grado III, respectivamente. ^aOR=0.635; 95% IC: 0.458-0.880, P=0.006. ^bOR=1.474; 95% IC: 1.041-2.087, P=0.033.

* Genes constitutivos y pseudogenes no están incluidos.

2.2. Análisis en las frecuencias de genes KIR en pacientes con encefalopatía.

En este estudio se ha analizado la frecuencia de la presencia o ausencia de cada uno de los genes KIR en una población control total de 319 individuos sanos (n=319) y en pacientes con cirrosis alcohólica (n=281), con presencia (n=91) o ausencia de encefalopatía (n=190).

2.2.1. Análisis de las frecuencias de genes KIR inhibidores en pacientes con cirrosis alcohólica y encefalopatía

En la Tabla 43 se analizó la frecuencia de iKIR en pacientes y controles. Se observó una frecuencia similar de genes iKIR entre pacientes con cirrosis alcohólica y controles sanos. Sin embargo, la frecuencia del gen KIR2DL2 presenta diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con y sin encefalopatía asociada, estando disminuida su frecuencia entre los pacientes con encefalopatía asociada (47.3% frente al 55.8%; P=0.008).

Por otra parte, la frecuencia del gen KIR2DL3 se muestra ligeramente aumentada entre los pacientes con encefalopatía asociada (94.5%) frente a los pacientes sin encefalopatía asociada (85.8%), aunque esta diferencia no ha resultado estadísticamente significativa. Sin embargo, la disminución de su frecuencia entre los pacientes sin encefalopatía con respecto al grupo control sano, si presenta significancia estadística (85.8% frente al 87.5%, respectivamente; OR=2.849; 95% IC: 1.059-7.663, P=0.043).

Además, el gen KIR2DL1 presenta una distribución semejante en el grupo control sano (95.3%) y pacientes con cirrosis alcohólica (95.4%). Al observar su distribución según la presencia o ausencia de encefalopatía se observa una ligera disminución no significativa en el grupo de pacientes con encefalopatía asociada (93.4%).

Tabla 43. Análisis de la frecuencia de genes KIR inhibidores en pacientes con cirrosis alcohólica y encefalopatía y en controles sanos

		Pacientes varones con cirrosis alcohólica							
		Controles sanos N=319	Pacientes totales N=281		Ausencia de encefalopatía N=190	Presencia de encefalopatía N=91			
KIR genes*	P/A	n (%)	n (%)	P1	n (%)	n (%)	P2	P3	P4
iKIRs									
2DL1 (S1-)	+	197 (61.8)	160 (56.9)	0.244	112 (58.9)	48 (52.7)	0.368	0.574	0.146
	-	122 (38.2)	121 (43.1)		78 (41.1)	43 (47.3)			
2DL2	+	202 (63.3)	149 (53.0)	0.013^a	106 (55.8)	43 (47.3)	0.202	0.111	0.008^c
	-	117 (36.7)	132 (47)		84 (44.2)	48 (52.7)			
2DL3	+	279 (87.5)	249 (88.6)	0.707	163 (85.8)	86 (94.5)	0.043^b	0.590	0.059
	-	40 (12.5)	32 (11.4)		27 (14.2)	5 (5.5)			
2DL5	+	170 (53.3)	158 (56.2)	0.511	104 (54.7)	54 (59.3)	0.521	0.783	0.340
	-	149 (46.7)	123 (43.8)		86 (45.3)	37 (40.7)			
3DL1	+	304 (95.3)	268 (95.4)	1.000	183 (95.3)	85 (93.4)	0.362	0.658	0.430
	-	15 (4.7)	13 (4.6)		7 (3.7)	6 (6.6)			

P, presencia; A, ausencia; N, número total de individuos; n, número de individuos con presencia o ausencia de un gen KIR. Las comparaciones fueron hechas por el test exacto de Fisher de dos colas. P1, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica totales con los controles sanos; P2 y P3, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica sin y con encefalopatía asociada con los controles sanos, respectivamente; P4, valor de P obtenido al comparar los pacientes con cirrosis alcohólica asociada a encefalopatía y los pacientes con cirrosis alcohólica sin encefalopatía.. ^a $OR=0.654$; 95% $IC:0.472-0.906$, $P=0.013$. ^b $OR=2.849$; 95% $IC:1.059-7.663$, $P=0.043$. ^c $OR=0.519$; 95% $IC:0.324-0.830$, $P=0.008$.

* Genes constitutivos y pseudogenes no están incluidos.

2.2.2. Análisis de las frecuencias de genes KIR activadores en pacientes con cirrosis alcohólica y encefalopatía

Se analizó y comparó la frecuencia de aKIR en la población sana (Tabla 44). La frecuencia de genes aKIR fue similar entre pacientes y controles sanos, no detectándose diferencias significativas, salvo por la presencia del gen KIR2SD2 y KIR2SD5.

Aunque las frecuencias distribución de ambos genes fue similar entre el grupo de pacientes con presencia y ausencia de encefalopatía frente al grupo control, si hay diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que presentan encefalopatía frente a los pacientes que no tienen encefalopatía asociada.

Para el gen KIR2DS2 se observó una frecuencia de distribución más baja entre los pacientes que presentan encefalopatía (46.2%) respecto a los que no la presentaban (54.7%) siendo esta diferencia estadísticamente significativa (OR=0.503; 95% IC: 0.314-0.806, P=0.005).

Por otro lado, el gen KIR2SD5 presentó una distribución mayor en pacientes con encefalopatía asociada (38.5%) respecto a los pacientes sin encefalopatía asociada (33.7%), siendo esta diferencia estadísticamente significativa (OR=1.693; 95% IC: 1.038-2.762, P=0.038).

Tabla 44. Análisis de la frecuencia de genes KIR activadores en pacientes con cirrosis alcohólica y encefalopatía y en controles sanos

		Pacientes varones con cirrosis alcohólica							
		Controles sanos N=319	Pacientes totales N=281		Ausencia de encefalopatía N=190	Presencia de encefalopatía N=91			
KIR genes*	P/A	n (%)	n (%)	P1	n (%)	n (%)	P2	P3	P4
aKIRs									
2DS1 (L1+)	+	119 (37.3)	119 (42.3)	0.211	76 (40.0)	43 (47.3)	0.302	0.572	0.090
	-	200 (62.7)	162 (57.7)		114 (60.0)	48 (52.7)			
2DS2 (L2+)	+	201 (63.0)	146 (52.0)	0.006^a	104 (54.7)	42 (46.2)	0.203	0.076	0.005^c
	-	118 (37.0)	135 (48)		86 (45.3)	49 (53.8)			
2DS3	+	107 (33.5)	93 (33.1)	0.931	66 (34.7)	27 (29.7)	0.420	0.847	0.528
	-	212 (66.5)	188 (66.9)		124 (65.3)	64 (70.3)			
2DS4	+	305 (95.6)	266 (94.7)	0.704	181 (95.3)	85 (93.4)	0.574	0.829	0.409
	-	14 (4.4)	15 (5.3)		9 (4.7)	6 (6.6)			
2DS5	+	86 (27.0)	99 (35.2)	0.033^b	64 (33.7)	35 (38.5)	0.505	0.109	0.038^d
	-	233 (73.0)	182 (64.8)		126 (66.3)	56 (61.5)			
3DS1	+	129 (40.4)	132 (47.0)	0.117	86 (45.3)	46 (50.5)	0.444	0.308	0.093
	-	190 (59.6)	149 (53.0)		104 (54.7)	45 (49.5)			

P, presencia; A, ausencia; N, número total de individuos; n, número de individuos con presencia o ausencia de un gen KIR. Las comparaciones fueron hechas por el test exacto de Fisher de dos colas. P1, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica totales con los controles sanos; P2 y P3, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica sin y con encefalopatía asociada con los controles sanos, respectivamente; P4, valor de P obtenido al comparar los pacientes con cirrosis alcohólica asociada a encefalopatía y los pacientes con cirrosis alcohólica sin encefalopatía. ^aOR=0.635; 95% IC: 0.458-0.880, P=0.006. ^bOR=1.474; 95% IC: 1.041-2.087, P=0.033. ^cOR=0.503; 95% IC:0.314-0.806, P=0.005. ^dOR=1.693; 95% IC:1.038-2.762, P=0.038.

* Genes constitutivos y pseudogenes no están incluidos.

2.2.3 Análisis de genes KIR en pacientes con distintos grados de encefalopatía

A continuación, se analizaron las frecuencias de genes KIR en una población paciente total de individuos con cirrosis alcohólica y encefalopatía asociada (n=91), distinguiendo en este grupo entre los distintos grados de encefalopatía: Tipo I (n=36), Tipo II (n=40) y Tipo III (n=10).

2.2.3.1. Análisis de las frecuencias de genes KIR inhibidores en pacientes cirróticos con distintos grados de encefalopatía

Se observó una frecuencia de distribución de los genes iKIR similar entre los pacientes con encefalopatía asociada según el grado de encefalopatía, a pesar de haber mostrado diferencias significativas entre la población de pacientes con encefalopatía asociada frente al grupo control para el gen KIR3DL2 (Tabla 43). Por otra parte, se ha comparado la población de controles sanos frente a las poblaciones de pacientes con encefalopatía asociada según el grado de encefalopatía.

Con respecto al gen KIR2DL1 (Tabla 45), se encuentra disminuido en la población de pacientes con encefalopatía de tipo I (41.7%) frente a la población control sana (61.8%), resultando estadísticamente significativa (P=0.03). También disminuye su distribución en los pacientes con encefalopatía de tipo III (50%), aunque no resulta significativa, quizás por el bajo número de población (n=10). Sin embargo, los pacientes con encefalopatía de tipo II presentan una distribución ligeramente aumentada (62.5%) que además, es estadísticamente significativa (P=0.006). Además, el gen KIR2DL2 también ha presentado una menor en la población de pacientes con encefalopatía de tipo I, II y III (52.8%, 37.5% y 50%, respectivamente) frente a la población control sana (63.3%). Estas diferencias han resultado significativas en el caso de los pacientes con encefalopatía de grado II (P=0.003).

Por otra parte, se obtuvo una distribución mayor del gen KIR2DL3 en los pacientes con encefalopatía asociada, aumentando cada vez conforme aumenta la gravedad de la enfermedad (94.4 % de tipo I, 97.5% de tipo II y 100% de tipo III), con respecto a la población control sana (87.5%), pero sin significación estadística. Por último, el gen KIR3DL1 presentó una distribución no significativa mayor en pacientes con encefalopatía asociada de tipo II y III. Sin embargo, en pacientes con encefalopatía asociada de tipo I presentó una distribución menor (86.1%) con respecto al grupo control sano (95.3%). Estos resultados fueron estadísticamente significativos (P=0.041).

Tabla 45. Frecuencia de genes iKIR en pacientes con cirrosis alcohólica con distintos grados de encefalopatía frente al grupo control sano.

		Pacientes varones con cirrosis alcohólica											
				Grado de Encefalopatía									
		Controles sanos N=319	Pacientes totales N=281		Tipo I N=36	Tipo II N=40	Tipo III N=10						
KIR genes*	P/A	n (%)	n (%)	P1	n (%)	n (%)	n (%)	P2	P3	P4	P5	P6	P7
iKIRs													
2DL1 (S1-)	+	197 (61.8)	160 (56.9)	0.244	15 (41.7)	25 (62.5)	5 (50)	0.107	0.726	0.494	0.030^b	0.006^d	0.517
	-	122 (38.2)	121 (43.1)		21 (58.3)	15 (37.5)	5 (50)						
2DL2	+	202 (63.3)	149 (53.0)	0.013^a	19 (52.8)	15 (37.5)	5 (50)	0.248	1.000	0.494	0.276	0.003^e	0.508
	-	117 (36.7)	132 (47)		17 (47.2)	25 (62.5)	5 (50)						
2DL3	+	279 (87.5)	249 (88.6)	0.707	34 (94.4)	39 (97.5)	10 (100)	0.601	1.000	1.000	0.284	0.065	0.617
	-	40 (12.5)	32 (11.4)		2 (5.6)	1 (2.5)	0 (0)						
2DL5	+	170 (53.3)	158 (56.2)	0.511	24 (66.7)	21 (52.5)	6 (60)	0.248	0.720	0.736	0.158	1.000	0.756
	-	149 (46.7)	123 (43.8)		12 (33.3)	19 (47.5)	4 (40)						
3DL1	+	304 (95.3)	268 (95.4)	1.000	31 (86.1)	39 (97.5)	10 (100)	0.095	0.570	1.000	0.041^c	1.000	1.000
	-	15 (4.7)	13 (4.6)		5 (13.9)	1 (2.5)	0 (0)						

P, presencia; A, ausencia; N, número total de individuos; n, número de individuos con presencia o ausencia de un gen KIR. Las comparaciones fueron hechas por el test exacto de Fisher de dos colas. P1, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica totales con los controles sanos; P2, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con encefalopatía asociada de grado I y II; P3, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con encefalopatía asociada de grado I y III; P4, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con encefalopatía asociada de grado II y III; P5, P6 y P7 valor de P obtenido al comparar a los controles sanos con encefalopatía asociada de grado I, grado II y grado III, respectivamente. ^a OR=0.654; 95% IC:0.472-0.906, P=0.013. ^b OR=0.442; 95% IC:0.220-0.891, P=0.030. ^c OR= 0.306; 95% IC:0.104-0.899, P=0.041. ^d OR=0.372; 95% IC:0.188-0.733, P=0.006. ^e OR= 0.348; 95% IC:0.176-0.686, P=0.003.

* Genes constitutivos y pseudogenes no están incluidos.

2.2.3.2. Análisis de las frecuencias de genes KIR activadores en pacientes cirróticos con distintos grados de encefalopatía

Se han obtenido resultados similares en el análisis de los genes KIR activadores en pacientes con distintos grados de encefalopatía, sin diferencias estadísticamente significativas (Tabla 46).

Sin embargo, en cuanto a la frecuencias de distribución se observó un aumento en los genes KIR2DS1, KIR2DS5 Y KIR3DS1 entre los pacientes con encefalopatía de Tipo I con respecto a los de Tipo II, con un 58.3% frente al 37.5% ($P=0.107$), 50% frente al 27.5% ($P=0.059$) y 58.3% frente al 42.5% ($P=0.251$), respectivamente. Por otra parte, muestran disminuidos el gen KIR2DS4 en los pacientes de tipo I con respecto a los de Tipo II, con un 86.1% frente al 97.5% ($P=0.095$).

Tabla 46. Frecuencia de genes aKIR en pacientes con cirrosis alcohólica con distintos grados de encefalopatía frente al grupo control sano.

KIR genes*	P/A	Pacientes varones con cirrosis alcohólica											
		Controles sanos N=319 n (%)	Pacientes totales N=281 n (%)	P1	Grado de Encefalopatía			P2	P3	P4	P5	P6	P7
					Tipo I N=36 n (%)	Tipo II N=40 n (%)	Tipo III N=10 n (%)						
					n (%)	n (%)	n (%)						
aKIRs													
2DS1 (L1+)	+	119 (37.3)	119 (42.3)	0.211	21 (58.3)	15 (37.5)	5 (50)	0.107	0.726	0.494	0.019^c	1.000	0.511
	-	200 (62.7)	162 (57.7)		15 (41.7)	25 (62.5)	5 (50)						
2DS2 (L2+)	+	201 (63.0)	146 (52.0)	0.006^a	18 (50.0)	15 (37.5)	5 (50)	0.355	0.726	0.494	0.149	0.003^f	0.510
	-	118 (37.0)	135 (48)		18 (50.0)	25 (62.5)	5 (50)						
2DS3	+	107 (33.5)	93 (33.1)	0.931	12 (33.3)	9 (22.5)	4 (40)	0.316	0.720	0.420	1.000	0.209	0.738
	-	212 (66.5)	188 (66.9)		24 (66.7)	31 (77.5)	6 (60)						
2DS4	+	305 (95.6)	266 (94.7)	0.704	31 (86.1)	39 (97.5)	10 (100)	0.095	0.570	1.000	0.033^d	1.000	1.000
	-	14 (4.4)	15 (5.3)		5 (13.9)	1 (2.5)	0 (0)						
2DS5	+	86 (27.0)	99 (35.2)	0.033^b	18 (50.0)	11 (27.5)	4 (40)	0.059	0.725	0.462	0.006^e	1.000	0.470
	-	233 (73.0)	182 (64.8)		18 (50.0)	29 (72.5)	6 (60)						
3DS1	+	129 (40.4)	132 (47.0)	0.117	21 (58.3)	17 (42.5)	6 (60)	0.251	1.000	0.480	0.050	0.865	0.328
	-	190 (59.6)	149 (53.0)		15 (41.7)	23 (57.5)	4 (40)						

P, presencia; A, ausencia; N, número total de individuos; n, número de individuos con presencia o ausencia de un gen KIR. Las comparaciones fueron hechas por el test exacto de Fisher de dos colas. P1, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica totales con los controles sanos; P2, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con encefalopatía asociada de grado I y II; P3, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con encefalopatía asociada de grado I y III; P4, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con encefalopatía asociada de grado II y III; P5, P6 y P7 valor de P obtenido al comparar a los controles sanos con encefalopatía asociada de grado I, grado II y grado III, respectivamente. ^aOR=0.635; 95% IC: 0.458-0.880, P=0.006. ^bOR=1.474; 95% IC: 1.041-2.087, P=0.033. ^cOR=2.353; 95% IC: 1.168-4.740, P=0.019. ^dOR=0.285; 95% IC: 0.096-0.843, P=0.033. ^eOR=2.709; 95% IC: 1.347-5.448, P=0.006. ^fOR=0.352; 95% IC: 0.179-0.695, P=0.003.

* Genes constitutivos y pseudogenes no están incluidos.

Al comparar los pacientes con encefalopatía según su grado con el grupo control sano si se han obtenido diferencias significativas.

Es el caso del gen KIR2DS1, que mostró un aumento significativo de su frecuencia en pacientes con encefalopatía de grado I con respecto al grupo control sano (37.3%) ($P=0.019$). El gen KIR2DS2 mostró una frecuencia de distribución del 63% en el grupo control sano, que disminuyó en la población con encefalopatía conforme aumentaba el grado de la enfermedad, para los de tipo I y tipo II. Sin embargo, sólo mostró significación estadística en los pacientes con encefalopatía de grado II (37.5%, $P=0.003$). A su vez, el gen KIR2DS4 se mostró disminuido en los pacientes con encefalopatía de grado I (86.1%) con respecto al grupo control sano (95.6%), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($P=0.033$).

Por otra parte, el gen KIR2DS5 tiene una mayor presencia en los pacientes con encefalopatía de grado I (50%) con respecto a los controles (27.0 %) de forma significativa ($P=0.006$). El gen KIR3DS1 también aumenta pero de forma cercana a la significación ($P=0.05$) con un 58.3% de distribución frente al control sano con el 40.4%.

3. Analisis de la frecuencia de epítomos y genotipos HLA-C.

Debido a la importancia de estos epítomos Asn y Lys en la interacción del genotipo HLA-C como ligando de receptores KIR2D, se estudió la posible influencia de la presencia de estos epítomos en la población de pacientes con cirrosis alcohólica y controles sanos, y se evaluó su influencia sobre la aparición de cirrosis alcohólica (Tabla 47). Así, se observó que el número de pacientes que carecían del epítomo C1 estaba significativamente disminuido en la población de cirrosis alcohólica comparada con la de los controles sanos ($OR=0.586$; 95% CI: 0.387-0.889, $P=0.015$). Resultados similares se observaron al analizar a los pacientes con cirrosis alcohólica sin ascitis asociada frente a los controles sanos ($OR=0.548$; 95% IC: 0.324-0.927, $P=0.031$). Sin embargo, el análisis de la presencia o ausencia del epítomo C2 no mostró diferencias entre la cohorte de individuos sanos y enfermos.

Se realizó un análisis posterior de genotipos HLA-C sobre la misma cohorte de individuos, en el que se demuestra una distribución similar del genotipo C1C1 en el grupo control sano y pacientes con cirrosis alcohólica. Mientras que, los genotipos C1C2 y C2C2 estuvieron diferentemente distribuidos en ambos grupos (Tabla 47).

Tabla 47. Frecuencia de epítomos y genotipos HLA-C en pacientes varones con cirrosis alcohólica con o sin ascitis en comparación con controles sanos.

Epítomos HLA-C	Pacientes varones con cirrosis alcohólica							
	Controles	Pacientes		Ausencia	Presencia			
	Sanos N=314	totales N=272		ascitis N=113	ascitis N=159			
	n (%)	n (%)	P1	n (%)	n (%)	P2	P3	P4
C1+	266 (84.7)	208 (76.5)	0.015^a	85 (75.2)	123 (77.4)	0.031^c	0.056	0.772
C1-	48 (15.3)	64 (23.5)		28 (24.8)	36 (22.6)			
C2+	213 (67.8)	190 (69.9)	0.655	72 (63.7)	118 (74.2)	0.485	0.168	0.081
C2-	101 (32.2)	82 (30.1)		41 (36.3)	41 (36.3)			
Genotipos								
HLA-C								
C1C1	101 (32.2)	82 (30.1)	0.655	41 (36.3)	41 (25.8)	0.485	0.168	0.081
C1C2	165 (52.5)	126 (46.3)	0.137	44 (38.9)	82 (51.6)	0.016^d	0.846	0.048^f
C2C2	48 (15.3)	64 (23.5)	0.015^b	28 (24.8)	36 (22.6)	0.031^e	0.056	0.772

N, número total de individuos; n, número de individuos con presencia o ausencia de genotipo HLA-C. Las comparaciones fueron hechas por el Test exacto de Fisher de dos colas. P1, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica totales con los controles sanos; P2 y P3, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica sin y con ascitis asociada con los controles sanos, respectivamente; P4, valor de P obtenido al comparar la población de pacientes con cirrosis alcohólica sin ascitis asociada frente al grupo con ascitis asociada. ^a OR=0.586; 95% IC:0.387-0.889, P=0.015. ^b OR=1.705; 95% IC:1.125-2.584, P=0.015. ^c OR=0.548; 95% IC:0.324-0.927, P=0.031. ^d OR=0.576; 95% IC:0.372-0.893, P=0.016. ^e OR=1.825; 95% IC: 1.079-3.090, P=0.031. ^f OR=1.670; 95% IC:1.023-2.725, P=0.048.

De esta manera, el genotipo C1C2 heterocigoto estaba disminuido respecto la población de pacientes sin ascitis frente al grupo control sano (38.9% frente al 52.5%) presentando diferencias estadísticamente significativas (OR=0.576; 95% IC: 0.372-0.893, P=0.016). Además, se obtienen diferencias significativas al comparar a los individuos con ascitis y sin ascitis asociada, presentándose el genotipo C1C2 heterocigoto aumentado en la población de pacientes con ascitis asociada (OR=1.670; 95% IC:1.023-2.725, P=0.048). Sin embargo, a pesar de mostrar una frecuencia de menor en la población total de pacientes en comparación

con controles sanos (46.3% y 52.5%, respectivamente), esta diferencia no alcanzó significación estadística.

Por otro lado, el genotipo C2C2 homocigoto aparecía significativamente aumentado en pacientes con cirrosis alcohólica respecto a controles sanos (23.5 % frente 15.3%, $P=0.015$). Obteniéndose resultados similares al comparar la población de individuos sanos con la población de pacientes con cirrosis alcohólica sin ascitis asociada (24.8% y $P=0.031$). También se obtuvo una menor distribución en pacientes con ascitis asociada (22.6%) con respecto al grupo control de forma cercana a la significación ($P=0.056$).

Posteriormente se realizó el análisis de frecuencia de epítomos y genotipos HLA-C en pacientes con cirrosis alcohólica según el grado de ascitis (Tabla 48) en la que se observó una frecuencia de distribución similar entre los grupos.

Tabla 48. Frecuencia de epítomos y genotipos HLA-C en pacientes varones con cirrosis alcohólica según el grado de ascitis.

	Controles sanos N=314	Pacientes totales N=272		Ausencia Ascitis N=113	Presencia Ascitis N=159	Ascitis Tipo I N=32	Ascitis Tipo II N=65	Ascitis Tipo III N=55			
Epítomos HLA-C	n (%)	n (%)	P1	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	P2	P3	P4
C1+	266 (84.7)	208 (76.5)	0.015^a	85 (75.2)	123 (77.4)	23 (71.9)	50 (76.9)	45 (81.8)	0.622	0.295	0.653
C1-	48 (15.3)	64 (23.5)		28 (24.8)	36 (22.6)	9 (28.1)	15 (23.1)	10 (18.2)			
C2+	213 (67.8)	190 (69.9)	0.655	72 (63.7)	118 (74.2)	23 (71.9)	51 (78.5)	40 (72.7)	0.612	1.000	0.524
C2-	101 (32.2)	82 (30.1)		41 (36.3)	41 (36.3)	9 (28.1)	14 (21.5)	15 (27.3)			
Genotipos HLA-C											
C1C1	101 (32.2)	82 (30.1)	0.655	41 (36.3)	41 (25.8)	9 (28.1)	14 (21.5)	15 (27.3)	0.612	1.000	1.000
C1C2	165 (52.5)	126 (46.3)	0.137	44 (38.9)	82 (51.6)	14 (43.8)	36 (55.4)	30 (54.5)	0.388	0.388	1.000
C2C2	48 (15.3)	64 (23.5)	0.015^b	28 (24.8)	36 (22.6)	9 (28.1)	15 (23.1)	10 (18.2)	0.622	0.622	0.653

N, número total de individuos; n, número de individuos con presencia o ausencia de genotipo HLA-C. Las comparaciones fueron hechas por el Test exacto de Fisher de dos colas. P1, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica totales con los controles sanos; P2, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con ascitis asociada de grado I y II; P3, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con ascitis asociada de grado I y III; P4, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con ascitis asociada de grado II y III ^a $OR=0.586$; 95% $IC:0.387-0.889$, $P=0.015$. ^b $OR=1.705$; 95% $IC:1.125-2.584$, $P=0.015$.

Por otra parte, en el análisis de la presencia de encefalopatía (Tabla 49), se observaron diferencias significativas entre los pacientes con encefalopatía que carecían del epítipo C1 con respecto a los controles (OR=0.526; 95% IC: 0.299-0.925, P=0.028), con una disminución en la población (74.4% frente al 84.7%, respectivamente), aunque también se encontraba disminuido de forma significativa en el grupo pacientes sin encefalopatía (77.5%) pero sin significación estadística. No se observaron diferencias entre los pacientes con o sin encefalopatía. Resultados similares se obtuvieron en el análisis de la presencia o ausencia del epítipo C2 entre la cohorte de individuos sanos y enfermos.

En el análisis posterior de HLA-C sobre la misma cohorte de individuos se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el genotipo C2C2 homocigoto que aparecía aumentado en pacientes con encefalopatía asociada (25.6%) con respecto a la población control sana (15.3%) (OR=1.902; 95% IC: 1.082-3.346, P=0.028). También se obtuvo un aumento de la frecuencia en los pacientes sin encefalopatía asociada (22.5%), pero no alcanzó la significación estadística (P=0.052).

De esta manera, tanto el genotipo C1C2 heterocigoto como el C1C1 homocigoto, presentaron una frecuencia de distribución ligeramente menor en los pacientes que no presentaban encefalopatía con respecto a la población control sana, pero sin alcanzar significación. Resultados similares se obtuvieron al comparar las poblaciones de pacientes con y sin encefalopatía.

Tabla 49. Frecuencia de epítomos y genotipos HLA-C en pacientes varones con cirrosis alcohólica y controles sanos según la presencia o ausencia de encefalopatía

Epítomos HLA-C	Pacientes varones con cirrosis alcohólica							
	Controles sanos N=314	Pacientes totales N=272		Ausencia de encefalopatía N=182	Presencia de encefalopatía N=90			
	n (%)	n (%)	P1	n (%)	n (%)	P2	P3	P4
C1+	266 (84.7)	208 (76.5)	0.015^a	141 (77.5)	67 (74.4)	0.052 ^c	0.028^e	0.649
C1-	48 (15.3)	64 (23.5)		41 (22.5)	23 (25.6)			
C2+	213 (67.8)	190 (69.9)	0.655	125 (68.7)	65 (72.2)	0.920	0.519	0.577
C2-	101 (32.2)	82 (30.1)		57 (31.3)	25 (27.8)			
Genotipos								
HLA-C								
C1C1	101 (32.2)	82 (30.1)	0.655	57 (31.3)	25 (27.8)	0.920	0.519	0.577
C1C2	165 (52.5)	126 (46.3)	0.137	84 (46.2)	42 (46.7)	0.192	0.341	1.000
C2C2	48 (15.3)	64 (23.5)	0.015^b	41 (22.5)	23 (25.6)	0.052 ^d	0.028^f	0.649

N, número total de individuos; n, número de individuos con presencia o ausencia de genotipo HLA-C. Las comparaciones fueron hechas por el Test exacto de Fisher de dos colas. P1, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica totales con los controles sanos; P2 y P3, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica sin y con encefalopatía asociada con los controles sanos, respectivamente; P4, valor de P obtenido al comparar la población de pacientes con cirrosis alcohólica sin encefalopatía asociada frente al grupo con encefalopatía asociada. ^a OR=0.586; 95% IC:0.387-0.889, P=0.015. ^b OR=1.705; 95% IC:1.125-2.584, P=0.015. ^c OR=0.621; 95% IC:0.390-0.987, P=0.052. ^d OR=1.611; 95% IC:1.013-2.563, P=0.052. ^e OR=0.526; 95% IC:0.299-0.925, P=0.028. ^f OR=1.902; 95% IC:1.082-3.346, P=0.028.

Posteriormente, se realizó el análisis de la frecuencia de epítomos y genotipos HLA-C según el grado de encefalopatía que presentan (Tabla 50). Se observa una distribución similar del epítomo C1 en los pacientes con distintos grados de encefalopatía, mientras que el epítomo C2 se encontró con una frecuencia de distribución disminuida en los pacientes con grado III (50%), con respecto a los de grado I (83.3%), siendo estadísticamente significativo (OR=5.000; 95% IC: 1.096-22.820, P=0.043).

Con respecto al genotipo C2C2 homocigoto se observó una frecuencia de distribución similar entre los pacientes con distinto grado de encefalopatía. Sin embargo, el genotipo homocigoto C1C1 presentó diferencias significativas (OR=0.200; 95% IC: 0.044-0.913, P=0.043), cuya frecuencia de distribución estaba aumentado en el grupo con encefalopatía de grado III (50%) con respecto a los pacientes con encefalopatía de grado I (16.7%).

Tabla 50. Frecuencia de epítomos y genotipos HLA-C en pacientes varones con cirrosis alcohólica con encefalopatía asociada según su grado.

Epítomos HLA-C	Pacientes varones con cirrosis alcohólica										
	Controles Sanos N=314	Pacientes totales N=272		Ausencia de encefalopatía N=182	Presencia de encefalopatía N=90	Enc. Tipo I N=36	Enc. Tipo II N= 39	Enc. Tipo III N= 10			
	n (%)	n (%)	P1	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	P2	P3	P4
C1+	266 (84.7)	208 (76.5)	0.015^a	141 (77.5)	67 (73.6)	26 (72.2)	28 (71.8)	9 (90.0)	1.000	0.410	0.414
C1-	48 (15.3)	64 (23.5)		41 (22.5)	23 (25.3)	10 (27.8)	11 (28.2)	1 (10.0)			
C2+	213 (67.8)	190 (69.9)	0.655	125 (68.7)	65 (72.2)	30 (83.3)	26 (66.7)	5 (50.0)	0.117	0.043^c	0.465
C2-	101 (32.2)	82 (30.1)		57 (31.3)	25 (27.8)	6 (16.7)	13 (33.3)	5 (50.0)			
Genotipos											
HLA-C											
C1C1	101 (32.2)	82 (30.1)	0.655	57 (31.3)	25 (27.85)	6 (16.7)	13 (33.3)	5 (50.0)	0.117	0.043^d	0.465
C1C2	165 (52.5)	126 (46.3)	0.137	84 (46.2)	42 (46.7)	20 (55.6)	15 (38.5)	4 (40.0)	0.168	0.484	1.000
C2C2	48 (15.3)	64 (23.5)	0.015^b	41 (22.5)	23 (25.6)	10 (27.8)	11 (28.2)	1 (10.0)	1.000	0.410	0.414

N, número total de individuos; n, número de individuos con presencia o ausencia de genotipo HLA-C. Las comparaciones fueron hechas por el Test exacto de Fisher de dos colas. P1, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica totales con los controles sanos; P2, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con encefalopatía asociada de grado I y II; P3, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con encefalopatía asociada de grado I y III; P4, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica con encefalopatía asociada de grado II y III ^a OR=0.586; 95% IC:0.387-0.889, P=0.015. ^b OR=1.705; 95% IC:1.125-2.584, P=0.015. ^c OR=5.000; 95% IC: 1.096-22.820, P=0.043. ^d OR=0.200; 95% IC: 0.044-0.913, P=0.043.

3.1. Análisis de las combinaciones de genes KIR y sus correspondientes ligandos HLA-C

Posteriormente, se realizó un análisis de la frecuencia de combinaciones de genes KIR con su ligando conocido y considerando los ligandos HLA-C correspondiente (C1, C2 o Bw4) en cada caso. Para este análisis se dividió en dos grupos de genes KIR inhibidores y genes KIR activadores, se excluyeron los genes KIR constitutivos y los pseudogenes.

3.1.1. Análisis de los genotipos KIR y sus ligandos HLA-C en pacientes con cirrosis alcohólica y ascitis.

Como se observa en la Figura 51, cuando se evaluó KIR2DL1+/S1- en presencia y ausencia de su epítipo C2 se observó que la distribución de estas combinaciones eran similares en la población sana y enferma. Por el contrario, cuando se analizó KIR2DL2 y KIR2DL3 asociado al ligando C1+ se observó una menor frecuencia de estas combinaciones en el grupo de pacientes (83.5% vs 76.2% y 85.1% vs 75.9%, respectivamente), aunque esta disminución sólo fue significativa para la combinación de KIR2DL3 con C1+ (OR =0.550; 95% IC: 0.353-0.858, P=0.010). Resultados similares fueron obtenidos en el grupo de pacientes con cirrosis alcohólica sin ascitis asociada, pero no resultaron significativos.

Igualmente se analizó también la frecuencia del gen KIR3DL1+ en presencia y ausencia de su ligando, el epítipo BW4+, pero en este caso las frecuencias fueron similares entre la población sana y la enferma (P=0.846).

En cuanto a los KIR activadores, se analizó la frecuencia de KIR2DS1+ en presencia y ausencia del epítipo C2, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y la población enferma. El análisis de la combinación del gen KIR2DS4 con los dos ligandos conocidos (C1+ y C2+) demostró que los pacientes portadores del ligando C1+ y KIR2DS4 disminuían respecto al grupo control (84.8% vs 76.3) y esta diferencia resultó significativa (OR=0.575 95% IC: 0.376-0.880, P=0.013). Algo similar ocurría al comparar el

grupo de cirrosis alcohólica sin ascitis con el grupo control (75.2% frente a 84.8%) pero no fueron estadísticamente significativos. Además, la combinación de KIR2DS5 con el ligando C1+, también ha sido menos frecuente en el grupo total de pacientes con cirrosis respecto al control (72.9% frente a 84.3%), sin alcanzar significación estadística. Por el contrario, la combinación del ligando C2+ con KIR2DS5 aparecía aumentada en el grupo de pacientes (74% frente al 67.5%), pero la diferencia observada aquí tampoco fue estadísticamente significativa.

Los resultados obtenidos en el grupo de pacientes con cirrosis alcohólica con ascitis asociada según su grado no resultaron significativos.

Tabla 51. Análisis de los genotipos KIR y sus ligandos HLA-C en controles sanos y pacientes cirróticos sin/con ascitis asociada.

KIR genes	HLA-I Ligando	Pacientes varones con cirrosis alcohólica											
		Controles sanos N=319	Pacientes totales N=281			Ausencia Ascitis N=119	Presencia Ascitis N=213	Ascitis Tipo I N=32	Ascitis Tipo II N=66	Ascitis Tipo III N=56	P3	P4	P5
		n (%)	n (%)	P1	n (%)	n (%)	P2	n (%)	n (%)	n (%)			
iKIRs													
KIR2DL1+/S1-	C2+	221 (67.6)	188 (70.1)	0.530	71 (63.4)	117 (75.0)	0.043	23 (76.7)	51 (78.5)	40 (72.7)	0.105	0.144	1.000
	C2-	1 (25.0)	2 (50.0)		0 (0)	2 (66.7)		2 (100.0)	0 (0)	0 (0)			
KIR2DL2+	C1+	167 (83.5)	109 (76.2)	0.099	46 (76.7)	63 (75.9)	1.000	9 (64.3)	27 (77.1)	22 (78.6)	0.710	0.402	0.516
	C1-	15 (12.9)	30 (23.3)		14 (26.4)	16 (21.1)		4 (22.2)	8 (25.8)	4 (14.8)			
KIR2DL3+	C1+	235 (85.1)	183 (75.9)	0.010^a	75 (75.0)	108 (76.6)	0.879	18 (69.2)	46 (76.7)	41 (80.4)	1.000	0.317	0.497
	C1-	7 (17.5)	6 (19.4)		3 (23.1)	3 (16.7)		1 (16.7)	2 (33.3)	0 (0)			
KIR3DL1+	Bw4+	231 (76.0)	201 (75.0)	0.846	87 (74.4)	114 (75.5)	0.887	21 (75.0)	47 (73.4)	40 (76.9)	0.647	0.610	1.000
	Bw4-	7 (46.7)	7 (53.8)		0 (0)	7 (63.6)		2 (50.0)	3 (100.0)	2 (50.0)			

aKIRs													
KIR2DS1+	C2+	78 (67.2)	81 (70.4)	0.670	32 (61.5)	49 (77.8)	0.067	10 (66.7)	21 (84.0)	17 (81.0)	1.000	0.734	0.598
	C2-	64 (32.0)	48 (30.6)		21 (34.4)	27 (28.1)		4 (23.5)	10 (24.4)	11 (32.4)			
KIR2DS4+	C2+	206 (68.0)	178 (69.3)	0.784	70 (64.2)	108 (73.0)	0.136	19 (67.9)	49 (77.8)	37 (72.5)	1.000	1.000	0.437
	C2-	5 (38.5)	3 (20.0)		2 (50.0)	1 (9.1)		0 (0)	0 (0)	1 (25.0)			
KIR2DS5+	C1+	257 (84.8)	196 (76.3)	0.013^b	82 (75.2)	114 (77.0)	0.768	20 (71.4)	47 (74.6)	42 (82.4)	0.309	1.000	0.478
	C1-	2 (15.4)	3 (20.0)		1 (25.0)	2 (18.2)		1 (25.0)	0 (0)	1 (25.0)			
KIR2DS5+	C1+	70 (84.3)	70 (72.9)	0.072	31 (70.5)	39 (75.0)	0.651	8 (80.0)	17 (70.8)	12 (70.6)	0.517	0.467	1.000
	C1-	35 (15.0)	38 (21.6)		15 (21.7)	23 (21.5)		7 (31.8)	9 (21.4)	5 (13.2)			
KIR2DS5+	C2+	56 (67.5)	71 (74.0)	0.410	30 (68.2)	41 (78.8)	0.253	8 (80.0)	19 (79.2)	14 (82.4)	0.509	1.000	0.403
	C2-	75 (32.2)	57 (32.4)		27 (39.1)	30 (28.0)		7 (31.8)	9 (21.4)	12 (31.6)			

N, número total de individuos; n, número de individuos con presencia o ausencia de ligando para un gen KIR. Las comparaciones fueron hechas por el test exacto de Fisher de dos colas. P1, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica totales con los controles sanos; P2, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica sin y con ascitis asociada; P3, valor de P obtenido al comparar los pacientes con cirrosis alcohólica con ascitis asociada de grado I y II; P4, valor de P obtenido al comparar los pacientes con cirrosis alcohólica con ascitis asociada de grado I y III; P5, valor de P obtenido al comparar los pacientes con cirrosis alcohólica con ascitis asociada de grado II y III. ^a OR =0.550; 95% IC: 0.353-0.858, $P=0.010$; ^b OR=0.575 95% IC: 0.376-0.880, $P=0.013$.

3.1.2. Análisis de los genotipos KIR y sus ligandos HLA-C en pacientes con cirrosis alcohólica y encefalopatía.

De la misma manera, se analizó la población de pacientes que presentaban encefalopatía (Tabla 52).

Los resultados al evaluar los genes KIR inhibidores fueron similares entre los pacientes con encefalopatía asociada y también según su grado.

Los análisis mostraron resultados significativos al analizar la frecuencia de KIR2DS1+ en presencia y ausencia del epítipo C2+. Se encontró aumentado en los pacientes (70.4%) con respecto a los controles (67.2%), siendo no significativa ($P=0.670$), al igual entre la presencia y ausencia de encefalopatía. Pero sí resultó diferente estadísticamente significativo entre el grupo con encefalopatía de grado I (85.7%) y el II (78.6%), siendo menor en éste último ($OR= 5.455$; 95% IC: 1.226-24.261, $P=0.043$).

En el análisis de la combinación del gen KIR2DS4+ con los dos ligandos conocidos (C1+ y C2+) no se obtuvo diferencias según la presencia o ausencia de encefalopatía ni según el grado. Por último, la combinación de KIR2DS5+ con el ligando C2+, aparecía aumentada en el grupo de pacientes (74% frente al 67.5%), aunque la diferencia observada no fue estadísticamente significativa, si lo fue entre los pacientes con encefalopatía asociada de grado I y II, mostrándose menos frecuente en el grupo con encefalopatía asociada de grado II respecto al de grado I (63.6% frente 88.9%), alcanzando significación estadística ($OR=5.143$; 95% CI: 1.176-22.483, $P=0.038$).

Tabla 52. Análisis de los genotipos KIR y sus ligandos HLA-C en controles sanos y pacientes cirróticos sin/con encefalopatía asociada.

KIR genes	HLA-I Ligando	Pacientes varones con cirrosis alcohólica											
		Controles sanos N=319	Pacientes totales N=281			Ausencia Encefal. N=190	Presencia Encefal. N=91	Enc. Tipo I N=36	Enc. Tipo II N=40	Enc. Tipo III N=10	P3	P4	P5
		n (%)	n (%)	P1	n (%)	n (%)	P2	n (%)	n (%)	n (%)			
iKIRs													
KIR2DL1+/S1-	C2+	221 (67.6)	188 (70.1)	0.530	123 (69.1)	65 (72.2)	0.672	6 (83.3)	26 (66.7)	5 (50.0)	0.325	1.000	0.465
	C2-	1 (25.0)	2 (50.0)		2 (50.0)	0 (0)		6(16.7)	13 (33.3)	5 (50.0)			
KIR2DL2+	C1+	167 (83.5)	109 (76.2)	0.099	78 (78.0)	31 (72.1)	0.521	13 (68.4)	10 (66.7)	5 (100.0)	0.465	1.000	0.616
	C1-	15 (12.9)	30 (23.3)		19 (23.2)	11 (23.4)		4 (23.5)	6 (25.0)	1 (20.0)			
KIR2DL3+	C1+	235 (85.1)	183 (75.9)	0.010^a	118 (75.6)	65 (76.5)	1.000	25 (73.5)	28 (73.5)	9 (90.0)	1.000	1.000	1.000
	C1-	7 (17.5)	6 (19.4)		3 (11.5)	3 (60.0)		1 (50.0)	1 (100.0)	0 (0)			
KIR3DL1+	Bw4+	231 (76.0)	201 (75.0)	0.846	132 (72.1)	69 (81.2)	0.130	26 (83.9)	33 (84.6)	6 (60.0)	0.177	1.000	1.000
	Bw4-	7 (46.7)	7 (53.8)		2 (28.6)	5 (83.3)		4 (80.0)	1 (100.0)	0 (0)			
aKIRs													
KIR2DS1+	C2+	78 (67.2)	81 (70.4)	0.670	50 (68.5)	31 (73.8)	0.672	18 (85.7)	11 (78.6)	1 (20.0)	0.043^c	0.324	1.000
	C2-	64 (32.0)	48 (30.6)		34 (31.2)	14 (29.2)		3 (20.0)	10 (40.0)	1 (20.0)			

KIR2DS4+	C2+	206 (68.0)	178 (69.3)	0.784	119 (68.8)	59 (70.2)	0.886	25 (80.6)	25 (65.8)	5 (50.0)	0.200	1.000	1.000
	C2-	5 (38.5)	3 (20.0)		3 (33.3)	0 (0)		5 (100.0)	1 (100.0)	0 (0)			
	C1+	257 (84.8)	196 (76.3)	0.013^b	133 (76.9)	63 (75.0)	0.756	23 (74.2)	27 (71.1)	9 (90.0)	0.226	1.000	1.000
	C1-	2 (15.4)	3 (20.0)		1 (11.1)	2 (33.3)		2 (40.0)	0 (0)	0 (0)			
KIR2DS5+	C1+	70 (84.3)	70 (72.9)	0.072	44 (72.1)	26 (74.3)	1.000	14 (77.8)	6 (54.5)	4 (100.0)	0.288	1.000	0.338
	C1-	35 (15.0)	38 (21.6)		24 (19.8)	14 (25.5)		6 (33.3)	6 (21.4)	1 (16.7)			
	C2+	56 (67.5)	71 (74.0)	0.410	46 (75.4)	25 (71.4)	0.810	16 (88.9)	7 (63.6)	1 (25.0)	0.038^d	0.155	1.000
	C2-	75 (32.2)	57 (32.4)		42 (34.7)	15 (27.3)		4 (22.2)	9 (32.1)	2 (33.3)			

N, número total de individuos; n, número de individuos con presencia o ausencia de ligando para un gen KIR. Las comparaciones fueron hechas por el test exacto de Fisher de dos colas. P1, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica totales con los controles sanos; P2, valor de P obtenido al comparar a los pacientes con cirrosis alcohólica sin y con encefalopatía asociada; P3, valor de P obtenido al comparar los pacientes con cirrosis alcohólica con encefalopatía asociada de grado I y II; P4, valor de P obtenido al comparar los pacientes con cirrosis alcohólica con encefalopatía asociada de grado I y III; P5, valor de P obtenido al comparar los pacientes con cirrosis alcohólica con encefalopatía asociada de grado II y III. ^a OR=0.550; 95% IC: 0.353-0.858, P=0.010; ^bOR=0.575 95% IC: 0.376-0.880, P=0.013; ^c OR=5.455; 95% IC: 1.226-24.261, P=0.043; ^d OR=5.143; 95% CI: 1.176-22.483, P=0.038.

4. Análisis de las principales causas de muerte del paciente alcohólico según genes KIR.

Se analizaron las frecuencias de los genes KIR en pacientes con CA según las tres principales causas de muerte (sepsis, fallo de injerto hepático y fallo multiorgánico) en pacientes con ascitis (Figura 77) y encefalopatía (Figura 78).

En pacientes que han sufrido fallo multiorgánico se observaron distintas frecuencias de los genes aKIR según la presencia o ausencia de ascitis (Figura 77). Excepto para el gen KIR3DS1 cuya frecuencia fue muy similar en ambos grupos de pacientes, para el resto se obtuvieron mayor representación en los pacientes con CA y ascitis. El gen KIR2DS2 es el que presenta mayor diferencia, con más frecuencia en los pacientes con ascitis (100%) con respecto a los que no desarrollan ascitis (71%). En cuanto a los genes iKIR, también hubo una mayor representación en los pacientes con CA y ascitis con respecto a los que no presentaban ascitis. Por el contrario, el gen KIR2DL1 presentaba una distribución similar en ambos grupos (Figura 77A), repitiéndose este patrón en todos los tipos de muerte (Figura 77A, B y C).

Cuando se analizaron los pacientes fallecidos por sepsis, se observó una disminución de la frecuencia de los genes KIR3DS1, 2DS5, 2DS3 y 2DS1 en los pacientes que desarrollaron ascitis. Sin embargo, la frecuencia del gen KIR2DS4 resultó en una mayor frecuencia en los pacientes con ascitis (100%) con respecto a los pacientes sin ascitis (62%). Fue el caso contrario para el gen KIR2DS2, del cual se obtuvo una menor frecuencia entre los pacientes con ascitis (36%) con respecto a los pacientes sin ascitis (50%). Al observar los genes iKIR, se obtiene una mayor frecuencia de los genes KIR3DL1 y KIR2DL3 (100% ambos) en los pacientes con ascitis en comparación con los pacientes sin ascitis (61% y 88%, respectivamente). El gen KIR2DL5 se mostró ausente en los pacientes con ascitis. Por el contrario, el gen KIR2DL2 está disminuido en los pacientes con CA y ascitis (34%) en comparación con los pacientes sin ascitis (50%) (Figura 77B).

Por último, los pacientes que sufrieron fallo de injerto hepático presentaron una menor representación de los genes aKIR en los pacientes con CA y con ascitis, en concreto los genes KIR3DS1, 2DS5, 2DS4 y 2DS1. Además, los genes KIR2DS5 y KIR2DS1 presentaron una mayor diferencia con respecto a los pacientes sin ascitis (23%-67%; 30%-65%, respectivamente). La distribución del gen KIR2DS3 fue casi similar en ambos grupos. Sin embargo, el gen KIR2DS2 estaba aumentado en los pacientes con ascitis (61%) con respecto a los pacientes sin ascitis (31%). Con respecto a los genes iKIR, se obtiene una mayor

frecuencia de los genes KIR2DL2, 2DL3 y DL5 en los pacientes con ascitis, presentando una mayor diferencia el gen KIR2DL2 con respecto a los pacientes sin ascitis (31% frente al 61%, respectivamente). Por el contrario, el gen KIR3DL1 esta disminuido en los pacientes con ascitis (89%) en comparación con los pacientes sin ascitis (100%) (Figura 77C).

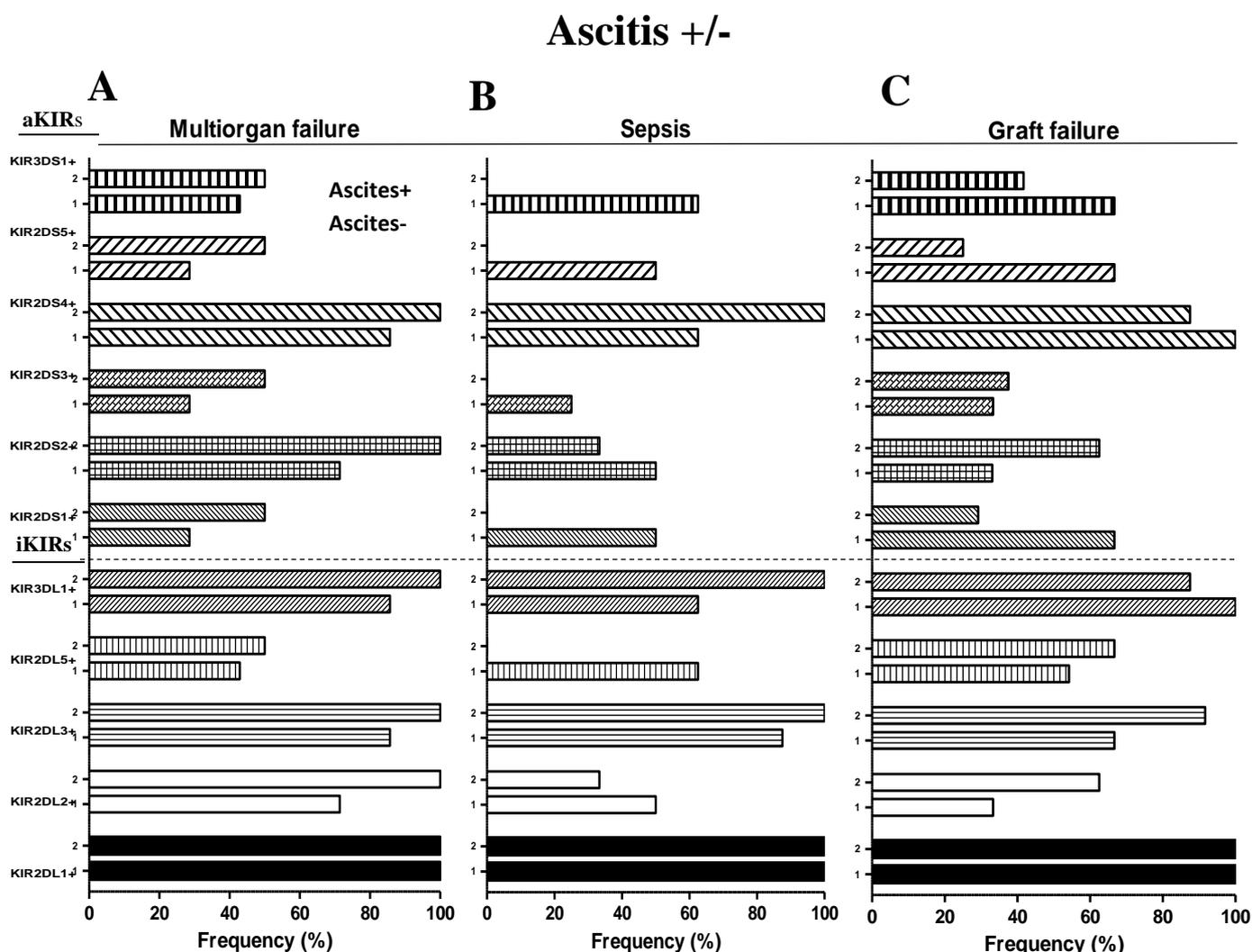


Figura 77. Análisis de la frecuencia de genes KIR en pacientes con ascitis y su relación con las principales causas de muerte. **(A)** Frecuencia de genes KIR en decesos por fallo multiorgánico. Análisis de pacientes con CA y su relación con la fallo multiorgánico según la presencia o ausencia de ascitis; **(B)** Análisis de pacientes con CA fallecidos por sepsis según la presencia o ausencia de ascitis; **(C)** Análisis de pacientes con CA muertos por fallo del injerto hepático según la presencia o ausencia de ascitis.

También se analizó la frecuencia de los genes KIR en pacientes con o sin encefalopatía según distintos tipos de defunción (Figura 78).

Se han observado distinta distribución de los genes aKIR en pacientes con o sin encefalopatía que han sufrido fallo multiorgánico, sepsis o fallo del injerto hepático. El gen KIR2DS1, se mostró disminuido en los pacientes con encefalopatía (58%), que habían sufrido fallo multiorgánico, en comparación con los pacientes sin encefalopatía (100%). Sin embargo, se mostró aumentado en los pacientes con encefalopatía que habían sufrido sepsis o rechazo del injerto, con respecto a la ausencia de encefalopatía. Esta situación es similar en la distribución de los genes KIR2DS2 y 3DS1.

Por otra parte, el gen KIR2DS5 se encuentra disminuido en los pacientes con CA con encefalopatía independientemente de la causa de la muerte, aunque hay una mayor diferencia en la frecuencia en los pacientes que sufrieron fallo multiorgánico (20%) con respecto a los pacientes con CA sin encefalopatía (50%). En cuanto a los genes KIR2DS4 y 2DS3, resultaron aumentados en los pacientes con CA con encefalopatía, en los tres tipos de defunción, aunque la diferencia de distribución con respecto a los pacientes con CA sin encefalopatía era mayor en el perfil del gen KIR2DS4, aunque sin significación estadística (Figura 78A, B y C).

Con respecto a la frecuencia de los genes iKIR, se ha observado una frecuencia similar del gen KIR2DL1 en los pacientes en todos los tipos de muerte. Por otro lado, el gen KIR3DL1 se encuentra en una frecuencia superior en los pacientes con AC y encefalopatía independientemente de la causa de la muerte, aunque es superior la frecuencia en los pacientes que sufrieron fallo multiorgánico (100%) con respecto a los otros tipos de muerte (78%).

Los genes KIR2DL2, 2DL3 y 2DL5, tienen mayor frecuencia en los pacientes con encefalopatía que murieron por sepsis o rechazo de injerto. Sin embargo, su frecuencia es menor en los pacientes con encefalopatía que murieron por fallo multiorgánico (Figura 78A, B y C). Además, aquellos pacientes KIR2DL5+ con encefalopatía (50%) estaban más presentados en fallecimientos por fallo del injerto hepático que los pacientes que no tenían encefalopatía (45%), siendo estadísticamente significativa ($P=0.045$) (Figura 78C)

Encefalopatía +/-

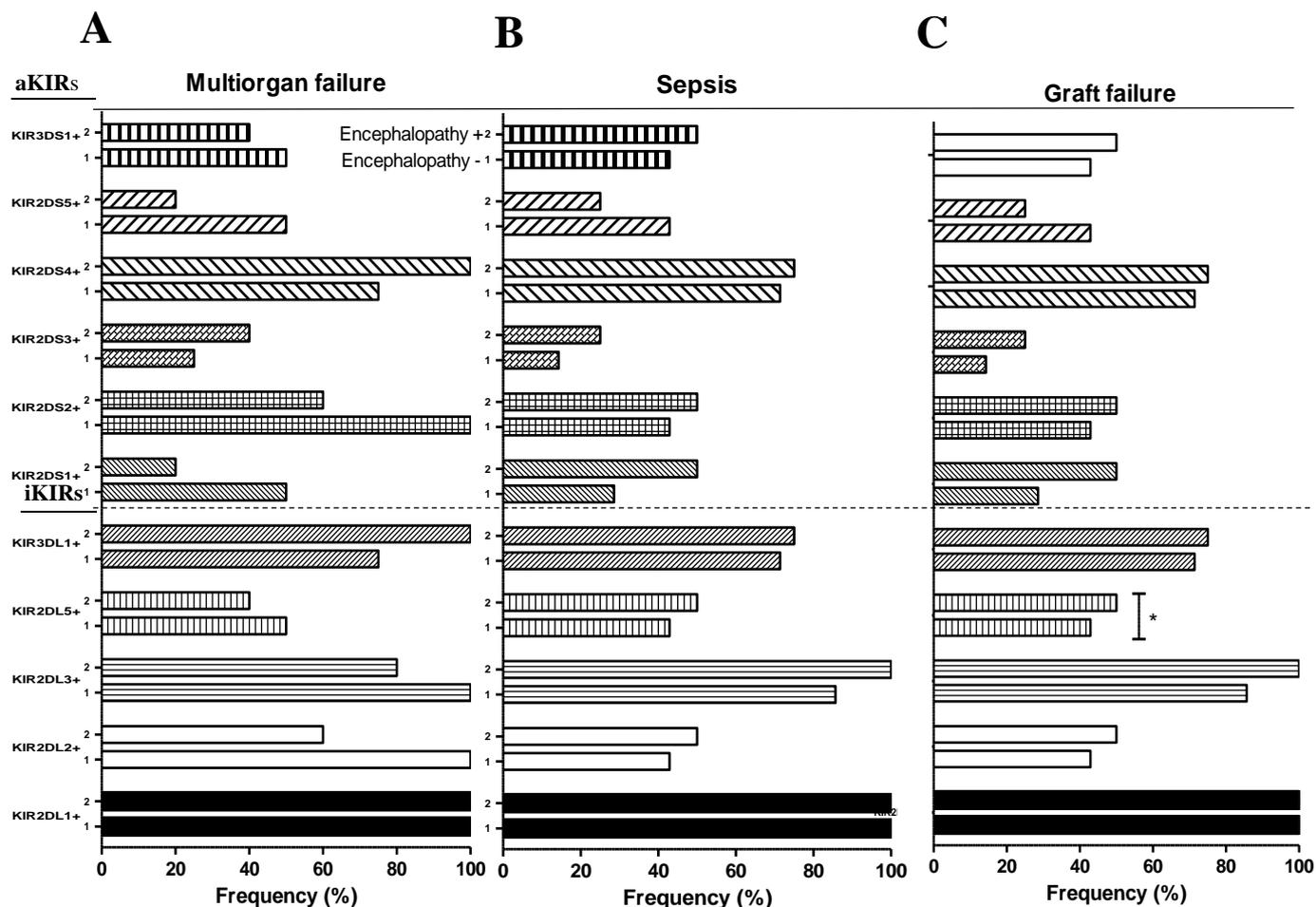


Figura 78. Análisis de la frecuencia de genes KIR en pacientes con cirrosis alcohólica y su relación con las principales causas de muerte según la presencia o ausencia de encefalopatía (A) Análisis de pacientes con CA y su relación con la fallo multiorgánico según la presencia o ausencia de encefalopatía; (B) Análisis de pacientes con CA y su relación con sepsis según la presencia o ausencia de encefalopatía; (C) Análisis de pacientes con CA y su relación con el fallo del injerto hepático según la presencia o ausencia de encefalopatía.

*Diferencia significativa en pacientes fallecidos por fallo del injerto hepático que presentan el gen KIR2DL5⁺ con o sin encefalopatía (P=0.045).

5. Estudio de las supervivencias de los pacientes según la presencia o ausencia de genes KIR

En la Figura 79 y 80 se comparan la supervivencia de los pacientes según la presencia de los genes KIR y la causa de muerte del paciente. Las causas de muerte analizadas se clasificaron según fuese por fallo multiorgánico, sepsis, fallo del injerto hepático u otros.

5.1. Supervivencia según causas de muerte y genes KIR inhibidores

Se comparó la diferente supervivencia de los pacientes con cirrosis alcohólica según la presencia o ausencia del gen KIR2DL1 (Figura 79A), aunque resultó insuficiente el número de casos para la comparación estadística. La presencia o ausencia de los genes KIR2DL2, KIR2DL3 y KIR2DL5 no parecen influir significativamente en supervivencia según las diferentes causas de muerte (Figura 79B, C y D).

Por otro lado, los pacientes KIR3DL1⁻ murieron pronto por rechazo del injerto hepático (Figura 79E), en comparación con los pacientes que presentaban el gen KIR3DL1 de forma significativa ($P=0.012$), pudiendo influir significativamente en la supervivencia del paciente fallecido por fallo del injerto hepático.

Genes iKIR

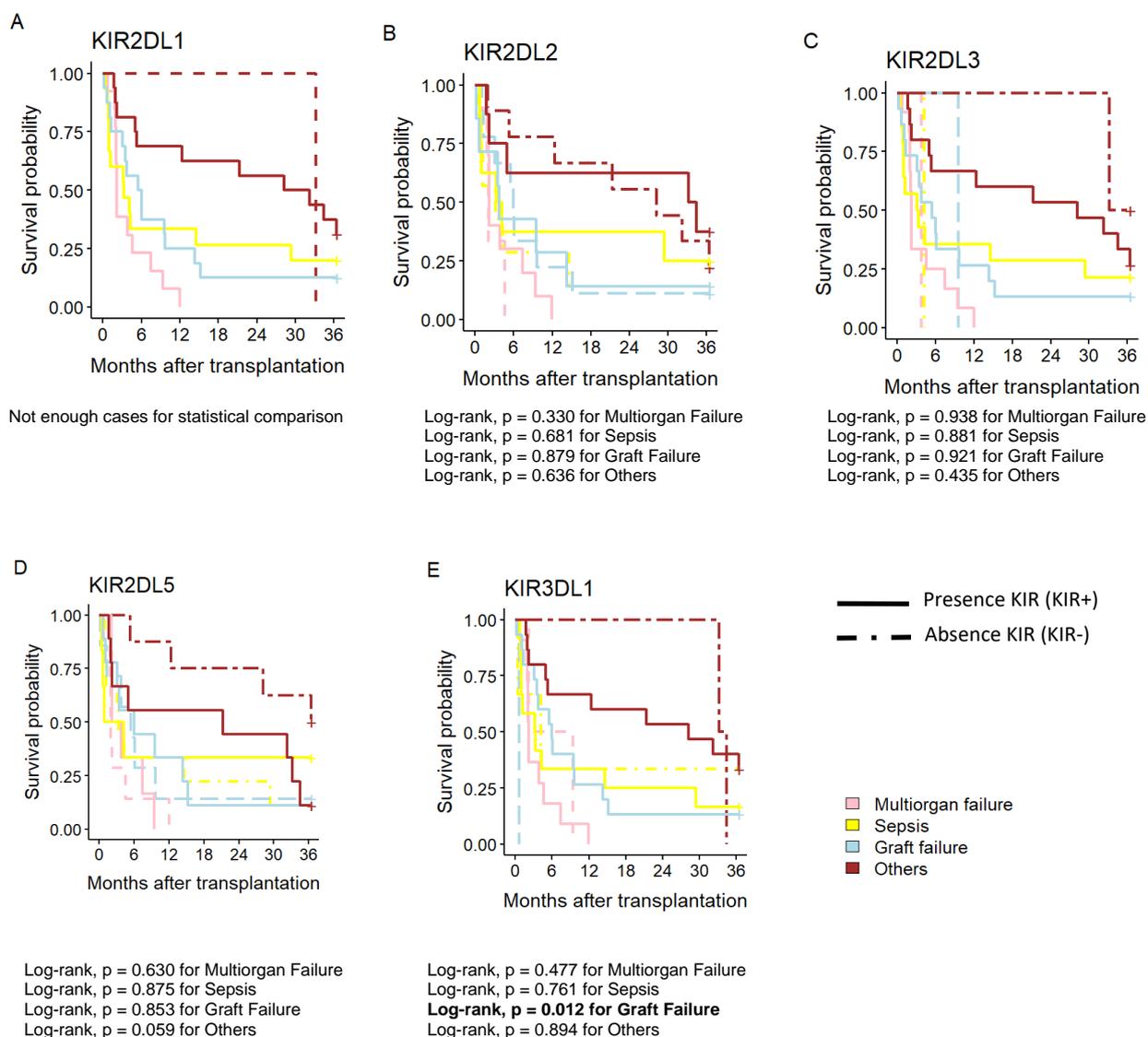


Figura 79. Curva de supervivencia de los pacientes de Kaplan-Meier según la causa de muerte en pacientes y la presencia o ausencia de los genes KIR inhibidores. **(A)** Curva de supervivencia según la presencia o ausencia del gen KIR2DL1; **(B)** Curva de supervivencia según la presencia o ausencia del gen KIR2DL2; **(C)** Curva de supervivencia según la presencia o ausencia del gen KIR2DL3; **(D)** Curva de supervivencia según la presencia o ausencia del gen KIR2DL5; **(E)** Curva de supervivencia según la presencia o ausencia del gen KIR3DL1.

Nota: Otros incluyen edema pulmonar, neoplasia de faringe, pancreatitis, neumonía, rechazo crónico, disfunción primaria y recaída del VHC. VHC, virus de la hepatitis C; VHB, virus de la hepatitis B.

5.2. Supervivencia según causas de muerte y genes KIR activadores

Al comparar la diferente supervivencia de los pacientes con cirrosis alcohólica según la presencia o ausencia del gen KIR2DS1 (Figura 80A), se observó diferencias estadísticamente significativas ($P=0.011$). Los pacientes KIR2DS1⁺ presentan una supervivencia muy baja por fallo del injerto hepático.

También se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas al comparar los pacientes que presentaban o no el gen KIR2DS3 (Figura 80C). Los pacientes que sufrieron otros tipos de muerte (edema pulmonar, neoplasia de faringe, pancreatitis, neumonía, rechazo crónico, disfunción primaria y recaída del VHC) mostraron una mayor supervivencia en aquellos con ausencia del gen KIR, cuya expresión influye significativamente en la supervivencia del paciente con cirrosis alcohólica ($P=0.024$).

También en pacientes con fallo multiorgánico, se obtuvieron resultados significativos al comparar según la presencia o no del gen KIR2DS4. Resultó en una supervivencia superior en aquellos pacientes con rechazo del injerto hepático, cuya presencia del gen parece influir significativamente comparando con los pacientes KIR2DS4⁻ que fallecen pronto ($p = 0.012$).

La presencia o ausencia de los genes KIR2DS2, KIR2DS5 y KIR3DS1 no parecer influir significativamente en la supervivencia del paciente según las diferentes causas de muerte analizadas (Figura 80B, E y F, respectivamente).

Genes aKIR

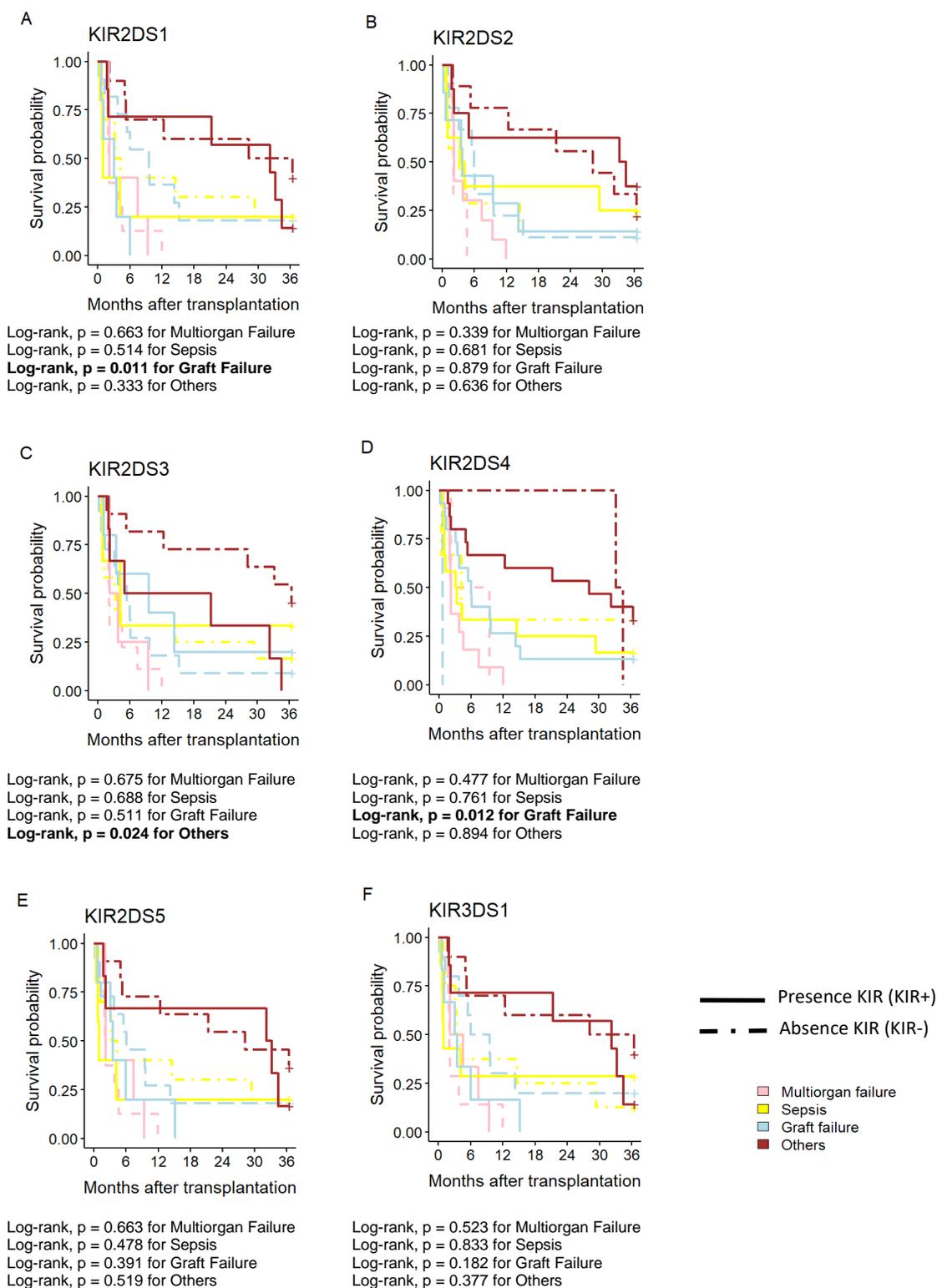


Figura 80. Curva de supervivencia de los pacientes de Kaplan-Meier según la principal causa de muerte en pacientes con cirrosis alcohólica comparando la presencia o ausencia de genes KIR activadores. **(A)** Curva de supervivencia según la presencia o ausencia del gen KIR2DS1; **(B)** Curva de supervivencia según la presencia o ausencia del gen KIR2DS2;

(C) Curva de supervivencia según la presencia o ausencia del gen KIR2DS3; (D) Curva de supervivencia de los pacientes según la presencia o ausencia del gen KIR2DS4; (E) Curva de supervivencia de los pacientes según la presencia o ausencia del gen KIR2DS5. (F) Curva de supervivencia de los pacientes según la presencia o ausencia del gen KIR3DS1.

Nota: Otros incluyen edema pulmonar, neoplasia de faringe, pancreatitis, neumonía, rechazo crónico, disfunción primaria y recaída del VHC. VHC, virus de la hepatitis C; VHB, virus de la hepatitis B.

Discusión

5. DISCUSIÓN

Se ha caracterizado a una gran población de pacientes con cirrosis alcohólica, analizando sus características sociodemográficas, bioquímicas, principales complicaciones clínicas, genotipo KIR, HLA-C, combinaciones de KIR/HLA en pacientes que desarrollan ascitis y/o encefalopatía y tasas de supervivencia, con el objetivo de observar si esta familia de genes establece alguna relación con la susceptibilidad de desarrollar cirrosis alcohólica y, por otra parte conocer la frecuencia en nuestra población de estudios, principales características sociodemográficas, complicaciones y supervivencia de los pacientes con cirrosis alcohólica que desarrollan ascitis, así como, encefalopatía.

Con respecto al perfil genético entre individuos sanos y pacientes varones con cirrosis alcohólica con diferentes complicaciones pretrasplante tales como la ascitis y encefalopatía. Además, se analizó el grado de complicación de ambos.

Las características sociodemográficas de la cohorte total de pacientes con cirrosis alcohólica (n=281), siendo nuestro tamaño muestral de pacientes similar a Legaz y col. (2019a) pero algo superior al estudio de Bolarín y col. (2021), muestran que la edad media de la cohorte total fue de 53.63 ± 0.495 (años \pm EEM), al igual que en los estudios de Legaz y col. (2021) y Bolarín y col. (2021).

De los pacientes con CA, 162 individuos (57.7%) presentaron ascitis siendo esta frecuencia similar a otros estudios (Navarro, 2017) aunque mucho mayor respecto a Zhao y col. (2019) (n=22). Nuestros datos de la media de edad de la población de pacientes según el desarrollo de ascitis mostraron diferencias significativas ($P < 0.001$) (53.91 ± 0.644 (años \pm EEM) en pacientes con ascitis y 53.24 ± 0.775 (años \pm EEM) en pacientes sin ascitis). Sin embargo, Zhao y col. (2019) afirmaban que el desarrollo de

ascitis no difería según la edad en pacientes con cirrosis alcohólica (50.82 ± 9.09 (años \pm EEM) en pacientes con ascitis y 50.86 ± 12.03 (años \pm EEM) en pacientes sin ascitis), cuya cirrosis estuvo causada predominantemente por el VHB y, en menor medida, por alcohol.

De los pacientes que desarrollaron ascitis, 32 (20.7%) presentaron tipo I, 67 (43.2%) tipo II y 56 (36.1%) tipo III, observando diferencias significativas en el análisis de varianza, según el grado de desarrollo de la ascitis (OR=0.349; 95% IC: 0.212-.0.574, $P<0.001$).

En cuanto al desarrollo de encefalopatía, 91 pacientes (32.3%) la presentaban, porcentaje algo inferior con respecto a Noguera (2017) y similar a Legaz y col., (2021), cuyos datos de la media de edad entre los grupos de pacientes con encefalopatía fueron de 55.37 ± 0.838 (años \pm EEM) o sin encefalopatía de 52.79 ± 0.604 (años \pm EEM). Del total de éstos, el 32.3% ($n=91$) presentaba encefalopatía y un 67.6% ($n=190$) no la desarrollaron, siendo estas comparaciones diferentes significativamente (OR=4.359; 95% IC: 3.062-6.207, $P<0.001$).

Por otra parte, Bolarín y col. (2021) obtuvo diferencias estadísticamente significativas ($P<0.0001$) entre las edades medias de los pacientes con encefalopatía que tenían una edad media superior de (56.7 ± 2.0 ; años \pm SD), seguida de la pacientes con ascitis (54.2 ± 1.3 ; años \pm SD), y finalmente con infección viral asociada (51.3 ± 1.9 ; años \pm SD). También obtuvo resultados similares al comparar pacientes varones con CA y el grupo de pacientes sin virus asociado. Por el contrario, en pacientes con CA con infecciones virales ($n= 33$), la edad media a la que también presentaron ascitis (50.4 ± 2.0 ; media \pm DE) fue superior a la edad media a la que presentaron encefalopatía (47.2 ± 2.8 ; media \pm DE), esta diferencia alcanzó significación estadística ($P=0.012$). La edad

media de los pacientes con ascitis y encefalopatía y sin virus fue superior a la de los pacientes sin infección viral ($P=0.024$ y $P=0.002$, respectivamente).

Entre los pacientes que desarrollaban encefalopatía, 36 (41.9%) presentaron tipo I, 40 (46.5%) tipo II y 10 (11.6%) tipo III. Las comparaciones realizadas del grupo con encefalopatía de grado II con el resto de grupos mostraron diferencias significativas ($OR=0.157$; 95% IC: 0.072-.0.342, $P<0.001$).

En el análisis de las características bioquímicas de los pacientes con cirrosis alcohólica se encontraron diferencias pero sin significación estadística, en las que la albúmina se encontraba disminuida. Por otra parte, la bilirrubina total, GOT, GPT y GGT resultó aumentada con respecto a la normalidad en los pacientes con CA. De forma similar ocurre en los grupos de pacientes con ascitis o encefalopatía. Sin embargo, Benedé-Ubieto y col. (2021) si demostraron la correlación entre la lesión hepática y, en su caso, con la infección por el virus del SARS-CoV-2, con 799 pacientes ingresados por COVID-19 que contenían indicadores clínicos relacionados con la lesión hepática. Sus datos mostraron niveles séricos de GPT, GOT, GGT, FA, LDH y la relación GOT/ GPT estaban elevados por encima del límite superior normal, resultando una correlación positiva significativa entre los niveles de LDH y la relación GOT/ GPT con el resultado de la enfermedad, demostrando que la infección por el virus conduce a cambios leves pero significativos en los marcadores séricos de lesión hepática.

También en pacientes con CA pretrasplante con y sin infección viral asociada se encontraron diferencias en el caso de la bilirrubina total, GOT y GPT. GOT y GPT se encontraron elevadas de forma significativa en pacientes sin infección viral asociada (Legaz y col., 2019).

Por otra parte, al observar a los pacientes con ascitis o sin ascitis asociada se observó una disminución significativa de la albúmina en los pacientes con CA y ascitis,

con un valor menor del establecido para el límite inferior de la normalidad mostrando diferencias entre ambos grupos ($P=0.0009$). También ocurre con los niveles de la fosfatasa alcalina, cuyos valores se encuentran elevados con respecto a los valores normales en pacientes con CA y ascitis (176.41 ± 110.41 U/l) y sin ascitis (172.80 ± 124.45 U/l), con diferencias significativas entre ambos grupos ($P=0.0153$).

A pesar de estas diferencias entre ambos grupos no se encontraron diferencias según el grado de ascitis alcanzado, salvo en el caso de INR. Sus valores fueron ligeramente elevados con respecto al valor medio, siendo de 1.38 ± 0.20 en los pacientes con ascitis de grado I, 1.42 ± 0.22 en los pacientes con ascitis de grado II y 1.55 ± 0.46 en los pacientes con ascitis de grado III. El análisis de varianza de estos pacientes resultó significativa ($P=0.038$) aunque no podemos discriminar cuál de los grupos influye. Los datos podrían indicar una diferencia entre los grupos de ascitis II y III, ya que con respecto al grado I, éste se encuentra disminuido con valores similares a los pacientes sin ascitis.

Sin embargo, Zhao y col. (2019), que evaluaba la relación entre el gradiente de presión portal y albúmina en la formación de ascitis en pacientes cirróticos post-TIPS, afirma que en sus grupos de pacientes no difirieron según puntuaciones MELD, aunque sí hubo diferencias significativas en las puntuaciones de Child-Pugh, pre-gradiente de presión portal y post-gradiente de presión portal entre los dos grupos en las estadísticas clínicas ($P<0.05$). También realizó una comparación de dos grupos, los factores de laboratorio de linfocitos, hemoglobina, plaquetas, albúmina y pre-TIPS, mostrando también una diferencia significativa ($P<0.05$), así como la diferencia expresada en bilirrubina total.

Aunque Legaz y col. (2021), afirmaron que la puntuación de Child-Pugh ni la de ALBI pueden considerarse las mejores para predecir la supervivencia del paciente a

corto o largo plazo, Según nuestros valores de Child-Pugh en los pacientes con ascitis mostraron una distribución similar en comparación con los pacientes sin ascitis, e incluso según el grado de la enfermedad alcanzado. Sin embargo, según la puntuación MELD mostraron una menor supervivencia los pacientes con ascitis, coincidiendo con la puntuación ALBI obtenida, quizás asociada a la disminución significativa de la albumina ($P=0.0009$) con respecto a los pacientes sin ascitis.

Por otro lado, entre los pacientes con y sin encefalopatía no mostraron diferencias significativas, cuyos valores eran similares a los valores de normalidad. Aunque sí se obtuvieron diferencias entre los distintos grados de encefalopatía, observándose un crecimiento de la creatinina a medida que la gravedad de la enfermedad aumenta, con valores elevados en los pacientes con encefalopatía de tipo III (1.77 ± 1.57 mg/dl), siendo significativo ($P=0.015$). Nuestra puntuación MELD muestra una menor supervivencia de los pacientes con encefalopatía (68.1%) con respecto a los pacientes sin encefalopatía (53.2%), en consonancia con la puntuación de ALBI obtenida (65.9% en pacientes con encefalopatía en comparación con los pacientes sin encefalopatía asociada (53.2%)), considerando además un aumento de los valores de creatinina conforme la gravedad de la enfermedad aumenta, con valores elevados en pacientes con encefalopatía de tipo III ($P=0.015$), aunque la puntuación de MELD y ALBI fueron más elevados en los pacientes con encefalopatía de tipo I.

Como se ha comentado en este estudio, no se consideraron a las mujeres con cirrosis alcohólica de la cohorte de pacientes inicial. Por ello, nuestra cohorte se limita a un grupo de varones españoles con cirrosis alcohólica en estadios terminales de su enfermedad que han sido objeto de un trasplante hepático. Así, se ha podido realizar una comparación genética de una población masculina española con cirrosis alcohólica ($n=281$) con un conjunto de hombres caucasoides sanos ($n=319$).

Es característica de la fibrosis hepática la aparición de tejido cicatricial, debido a la inflamación del hígado y muerte de células hepáticas. La fibrosis hepática tiene lugar cuando el tejido cicatricial excesivo se acumula más rápido de lo que se puede descomponer. Actualmente se conoce que, cuando se elimina la agresión fundamental que ha producido la cirrosis, se puede llegar a resolver la fibrosis (García y col., 2012; Garcia-Tsao, Friedman, Iredale y Pinzani, 2010).

Sin embargo, el consumo continuo de alcohol en exceso conduce a una inflamación del hígado caracterizada por la infiltración de leucocitos polimorfonucleares (PMN) y daño hepatocelular, que definen la hepatitis alcohólica. Finalmente, los pacientes desarrollan depósito de fibrosis hepática (20–40%) y cirrosis (8–20%), lo que confiere un alto riesgo de complicaciones (como ascitis, hemorragia por varices, encefalopatía hepática, insuficiencia renal e infecciones bacterianas).

Se han observado que los pacientes alcohólicos a menudo sufren de desnutrición causada por daños a las proteínas, que inducen infecciones bacterianas. Por lo tanto, se recomienda brindar apoyo nutricional durante el estadio leve, proporcionando dietas altas en proteínas y bajas en grasas y equilibrando los niveles de vitamina B, C, K y ácido fólico (Suk, Kim, y Baik, 2014). Este suplemento de nutrientes mejora las condiciones de los pacientes como se observó en estudios anteriores a través de un diagnóstico a corto plazo, como el análisis de la función hepática y el análisis histológico. Los pacientes con intoxicación aguda por alcohol o encefalopatía hepática alta deben proteger el tracto respiratorio y los pacientes con alcohol hepático grave suelen necesitar un programa de rehabilitación de derivación. Según estudios clínicos, la ingesta diaria de proteínas de los pacientes con enfermedad hepática alcohólica debe ser de 1,5 g / kg de peso corporal. Además, es necesario suministrar vitamina B a menudo a

pacientes con enfermedad hepática alcohólica y desnutrición, debido al riesgo potencial de encefalopatía de Wernicke (Kong y col., 2019).

En cuanto a terapias dirigidas a señales antioxidantes se señalan la activación de genes antioxidantes como Nrf-2 (Zhao, Guo, Xie, y Zeng, 2018), NF- κ B, superóxido dismutasa, (Assiri y col., 2017; Kessova y Cederbaum, 2007), catalasa, glutatión, peroxidasa-1, metalotioneína y peroxiredoxina-1 (Bae y col., 2011; Chattopadhyay y col., 2016), es el tratamiento dirigido para la hepatopatía alcohólica causado por el estrés oxidativo. Además, los fármacos inhiben CYP2E1, reducen las especies reactivas de oxígeno, promueven PPAR α y activan SIRT1, AMPK, (Ji y Kaplowitz, 2003) HO-1, (Bakhautdin y col., 2014) y otras vías que se pueden usar para el tratamiento de la enfermedad hepática alcohólica.

Chistyakov y col. (2015) proponen PPAR α y PPAR γ están regulados en los astrocitos en los niveles de expresión de ARNm y proteínas, degradación de ARNm y actividad de unión al ADN durante las respuestas mediadas por TLR. La regulación de PPAR α y PPAR γ a nivel postranscripcional, y una regulación similar de PPAR β / δ sugieren un papel importante de la tríada PPAR en las respuestas celulares mediadas por TLR.

Otros estudios previos han concluido que el consumo de diferentes cantidades de alcohol en diversas poblaciones o los diferentes niveles de expresión de las enzimas ALDH y CYP2E1 entre individuos pueden dar lugar a esta variación en la progresión de la enfermedad. Estudios recientes de casos y controles en los Estados Unidos han demostrado que el polimorfismo de un solo nucleótido rs738409 en el gen de la proteína 3 que contiene el dominio de fosfolipasa similar a la patatina (PNPLA3) está estrechamente relacionado con la incidencia de hígado alcohólico (Kolla y col., 2018).

Además, se informó que los polimorfismos rs738409 de un solo nucleótido están fuertemente asociados con enfermedad hepática alcohólica en los hombres chinos (Zhang y col., 2018) y en pacientes con enfermedad hepática avanzada causando un mal pronóstico para el trasplante de hígado (Friedrich y col., 2014). Por lo tanto, I148M puede actuar como un indicador genético para evaluar si un paciente es elegible para un trasplante de hígado (Kong y col., 2019).

En la población española, son varios los trabajos donde se estudia la asociación entre KIR y diversas enfermedades autoinmunes e infecciosas (Rizzo y col., 2021; Díaz-Peña y col., 2016; García-León y col., 2011; Gumá y col., 2004; Legaz y col., 2013; Moraru y col., 2012; Vidal-Castiñeira y col., 2014). También se ha sugerido su papel en el desarrollo del carcinoma hepatocelular en pacientes cirróticos por el VHC (Umemura y col., 2021; Joshita y col., 2021), la susceptibilidad a una infección crónica por VHC (Ursu y col., 2020) o VHB (Varbanova y col., 2020), o, en contraposición, una protección frente a la transmisión perinatal del virus del VIH (Omosun y col., 2018).

En la Tabla 53 se recoge un resumen de las últimas asociaciones de los receptores KIR y sus ligandos HLA clase I con distintas enfermedades.

Tabla 53. Posible relación de KIR/HLA y enfermedades.

Enfermedad	KIR/HLA	Frecuencia	Efecto	Referencia
Autoinmune				
Síndrome de linfocito desnudo	HLA-I y/o HLA-II	Reducción	Mayor susceptibilidad	DeSandro, Nagarajan y Boss, 1999; Raghavan, 1999
Espondilitis anquilosante	KIR3DS1 y KIR2DS1	Incremento	Mayor susceptibilidad	Feltkamp, Khan y Lopez de Castro, 1996; Jiao y col., 2008
	HLA-B27	Incremento	Induce fenómenos de autoinmunidad	Taurog, 2010
Artritis reumatoide	KIR2DS1	Incremento	Mayor susceptibilidad	Salgado, 2019; Sun y col., 2019
	KIR2DS1/HLA-C1			
	KIR2DL2/HLA-C1	Incremento	Factor de protección	
Lupus Eritematoso Sistémico (LES)	HLA-C1	Incremento	Mayor susceptibilidad	Gambino y col., 2018
Tiroiditis de Hashimoto	KIR2DS2/HLA-C1	Incremento	Mayor patogenicidad	Li y col., 2016
	KIR2DL2/3- HLA-C1	Incremento	Protector frente a la patogénesis	
	KIR2DS2	Reducción		
Esclerosis múltiple (EM)	KIR3DL1-HLA-Bw4,	Incremento	Efecto protector	Hollenbach y col., 2016
Infección por:				

Citomegalovirus (CMV)	KIR2DL2	Incremento	Mayor susceptibilidad	Rizzo y col., 2012
	HLA-C	Incremento	Escape inmunológico viral	Kielczewska y col., 2009
	KIR2DS1	Incremento	Control de la infección placentaria por CMV	Crespo, Strominger y Tilburgs, 2016
	KIR2DS2, KIR2DL3 y HLA-C1	Incremento	Protección contra la reactivación del CMV en trasplante de órgano	Duin y col., 2014
	KIR2DL2, KIR2DS1	Incremento	LES	Hou y col., 2010
Virus del epstein barr (VEB)	KIR2DS5 y KIR2DS4	Incremento	Mayor riesgo de enfermedades linfoproliferativas.	Hoteit y col., 2014
	KIR2DL2	Incremento	EM, mayor susceptibilidad a infecciones herpéticas.	Rizzo y col., 2012
Virus del Herpes Humano-8	KIR2DL2/HLA-C1	Incremento	Diabetes Tipo 2	Caselli y col., 2014
	KIR2DL2 y KIR2DS2	Incremento	Lesión vascular cutánea	Borghi y col., 2016
Virus del Herpes Humano-6	KIR2DL2/HLA-C1	Incremento	Alzheimer, Inhibición de las NK	Eimer y col., 2018; Rizzo y col., 2019
	KIR2DL2/HLA-C1	Incremento	EM, Empeoramiento de la enfermedad, inhibición de NK, reactivación herpética	Rizzo y col., 2012; Ben y col., 2014; Machado-Sulbaran y col., 2019 ;
	KIR2DL2	Incremento	Infertilidad	Djulejic y col., 2015; Rizzo y col., 2019
KIR2DL5	Reducción			
Virus del papiloma humano (VPH)	KIR2DL2/HLA-C1	Incremento	Cáncer de cuello uterino, factor de alto riesgo de VPH y transformación neoplásica	Rizzo y col., 2014
	KIR2DL3/HLA-C1			

	HLA-C2	Incremento		
	KIR2DL1	Incremento	Cáncer de cuello uterino	
	KIR2DL2/HLA-C2	Reducción		
Enterovirus	KIR3DL1	Reducción	Diabetes de Tipo 1	Qin y col., 2011
<i>Chlamydia trachomatis</i>	KIR2DL2/KIR2DL3	Incremento	Mayor susceptibilidad y riesgo de cicatrices conjuntivales	Roberts y col., 2014
	HLA-C2			
Virus de inmunodeficiencia humana (VIH)	HLA-C	Incremento	Escape inmunológico viral	Parolini y col., 2017; Serena y col., 2017
	KIR3DS1	Reducción	Mayor función de las células NK, transmisión perinatal reducida	Omosun y col., 2018
	KIR2DL2, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR3DS1	Incremento	Mayor susceptibilidad	
	KIR3DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL5, KIR2DS5, HLA-C	Incremento	Transmisión perinatal reducida	Sorgho y col., 2019
Virus Hepatitis C (VHC)	KIR3DL1	Reducción	Mayor riesgo de infección crónica por el VHC	Fabrice y col., 2020; Oliviero y col., 2009
	KIR2DS3	Incremento		
Tumores:				
Tumor de vjiga, melanoma y ovario	CD226/iKIR	Reducción	Afecta negativamente a la supervivencia del paciente	Guillamon y col., 2018; Guillamón y col., 2019

LES, Lupus Eritematoso Sistémico; EM, Esclerosis múltiple; CMV, Citomegalovirus; VEB, Virus del epstein barr VEB; VPH, Virus del papiloma humano; VIH, Virus de inmunodeficiencia humana y VHC, Virus de la hepatitis C. (Adaptación de Rizzo y col., 2021).

Se realizó un estudio genético entre el grupo de controles sanos y pacientes varones con cirrosis alcohólica, con y sin ascitis o encefalopatía. En ambos grupos, se analizó y la variedad de genes KIR y genes HLA-C, además de las distintas combinaciones según la compatibilidad ligando-receptor. Todo ello con la intención de localizar si existe alguna relación con el riesgo de desarrollar ascitis o encefalopatía, o por el contrario, posibilitara un factor de protección. De esta manera, se contribuye a profundizar en el conocimiento de la diversidad del complejo KIR así como de algunos aspectos funcionales, facilitando una correcta y más completa interpretación de los estudios genéticos de asociación.

Nuestros datos recogen que los pacientes con cirrosis alcohólica presentan una frecuencia de distribución disminuida del gen iKIR 2DL2. Su representación es significativamente más baja en el grupo de pacientes (53%) que en la cohorte de individuos sanos (63.3%) ($P=0.013$). En cuanto a los aKIR (2DS2 y 2DS5) parecen influir en el desarrollo de la cirrosis alcohólica en el grupo de pacientes. La disminución de KIR2DS2 es significativamente más baja en pacientes con cirrosis alcohólica que en controles (52% y 63%, respectivamente; $OR=0.635$; 95% IC: 0.458-0.880, $P=0.006$). Por otro lado, el aumento del gen KIR2DS5 es significativo entre los pacientes con cirrosis alcohólica en comparación con el grupo control sano ($P=0.033$). En nuestra cohorte de pacientes sin ascitis, la presencia de KIR2SD5 fue significativamente mayor con respecto al grupo control sano ($P=0.014$). Por ello, el aumento de este gen parece no influir en el desarrollo de ascitis, aunque sí en el de la cirrosis hepática.

Legaz y col. (2019) sugieren un efecto contrario de KIR2DL2, y también de KIR2DS5 en pacientes con cirrosis alcohólica mayores de 54 años, en los que la presencia de KIR2DL2 parece ser protectora contra la cirrosis, mientras que la presencia de KIR2DS5 parece favorecer el proceso fibrótico, concretamente en pacientes sin

infección vírica asociada. Aunque en otras afectaciones como la hepatotoxicidad idiosincrasia no parecen afectar las combinaciones de receptor KIR-ligando HLA (XL Congreso Anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado, 2015).

Por su parte, KIR2DL2 y KIR3DL1 sugieren una predisposición al desarrollo de ascitis. La frecuencia de KIR2DL2 está significativa disminuida en pacientes con cirrosis alcohólica y ascitis frente al grupo de control sano (OR=0.632; 95% IC: 0.431-0.927, P=0.024). Esto sugiere que la disminución de gen KIR2DL2, además de influir en el desarrollo de la cirrosis alcohólica en el paciente, podría predisponer al desarrollo de la ascitis, ya que por una parte, es significativa la comparación entre los pacientes con respecto al grupo control sano (P=0.013) y por otra parte, la comparación de los pacientes sin ascitis con respecto a los controles sanos presentan una menor distribución de este gen pero sin obtener resultados significativos. Sin embargo, si se obtienen resultados significativos al comparar la menor distribución del gen KIR2DL2 en la población de pacientes cirróticos con ascitis frente al grupo control sano (P=0.024).

Por otro lado, los datos parecen indicar que la disminución del gen KIR3DL1 no influye en la CA, ya que la frecuencia de distribución entre el grupo control sano y los pacientes con cirrosis es similar. Además, aunque su proporción disminuye entre los pacientes con y sin ascitis en comparación con el grupo control sano de forma no significativa, si se observan diferencias al comparar la distribución menor del gen KIR3DL1 en pacientes con ascitis (93.2%) con respecto a los pacientes sin ascitis (98.3%) (P=0.048).

También podrían ser factor de predisposición al desarrollo de ascitis el gen KIR2SD2. Se observó como la frecuencia de distribución del gen KIR2DS2 y KIR2DS5 fue similar entre el grupo de pacientes con ascitis y sin ascitis, sin diferencias entre ambos grupos. Sin embargo entre los pacientes sin ascitis asociada presentaron una

frecuencia de distribución más baja significativamente respecto a los controles sanos del gen KIR2DS2 ($P=0.048$); y una frecuencia de distribución más alta en pacientes sin ascitis asociada respecto a los controles sanos en el caso del gen KIR2DS5 ($P=0.014$).

Además, para el gen KIR2DS2 la frecuencia de distribución entre los pacientes con ascitis asociada presenta diferencias significativas si la comparamos con la población control sana, siendo en esta última mayor ($P=0.024$).

En el análisis de la frecuencia de distribución de los genes KIR en pacientes con ascitis según su grado se han obtenido valores similares. Sin embargo, al comparar a éstas poblaciones con la población de controles sanos, el gen KIR2DL2 se presentó disminuido de forma significativa en pacientes con ascitis de tipo I ($P=0.036$). De la misma forma ocurre con el gen KIR2DS2 ($P=0.037$). En los pacientes con ascitis de tipo II y tipo III también se observa que su presencia es menor en ambos genes, pero sin significación estadística.

Los datos obtenidos al analizar el gen KIR2SD2 se ajustan a los esperados según los obtenidos para el gen inhibidor KIR2DL2, ya que ambos genes se encuentran altamente asociados en nuestra población. Así, cuando KIR2DS2 está ausente, hay un 100% probabilidad de que KIR2DL2 también esté ausente y un 82,39% de posibilidad de que KIR2DS4 esté presente. Similarmente para un valor predictivo de ausencia, cuando KIR2DS4 no está presente, hay un 39,33% probabilidad de que KIR2DL2 esté presente y una probabilidad del 94,38% de que KIR2DS1 esté presente (Gourraud y col., 2010).

Sin embargo, el gen KIR2DS5, a pesar de haber mostrado diferencias significativas entre los pacientes cirróticos y controles, y entre pacientes sin ascitis en comparación con los controles, no muestran diferencias entre los pacientes con ascitis con respecto a los pacientes sin ascitis. En otros estudios, muestran una frecuencia de

KIR2DS5 aumentada de forma significativa en pacientes cirróticos sin infección viral asociada frente al grupo control sano ($P=0.002$), con una tendencia similar con KIR3DS1+ ($P=0.002$). Por otra parte, resultaron en una disminución de la frecuencia de KIR2DS5 en pacientes con infección viral (20.6%) respecto sin virus (39.9%; $P=0.004$), sugiriendo un papel en el desarrollo de una infección vírica, pero finalmente, en un análisis conjunto de los tres genes KIR centroméricos (KIR2DS1, KIR2DS5, KIR3DS1), observaron que parecen estar más frecuentemente representados en la población de pacientes con cirrosis alcohólica pudiendo participar en los mecanismos biológicos del proceso cirrótico (Legaz y col., 2019; Legaz y col., 2018). La presencia de los receptores KIR3DS1, junto con KIR2DS1 se ha relacionado con un riesgo incrementado para padecer ciertas enfermedades autoinmunes como la espondilitis anquilosante (Jiao y col., 2008), o en presencia del gen KIR2DL5 como factores predisponentes en la esclerosis múltiple (García-León y col., 2011).

En referencia a los factores de riesgo al desarrollo de la encefalopatía, nuestros resultados señalan a los genes KIR2DL2, KIR2DS2 y KIR2DS5. Se ha obtenido una menor presencia significativamente del gen KIR2DL2 entre el grupo pacientes con y sin encefalopatía, estando disminuido entre los pacientes con encefalopatía asociada. (47.3% frente al 55.8%; $P=0.008$). De forma similar ocurre con el gen KIR2DS2 ($P=0.005$). Mientras que, para el KIR2SD5 se obtuvo una frecuencia de distribución más alta en pacientes con encefalopatía asociada (38.5%) respecto a los pacientes sin encefalopatía asociada (33.7%), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($P=0.038$).

Por otra parte, en el análisis de la frecuencia de distribución de los genes KIR en pacientes con encefalopatía según su grado se han obtenido valores similares. Sin

embargo, si se obtiene diferencias al comparar los pacientes con encefalopatía según su grado con respecto al grupo control sano.

El gen KIR2DL1 se encuentra disminuido en la población de pacientes con encefalopatía de tipo I ($P=0.03$) y aumentado ligeramente en los pacientes con encefalopatía de tipo II ($P=0.006$). También disminuye su distribución en los pacientes con encefalopatía de tipo III (50%), aunque no resulta significativa, quizás por el bajo número de población ($n=10$). La frecuencia del gen KIR2DL2 disminuye gradualmente a medida que se agrava la enfermedad (52.8%, 37.5% y 50%, respectivamente) frente a la población control sana (63.3%). Estas diferencias han resultado significativas en el caso de los pacientes con encefalopatía de grado II ($P=0.003$). Por su parte, KIR3DL1 se encontró menos representado en los pacientes con encefalopatía asociada de grado I (86.1%) con respecto al grupo control sano (95.3%; ($P=0.041$))

En cuanto a los aKIR, KIR2DS1, mostró un aumento significativo de su frecuencia en pacientes con encefalopatía de grado I ($P=0.019$), al igual que KIR2DS5 ($P=0.006$). El gen KIR3DS1 también aumenta pero de forma cercana a la significación ($P=0.05$) con un 58.3% de distribución frente al control sano con el 40.4%, seguramente por el bajo número de tamaño muestral. Sin embargo, KIR2DS4 y KIR2DS2, disminuyen en su distribución con diferencias estadísticamente significativas en los pacientes de grado I ($P=0.003$) y de grado II ($P=0.003$), respectivamente. KIR2DS2 mostró una disminución gradual según el grado de encefalopatía, aunque sólo resulta en significación estadística en los pacientes con encefalopatía de grado II.

Nuestros datos difieren con Legaz y col. (2019), en la que señalan a los genes KIR2DL1 + y KIR3DL2 + como un factor de susceptibilidad al desarrollo de las ascitis en pacientes con cirrosis alcohólica, mientras que en este estudio datos similares entre ambos grupo con respecto al KIR2DL1. Además, señalan que los genes inhibidores

KIR2DL2, KIR2DL3 y KIR3DL1 no parecen tener un papel activo. Sin embargo, en otros estudios si se ha hallado una relación con el aumento de la frecuencia del gen KIR2DL2 y su predisposición al desarrollo de enfermedades autoinmunitarias (Hollenbach y col., 2009; Pardo J., 2015; Ramirez-De los Santos y col., 2012) o enfermedades infecciosas (Hou y col., 2010; Rizzo y col., 2012).

Los resultados obtenidos también contradicen a otro estudio que, a pesar de observar una tasa de CA más alta en los pacientes con cirrosis y ascitis asociada de grado II y con pacientes con encefalopatía de grado II, no fueron estadísticamente significativos. Afirman la ascitis y la encefalopatía no parecen influir en la AC (Legaz y col., 2018)

Debido a la importancia de estos epítomos Asn y Lys en la interacción del genotipo HLA-C como ligando de receptores KIR, se estudió la posible influencia de la presencia de estos epítomos en la población de pacientes y controles sanos, y se evaluó su influencia sobre la aparición de cirrosis alcohólica, ascitis y/o encefalopatía.

Así, se observó que el número de pacientes que carecían del epítomo C1 estaba significativamente disminuido en la población de cirrosis alcohólica comparada con la de los controles sanos ($P=0.015$). Resultados similares se observaron al analizar a los pacientes con cirrosis alcohólica sin ascitis asociada con los controles sanos ($P=0.031$). Los pacientes con encefalopatía que carecían del epítomo C1+ o presentaba un aumento del C1- con respecto a los controles ($P=0.028$).

Todo ello sugiere que el epítomo C1+ no influye en el desarrollo de las ascitis ni la encefalopatía pero si en el proceso cirrótico. Sin embargo, otros estudios han asociado el grupo de ligandos HLA-C1 con un mayor riesgo de sufrir Lupus Eritematoso sistémico (Gambino y col., 2018), enfermedades inflamatorias (Roberts y col., 2014), o infección por VIH (Parolini y col., 2017; Serena y col., 2017).

Por otra parte, el genotipo C1C2 heterocigoto presentó diferencias estadísticamente significativas con menor frecuencia en los pacientes sin ascitis con respecto a la población control sana ($P=0.016$). También se obtienen diferencias significativas al comparar a los individuos con ascitis y sin ascitis asociada, presentándose el genotipo C1C2 heterocigoto aumentado en la población de pacientes con ascitis asociada. ($P=0.048$).

Debido a estos datos, nuestros resultados podrían señalar al genotipo C1C2 como un factor de riesgo para el paciente desarrolle ascitis.

Por otro lado, el genotipo C2C2 homocigoto aparecía significativamente aumentado en pacientes con cirrosis alcohólica respecto a controles sanos ($P=0.015$). Se obtienen resultados similares al comparar la población de individuos sanos con la población de pacientes con cirrosis alcohólica sin ascitis asociada (24.8% y $P=0.031$). También aparecía una mayor distribución en los pacientes con encefalopatía con respecto a la población control sana ($P=0.028$). También se obtuvo una menor distribución en pacientes con ascitis asociada (22.6%) con respecto al grupo control de forma cercana a la significación ($P=0.056$).

El genotipo C2C2 podría funcionar como un factor de protección para el paciente no presente ascitis.

No se obtuvieron diferencias en cuanto al grado de ascitis, pero sí en referencia al grado de encefalopatía alcanzado por el paciente.

Así, el epítipo C2 se encontró en menor proporción en los pacientes con grado III con respecto a los de grado (50% y 83.3%, respectivamente; $P=0.043$). El genotipo homocigoto C1C1 presentó diferencias significativas con una mayor representación en el grupo con encefalopatía de grado III (50%) con respecto a los pacientes con

encefalopatía de grado I (16.7%) (P=0.043). El epítipo C1 podría estar implicado en la complicación de la encefalopatía, mientras que el genotipo C2C2 podría representar un factor de protección.

Thiruchelvam-Kyle y col. (2017) indican la existencia de un ligando novedoso, actualmente no caracterizado, para el receptor activador de células NK KIR2DS2. La identificación molecular de este ligando puede conducir a un mejor emparejamiento de KIR-HLA en la terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas para la leucemia y nuevas terapias más específicas contra el cáncer basadas en células NK. La tipificación HLA-C de células diana mostraron que el reconocimiento de KIR2DS2 era independiente del grupo HLA C1 o C2, mientras que las células diana que solo fueron reconocidas por KIR2DL3 expresaron alelos del grupo C1.

Esto coincide con nuestros datos, en cuanto nos referimos a la población de pacientes con cirrosis alcohólica que presenta una reducción del epítipo C1, presenta a su vez una menor distribución del gen KIR2DL3. En concreto, al evaluar el gen KIR2DL2 y KIR2DL3 asociado al ligando C1+ se observó una menor frecuencia de estas combinaciones en el grupo de pacientes, aunque esta disminución sólo fue significativa para la combinación de KIR2DL3 con C1+ (P=0.010).

En otro estudio, se señala la combinación de ambos (KIR2DL3/HLA-C1 y KIR2DL2/HLA-C1) como un factor de riesgo para la infección del VPH y el desarrollo de cáncer de cuello de útero (Rizzo y col., 2014). También se ha señalado que la combinación KIR2DL3/ C1 actúa como un marcador protector para el melanoma (P = 0.017) en particular el melanoma de extensión superficial y la metástasis del ganglio linfático. Por el contrario, el genotipo KIR2DL3 (-) / C1C2 parece estar correlacionado con melanoma nodular y ulceración. Además, el genotipo KIR2DL1(+)/S1(-)/C2C2 se asocia con susceptibilidad al melanoma y metástasis del ganglio linfático (Campillo y

col., 2013). Díaz-Peña y col. (2016) apreciaron un aumento muy significativo de KIR2DL3/HLA-C1 en homocigosis en pacientes con enfermedad de Crohn ($P < 0,0005$), confirmando la relevancia de los genes KIR2DL2 / KIR2DL3 y su interacción con HLA-C y la enfermedad.

Otro estudio sugiere que la heterocigidad KIR2DL2/KIR2DL3 en individuos portadores de HLA-C2 aumenta más el riesgo de ciertas enfermedades que cursan con inflamación, como la infección por *Chlamydia trachomatis* (Roberts y col., 2014) o es señalada como factor de riesgo a la psoriasis asociada al ligando HLA-C1 frente a KIR2DL2 en homocigosis (Pardo, 2015).

KIR2DS2 junto con su ligando HLA-C1 se ha correlacionado con el patogenicidad de la tiroiditis de Hashimoto. Por el contrario, el predominio de la interacción inhibitoria entre los receptores KIR2DL2/3 y los ligandos HLA-C1, en ausencia de KIR2DS2, sugiere un posible papel protector en la patogénesis de esta enfermedad (Li y col., 2016).

Además de ello, también se ha demostrado que los pacientes con CA portadores del ligando C1+ y KIR2DS4+, disminuye de forma significativa respecto al grupo control sano ($P=0.013$). En cambio, con respecto a KIR2DS4+, Umemura y col. (2021) presentó asociaciones significativas con el ligando HLA-C2, mostrando además una progresión significativa hacia la cirrosis hepática.

Ursu y col. (2020) sugieren que la expresión de KIR2DL3, KIR2DL5 y KIR2DS4 y la asociación con alelos HLA pueden aumentar la susceptibilidad del paciente al desarrollo de infección crónica por VHC. Además, revelaron diferentes alelos de HLA asociados con una mayor susceptibilidad a la infección por VHC. HLA A * 23: 01 fue la más frecuente ($P=0,030$), aunque HLA B * 44: 02 y C * 04: 02 también se elevaron significativamente en pacientes VHC positivos ($P=0.008$ y

P=0.007, respectivamente). En cambio, Coscojuela (2019) sugiere que la combinación de genes KIR2DL3 + HLA-C1 poco inhibidora resuelve más fácilmente la infección con el virus de la hepatitis C.

En referencia a ciertos alelos HLA de clase I (HLA A11 y HLA A19) se los ha relacionado con efectos perjudiciales sobre el resultado postrasplante hepático una mayor frecuencia de rechazo celular aguda en pacientes con desajuste de HLA-DRB1 entre donante y receptor (Boix y col., 2020). Ciertos estudios también los han asociado a procesos cancerosos como el melanoma, en el caso de HLA-A9 (Cavelier y col., 1980; Rovini y col., 1988). También en melanoma (HLA-B13, HLA-B61 y HLA-B51 (Muto y col., 1996; Kageshita y col., 1996). Por otra parte, el aumento del alelo HLA-B27 en pacientes con espondilitis anquilosante induciría fenómenos de autoinmunidad (Taurog, 2010) y el alelo HLA-C6 se encuentra asociado con la psoriasis, otras enfermedades severas de la piel y, de formas más leve, con artritis psoriásica (García, 2016). También se ha observado una relación importante entre los genes KIR y sus ligandos HLA con la tasa de incidencia de ES en la población iraní (Mahmoudi y col., 2017). En contraposición Diaz-Peña y col. (2020), en su estudio sobre la implicación de las células NK en el cáncer colorrectal, afirman que puede no actuar a través de combinaciones de alelos en los genes KIR y HLA, señalando la necesidad de estudios mucho más amplios en poblaciones homogéneas.

Igualmente se analizó también la frecuencia del gen KIR3DL1+ en presencia y ausencia de su ligando, el epítipo Bw4+, pero en este caso las frecuencias fueron similares entre la población sana y la enferma (P=0.846). Sin embargo en la población japonesa se señala a KIR3DL1 + HLA-Bw4, además de HLA-Bw4, como un nuevo par KIR-HLA como factor de riesgo de carcinoma hepatocelular en la cirrosis por VHC (Umemura y col., 2021). Otra fuente, describe que la asociación KIR3DL1 + HLA-Bw4

tiene un efecto protector en los pacientes con esclerosis múltiple (Hollenbach y col., 2016), al igual que García-León y col. (2011) que confirma que el transporte de HLA-Bw4 es un factor protector en la esclerosis múltiple.

Los análisis mostraron resultados significativos al analizar la frecuencia de KIR2DS1+ en presencia y ausencia del epítipo C2+. Se encontró en el grupo con encefalopatía de grado I aumentado (85.7%) con respecto al grupo de grado II (78.6%; $P=0.043$). Datos similares resultaron en el estudio de Gómez-Luque y col. (2021), con una asociación de KIR2DS1-HLAC2 en un grupo de niños oncológicos ($P=0.016$). Señalan que el genotipo KIR2DS1-C2 podría predisponer a la susceptibilidad a procesos malignos en la población infantil, a pesar de que se resultados no proporcionan evidencia de una asociación entre enfermedades oncológicas pediátricas con genotipos y grupos de genes KIRs.

Por último, de forma similar la combinación de KIR2DS5+ con el ligando C2+, aparecía aumentada en el grupo de pacientes con encefalopatía asociada de grado I y II, mostrándose menos frecuente en el grupo con encefalopatía asociada de grado II respecto al de grado I (63.6% frente 88.9%), alcanzando significación estadística ($P=0.038$).

Por otra parte, se ha señalado que la interacción inhibitoria más fuerte de KIR2DL1 + HLA-C2 afecta al desarrollo placentario causando problemas reproductivos como preeclampsia, aborto espontáneo recurrente y restricción de crecimiento fetal (Coscojuela , 2019).

En cuanto a las principales causas de muerte en el paciente en nuestro estudio, fueron por fallo multiorgánico, sepsis y fallo del injerto hepático. Sin embargo, Bolarín y col. (2021), consideraron que gran parte de las muertes de pacientes con CA sometidos a trasplante se debieron a muerte no súbita, sepsis y fallo del injerto hepático.

Nuestros datos, indican una mayor frecuencia de los genes KIR en pacientes con ascitis que fallecen por fallo multiorgánico (con una mayor diferencia del gen KIR2DS2), a excepción de los genes KIR3DS1 y KIR2DL1 que mostraron una frecuencia similar. Sin embargo, en los pacientes con ascitis fallecidos por sepsis se obtuvo una frecuencia disminuida de los genes KIR2DS1-3, 2DS5, 3DS1 y KIR2DL2 en comparación con los pacientes sin ascitis; KIR2DL5 se mostró ausente en los pacientes con ascitis. Por el contrario, KIR2DS4, KIR3DL1 y KIR2DL3 resultaron aumentado en los pacientes con ascitis (100%) con respecto a los pacientes sin ascitis (62%, 61% y 88%, respectivamente). Por último, los pacientes que sufrieron fallo de injerto hepático presentaron una menor distribución de los genes KIR3DS1, 2DS5, 2DS4, 2DS1 y KIR3DL1 con respecto a los pacientes sin ascitis. En cambio, el gen KIR2DS2 estaba aumentado en los pacientes con ascitis (61%) con respecto a los pacientes sin ascitis (31%), y en cuanto a los genes iKIR, los genes KIR2DL2, 2DL3 y DL5 presentaron una mayor frecuencia en los pacientes con ascitis.

Por otra parte, al analizar la frecuencia de los genes KIR en pacientes con o sin encefalopatía según distintos tipos de defunción, el gen KIR2DS1 se mostró disminuido en los pacientes con encefalopatía (58%), que habían sufrido fallo multiorgánico, en comparación con los pacientes sin encefalopatía (100%), aunque se mostró aumentado en los pacientes con encefalopatía que habían sufrido sepsis o rechazo del injerto, con respecto a la ausencia de encefalopatía. Esta situación es similar en la distribución de los genes KIR2DS2 y 2DS1. También se encontró disminuido el gen KIR2DS5 en los pacientes con encefalopatía independientemente de la causa de la muerte, aunque hay una mayor diferencia en la frecuencia en los pacientes que sufrieron fallo multiorgánico (20%) con respecto a los pacientes sin encefalopatía (50%). En cambio, los genes KIR2DS4 y 2DS3, resultaron aumentados en los tres tipos de defunción, aunque sin

significación estadística. De forma similar ocurre con el gen KIR3DL1, aunque es superior la frecuencia en los pacientes que sufrieron fallo multiorgánico (100%) con respecto a los otros tipos de muerte (78%).

El fallo multiorgánico fue señalada por Bolarín y col (2021), como la principal causa de muerte súbita con mayor mortalidad durante el primer año postrasplante, tanto en periodo hospitalario como en el exterior, situando a la sepsis y el fallo del injerto hepático en segundo y tercer lugar, respectivamente.

Nuestros datos mostraron que los genes KIR2DL2, 2DL3 y 2DL5 tienen mayor frecuencia en los pacientes con encefalopatía que murieron por sepsis o rechazo de injerto. Sin embargo, su frecuencia es menor en los pacientes con encefalopatía que murieron por fallo multiorgánico. Además, aquellos pacientes KIR2DL5+ con encefalopatía (50%) estaban más presentados en fallecimientos por fallo del injerto hepático que los pacientes que no tenían encefalopatía (45%), siendo estadísticamente significativa ($p=0.045$).

Legaz y col. (2021) señalaron que el rechazo crónico solo lo desarrolló el 9.1% de los pacientes con CA, independientemente de la presencia de ascitis (6.2%) o encefalopatía (5.5%), o que la ascitis (78.3%) y encefalopatía (43.5%) eran las principales complicaciones pretrasplante en los pacientes con CA, mientras que el rechazo agudo del injerto es la complicación postrasplante hepática más frecuente (26,6%), con baja frecuencia de pérdida del injerto (1,1%) (Legaz y col., 2016).

Además, se han comparado las supervivencias de los pacientes según la presencia de genes KIR y la causa de muerte del paciente.

Nuestros datos muestran que el gen KIR3DL1 puede influir significativamente en la supervivencia del paciente fallecido por fallo del injerto hepático, ya que aquellos

pacientes KIR3DL1⁻ murieron pronto en comparación con los pacientes KIR3DL1⁺ de forma significativa (P=0.012). También se obtuvo diferencias estadísticamente significativas (P=0.011) según la presencia o ausencia del gen KIR2DS1. Los pacientes KIR2DS1⁺ presentan una supervivencia muy baja por fallo del injerto hepático.

La presencia o ausencia de los genes KIR2DL2, KIR2DL3 y KIR2DL5 no parecen influir significativamente en supervivencia de nuestros pacientes según las diferentes causas de muerte. Sin embargo, Guillamón y col. (2021) valorando la inmunoterapia de Bacillus Calmette-Guérin en pacientes con cáncer de vejiga, considera a los pacientes que presentan KIR2DL1/L2/L3 un grupo de bajo riesgo inmunológico con una tasa de supervivencia del 83.3% y los pacientes KIR2DL5 + de riesgo alto con una tasa de supervivencia del 6.2% (P<0.001).

Los pacientes que sufrieron otros tipos de muerte (edema pulmonar, neoplasia de faringe, pancreatitis, neumonía, rechazo crónico, disfunción primaria y recaída del VHC) mostraron una mayor supervivencia en aquellos con ausencia del gen KIR2DS3, cuya expresión influye significativamente en la supervivencia del paciente con cirrosis alcohólica (P=0.024). Por otra parte, los pacientes que carecían del gen KIR2DS4 mostraron una supervivencia superior en aquellos pacientes con rechazo del injerto hepático, comparando con los pacientes KIR2DS4⁻ que fallecen pronto (P=0.012).

Otro estudio afirman que la presencia de complicaciones de ascitis y encefalopatía no pareció influir en la supervivencia postrasplante (Legaz y col., 2021).

Por otra parte, Kir y col. (2021) afirman que la edad ni el sexo, fueron predictores de la mortalidad del paciente incluso con enfermedad cormóbida, aparte de la propia malignidad de la enfermedad. No habiendo ventaja de supervivencia entre pacientes según la edad, señalan que éste no debería ser un factor determinante en la selección de pacientes para la UCI o en las decisiones de tratamiento que se aplicarán a los pacientes.

Se han identificado unas pocas dianas terapéuticas mediante estudios de transformación de muestras de hígado humano. Sin embargo, la traducción de la investigación básica y los resultados de la investigación traslacional a nuevas terapias ha sido modesta. Los esfuerzos futuros deberían centrarse en identificar los principales factores que contribuyen a la enfermedad en pacientes con hepatitis alcohólica moderada y grave para desarrollar nuevas terapias. Para la fase terminal, el único tratamiento eficaz es el trasplante de hígado (Lucey, 2014). Sin embargo, también tiene varios problemas, incluida la falta de una fuente de donación, el rechazo inmunológico y los altos costos quirúrgicos (Kong y col., 2019).

Sin embargo, el uso de la terapia celular está ganando atención y las células madre mesenquimales (MSC) parecen ser tipos de células prometedoras para el tratamiento de la fibrosis hepática. Las MSC tienen una variedad de capacidades de diferenciación que les permiten migrar directamente a los tejidos dañados y diferenciarse en células similares a los hepatocitos. Además, las MSC liberan varios factores de crecimiento y citocinas para aumentar la regeneración de los hepatocitos, resolver la fibrosis hepática y regular la inflamación y la respuesta inmune (Kong y col., 2019).

Finalmente, destacar que nuestro estudio presenta una serie de limitaciones, entre las que se encuentra el desconocimiento sobre el tipo de alcohol consumido, intensidad, cantidad o, incluso la edad de inicio de consumo. Sin embargo, nuestros pacientes han declarado un consumo previo de alcohol en exceso por lo que la etiología de su insuficiencia hepática fue relacionada con el alcohol en todos los pacientes.

El tamaño muestral utilizado en este estudio de asociación genética es apropiado tanto para el grupo de pacientes con cirrosis alcohólica como para el grupo control sano. Aunque habría sido deseable una cohorte mayor de pacientes con cirrosis alcohólica con ascitis o encefalopatía, ha sido posible realizar todos los tratamientos estadísticos en

este estudio, no existiendo limitación en los resultados como consecuencia del número de pacientes analizados. Sin embargo, si ha sido difícil de analizar a la población de pacientes según la gravedad de la ascitis y/o encefalopatía desarrollado debido al pequeño tamaño muestral.

Por otra parte, los resultados de este estudio solo podrían aplicarse a otras poblaciones cuya población sana tenga un repertorio de genes KIR/HLA similar, debido a las grandes diferencias en los repertorios de genes KIR/HLA existentes entre las diferentes poblaciones del mundo.

En consideración a los resultados obtenidos, en el futuro deberían realizarse más investigaciones atendiendo a la edad de la primera ingesta de alcohol, el consumo de alcohol en gramos por semana, recidiva alcohólica postransplante con el objetivo de entender la etiología de la cirrosis alcohólica y mejorar la supervivencia del paciente, por una parte, y, por otra diseñar nuevas tácticas de prevención y control del consumo abusivo de alcohol para tratar de detectar, manejar y reducir la frecuencia de cirrosis alcohólica en nuestra población.

Conclusiones

6. CONCLUSIONES

1. Con respecto a los parámetros clínicos y características sociodemográficas los pacientes varones con cirrosis alcohólica han presentado unos niveles de albúmina disminuidos y fosfatasa alcalina aumentada en comparación con los pacientes sin ascitis asociada. Además, a medida que aumenta la gravedad de la ascitis y encefalopatía se produce un aumento del valor INR y creatinina, respectivamente.
2. Con respecto a sus características sociodemográficas el grupo de pacientes con encefalopatía mostró una edad media mayor 55.37 ± 0.838 (años \pm EEM) con respecto a los pacientes sin encefalopatía 52.79 ± 0.604 (años \pm EEM), de forma significativa ($P < 0.001$). Las comparaciones realizadas del grupo con encefalopatía y ascitis de grado II con el resto de grupos mostraron diferencias.
3. Con respecto a los genes KIR:
 - a. Se sugiere a los genes KIR2DS2, KIR2DS5 y KIR2DL2 como factores de susceptibilidad de la cirrosis alcohólica.
 - b. La disminución de los genes KIR2DL2 y KIR3DL1 podría ser factores de predisposición al desarrollo de ascitis.
 - c. La disminución de KIR2DS2 y KIR2DL2, y el aumento del gen KIR2SD5 podrían ser un factor de riesgo para el desarrollo de encefalopatía entre los pacientes con cirrosis alcohólica.
 - d. La disminución de KIR2DL3 podría ser un factor de protección frente al desarrollo de encefalopatía.
 - e. Los genes KIR2DS2 y KIR2DL2 podrían estar implicados en el desarrollo de ascitis de grado I en pacientes cirróticos.
 - f. El gen KIR2DL1 parece influir en el desarrollo de encefalopatía de grado II y, junto con el gen KIR3DL1, KIR2DS1, KIR2DS4 y KIR2DS5 en la encefalopatía de grado I.
 - g. El gen KIR2DL2 y KIR2DS2 parece influir en el desarrollo de encefalopatía de grado II en los pacientes con cirrosis alcohólica.

4. En relación a la asociación de los receptores KIR y sus ligandos (moléculas de HLA-C):
 - a. El epítipo C1+ parece no influir en el desarrollo de la ascitis. Sin embargo, la carencia del epítipo C1+ o aumento del C1- podría estar implicado en el desarrollo de la encefalopatía.
 - b. El epítipo C2 se encontró con una frecuencia de distribución disminuida en los pacientes con grado III de encefalopatía.
 - c. El genotipo homocigoto C1C1 presentó diferencias significativas, cuya frecuencia de distribución estaba aumentado en el grupo con encefalopatía de grado III con respecto a los pacientes con encefalopatía de grado I.
 - d. El genotipo C2C2 homocigoto podría considerarse un factor de susceptibilidad al desarrollo de encefalopatía en pacientes con cirrosis alcohólica y actuar como un factor de protección para el paciente no presente ascitis.
 - e. El genotipo C1C2 podría ser un factor de riesgo para que el paciente desarrolle ascitis.
 - f. La disminución de la combinación de los genes KIR2DL3 con el ligando C1+ podría influir en el desarrollo de cirrosis alcohólica, en cambio la combinación de KIR2DS4 con el ligando C1+ podría considerarse un factor de protección frente a la cirrosis alcohólica.
 - g. La combinación del gen KIR2DS1+ o KIR2DS5+ con el ligando C2+ podría estar implicado en el desarrollo de encefalopatía de grado II, que estaba disminuido con respecto al grado I.
5. Se encontraron diferencias en la distribución de los genes KIR entre los pacientes con cirrosis alcohólica fallecidos según las principales causas de muerte. Sin embargo, sólo se alcanzó significación estadística en aquellos pacientes KIR2DL5+ con encefalopatía, los cuales estaban más presentados en fallecimientos por fallo del injerto hepático que los pacientes que no tenían encefalopatía.
6. Los genes KIR3DL1 y KIR2DS1 podrían influir significativamente en la supervivencia del paciente fallecido por fallo del injerto hepático, ya que los pacientes KIR3DL1⁻ murieron pronto en comparación con los pacientes que

presentaban el gen KIR3DL1 y los pacientes KIR2DS1⁺ presentan una supervivencia muy baja por fallo del injerto hepático. Por otro lado, los pacientes con cirrosis alcohólica KIR2DS3⁻ mostraron una mayor supervivencia frente a otros tipos de muerte. Por último, los pacientes que poseen el gen KIR2DS4 mostraron una supervivencia superior en aquellos pacientes con rechazo del injerto hepático.

En algunos casos, el reducido número de pacientes según el grado de encefalopatía y ascitis ha limitado el resultado fiable de significación estadística para poder establecer asociaciones entre la susceptibilidad o protección frente a la enfermedad y los genes KIR estudiados. Es por tanto recomendable realizar estos estudios en series más amplias.

Anexos

7. ANEXOS

Anexo I- Consentimiento informado

Consentimiento Informado

AUTORIZACIÓN DE INCLUSIÓN EN ESTUDIO

(Indicar grupo de estudio y procedencia)

Grupo estudio	Hospital	Servicio
Control <input type="checkbox"/>	H. Clínico U. Virgen de la Arrixaca	<input type="checkbox"/> Dermatología <input type="checkbox"/>
Paciente <input type="checkbox"/>	H. U. Reina Sofía	<input type="checkbox"/> Urología <input type="checkbox"/>
	H. U. Morales Meseguer	<input type="checkbox"/> Oncología <input type="checkbox"/>
	H. U. Santa Lucía	<input type="checkbox"/>

Paciente, D. /Dña. _____

con DNI _____, o en su defecto el representante legal o familiar,
_____ con DNI _____.

Manifiesto que he sido informado/informada por el equipo facultativo que me atiende sobre las implicaciones de mi participación en el proyecto “**Estudio de genes KIR en pacientes con hábito etanólico que desarrollan cirrosis hepática alcohólica**” y que:

1. He leído o me ha sido leída esta hoja de consentimiento informado.
2. La información se me ha facilitado de forma comprensible
3. He recibido suficiente información del estudio.
4. He podido hacer preguntas sobre el estudio.
5. He hablado con (Nombre del investigador):
Dr.....

En consecuencia comprendo que:

1. Mi participación es voluntaria.
2. Puedo retirarme del estudio:
 - Cuando quiera
 - Sin tener que dar explicaciones
 - Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Que mi participación en este estudio consistirá en:

1. Donar una muestra de unos **20ml de sangre** periférica.
2. Autorizar su utilización para realizar **estudios celulares y moleculares** relacionados con mi patología.
3. Autorizar la **conservación de material genético (DNA) y suero**.
4. Si soy seleccionado, me será solicitada una segunda donación de **20ml de sangre** para completar los estudios celulares.

Beneficios: se nos ofrecerá un pronóstico más preciso y en caso de necesitar quimioterapia, una monitorización más cercana, y que potencialmente podría ayudar a mejorar la eficacia del tratamiento. Además, contribuirá a un mejor conocimiento de la enfermedad y de los mecanismos inmunológicos que regulan la aparición y formación de metástasis de mi enfermedad.

Igualmente he sido informado de los/las:

- **Consecuencias del procedimiento:** sin consecuencias.
- **Riesgos probables:** Hematoma en la zona de extracción, poco frecuente.
- **Riesgos personalizados:** no aplicable.
- **Contraindicaciones:** no se conocen.
- **Alternativas al procedimiento:** no hay.

Por su parte, **los investigadores se comprometen a:**

- 1- Asegurar la intimidad y confidencialidad de los datos de carácter personal de los sujetos incluidos en el estudio, de conformidad a la **Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal; el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la misma, así como la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica** y documentos contenidos en el archivo.
- 2.- Que la participación en este estudio sea estrictamente voluntaria. La información que se recoja será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación. Sus respuestas al cuestionario y a la entrevista serán codificadas usando un número de identificación y por lo tanto, serán anónimas.
- 3- Si tiene alguna duda sobre este proyecto, puede hacer preguntas a cualquiera de los investigadores responsables y en cualquier momento durante su participación en él.
- 4- Puede retirarse del proyecto en cualquier momento sin que eso lo perjudique en ninguna forma. Si alguna de las preguntas durante la entrevista le parecen incómodas, tiene usted el derecho de hacérselo saber al investigador o de no responderlas.

Por la presente el paciente o el representante legal o familiar **CONSIENTE** voluntariamente y firma.

En _____ a, ____ de _____ de 202__

Firma del médico informante Nombre del Médico: _____ Número de colegiado: _____	Firma del paciente, representante legal o familiar
---	--

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

Paciente, D. /Dña. _____
con DNI _____, o en su defecto el representante legal o familiar,
_____ con DNI _____.

Por la presente el paciente o el representante legal o familiar decide REVOCAR el consentimiento informado para participar en el proyecto **“Estudio de genes KIR en pacientes con hábito etanólico que desarrollan cirrosis hepática alcohólica”**.

En _____ a, ____ de _____ de 202__

Firma del paciente, representante legal o familiar

Anexo II- Documento informativo

Documento informativo para el paciente

Se solicita su participación para un proyecto que consiste en un análisis genético de genes KIR, los cuales están implicados en la respuesta inmunitaria. Este estudio está dirigido a pacientes de la Región de Murcia que van a ser sometidos a un trasplante hepático, y a los pacientes donantes de órganos a los que se les va a realizar una extracción de hígado como parte de su proceso de donación de órganos (en cuyo caso da el consentimiento el representante legal o familiar), con la intención de analizar la influencia de estos genes en el desarrollo de cirrosis hepática.

Como parte de este proyecto, apoyado por el Comité Ético de Investigación Clínica, se le realizará una extracción de sangre, y los resultados genéticos obtenidos serán utilizados con fines de investigación, con objeto de aumentar los conocimientos sobre la cirrosis hepática, lo cual permitirá desarrollar nuevas estrategias y terapias preventivas.

Las muestras que usted dona al firmar el consentimiento informado que se le entrega junto con este documento informativo, serán congeladas y conservadas para su uso.

Su decisión acerca de participar o no en el proyecto no afectará en absoluto a la atención médica que le proporcionan sus médicos.

Antes de tomar su decisión haga tantas preguntas como desee hasta asegurarse de que lo ha entendido y desea participar.

Procedimientos del proyecto

El procedimiento para la obtención de las muestras no implica ninguna otra intervención aparte de la extracción de sangre para realizar el análisis genético.

Una vez otorgado su consentimiento y obtenida la muestra, habrá concluido su participación en el proyecto, y no se le exigirá que dedique ningún tiempo extra al mismo.

Riesgos y beneficios

La participación en el proyecto no le supone ningún riesgo, únicamente las molestias físicas de un simple pinchazo de una vena del brazo. A veces, muy raramente, le puede ocasionar un pequeño hematoma o una leve inflamación que remitirá en pocos días.

Como beneficios, contribuirá a ampliar conocimientos acerca de los genes KIR y cómo puede influir en el desarrollo de determinadas enfermedad hepáticas. Si lo desea, podrá solicitar información acerca de los resultados genéticos individuales y/o generales confirmados que se obtengan a partir del análisis de las muestras donadas.

Compensación

Usted no recibirá ninguna compensación económica o de cualquier otro tipo por su participación. Su participación en este estudio es totalmente voluntaria. Si usted decide no participar, se le garantiza que en ningún caso cambiarán los cuidados médicos que pudiera necesitar ni su relación con el equipo médico que le atiende.

Confidencialidad

Toda la información que se obtenga al analizar las muestras que nos cede, será considerada confidencial y tratada en consecuencia. Para garantizar el anonimato de su identidad, las muestras irán identificadas desde el momento mismo de la extracción con un código, no con su nombre.

En cualquier caso, todo el proceso de confidencialidad se basará en la LEY ORGÁNICA 15/1999, de 13 de Diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal (BOE núm. 298 de 14 de Diciembre de 1999).

Participación voluntaria

Su participación en el proyecto de investigación mencionado es totalmente voluntaria. Si firma el consentimiento informado, confirmará que desea participar.

Tiene derecho a la revocación del consentimiento y sus efectos, incluida la posibilidad de la destrucción de la muestra y de que tales efectos no se extenderán a los datos resultantes de las investigaciones que ya se hayan llevado a cabo, sin tener que explicar los motivos de su revocación. Su no participación o retirada posterior del consentimiento no tendrá perjuicio de su tratamiento médico. Además tiene derecho a decidir el destino de sus muestras y datos personales en caso de decidir retirarse del estudio.

Bibliografía

8. BIBLIOGRAFÍA

- Acharya, C., y Bajaj, J. S. (2018, noviembre 1). Current Management of Hepatic Encephalopathy. *American Journal of Gastroenterology*, Vol. 113, pp. 1600-1612. <https://doi.org/10.1038/s41395-018-0179-4>
- Adams, H. G., y Jordan, C. (1984). Infections in the alcoholic. *Medical Clinics of North America*, 68(1), 179-200. [https://doi.org/10.1016/S0025-7125\(16\)31249-4](https://doi.org/10.1016/S0025-7125(16)31249-4)
- Aday, A. W., Mitchell, M. C., y Casey, L. C. (2017, mayo 1). Alcoholic hepatitis: Current trends in management. *Current Opinion in Gastroenterology*, Vol. 33, pp. 142-148. <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000359>
- Adela-Emilia Gómez Ayala. (2012). Cirrosis hepática. *Farmacia salud*, 26, 3-62. Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-pdf-X0213932412502272>
- Aggeletopoulou, I., Konstantakis, C., Manolakopoulos, S., y Triantos, C. (2018). Role of band ligation for secondary prophylaxis of variceal bleeding. *World Journal of Gastroenterology*, 24(26), 2902-2914. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i26.2902>
- Aguilar, J. C. (2009). Función inmunológica del hígado desde la perspectiva de la vacunación terapéutica. En *Biotecnología Aplicada* (Vol. 26).
- Albano, E., y Vidali, M. (2010, junio). Immune mechanisms in alcoholic liver disease. *Genes and Nutrition*, Vol. 5, pp. 141-147. <https://doi.org/10.1007/s12263-009-0151-4>
- Alcohol en menores no es normal. (s. f.). Recuperado 10 de julio de 2019, de <http://www.mscbs.gob.es/campannas/campanas11/alcoholenmenoresnoesnormal/todospodemos.html>
- Altamirano, J., y Bataller, R. (2011, septiembre 9). Alcoholic liver disease: Pathogenesis and new targets for therapy. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, Vol. 8, pp. 491-501. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2011.134>
- Altamirano, J., Higuera-De Latijera, F., Duarte-Rojo, A., Martínez-Vázquez, M. A., Abraldes, J. G., Herrera-Jiménez, L. E., ... Bataller, R. (2011). The amount of alcohol consumption negatively impacts short-term mortality in mexican patients with alcoholic hepatitis. *American Journal of Gastroenterology*, 106(8), 1472-1480. <https://doi.org/10.1038/ajg.2011.141>

- Alter, G., Martin, M. P., Teigen, N., Carr, W. H., Suscovich, T. J., Schneidewind, A., ... Altfeld, M. (2007). Differential natural killer cell-mediated inhibition of HIV-1 replication based on distinct KIR/HLA subtypes. *Journal of Experimental Medicine*, 204(12), 3027-3036. <https://doi.org/10.1084/jem.20070695>
- Alter, G., Rihn, S., Walter, K., Nolting, A., Martin, M., Rosenberg, E. S., ... Altfeld, M. (2009). HLA Class I Subtype-Dependent Expansion of KIR3DS1+ and KIR3DL1+ NK Cells during Acute Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection. *Journal of Virology*, 83(13), 6798-6805. <https://doi.org/10.1128/jvi.00256-09>
- Angeli, P., Bernardi, M., Villanueva, C., Francoz, C., Mookerjee, R. P., Trebicka, J., ... Gines, P. (2018). EASL Clinical Practice Guidelines for the management of patients with decompensated cirrhosis q. *Journal of Hepatology*. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.024>
- Aragón, C., Miquel, M., Correa, M., y Sanchis-Segura, C. (2002). Alcohol y metabolismo humano. *Adicciones*, 14(SUPPL. 1), 23-42.
- Arroyo, V., Ginès, P., Gerbes, A. L., Dudley, F. J., Gentilini, P., Laffi, G., ... Schölmerich, J. (1996). Definition and diagnostic criteria of refractory ascites and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Hepatology*, 23(1), 164-176. <https://doi.org/10.1002/hep.510230122>
- Arthur, M. J., Mann, D. A., y Iredale, J. P. (1998). Tissue inhibitors of metalloproteinases, hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 13(S1), S33-S38. <https://doi.org/10.1111/jgh.1998.13.s1.33>
- Arthur, M. J. P., Iredale, J. P., y Mann, D. A. (1999). Tissue Inhibitors of Metalloproteinases: Role in Liver Fibrosis and Alcoholic Liver Disease. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 23(5), 940-943. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1999.tb04208.x>
- Assiri, M. A., Roy, S. R., Harris, P. S., Ali, H., Liang, Y., Shearn, C. T., ... Fritz, K. S. (2017). Chronic Ethanol Metabolism Inhibits Hepatic Mitochondrial Superoxide Dismutase via Lysine Acetylation. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 41(10), 1705-1714. <https://doi.org/10.1111/acer.13473>
- Bae, S. H., Sung, S. H., Cho, E. J., Lee, S. K., Lee, H. E., Woo, H. A., ... Rhee, S. G. (2011). Concerted action of sulfiredoxin and peroxiredoxin I protects against

- alcohol-induced oxidative injury in mouse liver. *Hepatology*, 53(3), 945-953.
<https://doi.org/10.1002/hep.24104>
- Bailey, S. M., y Cunningham, C. C. (1998). Acute and chronic ethanol increases reactive oxygen species generation and decreases viability in fresh, isolated rat hepatocytes. *Hepatology*, 28(5), 1318-1326.
<https://doi.org/10.1002/hep.510280521>
- Bakhautdin, B., Das, D., Mandal, P., Roychowdhury, S., Danner, J., Bush, K., ... Nagy, L. E. (2014). Protective role of HO-1 and carbon monoxide in ethanol-induced hepatocyte cell death and liver injury in mice. *Journal of Hepatology*, 61(5), 1029-1037. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.06.007>
- Barger, B. O., Acton, R. T., Soong, S.-J., Roseman, J., y Balch, C. (1982). Increase of HLA-DR4 in Melanoma Patients from Alabama. *Cancer Research*, 42(10).
- Barrow, A. D., y Trowsdale, J. (2008). The extended human leukocyte receptor complex: diverse ways of modulating immune responses. *Immunological Reviews*, 224(1), 98-123. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2008.00653.x>
- Barten, R., Torkar, M., Haude, A., Trowsdale, J., y Wilson, M. J. (2001). The genomic context of natural killer receptor extended gene families. *Immunological Reviews*, 181, 20-38. <https://doi.org/10.1034/j.1600-065X.2001.1810102.x>
- Bashirova, A. A., Martin, M. P., McVicar, D. W., y Carrington, M. (2006). The Killer Immunoglobulin-Like Receptor Gene Cluster: Tuning the Genome for Defense. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 7(1), 277-300.
<https://doi.org/10.1146/annurev.genom.7.080505.115726>
- Bataller, R., y Brenner, D. A. (2005). Liver fibrosis. *Journal of Clinical Investigation*, Vol. 115, pp. 209-218. <https://doi.org/10.1172/JCI24282>
- Bautista, A. P. (1995). Chronic Alcohol Intoxication Enhances the Expression of CD18 Adhesion Molecules on Rat Neutrophils and Release of a Chemotactic Factor by Kupffer Cells. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 19(2), 285-290.
<https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1995.tb01504.x>
- Bautista, A. P. (2002). Neutrophilic infiltration in alcoholic hepatitis. *Alcohol*, 27(1), 17-21. [https://doi.org/10.1016/S0741-8329\(02\)00206-9](https://doi.org/10.1016/S0741-8329(02)00206-9)
- Ben, N., Rizzo, R., Bortolotti, D., Faten, N.... Manjoub, A. (2014). Evaluation of the

- implication of KIR2DL2 receptor in multiple sclerosis and herpesvirus susceptibility. *Journal of neuroimmunology*, 271(1-2), 30-35. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUROIM.2014.03.017>
- Benedé-Ubieto, R., Estévez-Vázquez, O., Flores-Perojo, V., Macías-Rodríguez, R. U., Ruiz-Margáin, A., Martínez-Naves, E., ... Nevzorova, Y. A. (2021). Abnormal Liver Function Test in Patients Infected with Coronavirus (SARS-CoV-2): A Retrospective Single-Center Study from Spain. *Journal of Clinical Medicine*, 10(5), 1039. <https://doi.org/10.3390/JCM10051039>
- Berg, R. D., y Garlington, A. W. (1979). Translocation of Certain Indigenous Bacteria from the Gastrointestinal Tract to the Mesenteric Lymph Nodes and Other Organs in a Gnotobiotic Mouse Model. *Infection and Immunity*, 23(2).
- Berkowitz, M. (1996). World's Earliest Wine - Archaeology Magazine Archive. *Archaeological Institute of America*, 49(5). Recuperado de <https://archive.archaeology.org/9609/newsbriefs/wine.html>
- Bernal, V., y Bosch, J. (2012). *Cirrosis hepática*. <https://doi.org/10.1016/j>
- Bernardi, M., Moreau, R., Angeli, P., Schnabl, B., y Arroyo, V. (2015, noviembre 1). Mechanisms of decompensation and organ failure in cirrhosis: From peripheral arterial vasodilation to systemic inflammation hypothesis. *Journal of Hepatology*, Vol. 63, pp. 1272-1284. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.07.004>
- Bernardi, M., Trevisani, F., Santini, C., Zoli, G., Baraldini, M., Ligabue, A., y Gasbarrini, G. (1983). Plasma Norepinephrine, Weak Neurotransmitters, and Renin Activity During Active Tilting in Liver Cirrhosis: Relationship with Cardiovascular Homeostasis and Renal Function. *Hepatology*, 3(1), 56-64. <https://doi.org/10.1002/hep.1840030109>
- Blanco, Z., y Yenny, P. (2018). *Alteraciones de los linfocitos T en pacientes con trastorno por uso de alcohol*. Recuperado de <https://ddd.uab.cat/record/195357>
- Bode, C., y Bode, J. C. (2003, agosto 1). Effect of alcohol consumption on the gut. *Bailliere's Best Practice and Research in Clinical Gastroenterology*, Vol. 17, pp. 575-592. [https://doi.org/10.1016/S1521-6918\(03\)00034-9](https://doi.org/10.1016/S1521-6918(03)00034-9)
- Boix, F., Legaz, I., Minhas, A., Alfaro, R., Jiménez-Coll, V., Mrowiec, A., ... Muro, M. (2020). Identification of peripheral CD154 + T cells and HLA-DRB1 as

- biomarkers of acute cellular rejection in adult liver transplant recipients. *Clinical y Experimental Immunology*, 203(2), 315-328. <https://doi.org/10.1111/cei.13533>
- Bolarín, J. M., Pérez-Cárceles, M. D., Rincón, J. P. H. del, Luna, A., Minguela, A., Muro, M., y Legaz, I. (2021b). Causes of Death and Survival in Alcoholic Cirrhosis Patients Undergoing Liver Transplantation: Influence of the Patient's Clinical Variables and Transplant Outcome Complications. *Diagnostics 2021, Vol. 11, Page 968, 11(6)*, 968. <https://doi.org/10.3390/DIAGNOSTICS11060968>
- Bonacchi, A., Petrai, I., Defranco, R. M. S., Lazzeri, E., Annunziato, F., Efsen, E., ... Marra, F. (2003). The chemokine CCL21 modulates lymphocyte recruitment and fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*, 125(4), 1060-1076. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)01194-6](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(03)01194-6)
- Bonis, P. A. L., Friedman, S. L., y Kaplan, M. M. (2001). Is Liver Fibrosis Reversible? *New England Journal of Medicine*, 344(6), 452-454. <https://doi.org/10.1056/nejm200102083440610>
- Borghi, A., D'Accolti, M., Rizzo, R., Virgili, A., Di Luca, D., Corazza, M., y Caselli, E. (2016). High prevalence of specific KIR types in patients with HHV-8 positive cutaneous vascular lesions: a possible predisposing factor? *Archives of Dermatological Research 2016* 308:5, 308(5), 373-377. <https://doi.org/10.1007/S00403-016-1643-X>
- Bosron, W. F., y Li, T.-K. (1987). Catalytic Properties of Human Liver Alcohol Dehydrogenase Isoenzymes. *Enzyme*, 37(1-2), 19-28. <https://doi.org/10.1159/000469238>
- Boyington, J. C., y Sun, P. D. (2002, mayo 1). A structural perspective on MHC class I recognition by killer cell immunoglobulin-like receptors. *Molecular Immunology*, Vol. 38, pp. 1007-1021. [https://doi.org/10.1016/S0161-5890\(02\)00030-5](https://doi.org/10.1016/S0161-5890(02)00030-5)
- Brusilovsky, M., Cordoba, M., Rosental, B., Hershkovitz, O., Andrade, M. D., Pecherskaya, A., ... Porgador, A. (2013). Genome-Wide siRNA Screen Reveals a New Cellular Partner of NK Cell Receptor KIR2DL4: Heparan Sulfate Directly Modulates KIR2DL4-Mediated Responses. *The Journal of Immunology*, 191(10), 5256-5267. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1302079>
- Brusilovsky, M., Radinsky, O., Yossef, R., Campbell, K. S., y Porgador, A. (2014). Carbohydrate-mediated modulation of NK cell receptor function: Structural and

- functional influences of heparan sulfate moieties expressed on NK cell surface. *Frontiers in Oncology*, 4 JUL. <https://doi.org/10.3389/fonc.2014.00185>
- Buqué, X., Aspichueta, P., y Ochoa, B. (2008, septiembre). Fundamento molecular de la esteatosis hepática asociada a la obesidad. *Revista Espanola de Enfermedades Digestivas*, Vol. 100, pp. 565-578. <https://doi.org/10.4321/s1130-01082008000900007>
- Burshtyn, D. N., Scharenberg, A. M., Wagtmann, N., Rajagopalan, S., Berrada, K., Yi, T., ... Long, E. O. (1996). Recruitment of tyrosine phosphatase HCP by the killer cell inhibitory receptor. *Immunity*, 4(1), 77-85. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80300-3](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80300-3)
- Burton, R., y Sheron, N. (2018). No level of alcohol consumption improves health. *Lancet (London, England)*, 392(10152), 987-988. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31571-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31571-X)
- Byun, J.-S., y Jeong, W.-I. (2010). Involvement of Hepatic Innate Immunity in Alcoholic Liver Disease. *Immune Network*, 10(6), 181. <https://doi.org/10.4110/in.2010.10.6.181>
- Campbell, K. S., Dessing, M., Lopez-Botet, M., Cella, M., y Colonna, M. (1996). Tyrosine phosphorylation of a human killer inhibitory receptor recruits protein tyrosine phosphatase 1C. *Journal of Experimental Medicine*, 184(1), 93-100. <https://doi.org/10.1084/jem.184.1.93>
- Campillo, J. A., Legaz, I., López-Álvarez, M. R., Bolarín, J. M., Las Heras, B., Muro, M., ... Martínez-Escribano, J. A. (2013). KIR gene variability in cutaneous malignant melanoma: influence of KIR2D/HLA-C pairings on disease susceptibility and prognosis. *Immunogenetics* 2013 65:5, 65(5), 333-343. <https://doi.org/10.1007/S00251-013-0682-0>
- Canedo Magariños, M. C., y Carbajales, Y. (2011). GALICIA CLÍNICA Cuenta conmigo. *GALICIA CLÍNICA* , 72(1), 7-10. Recuperado de www.meiga.info
- Cao, Q., Mak, K. M., y Lieber, C. S. (2002). Dilinoleoylphosphatidylcholine decreases LPS-induced TNF- α generation in Kupffer cells of ethanol-fed rats: Respective roles of MAPKs and NF- κ B. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 294(4), 849-853. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)00586-7](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)00586-7)

- Carr, W. H., Rosen, D. B., Arase, H., Nixon, D. F., Michaelsson, J., y Lanier, L. L. (2007). Cutting Edge: KIR3DS1 , a Gene Implicated in Resistance to Progression to AIDS, Encodes a DAP12-Associated Receptor Expressed on NK Cells That Triggers NK Cell Activation . *The Journal of Immunology*, 178(2), 647-651. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.2.647>
- Carreras, M. P., y Castellano, G. (2012). Hígado y alcohol. En S. A. Jarpyo Editores (Ed.), *Gastroenterología y Hepatología. Problemas comunes en la práctica clínica*. (2.^a ed., pp. 799-814). Recuperado de https://www.aegastro.es/sites/default/files/archivos/ayudas-practicas/55_Higado_y_alcohol.pdf
- Carrillo-Bustamante, P., Keşmir, C., y de Boer, R. J. (2013). Virus Encoded MHC-Like Decoys Diversify the Inhibitory KIR Repertoire. *PLoS Computational Biology*, 9(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003264>
- Carrington, M., y Martin, M. P. (2005). The impact of variation at the KIR gene cluster on human disease. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, Vol. 298, pp. 225-257. https://doi.org/10.1007/3-540-27743-9_12
- Carrington, Mary, y Norman, P. (2003). *The KIR Gene Cluster*. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10135/>
- Carvalho, L. S. C., Correa, H., Silva, G. C., Campos, F. S., Baião, F. R., Ribeiro, L. S., ... D'Avila Reis, D. (2008). May genetic factors in fibromyalgia help to identify patients with differentially altered frequencies of immune cells? *Clinical y Experimental Immunology*, 154(3), 346-352. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03787.x>
- Caselli, E., Rizzo, R., Ingianni, A., Contini, P., Pompei, R., y Luca, D. Di. (2014). High prevalence of HHV8 infection and specific killer cell immunoglobulin-like receptors allotypes in Sardinian patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Medical Virology*, 86(10), 1745-1751. <https://doi.org/10.1002/JMV.23771>
- Cavelier, B., Daveau, M., Gilbert, D., Fontaine, M., Cesarini, J., y Delpech, B. (1980). Augmentation of HLA-A9 antigen in malignant melanoma, principally in metastatic or recurrent forms. Apropos of 105 cases of melanoma of which 34 were serious forms. *Comptes rendus de l'Académie des sciences*. Recuperado de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6775834/>

- Cella, M., Longo, A., Ferrara, G. B., Strominger, J. L., y Colonna, M. (1994). NK3-specific natural killer cells are selectively inhibited by Bw4-positive HLA alleles with isoleucine 80. *Journal of Experimental Medicine*, 180(4), 1235-1242. <https://doi.org/10.1084/jem.180.4.1235>
- Ceni, E., Mello, T., y Galli, A. (2014). Pathogenesis of alcoholic liver disease: Role of oxidative metabolism. *World Journal of Gastroenterology*, 20(47), 17756-17772. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i47.17756>
- Chattopadhyay, A., Pinkaew, D., Doan, H. Q., Jacob, R. B., Verma, S. K., Friedman, H., ... Fujise, K. (2016). Fortilin potentiates the peroxidase activity of Peroxiredoxin-1 and protects against alcohol-induced liver damage in mice. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep18701>
- Chen, Y., Wei, H., Sun, R., Dong, Z., Zhang, J., y Tian, Z. (2007). Increased susceptibility to liver injury in hepatitis B virus transgenic mice involves NKG2D-ligand interaction and natural killer cells. *Hepatology*, 46(3), 706-715. <https://doi.org/10.1002/hep.21872>
- Chiappelli, F., Kung, M., Lee, P., Pham, L., Manfrini, E., y Villanueva, P. (1995). Alcohol Modulation of Human Normal T-Cell Activation, Maturation, and Migration. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 19(3), 539-544. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1995.tb01545.x>
- Chistyakov, D. V., Aleshin, S. E., Astakhova, A. A., Sergeeva, M. G., y Reiser, G. (2015). Regulation of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) α and γ of rat brain astrocytes in the course of activation by toll-like receptor agonists. *Journal of Neurochemistry*, 134(1), 113-124. <https://doi.org/10.1111/jnc.13101>
- Cisneros, E., Moraru, M., Gómez-Lozano, N., López-Botet, M., y Vilches, C. (2012). KIR2DL5: An orphan inhibitory receptor displaying complex patterns of polymorphism and expression. *Frontiers in Immunology*, Vol. 3. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00289>
- Cisneros, E., Moraru, M., Gómez-Lozano, N., Muntasell, A., López-Botet, M., y Vilches, C. (2020). Haplotype-Based Analysis of KIR-Gene Profiles in a South European Population—Distribution of Standard and Variant Haplotypes, and Identification of Novel Recombinant Structures. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00440>

- Cisneros L., E. (2017). *KIR2DL5: Contribución a la diversidad del complejo de genes «KIR», expresión diferencial de sus alelos y distribución de potenciales ligandos*. Recuperado de <https://eprints.ucm.es/44453/1/T39212.pdf>
- Cohen, J. I., Roychowdhury, S., McMullen, M. R., Stavitsky, A. B., y Nagy, L. E. (2010). Complement and alcoholic liver disease: Role of C1q in the pathogenesis of ethanol-induced liver injury in mice. *Gastroenterology*, 139(2), 664-674.e1. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.04.041>
- Collier, S. D., Wu, W. J., y Pruett, S. B. (2000). Ethanol suppresses NK cell activation by polyinosinic-polycytidylic acid (poly I:C) in female B6C3F1 mice: role of endogenous corticosterone - PubMed. *Alcohol Clin Exp Res.*, 3, 291-299. Recuperado de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10776665/>
- Collins, E. J., y Frelinger, J. A. (1998, junio). Altered peptide ligand design: Altering immune responses to class I MHC/peptide complexes. *Immunological Reviews*, Vol. 163, pp. 151-160. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.1998.tb01194.x>
- Colonna, M., Borsellino, G., Falco, M., Ferrara, G. B., y Strominger, J. L. (1993). HLA-C is the inhibitory ligand that determines dominant resistance to lysis by NK1- and NK2-specific natural killer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(24), 12000-12004. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.24.12000>
- Colvin, R. B. (1990). Cellular and molecular mechanisms of allograft rejection. *Annual Review of Medicine*, Vol. 41, pp. 361-375. <https://doi.org/10.1146/annurev.me.41.020190.002045>
- Conn, R. W. (1994). Strategic goals and development pathways for fusion. *Fusion Engineering and Design*, 25(1-3), 1-4. [https://doi.org/10.1016/0920-3796\(94\)90048-5](https://doi.org/10.1016/0920-3796(94)90048-5)
- Cook, R. T. (1998). Alcohol Abuse, Alcoholism, and Damage to the Immune System—A Review. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 22(9), 1927-1942. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1998.tb05900.x>
- Cook, R. T., Li, F., Vandersteen, D., Ballas, Z. K., Cook, B. L., y LaBrecque, D. R. (1997). Ethanol and Natural Killer Cells. I. Activity and Immunophenotype in Alcoholic Humans. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 21(6), 974-980. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1997.tb04240.x>

- Córdoba, J. (2011, mayo). New assessment of hepatic encephalopathy. *Journal of Hepatology*, Vol. 54, pp. 1030-1040. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.11.015>
- Córdoba, J., y Mínguez, B. (2008, febrero 22). Hepatic encephalopathy. *Seminars in Liver Disease*, Vol. 28, pp. 70-80. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1040322>
- Corrao, G., Bagnardi, V., Zambon, A., y Arico, S. (1999). Exploring the dose-response relationship between alcohol consumption and the risk of several alcohol-related conditions: A meta-analysis. *Addiction*, 94(10), 1551-1573. <https://doi.org/10.1046/j.1360-0443.1999.9410155111.x>
- Cortot, A., Jobin, G., Ducrot, F., Aymes, C., Giraudeau, V., y Modigliani, R. (1986). Gastric emptying and gastrointestinal absorption of alcohol ingested with a meal. *Digestive diseases and sciences*, 31(4), 343-348. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3956329>
- Coscojuela, R. (2019). CÉLULAS NK Y RECEPTORES KIR (Parte I). Recuperado 17 de julio de 2020, de <https://www.rafer.es/innovacion-laboratorio-clinico/celulas-nk-y-receptores-kir-parte-i/>
- Crespo, A., Strominger, J.L, Tilburgs, T. (2016). Expression of KIR2DS1 by decidual natural killer cells increases their ability to control placental HCMV infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(52), 15072-15077. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1617927114>
- D'Amico, G., Garcia-Tsao, G., y Pagliaro, L. (2006). Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: A systematic review of 118 studies. *Journal of Hepatology*, 44(1), 217-231. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2005.10.013>
- D'Souza, A. J., Desai, S. D., Rudner, X. L., Kelly, M. N., Ruan, S. B., y Shellito, J. E. (2013). Suppression of the Macrophage Proteasome by Ethanol Impairs MHC Class I Antigen Processing and Presentation. *PLoS ONE*, 8(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056890>
- David, G., Djaoud, Z., Willem, C., Legrand, N., Rettman, P., Gagne, K., ... Retière, C. (2013). Large Spectrum of HLA-C Recognition by Killer Ig-like Receptor (KIR)2DL2 and KIR2DL3 and Restricted C1 Specificity of KIR2DS2: Dominant Impact of KIR2DL2/KIR2DS2 on KIR2D NK Cell Repertoire Formation. *The Journal of Immunology*, 191(9), 4778-4788. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301580>

- Dervaux, A., Baylé, F. J., Laqueille, X., Bourdel, M.-C., Leborgne, M., Olié, J.-P., y Krebs, M.-O. (2006). Validity of the CAGE questionnaire in schizophrenic patients with alcohol abuse and dependence. *Schizophrenia Research*, 81(2-3), 151-155. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2005.09.012>
- DeSandro, A., Nagarajan, U. M., y Boss, J. M. (1999). The bare lymphocyte syndrome: Molecular clues to the transcriptional regulation of major histocompatibility complex class II genes. *American Journal of Human Genetics*, 65(2), 279-286. <https://doi.org/10.1086/302519>
- Devriere, J., Denys, C., Schandene, L., Romasco, F., Adler, M., Wybran, J., y Dupont, E. (1988). Decreased proliferative activity associated with activation markers in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Journal of Hepatology*, 7(3), S121. [https://doi.org/10.1016/s0168-8278\(88\)80297-6](https://doi.org/10.1016/s0168-8278(88)80297-6)
- Diarias, M. (2016). Etanol: historia de una molécula. Recuperado 9 de julio de 2019, de <https://medium.com/@moleculd/etanol-historia-de-una-molécula-430d4b63aff5>
- Díaz-Peña, R., Mondelo-Macía, P., Torre, A. J. M. de la, Sanz-Pamplona, R., Moreno, V., y Martín, V. (2020). Analysis of Killer Immunoglobulin-Like Receptor Genes in Colorectal Cancer. *Cells*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/CELLS9020514>
- Díaz-Peña, R., Vidal-Castiñeira, J. R., Moro-García, M. A., Alonso-Arias, R., y Castro-Santos, P. (2016). Significant association of the KIR2DL3/HLA-C1 genotype with susceptibility to Crohn's disease. *Human Immunology*, 77(1), 104-109. <https://doi.org/10.1016/J.HUMIMM.2015.10.020>
- Djulejic, E., Petlichkovski, A., Trajkov, D., Dimitrov, G., y Alabakovska, S. (2015). KIR Gene Frequencies in Women with Infertility Problems. *DOOEL Skopje South East European Journal of Immunology*. <https://doi.org/10.3889/seejim.2015.20002>
- Dominguez, M., Miquel, R., Colmenero, J., Moreno, M., García-Pagán, J. C., Bosch, J., ... Bataller, R. (2009). Hepatic Expression of CXC Chemokines Predicts Portal Hypertension and Survival in Patients With Alcoholic Hepatitis. *Gastroenterology*, 136(5), 1639-1650. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.01.056>
- Donohue, T. M., Cederbaum, A. I., French, S. W., Barve, S., Gao, B., y Osna, N. A. (2007). Role of the Proteasome in Ethanol-Induced Liver Pathology. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 31(9), 1446-1459. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00454.x>

- Duffield, J. S., Forbes, S. J., Constandinou, C. M., Clay, S., Partolina, M., Vuthoori, S., ... Iredale, J. P. (2005). Selective depletion of macrophages reveals distinct, opposing roles during liver injury and repair. *Journal of Clinical Investigation*, 115(1), 56-65. <https://doi.org/10.1172/jci22675>
- Duin, D. van, Avery, R. K., Hemachandra, S., Yen-Lieberman, B., Zhang, A., Jain, A., ... Askar, M. (2014). KIR and HLA Interactions Are Associated With Control of Primary CMV Infection in Solid Organ Transplant Recipients. *American Journal of Transplantation*, 14(1), 156-162. <https://doi.org/10.1111/AJT.12532>
- Dupont, B., Selvakumar, A., y Steffens, U. (1997). The killer cell inhibitory receptor genomic region on human chromosome 19q13.4. *Tissue Antigens*, Vol. 49, pp. 557-563. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.1997.tb02802.x>
- Eimer, W. A., Kumar, D. K. V., Shanmugam, N. K. N., Rodriguez, A. S., Mitchell, T., Washicosky, K. J., ... Moir, R. D. (2018). Alzheimer's Disease-Associated β -Amyloid Is Rapidly Seeded by Herpesviridae to Protect against Brain Infection. *Neuron*, 99(1), 56-63.e3. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2018.06.030>
- El, A., y Van, L. A. (2016, diciembre 1). Epigenetic regulation of hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *Expert Review of Gastroenterology and Hepatology*, Vol. 10, pp. 1397-1408. <https://doi.org/10.1080/17474124.2016.1251309>
- Enomoto, N., Ikejima, K., Yamashina, S., Hirose, M., Shimizu, H., Kitamura, T., ... Thurman, R. G. (2001). Kupffer Cell Sensitization by Alcohol Involves Increased Permeability to Gut-Derived Endotoxin. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 25(Supplement), 51S-54S. <https://doi.org/10.1097/00000374-200106001-00012>
- Escuela de educación vial. (2019). Calcular la cantidad de alcohol. Recuperado 5 de febrero de 2019, de <http://escueladeeducacionvialssreyes.blogspot.com/2014/12/calcular-la-cantidad-de-alcohol.html>
- Ewald, S. J., y Shao, H. (1993). Ethanol Increases Apoptotic Cell Death of Thymocytes in Vitro. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 17(2), 359-365. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1993.tb00776.x>
- Fallowfield, J. A., Mizuno, M., Kendall, T. J., Constandinou, C. M., Benyon, R. C., Duffield, J. S., y Iredale, J. P. (2007). Scar-Associated Macrophages Are a Major

- Source of Hepatic Matrix Metalloproteinase-13 and Facilitate the Resolution of Murine Hepatic Fibrosis. *The Journal of Immunology*, 178(8), 5288-5295. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.8.5288>
- Fasolato, S., Angeli, P., Dallagnese, L., Maresio, G., Zola, E., Mazza, E., ... Gatta, A. (2007). Renal failure and bacterial infections in patients with cirrhosis: Epidemiology and clinical features. *Hepatology*, 45(1), 223-229. <https://doi.org/10.1002/hep.21443>
- Feltkamp, T. E. W., Khan, M. A., y Lopez de Castro, J. A. (1996). The pathogenetic role of HLA-B27. *Immunology Today*, 17(1), 5-7. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(96\)80559-7](https://doi.org/10.1016/0167-5699(96)80559-7)
- Ferenci, P., Lockwood, A., Mullen, K., Tarter, R., Weissenborn, K., y Blei, A. T. (2002). Hepatic encephalopathy-Definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: Final report of the Working Party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology*, 35(3), 716-721. <https://doi.org/10.1053/jhep.2002.31250>
- Fernandez, I., Forner, A., Herrero, J.I., Llop, E., Morales, M. y Rodríguez, M. (2015). XL Congreso Anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado. Junta directiva de la AEEH Comité Científico de la AEEH. Recuperado de <http://www.elsevier.esel23/02/2015>.
- Ferreira González, L. (s. f.). *Cuestionario cage Screening de alcoholismo*. Recuperado de <https://meiga.info/Escalas/CuestionarioCAGE.pdf>
- Fiati Kenston, S. S., Song, X., Li, Z., y Zhao, J. (2019, enero 1). Mechanistic insight, diagnosis, and treatment of ammonia-induced hepatic encephalopathy. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*, Vol. 34, pp. 31-39. <https://doi.org/10.1111/jgh.14408>
- Frank, K., Abeynaike, S., Nikzad, R., Patel, R. R., Roberts, A. J., Roberto, M., y Paust, S. (2021). Alcohol dependence promotes systemic IFN- γ and IL-17 responses in mice. *PLoS ONE*, 15(12 December). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239246>
- Friedman, H. (1998). Alcohol effects on cytokine responses by immunocytes. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 22(5 SUPPL.). <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1998.tb03997.x>

- Friedman, S. (1999). Cytokines and Fibrogenesis. *Seminars in Liver Disease*, 19(02), 129-140. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1007105>
- Friedman, S. L. (1999). stellate Cell Activation in Alcoholic Fibrosis-An Overview. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 23(5), 904-910. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1999.tb04201.x>
- Friedman, S. L. (2000, enero 28). Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 275, pp. 2247-2250. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.4.2247>
- Friedman, S. L. (2008). *Mechanisms of Hepatic Fibrogenesis*. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.03.003>
- Friedrich, K., Wannhoff, A., Kattner, S., Brune, M., Hov, J. R., Weiss, K. H., ... Gotthardt, D. N. (2014). PNPLA3 in end-stage liver disease: Alcohol consumption, hepatocellular carcinoma development, and transplantation-free survival. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 29(7), 1477-1484. <https://doi.org/10.1111/jgh.12540>
- Fukui, H., Brauner, B., Bode, J. C., y Bode, C. (1991). Plasma endotoxin concentrations in patients with alcoholic and non-alcoholic liver disease: reevaluation with an improved chromogenic assay. *Journal of Hepatology*, 12(2), 162-169. [https://doi.org/10.1016/0168-8278\(91\)90933-3](https://doi.org/10.1016/0168-8278(91)90933-3)
- Fundación Alcohol y Sociedad. (s. f.). Recuperado 10 de julio de 2019, de <http://www.alcoholysociedad.org/>
- Gale, R. P., Sparkes, R. S., y Golde, D. W. (1978). Bone marrow origin of hepatic macrophages (Kupffer cells) in humans. *Science*, 201(4359), 937-938. <https://doi.org/10.1126/science.356266>
- Galli, A., Pinaire, J., Fischer, M., Dorris, R., y Crabb, D. W. (2001). The transcriptional and DNA binding activity of peroxisome proliferator-activated receptor α is inhibited by ethanol metabolism. A novel mechanism for the development of ethanol-induced fatty liver. *Journal of Biological Chemistry*, 276(1), 68-75. <https://doi.org/10.1074/jbc.M008791200>
- Gambino, C. M., Di Bona, D., Aiello, A., Carru, C., Duro, G., Guggino, G., ... Accardi, G. (2018). HLA-C1 Ligands are Associated With Increased Susceptibility to

- Systemic Lupus Erythematosus. *Human Immunology*, 79(3), 172-177.
<https://doi.org/10.1016/j.humimm.2018.01.005>
- Gao, B., Radaeva, S., y Jeong, W. Il. (2007). Activation of natural killer cells inhibits liver fibrosis: a novel strategy to treat liver fibrosis. *Expert review of gastroenterology y hepatology*, Vol. 1, pp. 173-180.
<https://doi.org/10.1586/17474124.1.1.173>
- Gao, B., Seki, E., Brenner, D. A., Friedman, S., Cohen, J. I., Nagy, L., ... Zakhari, S. (2011, abril). Innate immunity in alcoholic liver disease. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, Vol. 300.
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00537.2010>
- García-León, J. A., Pinto-Medel, M. J., García-Trujillo, L., López-Gómez, C., Oliver-Martos, B., Prat-Arrojo, I., ... Leyva-Fernández, L. (2011). Killer cell immunoglobulin-like receptor genes in Spanish multiple sclerosis patients. *Molecular Immunology*, 48(15-16), 1896-1902.
<https://doi.org/10.1016/J.MOLIMM.2011.05.018>
- García-Tsao, G., Friedman, S., Iredale, J., y Pinzani, M. (2010, abril). Now there are many (stages) where before there was one: In search of a pathophysiological classification of cirrhosis. *Hepatology*, Vol. 51, pp. 1445-1449.
<https://doi.org/10.1002/hep.23478>
- García Alonso, A. M. (2016). *HLA y Expresión de Receptores NK en Pacientes con Melanoma*.
- García Buey, L., González Mateos, F., y Moreno-Otero, R. (2012). Cirrosis hepática. *Medicine (Spain)*, 12(11), 597-605. <https://doi.org/10.1016/j.med.2016.05.010>
- García Buey, L., González Mateos, F., y Moreno-Otero, R. (2012). Cirrosis hepática. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 11(11), 625-633. [https://doi.org/10.1016/S0304-5412\(12\)70359-1](https://doi.org/10.1016/S0304-5412(12)70359-1)
- García Martínez, R., Rovira, A., Alonso, J., Aymerich, F. X., Huerga, E., Jacas, C., ... Córdoba, J. (2010). A long-term study of changes in the volume of brain ventricles and white matter lesions after successful liver transplantation. *Transplantation*, 89(5), 589-594. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3181ca7bb3>
- GBD 2016 Alcohol Collaborators, M. G., Fullman, N., Hawley, C., Arian, N., Zimsen,

- S. R. M., Tymeson, H. D., ... Gakidou, E. (2018). Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet (London, England)*, 392(10152), 1015-1035. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31310-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31310-2)
- Geerts, A., Schuppan, D., Lazeroms, S., De Zanger, R., y Wisse, E. (1990). Collagen type I and III occur together in hybrid fibrils in the space of disse of normal rat liver. *Hepatology*, 12(2), 233-241. <https://doi.org/10.1002/hep.1840120209>
- Ginés, P., Quintero, E., Arroyo, V., Terés, J., Bruguera, M., Rimola, A., ... Rozman, C. (1987). Compensated cirrhosis: Natural history and prognostic factors. *Hepatology*, 7(1), 122-128. <https://doi.org/10.1002/hep.1840070124>
- Ginès, P., y Schrier RW. (1999). The arterial vasodilatation Hypothesis of Ascites Formation in Cirrhosis. *Blackwell Science, Massachusetts*, 411-427. Recuperado de <https://books.google.es/books?hl=es&lr=yid=Z3PARx4oYDgCyoifndypg=PP2ydq=Ascites+and+Renal+Dysfunction+in+Liver+Disease.+Pathogenesis,+Diagnosis+and+Treatment.+Blackwell+Science,+Massachusetts&ots=hFeRAMmpxnysig=zcnbLEOAbDs4bOjIRd8qT0CoR7o#v=onepage&q=Asc>
- Girouard, L., Mandrekar, P., Catalano, D., y Szabo, G. (1998). Regulation of Monocyte Interleukin-12 Production by Acute Alcohol: A Role for Inhibition by Interleukin-10. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 22(1), 211-216. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1998.tb03640.x>
- Gómez-Lozano, N., Estefanía, E., Williams, F., Halfpenny, I., Middleton, D., Solís, R., y Vilches, C. (2005). The silent KIR3DP1 gene (CD158c) is transcribed and might encode a secreted receptor in a minority of humans, in whom the KIR3DP1, KIR2DL4 and KIR3DL1/KIR3DS1 genes are duplicated. *European Journal of Immunology*, 35(1), 16-24. <https://doi.org/10.1002/eji.200425493>
- Gómez-Lozano, N., Gardiner, C. M., Parham, P., y Vilches, C. (2002). Some human KIR haplotypes contain two KIR2DL5 genes: KIR2DL5A and KIR2DL5B. *Immunogenetics*, 54(5), 314-319. <https://doi.org/10.1007/s00251-002-0476-2>
- Gómez-Luque, J. M., Urrutia-Maldonado, E., Muñoz de Rueda, P., Abril-Molina, A., y Ocete-Hita, E. (2021). Estudio de casos y controles de los receptores de tipo KIR (killer immunoglobulin-like receptor) en oncología. *Anales de Pediatría*.

- <https://doi.org/10.1016/J.ANPEDI.2021.02.001>
- Gómez-Quiroz, L., Bucio, L., Souza, V., Escobar, C., Farfán, B., Hernández, E., ... Gutiérrez-Ruiz, M. C. (2003). Interleukin 8 response and oxidative stress in HepG2 cells treated with ethanol, acetaldehyde or lipopolysaccharide. *Hepatology Research*, 26(2), 134-141. [https://doi.org/10.1016/S1386-6346\(03\)00010-X](https://doi.org/10.1016/S1386-6346(03)00010-X)
- Gómez Ayala, A.-E. (2012). Farmacia profesional economía y gestión. En *Farmacia Profesional* (Vol. 26). Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-cirrosis-hepatica-actualizacion-X0213932412502272>
- Gourraud, P. A., Meenagh, A., Cambon-Thomsen, A., y Middleton, D. (2010). Linkage disequilibrium organization of the human KIR superlocus: Implications for KIR data analyses. *Immunogenetics*, 62(11-12), 729-740. <https://doi.org/10.1007/S00251-010-0478-4>
- Graef, T., Moesta, A. K., Norman, P. J., Abi-Rached, L., Vago, L., Older Aguilar, A. M., ... Parham, P. (2009). KIR2DS4 is a product of gene conversion with KIR3DL2 that introduced specificity for HLA-A*11 while diminishing avidity for HLA-C. *Journal of Experimental Medicine*, 206(11), 2557-2572. <https://doi.org/10.1084/jem.20091010>
- Gressner, A., y Bachem, M. (1990). Cellular Sources of Noncollagenous Matrix Proteins: Role of Fat-Storing Cells in Fibrogenesis. *Seminars in Liver Disease*, 10(01), 30-46. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1040455>
- Gressner, A. M. (1996, mayo). Transdifferentiation of hepatic stellate cells (Ito cells) to myofibroblasts: a key event in hepatic fibrogenesis - PubMed. *Kidney Int Suppl*. Recuperado de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8731193/>
- Griswold, M. G., Fullman, N., Hawley, C., Arian, N., Zimsen, S. R. M., Tymeson, H. D., ... Gakidou, E. (2018). Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990-2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet*, 392(10152), 1015-1035. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31310-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31310-2)
- Guevara, M., y Arroyo, V. (2012). *Ascitis y trastornos de la función renal del enfermo con cirrosis hepática*.
- Guillamón, C. F., Gimeno, L., Server, G., Martínez-Sánchez, M. V., Escudero, J. F.,

- López-Cubillana, P., ... Minguela, A. (2021). Immunological Risk Stratification of Bladder Cancer Based on Peripheral Blood Natural Killer Cell Biomarkers. *European Urology Oncology*, 4(2), 246-255. <https://doi.org/10.1016/J.EUO.2019.04.009>
- Guillamon, C. F., Martínez-Sánchez, M. V., Gimeno, L., Mrowiec, A., Martínez-García, J., Server-Pastor, G., ... Minguela, A. (2018). NK cell education in tumor immune surveillance: DNAM-1/KIR receptor ratios as predictive biomarkers for solid tumor outcome. *Cancer Immunology Research*, 6(12), 1537-1547. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-18-0022>
- Guillamón, C. F., V Martínez-Sánchez, M., Gimeno, L., Campillo, J. A., Server-Pastor, G., Martínez-García, J., ... Minguela, A. (2019). Activating KIRs on educated NK cells support downregulation of CD226 and inefficient tumor immunosurveillance. *Cancer Immunology Research*, 7(8), 1307-1317. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-18-0847>
- Gumá, M., Angulo, A., Vilches, C., Gómez-Lozano, N., Malats, N., y López-Botet, M. (2004). Imprint of human cytomegalovirus infection on the NK cell receptor repertoire. *Blood*, 104(12), 3664-3671. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2004-05-2058>
- Gumperz, J. E., Litwin, V., Phillips, J. H., Lanier, L. L., y Parham, P. (1995). The Bw4 public epitope of HLA-B molecules confers reactivity with natural killer cell clones that express NKB1, a putative HLA receptor. *Journal of Experimental Medicine*, 181(3), 1133-1144. <https://doi.org/10.1084/jem.181.3.1133>
- Gustot, T., Lemmers, A., Moreno, C., Nagy, N., Quertinmont, E., Nicaise, C., ... Le Moine, O. (2006). Differential liver sensitization to toll-like receptor pathways in mice with alcoholic fatty liver. *Hepatology*, 43(5), 989-1000. <https://doi.org/10.1002/hep.21138>
- Hansasuta, P., Dong, T., Thananchai, H., Weekes, M., Willberg, C., Aldemir, H., ... Braud, V. M. (2004). Recognition of HLA-A3 and HLA-A11 by KIR3DL2 is peptide-specific. *European Journal of Immunology*, 34(6), 1673-1679. <https://doi.org/10.1002/eji.200425089>
- Harada, S., Misawa, S., Agarwal, D. P., y Goedde, H. W. (1980). Liver Alcohol Dehydrogenase and Aldehyde Dehydrogenase in the Japanese: Isozyme

- Variation and Its Possible Role in Alcohol Intoxication. En *Am J Hum Genet* (Vol. 32). Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1685945/pdf/ajhg00187-0010.pdf>
- Harry, R., y Wendon, J. (2001). The Splanchnic Circulation in Cirrhosis and Portal Hypertension. En *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine 2001* (pp. 599-610). https://doi.org/10.1007/978-3-642-59467-0_48
- Hassanein, T. I., Hilsabeck, R. C., y Perry, W. (2008). Introduction to the hepatic encephalopathy scoring algorithm (HESA). *Digestive Diseases and Sciences*, 53(2), 529-538. <https://doi.org/10.1007/s10620-007-9895-0>
- Hautekeete, M. L., y Geerts, A. (1997). The hepatic stellate (Ito) cell: Its role in human liver disease. *Virchows Archiv*, Vol. 430, pp. 195-207. <https://doi.org/10.1007/BF01324802>
- Heidelbaugh, J. J., y Bruderly, M. (2006). *Cirrhosis and Chronic Liver Failure: Part I. Diagnosis and Evaluation*. Recuperado de www.aafp.org/afp.
- Henriksen, J. H., Bendtsen, F., Sørensen, I. A., Støedager, C., y Ring-Larsen, H. (1989). *Reduced Central Blood Volume in Cirrhosis*.
- Higado graso : Información sobre enfermedades del hígado. (s. f.). Recuperado 14 de julio de 2020, de 2020 website: <https://www.higadograso.cl/info-higado-graso.htm>
- Hill, A. V. S., Elvin, J., Willis, A. C., Aidoo, M., Allsopp, C. E. M., Gotch, F. M., ... Whittle, H. C. (1992). Molecular analysis of the association of HLA-B53 and resistance to severe malaria. *Nature*, 360(6403), 434-439. <https://doi.org/10.1038/360434a0>
- Hill, A. V. S., Jepson, A., Plebanski, M., y Gilbert, S. C. (1997). Genetic analysis of host-parasite coevolution in human malaria. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 352(1359), 1317-1325. <https://doi.org/10.1098/rstb.1997.0116>
- Hollenbach, J. A., Pando, M. J., Caillier, S. J., Gourraud, P. A., y Oksenberg, J. R. (2016). The killer immunoglobulin-like receptor KIR3DL1 in combination with HLA-Bw4 is protective against multiple sclerosis in African Americans. *Genes and Immunity*, 17(3), 199-202. <https://doi.org/10.1038/gene.2016.5>
- Hollenbach, Jill A., Ladner, M. B., Saetern, K., Taylor, K. D., Mei, L., Haritunians, T.,

- ... Trachtenberg, E. A. (2009). Susceptibility to Crohn's Disease is Mediated by KIR2DL2/KIR2DL3 Heterozygosity and the HLA-C Ligand. *Immunogenetics*, 61(10), 663. <https://doi.org/10.1007/S00251-009-0396-5>
- Horiguchi, N., Wang, L., Mukhopadhyay, P., Park, O., Jeong, W. Il, Lafdil, F., ... Gao, B. (2008). Cell Type-Dependent Pro- and Anti-Inflammatory Role of Signal Transducer and Activator of Transcription 3 in Alcoholic Liver Injury. *Gastroenterology*, 134(4), 1148-1158. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.01.016>
- Hoteit, R., Bazarbachi, A., Antar, A., Salem Z., Shammaa, D. y Mahfouz, R. (2014). KIR genotype distribution among patients with multiple myeloma: Higher prevalence of KIR 2DS4 and KIR 2DS5 genes. *Meta gene*, 2, 730-736. <https://doi.org/10.1016/J.MGENE.2014.09.008>
- Hou, L., Chen, M., Ng, J., y Hurley, C. K. (2012). Conserved KIR allele-level haplotypes are altered by microvariation in individuals with European ancestry. *Genes and Immunity*, 13(1), 47-58. <https://doi.org/10.1038/gene.2011.52>
- Hou, Y-F., Zhang, Y-C, Jiao, Y-L., Wang, L-C., Li, J-F, Pan, Z-L, ... Zhao, Y-R. (2010). Disparate distribution of activating and inhibitory killer cell immunoglobulin-like receptor genes in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 19(1), 20-26. <https://doi.org/10.1177/0961203309345779>
- Houstis, N., Rosen, E. D., y Lander, E. S. (2006). *Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance.* <https://doi.org/10.1038/nature04634>
- Hritz, I., Mandrekar, P., Velayudham, A., Catalano, D., Dolganiuc, A., Kodys, K., ... Szabo, G. (2008). The critical role of toll-like receptor (TLR) 4 in alcoholic liver disease is independent of the common TLR adapter MyD88. *Hepatology*, 48(4), 1224-1231. <https://doi.org/10.1002/hep.22470>
- Hsu, K. C., Liu, X.-R., Selvakumar, A., Mickelson, E., O'Reilly, R. J., y Dupont, B. (2002). Killer Ig-Like Receptor Haplotype Analysis by Gene Content: Evidence for Genomic Diversity with a Minimum of Six Basic Framework Haplotypes, Each with Multiple Subsets. *The Journal of Immunology*, 169(9), 5118-5129. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.169.9.5118>
- Hsu, L C, Yoshida, A., y Mohandas, T. (1986). Chromosomal assignment of the genes for human aldehyde dehydrogenase-1 and aldehyde dehydrogenase-2. *American*

- journal of human genetics*, 38(5), 641-648. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3013004>
- Hsu, Lily C., Bendel, R. E., y Yoshida, A. (1988). Genomic structure of the human mitochondrial aldehyde dehydrogenase gene. *Genomics*, 2(1), 57-65. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(88\)90109-7](https://doi.org/10.1016/0888-7543(88)90109-7)
- Huang, Q. H., Wu, X., Chen, X. H., Wu, J. Z., Su, Z. R., Liang, J. L., ... Liu, Y. H. (2018). Patchouli oil isolated from the leaves of: *Pogostemon cablin* ameliorates ethanol-induced acute liver injury in rats via inhibition of oxidative stress and lipid accumulation. *RSC Advances*, 8(43), 24399-24410. <https://doi.org/10.1039/c8ra02422g>
- Informes de la comisión clínica alcohol ministerio de sanidad y consumo*. (s. f.). Recuperado de <http://www.pnsd.mscbs.gob.es/profesionales/publicaciones/catalogo/catalogoPNSD/publicaciones/pdf/InformeAlcohol.pdf>
- Iredale, J. P. (1997, enero 1). Tissue inhibitors of metalloproteinases in liver fibrosis. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, Vol. 29, pp. 43-54. [https://doi.org/10.1016/S1357-2725\(96\)00118-5](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(96)00118-5)
- Israni, A. K., Zaun, D., Rosendale, J. D., Schaffhausen, C., Snyder, J. J., y Kasiske, B. L. (2019). OPTN/SRTR 2017 Annual Data Report: Deceased Organ Donation. *American Journal of Transplantation*, 19, 485-516. <https://doi.org/10.1111/ajt.15280>
- Izevbigie, E. B. (2005). Signaling Pathways in Human Breast Cells in Response to Alcohol: Mechanisms for Alcohol-induced Breast Cancer. En *Comprehensive Handbook of Alcohol Related Pathology* (Vol. 2-3, pp. 1017-1025). <https://doi.org/10.1016/B978-012564370-2/50081-7>
- Jeong, W. Il, y Gao, B. (2008). Innate immunity and alcoholic liver fibrosis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*, 23(SUPPL. 1), S112. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2007.05274.x>
- Jeong, W. Il, Park, O., y Gao, B. (2008). Abrogation of the Antifibrotic Effects of Natural Killer Cells/Interferon- γ Contributes to Alcohol Acceleration of Liver Fibrosis. *Gastroenterology*, 134(1), 248-258. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.09.034>

- Jeong, W.-I., Park, O., Radaeva, S., y Gao, B. (2006). STAT1 inhibits liver fibrosis in mice by inhibiting stellate cell proliferation and stimulating NK cell cytotoxicity. *Hepatology*, 44(6), 1441-1451. <https://doi.org/10.1002/hep.21419>
- Ji, C., y Kaplowitz, N. (2003). Betaine decreases hyperhomocysteinemia, endoplasmic reticulum stress, and liver injury in alcohol-fed mice. *Gastroenterology*, 124(5), 1488-1499. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)00276-2](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(03)00276-2)
- Jiao, Y. L., Ma, C. Y., Wang, L. C., Cui, B., Zhang, J., You, L., ... Zhao, Y. R. (2008). Polymorphisms of KIRs gene and HLA-C alleles in patients with ankylosing spondylitis: Possible association with susceptibility to the disease. *Journal of Clinical Immunology*, 28(4), 343-349. <https://doi.org/10.1007/s10875-008-9183-6>
- Jones, A. W., y Jönsson, K. (1994). Food-Induced Lowering of Blood-Ethanol Profiles and Increased Rate of Elimination Immediately After a Meal. *Journal of Forensic Sciences*, 39(4), 13687J. <https://doi.org/10.1520/JFS13687J>
- Joshi-Barve, S., Barve, S. S., Amancherla, K., Gobejishvili, L., Hill, D., Cave, M., ... McClain, C. J. (2007). Palmitic acid induces production of proinflammatory cytokine interleukin-8 from hepatocytes. *Hepatology*, 46(3), 823-830. <https://doi.org/10.1002/hep.21752>
- Joshi-Barve, S., Barve, S. S., Butt, W., Klein, J., y McClain, C. J. (2003). Inhibition of Proteasome Function Leads to NF- κ B-Independent IL-8 Expression in Human Hepatocytes. *Hepatology*, 38(5), 1178-1187. <https://doi.org/10.1053/jhep.2003.50470>
- Joshita, S., Ota, M., Kobayashi, H., y Wakabayashi, S.-I. (2021). Association Analysis of KIR/HLA Genotype with Liver Cirrhosis, Hepatocellular Carcinoma, and NUC Freedom in Chronic Hepatitis B Patients. *Research square*. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/353422199_Association_Analysis_of_KIR_HLA_Genotype_with_Liver_Cirrhosis_Hepatocellular_Carcinoma_and_NUC_Freedom_in_Chronic_Hepatitis_B_Patients
- Joya-Vazquez, P. P., Bruguera, M., Sanchez-Tapias, J. M., Ampurdanes, S., y Ventura, P. J. (2000). *Progresión de la fibrosis hepática en la hepatitis C crónica / Gastroenterología y Hepatología*. 23(1), 1-6. Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-gastroenterologia-hepatologia-14-articulo-progresion-fibrosis-hepatica-hepatitis-c-8180>

- Kageshita, T., Naruse, T., Hirai, S., Ono, T., Horikoshi, T., Nakagawa, H., ... Inoko, H. (1997). Molecular genetic analysis of HLA class II alleles in Japanese patients with melanoma. *Tissue Antigens*, 49(5), 466-470. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.1997.tb02780.x>
- Kageshita, T., Naruse, T., Hirai, S., Horikoshi, T., Nakagawa, H., Tamaki, K., ... Ono, T. (1996). HLA class I antigens in Japanese patients with melanoma. *Journal of Immunotherapy*, 19(6), 428-432. <https://doi.org/10.1097/00002371-199611000-00007>
- Kashani, A., Landaverde, C., Medici, V. y Rossaro L. (2008). Fluid retention in cirrhosis: pathophysiology and management - PubMed. Recuperado de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18184668/>
- Kendrick, S. F. W., O'Boyle, G., Mann, J., Zeybel, M., Palmer, J., Jones, D. E. J., y Day, C. P. (2010). Acetate, the key modulator of inflammatory responses in acute alcoholic hepatitis. *Hepatology*, 51(6), 1988-1997. <https://doi.org/10.1002/hep.23572>
- Kessova, I. G., y Cederbaum, A. I. (2007). Mitochondrial alterations in livers of Sod1^{-/-} mice fed alcohol. *Free Radical Biology and Medicine*, 42(10), 1470-1480. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.01.044>
- Khakoo, S. I., y Carrington, M. (2006, diciembre). KIR and disease: A model system or system of models? *Immunological Reviews*, Vol. 214, pp. 186-201. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2006.00459.x>
- Ki, S. H., Park, O., Zheng, M., Morales-Ibanez, O., Kolls, J. K., Bataller, R., y Gao, B. (2010). Interleukin-22 treatment ameliorates alcoholic liver injury in a murine model of chronic-binge ethanol feeding: role of signal transducer and activator of transcription 3. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 52(4), 1291-1300. <https://doi.org/10.1002/hep.23837>
- Kibrit, J., Khan, R., Jung, B. H., y Koppe, S. (2018). Clinical Assessment and Management of Portal Hypertension. *Seminars in Interventional Radiology*, 35(3), 153-159. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1660793>
- Kielczewska, A., Pyzik, M., Sun, T., Krmpotic, A., Lodoen, M. B., Munks, M. W., ... Vidal, S. M. (2009). Ly49P recognition of cytomegalovirus-infected cells expressing H2-Dk and CMV-encoded m04 correlates with the NK cell antiviral

- response. *Journal of Experimental Medicine*, 206(3), 515-523. <https://doi.org/10.1084/JEM.20080954>
- Kikuchi-Maki, A., Catina, T. L., y Campbell, K. S. (2005). Cutting Edge: KIR2DL4 Transduces Signals into Human NK Cells through Association with the Fc Receptor γ Protein. *The Journal of Immunology*, 174(7), 3859-3863. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.7.3859>
- Kikuchi-Maki, A., Yusa, S., Catina, T. L., y Campbell, K. S. (2003). KIR2DL4 Is an IL-2-Regulated NK Cell Receptor That Exhibits Limited Expression in Humans but Triggers Strong IFN- γ Production. *The Journal of Immunology*, 171(7), 3415-3425. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.7.3415>
- Kır, S., Bahçeci, B. K., Ayrancı, E., Balkoca, M., Çolak, Ö. Y., Ayrancı, E., y Dilek, M. (2021). Age is not a risk factor in survival of severely ill patients with comorbidities in a medical intensive care unit. *Irish Journal of Medical Science (1971 -) 2020 190:1*, 190(1), 317-324. <https://doi.org/10.1007/S11845-020-02298-0>
- Klein, J. A. N., y Sato, A. (2000, septiembre 7). The HLA system: First of two parts. *New England Journal of Medicine*, Vol. 343, pp. 702-709. <https://doi.org/10.1056/NEJM200009073431006>
- Kluwe, J., Pradere, J. P., Gwak, G. Y., Mencin, A., De Minicis, S., Österreicher, C. H., ... Schwabe, R. F. (2010). Modulation of Hepatic Fibrosis by c-Jun-N-Terminal Kinase Inhibition. *Gastroenterology*, 138(1), 347-359. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.09.015>
- Knapp, S., Usama Warshow, Hegazy, D., Brackenbury, L., Guha, I. N., Fowell, A., ... Khakoo, S. I. (2010). Consistent beneficial effects of killer cell immunoglobulin-like receptor 2d13 and group 1 human leukocyte antigen-c following exposure to hepatitis c virus. *Hepatology*, 51(4), 1168-1175. <https://doi.org/10.1002/hep.23477>
- Kockerling, D., Nathwani, R., Forlano, R., Manousou, P., Mullish, B. H., y Dhar, A. (2019). Current and future pharmacological therapies for managing cirrhosis and its complications. *World Journal of Gastroenterology*, Vol. 25, pp. 888-908. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i8.888>
- Koff, R. S., y Mullen, K. D. (1994). Hepatic encephalopathy: Syndromes and therapies. Edited by H.O. Conn and J. Bircher, 429 pp. Bloomington, IL: Medi-Ed Press,

1994. \$63.95. *Hepatology*, 20(4), 1099-1100.
<https://doi.org/10.1002/hep.1840200447>
- Kong, L. Z., Chandimali, N., Han, Y. H., Lee, D. H., Kim, J. S., Kim, S. U., ... Kwon, T. (2019, junio 1). Pathogenesis, early diagnosis, and therapeutic management of alcoholic liver disease. *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 20, p. 2712. <https://doi.org/10.3390/ijms20112712>
- Lamas-Paz, A., Hao, F., Nelson, L. J., Vázquez, M. T., Canals, S., del Moral, M. G., ... Cubero, F. J. (2018, diciembre 7). Alcoholic liver disease: Utility of animal models. *World Journal of Gastroenterology*, Vol. 24, pp. 5063-5075. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i45.5063>
- Larsen, F. S., Ranek, L., Hansen, B. A., y Kirkegaard, P. (1995, mayo). Chronic portosystemic hepatic encephalopathy refractory to medical treatment successfully reversed by liver transplantation. *Transplant International*, Vol. 8, pp. 246-247. <https://doi.org/10.1007/BF00336547>
- Laso, F.-J., Madruga, J. Ignacio, Lopez, A., Ciudad, J., Alvarez-Mon, M., Miguel, J., y Orfao, A. (1997). Abnormalities of Peripheral Blood T Lymphocytes and Natural Killer Cells in Alcoholic Hepatitis Persist after a 3-Month Withdrawal Period. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 21(4), 672-676. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1997.tb03821.x>
- Le Page, M. E. L., Goodridge, J. P., John, E., Christiansen, F. T., y Witt, C. S. (2014). Killer Ig-like Receptor 2DL4 Does Not Mediate NK Cell IFN- γ Responses to Soluble HLA-G Preparations. *The Journal of Immunology*, 192(2), 732-740. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301748>
- Legaz, I, Bolarín, J. ., Morales, R., Pascual-Pastor, F., Luna, A., y Álvarez-Lopez, M. . (2018). Papel de los genes inhibidores teloméricos KIR en la cirrosis alcohólica. *XLV JORNADAS NACIONALES DE SOCIDROGALCOHOL*, 152-153. Recuperado de www.socidrogalcohol.org
- Legaz, I., Bolarin, J. M., Campillo, J. A., Moya, R. M., Luna, A., Osuna, E., ... Muro, M. (2021). Pretransplant ascites or encephalopathy and their influence on survival and liver graft rejection in alcoholic cirrhosis disease. *Archives of Medical Science*, 17(3), 682-693. <https://doi.org/10.5114/AOMS.2018.80651>
- Legaz, I., Bolarín, J. M., Morales, R., Luna, A., Álvarez, M., y Minguela, A. (2019). Kir

- genes in the development of ascites in alcoholic cirrhosis patients. En *HLA* (Vol. 93, pp. 256-401). <https://doi.org/10.1111/TAN.13518>
- Legaz, I., Bolarín, J. M., Navarro, E., Campillo, J. A., Moya, R., Pérez-Cárceles, M. D., ... Alvarez López, R. (2019). KIR2DL2/S2 and KIR2DS5 in alcoholic cirrhotic patients undergoing liver transplantation. *Archives of Medical Science*, 15(1). <https://doi.org/10.5114/aoms.2019.84410>
- Legaz, I., López-Álvarez, M. R., Campillo, J. A., Moya-Quiles, M. R., Bolarín, J. M., De La Peña, J., ... Minguela, A. (2013). KIR gene mismatching and KIR/C ligands in liver transplantation: Consequences for short-term liver allograft injury. *Transplantation*, 95(8), 1037-1044. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e318286486c>
- Legaz, I., Navarro-Noguera, E., Bolarín, J. M., García-Alonso, A. M., Luna Maldonado, A., Mrowiec, A., ... Muro, M. (2016). Epidemiology, Evolution, and Long-Term Survival of Alcoholic Cirrhosis Patients Submitted to Liver Transplantation in Southeastern Spain. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 40(4), 794-805. <https://doi.org/10.1111/acer.13013>
- Legaz, I., Navarro Noguera, E., Bolarín, J. M., Campillo, J. A., Moya, R., Luna, A., ... Muro, M. (2019). Patient Sex in the Setting of Liver Transplant in Alcoholic Liver Disease. *Experimental and clinical transplantation : official journal of the Middle East Society for Organ Transplantation*, 17(3), 355-362. <https://doi.org/10.6002/ect.2017.0302>
- Lemmers, A., Moreno, C., Gustot, T., Maréchal, R., Degré, D., Demetter, P., ... Devière, J. (2009). The interleukin-17 pathway is involved in human alcoholic liver disease. *Hepatology*, 49(2), 646-657. <https://doi.org/10.1002/hep.22680>
- Levitt, D. G., y Levitt, M. D. (2018, mayo 24). A model of blood-ammonia homeostasis based on a quantitative analysis of nitrogen metabolism in the multiple organs involved in the production, catabolism, and excretion of ammonia in humans. *Clinical and Experimental Gastroenterology*, Vol. 11, pp. 193-215. <https://doi.org/10.2147/CEG.S160921>
- Li, F., Cook, R. T., Alber, C., Rasmussen, W., Stapleton, J. T., y Ballas, Z. K. (1997). Ethanol and Natural Killer Cells. II. Stimulation of Human Natural Killer Activity by Ethanol In Vitro. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 21(6), 981-987. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1997.tb04241.x>

- Li, J. T., Guo, C., Li, M. L., Wei, Y. Q., Hou, Y. F., Jiao, Y. L., ... Zhang, H. Q. (2016). Killer cell immunoglobulin-like receptor genes and their HLA-C ligands in hashimoto thyroiditis in a Chinese population. *Endocrine Practice*, 22(8), 935-940. <https://doi.org/10.4158/EP151175.OR>
- Lieber, C. S. (1974). Effects of ethanol upon lipid metabolism. *Lipids*, 9(2), 103-116. <https://doi.org/10.1007/BF02532134>
- Lieber, C. S., Weiss, D. G., y Paronetto, F. (2008). Value of Fibrosis Markers for Staging Liver Fibrosis in Patients With Precirrhotic Alcoholic Liver Disease. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 32(6), 1031-1039. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00664.x>
- Linhart, K., Bartsch, H., y Seitz, H. K. (2014). The role of reactive oxygen species (ROS) and cytochrome P-450 2E1 in the generation of carcinogenic etheno-DNA adducts. *Redox Biology*, 3, 56-62. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2014.08.009>
- Liu, J., Xiaoa, Z., Koa, H. L., Shena, M., y Ren, E. C. (2014). Activating killer cell immunoglobulin-like receptor 2DS2 binds to HLA-A 11. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(7), 2662-2667. <https://doi.org/10.1073/pnas.1322052111>
- López Alvarez, M. del R. (2011). *HLA-C y células T CD8+KIR2D+ en trasplante hepático* (Murcia: Universidad de Murcia, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular B e Inmunología.). Recuperado de <https://digitum.um.es/digitum/handle/10201/32161>
- López, M., Ruiz, J., San, D., y Rodrigo, E. (2019). Inmunobiología del Trasplante. Estudios inmunológicos del donante y del receptor del trasplante renal. *Nefrología al día*. <https://doi.org/https://www.nefrologiaaldia.org/146>
- Lowe, P. P., Gyongyosi, B., Satishchandran, A., Iracheta-Vellve, A., Ambade, A., Kodys, K., ... Szabo, G. (2017). Alcohol-related changes in the intestinal microbiome influence neutrophil infiltration, inflammation and steatosis in early alcoholic hepatitis in mice. *PLOS ONE*, 12(3), e0174544. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174544>
- Lucey, M. R. (2014, enero 7). Liver transplantation for alcoholic liver disease. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, Vol. 11, pp. 300-307. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.247>

- Luongo, V., Pirozzi, G., Caracò, C., Errico, S., De Angelis, F., Celentano, E., ... Lombardi, M. L. (2004). HLA allele frequency and clinical outcome in Italian patients with cutaneous melanoma. *Tissue Antigens*, 64(1), 84-87. <https://doi.org/10.1111/j.0001-2815.2004.00250.x>
- Machado-Sulbaran, A. C., Ramírez-Dueñas, M. G., Navarro-Zarza, J. E., Muñoz-Valle, J. F., Mendoza-Carrera, F., Baños-Hernández, C. J., ... Sánchez-Hernández, P. E. (2019). KIR/HLA gene profile implication in systemic sclerosis patients from Mexico. *Journal of Immunology Research*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/6808061>
- Mackay, I. R. (2002). Hepatoimmunology: A perspective. *Immunology and Cell Biology*, 80(1), 36-44. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1711.2002.01063.x>
- MacPhee, P. J., Schmidt, E. E., y Groom, A. C. (1995). Intermittence of blood flow in liver sinusoids, studied by high-resolution in vivo microscopy. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 269(5 32-5). <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1995.269.5.g692>
- Maher, J. J., y McGuire, R. F. (1990). Extracellular matrix gene expression increases preferentially in rat lipocytes and sinusoidal endothelial cells during hepatic fibrosis in vivo. *Journal of Clinical Investigation*, 86(5), 1641-1648. <https://doi.org/10.1172/JCI114886>
- Mahmoudi, M., Fallahian, F., Sobhani, S., Ghoroghi, S., Jamshidi, A., Poursani, S., ... Gharibdoost, F. (2017). Analysis of killer cell immunoglobulin-like receptors (KIRs) and their HLA ligand genes polymorphisms in Iranian patients with systemic sclerosis. *Clinical Rheumatology*, 36(4), 853-862. <https://doi.org/10.1007/s10067-016-3526-0>
- Mandal, P., Park, P. H., McMullen, M. R., Pratt, B. T., y Nagy, L. E. (2010). The anti-inflammatory effects of adiponectin are mediated via a heme oxygenase-1-dependent pathway in rat kupffer cells. *Hepatology*, 51(4), 1420-1429. <https://doi.org/10.1002/hep.23427>
- Mandiga, P., Foris, L. A., y Bollu, P. C. (2020). Hepatic Encephalopathy. En *StatPearls*. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28613619>
- Mansouri, A., Gaou, I., De Kerguenec, C., Amsellem, S., Haouzi, D., Berson, A., ... Fromenty, B. (1999). An alcoholic binge causes massive degradation of hepatic

- mitochondrial DNA in mice. *Gastroenterology*, 117(1), 181-190.
[https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(99\)70566-4](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(99)70566-4)
- Manthey, J., Shield, K. D., Rylett, M., Hasan, O. S. M., Probst, C., y Rehm, J. (2019). Global alcohol exposure between 1990 and 2017 and forecasts until 2030: a modelling study. *The Lancet*, 393(10190), 2493-2502.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32744-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32744-2)
- Marcela Gaviria, M., Correa Arango, G., y Navas, M. C. (2016). Alcohol, cirrosis y predisposición genética. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 31(1), 27-35. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99572016000100005
- Marincola, F. M., Venzon, D., White, D., Rubin, J. T., Lotze, M. T., Simonis, T. B., ... Parkinson, D. R. (1992). HLA Association with Response and Toxicity in Melanoma Patients Treated with Interleukin 2-based Immunotherapy. *Cancer Research*, 52(23).
- Marsh, S. G., Albert, E. D., Bodmer, W. F., Bontrop, R. E., Dupont, B., Erlich, H. A., ... Trowsdale, J. (2010). Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. *Tissue Antigens*, 75(4), 291-455. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2010.01466.x>
- Marsh, S. G. E., Parham, P., Dupont, B., Geraghty, D. E., Trowsdale, J., Middleton, D., ... Wain, H. (2003). Killer-cell immunoglobulin-like receptor (KIR) nomenclature report, 2002. *Immunogenetics*, 55(4), 220-226. <https://doi.org/10.1007/s00251-003-0571-z>
- Martin, A. M., Freitas, E. M., Witt, C. S., y Christiansen, F. T. (2000). The genomic organization and evolution of the natural killer immunoglobulin-like receptor (KIR) gene cluster. *Immunogenetics*, 51(4-5), 268-280.
<https://doi.org/10.1007/s002510050620>
- Martin, M. P., Gao, X., Lee, J. H., Nelson, G. W., Detels, R., Goedert, J. J., ... Carrington, M. (2002). Epistatic interaction between KIR3DS1 and HLA-B delays the progression to AIDS. *Nature Genetics*, 31(4), 429-434.
<https://doi.org/10.1038/ng934>
- Martinez-González, M. J., Irala, J. (Jokin) de, y Sanchez-Villegas, A. (Almudena). (2002). *Dieta mediterránea y enfermedad cardiovascular: Resultados del estudio piloto del proyecto SUN*. Recuperado de

- <https://dadun.unav.edu/handle/10171/39434>
- Martínez-Sánchez, M. V., Periago, A., Legaz, I., Gimeno, L., Mrowiec, A., Montes-Barqueros, N. R., ... Minguela, A. (2016). Overexpression of KIR inhibitory ligands (HLA-I) determines that immunosurveillance of myeloma depends on diverse and strong NK cell licensing. *OncImmunology*, 5(4). <https://doi.org/10.1080/2162402X.2015.1093721>
- Mathurin, P., Mendenhall, C. L., Carithers, R. L., Ramond, M.-J., Maddrey, W. C., Garstide, P., ... Poynard, T. (2002). Corticosteroids improve short-term survival in patients with severe alcoholic hepatitis (AH): individual data analysis of the last three randomized placebo controlled double blind trials of corticosteroids in severe AH. *Journal of Hepatology*, 36(4), 480-487. [https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(01\)00289-6](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(01)00289-6)
- Matos Santiváñez, S. P. (2017). *Características Clínicas- Epidemiológicas en pacientes con cirrosis hepática en el Hospital Central de la Fuerza Aérea del Perú durante el periodo 2013- 2016* (Universidad Ricardo Palma). Recuperado de http://cybertesis.urp.edu.pe/bitstream/urp/1002/1/Matos_Santiváñez_Stephany_Paola_2017.pdf
- Matsusue, K., Aibara, D., Hayafuchi, R., Matsuo, K., Takiguchi, S., Gonzalez, F. J., y Yamano, S. (2014). Hepatic PPAR γ and LXR α independently regulate lipid accumulation in the livers of genetically obese mice. *FEBS Letters*, 588(14), 2277-2281. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.05.012>
- Maxwell, L. D., Wallace, A., Middleton, D., y Curran, M. D. (2002). A common KIR2DS4 deletion variant in the human that predicts a soluble KIR molecule analogous to the KIR1D molecule observed in the rhesus monkey. *Tissue Antigens*, 60(3), 254-258. <https://doi.org/10.1034/j.1399-0039.2002.600307.x>
- McVicker, B. L., Tuma, D. J., Kharbanda, K. K., Kubik, J. L., y Casey, C. A. (2007). Effect of chronic ethanol administration on the in vitro production of proinflammatory cytokines by rat Kupffer cells in the presence of apoptotic cells. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 31(1), 122-129. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2006.00270.x>
- Mechtcheriakov, S., Graziadei, I. W., Mattedi, M., Bodner, T., Kugener, A., Hinterhuber, H. H., ... Vogel, W. (2004). Incomplete improvement of visuo-motor

- deficits in patients with minimal hepatic encephalopathy after liver transplantation. *Liver Transplantation*, 10(1), 77-83. <https://doi.org/10.1002/lt.20009>
- Melhem, A., Muhanna, N., Bishara, A., Alvarez, C. E., Ilan, Y., Bishara, T., ... Safadi, R. (2006). Anti-fibrotic activity of NK cells in experimental liver injury through killing of activated HSC. *Journal of Hepatology*, 45(1), 60-71. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2005.12.025>
- Mendez, R., Aptsiauri, N., Del Campo, A., Maleno, I., Cabrera, T., Ruiz-Cabello, F., ... Garcia-Lora, A. (2009, septiembre). HLA and melanoma: Multiple alterations in HLA class I and II expression in human melanoma cell lines from ESTDAB cell bank. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, Vol. 58, pp. 1507-1515. <https://doi.org/10.1007/s00262-009-0701-z>
- Merli, M., Berzigotti, A., Zelber-Sagi, S., Dasarathy, S., Montagnese, S., Genton, L., ... Parés, A. (2019). EASL Clinical Practice Guidelines on nutrition in chronic liver disease. *Journal of Hepatology*, 70(1), 172-193. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.06.024>
- Michael W King PhD. (2015). Etanol (alcohol) Metabolismo: Toxicidad Aguda y Crónica. Recuperado 16 de julio de 2019, de <https://themedicalbiochemistrypage.org/es/ethanol-metabolism-sp.php>
- Middleton, D., y Gonzelez, F. (2010, enero). The extensive polymorphism of KIR genes. *Immunology*, Vol. 129, pp. 8-19. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2009.03208.x>
- Miller, A. M., Wang, H., Bertola, A., Park, O., Horiguchi, N., Hwan Ki, S., ... Gao, B. (2011). Inflammation-associated interleukin-6/signal transducer and activator of transcription 3 activation ameliorates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in interleukin-10-deficient mice. *Hepatology*, 54(3), 846-856. <https://doi.org/10.1002/hep.24517>
- Ming, Z., Smyth, D. D., y Lauta, W. W. (2002). Decreases in portal flow trigger a hepatorenal reflex to inhibit renal sodium and water excretion in rats: Role of adenosine. *Hepatology*, 35(1), 167-175. <https://doi.org/10.1053/jhep.2002.30425>
- Misra, M. K., Augusto, D. G., Martin, G. M., Nemat-Gorgani, N., Sauter, J., Hofmann, J. A., ... Hollenbach, J. A. (2018, diciembre 1). Report from the Killer-cell Immunoglobulin-like Receptors (KIR) component of the 17th International HLA

- and Immunogenetics Workshop. *Human Immunology*, Vol. 79, pp. 825-833.
<https://doi.org/10.1016/j.humimm.2018.10.003>
- Moesta, A. K., Norman, P. J., Yawata, M., Yawata, N., Gleimer, M., y Parham, P. (2008). Synergistic Polymorphism at Two Positions Distal to the Ligand-Binding Site Makes KIR2DL2 a Stronger Receptor for HLA-C Than KIR2DL3. *The Journal of Immunology*, 180(6), 3969-3979.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.6.3969>
- Moraru, M., Cisneros, E., Gómez-Lozano, N., Pablo, R. de, Portero, F., Cañizares, M., ... Vilches, C. (2012). Host Genetic Factors in Susceptibility to Herpes Simplex Type 1 Virus Infection: Contribution of Polymorphic Genes at the Interface of Innate and Adaptive Immunity. *The Journal of Immunology*, 188(9), 4412-4420.
<https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1103434>
- Moreno, M., y Bataller, R. (2008, noviembre). Cytokines and Renin-Angiotensin System Signaling in Hepatic Fibrosis. *Clinics in Liver Disease*, Vol. 12, pp. 825-852. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2008.07.013>
- Morishima, C., Paschal, D. M., Wang, C. C., Yoshihara, C. S., Wood, B. L., Yeo, A. E. T., ... Gretch, D. R. (2006). Decreased NK cell frequency in chronic hepatitis C does not affect *ex vivo* cytolytic killing. *Hepatology*, 43(3), 573-580.
<https://doi.org/10.1002/hep.21073>
- Mottaran, E., Stewart, S. F., Rolla, R., Vay, D., Cipriani, V., Moretti, M. G., ... Albano, E. (2002). Lipid peroxidation contributes to immune reactions associated with alcoholic liver disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(1), 38-45.
[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00757-2](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00757-2)
- Mueller-Eckhardt, G., Schendel, D. J., Hundeiker, M., Riedel, T., O'Neill, G. J., Riethmüller, G., y Mueller-Eckhardt, C. (1984). Possible association between HLA-DR5 and superficial spreading melanoma (SSM). *International Journal of Cancer*, 34(6), 751-755. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910340603>
- Mutchnick, M. G., y Lee, H. H. (1988). Impaired Lymphocyte Proliferative Response to Mitogen in Alcoholic Patients. Absence of a Relation to Liver Disease Activity. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 12(1), 155-158.
<https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1988.tb00151.x>
- Muto, M., Ohmura, A., Nakano, J., Yamamoto, A., Ishihara, K., Sasazuki, T., y

- Asagami C. (1996). HLA class I polymorphism and the susceptibility to malignant melanoma - PubMed. Recuperado 22 de enero de 2021, de Tissue Antigens website: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8795150/>
- Ben, N., Rizzo, R., Bortolotti, D., Faten, N.... Manjoub, A. (2014). Evaluation of the implication of KIR2DL2 receptor in multiple sclerosis and herpesvirus susceptibility. *Journal of neuroimmunology*, 271(1-2), 30-35. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUROIM.2014.03.017>
- Nagore, E., Planelles, M. D., Ledesma, E., Millán, J. M., Insa, A., Oliver, V., ... Fortea, J. M. (2002). Molecular genetic analysis of HLA-DR and -DQ alleles in Spanish patients with melanoma. *Acta Dermato-Venereologica*, 82(2), 90-93. <https://doi.org/10.1080/00015550252948095>
- Nagy, L. E. (2003). Recent insights into the role of the innate immune system in the development of alcoholic liver disease. *Experimental Biology and Medicine*, Vol. 228, pp. 882-890. <https://doi.org/10.1177/153537020322800803>
- Nallagangula, K. S., Nagaraj, S. K., Venkataswamy, L., y Chandrappa, M. (2018, enero 1). Liver fibrosis: A compilation on the biomarkers status and their significance during disease progression. *Future Science OA*, Vol. 4. <https://doi.org/10.4155/fsoa-2017-0083>
- Nanji, A. A., Khettry, U., Sadrazadeh, S. M., y Yamanaka, T. (1993). Severity of liver injury in experimental alcoholic liver disease. Correlation with plasma endotoxin, prostaglandin E2, leukotriene B4, and thromboxane B2 - PubMed. *Am J Pathol.*, 2(142), 367-373. Recuperado de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8382006/>
- NanoDrop™ One/One^C Espectrofotómetro de microvolúmenes de UV-Vis con Wi-Fi. (s. f.). Recuperado 22 de diciembre de 2020, de <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/ND-ONE-W#/ND-ONE-W>
- Navarro, E.M. (2017). Estudio de genes KIR en pacientes con abuso de alcohol que desarrollan cirrosis hepática alcohólica (Universidad de Murcia). Recuperado de <https://digitum.um.es/digitum/handle/10201/55253>
- Naveau, S., Perlemuter, G., Chaillet, M., Raynard, B., Balian, A., Beuzen, F., ... Chaput, J. C. (2006). Serum leptin in patients with alcoholic liver disease. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 30(8), 1422-1428. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2006.00170.x>

- Ness, K. J., Fan, J., Wilke, W. W., Coleman, R. A., Cook, R. T., y Schlueter, A. J. (2008). Chronic ethanol consumption decreases murine langerhans cell numbers and delays migration of langerhans cells as well as dermal dendritic cells. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 32(4), 657-668. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00614.x>
- Nevzorova, Y. A., Boyer-Diaz, Z., Cubero, F. J., y Gracia-Sancho, J. (2020, agosto 1). Animal models for liver disease – A practical approach for translational research. *Journal of Hepatology*, Vol. 73, pp. 423-440. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.04.011>
- Nishino, S., Okura, M., y Mignot, E. (2000). Narcolepsy: Genetic predisposition and neuropharmacological mechanisms. *Sleep Medicine Reviews*, Vol. 4, pp. 57-99. <https://doi.org/10.1053/smr.1999.0069>
- Njiomegnie, G.F., Read, S.A., Fewings, N., George, J., McKay, F. and Ahlenstiel, G. (2020). Immunomodulation of the Natural Killer Cell Phenotype and Response during HCV Infection. *Journal of clinical medicine*, 9(4), 1030. <https://doi.org/10.3390/JCM9041030>
- Noguera, E. M. N. (2017). *Estudio de genes Klr en pacientes con abuso de alcohol que desarrollan cirrosis hepática alcohólica*. Universidad de Murcia.
- Norman, P. J., Abi-Rached, L., Gendzekhadze, K., Hammond, J. A., Moesta, A. K., Sharma, D., ... Parham, P. (2009). Meiotic recombination generates rich diversity in NK cell receptor genes, alleles, and haplotypes. *Genome Research*, 19(5), 757-769. <https://doi.org/10.1101/gr.085738.108>
- Norman, P. J., Carrington, C. V. F., Byng, M., Maxwell, L. D., Curran, M. D., Stephens, H. A. F., ... Vaughan, R. W. (2002). Natural killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) locus profiles in African and South Asian populations. *Genes and Immunity*, 3(2), 86-95. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6363836>
- O'Brien, J. T., Erkinjuntti, T., Reisberg, B., Roman, G., Sawada, T., Pantoni, L., ... DeKosky, S. T. (2003, febrero 1). Vascular cognitive impairment. *Lancet Neurology*, Vol. 2, pp. 89-98. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(03\)00305-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(03)00305-3)
- Observatorio español de las Drogas las Adicciones, O. (s. f.). *INFORME 2021 Alcohol, tabaco y drogas ilegales en España*. Recuperado de <https://pnsd.sanidad.gob.es/>

- O'Connor, G. M., Guinan, K. J., Cunningham, R. T., Middleton, D., Parham, P., y Gardiner, C. M. (2007). Functional Polymorphism of the KIR3DL1/S1 Receptor on Human NK Cells. *The Journal of Immunology*, 178(1), 235-241. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.1.235>
- Ochoa, E., Madoz-Gúrpide, A., y Vicente, N. (2009). Diagnóstico y tratamiento de la dependencia de alcohol. *Medicina y Seguridad del Trabajo*, 55(214), 26-40. Recuperado de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0465-546X2009000100003
- Oey, R. C., de Wit, K., Moelker, A., Atalik, T., van Delden, O. M., Maleux, G., ... van Buuren, H. R. (2018). Variable efficacy of TIPSS in the management of ectopic variceal bleeding: a multicentre retrospective study. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 48(9), 975-983. <https://doi.org/10.1111/apt.14947>
- Olcese, L., Cambiaggi, A., Semenzato, G., Bottino, C., Moretta, A., y Vivier, E. (1997). Human killer cell activatory receptors for MHC class I molecules are included in a multimeric complex expressed by natural killer cells. *The Journal of Immunology*, 158(11).
- Oliviero, B., Varchetta, S., Paudice, E., Michelone, G., Zaramella, M., Mavilio, D., ... Mondelli, M. U. (2009). Natural Killer Cell Functional Dichotomy in Chronic Hepatitis B and Chronic Hepatitis C Virus Infections. *Gastroenterology*, 137(3), 1151-1160.e7. <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2009.05.047>
- Omosun, Y. O., Blackstock, A. J., Williamson, J., Eijk, A. M. van, Ayisi, J., Otieno, J., ... Shi, Y. P. (2018). Association of maternal KIR gene content polymorphisms with reduction in perinatal transmission of HIV-1. *PLOS ONE*, 13(1), e0191733. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0191733>
- OPTN/SRTR 2017 Annual Data Report: Liver. (s. f.). Recuperado 4 de julio de 2020, de https://srtr.transplant.hrsa.gov/annual_reports/2017/Liver.aspx#LI_2_adult_waitin_g_prev_kili_1_b64
- Ordóñez, D., Meenagh, A., Gómez-Lozano, N., Castaño, J., Middleton, D., y Vilches, C. (2008). Duplication, mutation and recombination of the human orphan gene KIR2DS3 contribute to the diversity of KIR haplotypes. *Genes and Immunity*, 9(5), 431-437. <https://doi.org/10.1038/gene.2008.34>

- Orfanidis, N. T. (2019). Hepatopatía alcohólica - Trastornos del hígado y de la vesícula biliar. Recuperado 14 de julio de 2020, de 2019 website: <https://www.msmanuals.com/es-es/hogar/trastornos-del-higado-y-de-la-vesicula-biliar/hepatopatía-alcohólica/hepatopatía-alcohólica>
- Ortiz, M., Córdoba, J., Doval, E., Jacas, C., Pujadas, F., Esteban, R., y Guardia, J. (2007). Development of a clinical hepatic encephalopathy staging scale. *Alimentary Pharmacology y Therapeutics*, 26(6), 859-867. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03394.x>
- Ginès, P., Angeli, P., Lenz, K., Moller, S., Moore, K., Moreau, R., Merkel, C., y Larsen H.R.(2010). *EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis*.
- Padilla, F. J. B., Torre Delgadilloa, A., Suáreza, M. de A., Romána, J. C., Violantea, M. D., y Trejo Estradaa, R. (2009). Guías clínicas de diagnóstico y tratamiento de la ascitis. Fisiopatología y diagnóstico de la ascitis. *Rev Gastroenterol Mex.*, 74(4), 387-391. Recuperado de <http://www.revistagastroenterologiamexico.org/es-guias-clinicas-diagnostico-tratamiento-ascitis--articulo-resumen-X0375090609477888>
- Pan, H. N., Sun, R., Jaruga, B., Hong, F., Kim, W. H., y Gao, B. (2006a). Chronic ethanol consumption inhibits hepatic natural killer cell activity and accelerates murine cytomegalovirus-induced hepatitis. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 30(9), 1615-1623. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2006.00194.x>
- Pan, H. N., Sun, R., Jaruga, B., Hong, F., Kim, W. H., y Gao, B. (2006b). Chronic ethanol consumption inhibits hepatic natural killer cell activity and accelerates murine cytomegalovirus-induced hepatitis. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 30(9), 1615-1623. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2006.00194.x>
- Pardo Sánchez, D. J. (2015). UNIVERSIDAD DE MURCIA (Universidad de Murcia). Recuperado de <http://www.tdx.cat/handle/10803/301285>
- Parham, P. (2005, marzo 18). MHC class I molecules and KIRS in human history, health and survival. *Nature Reviews Immunology*, Vol. 5, pp. 201-214. <https://doi.org/10.1038/nri1570>
- Parham, P., y Guethlein, L. A. (2018). Genetics of Natural Killer Cells in Human Health, Disease, and Survival. *Annual Review of Immunology*, 36(1). <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042617-053149>

- Parham, P., Norman, P. J., Abi-Rached, L., y Guethlein, L. A. (2012). Human-specific evolution of killer cell immunoglobulin-like receptor recognition of major histocompatibility complex class I molecules. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, Vol. 367, pp. 800-811. <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0266>
- Parlesak, A., Schäfer, C., Schütz, T., Bode, J. C., y Bode, C. (2000). Increased intestinal permeability to macromolecules and endotoxemia in patients with chronic alcohol abuse in different stages of alcohol-induced liver disease. *Journal of Hepatology*, 32(5), 742-747. [https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(00\)80242-1](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(00)80242-1)
- Parolini, F., Priscilla, B., Michela, S., Sironi, F., Muraro, V., Guizzardi E., ... Zipeto, D. (2017). Stability and Expression Levels of HLA-C on the Cell Membrane Modulate HIV-1 Infectivity. *Journal of virology*, 92(1). <https://doi.org/10.1128/JVI.01711-17>
- Pegram, H. J., Andrews, D. M., Smyth, M. J., Darcy, P. K., y Kershaw, M. H. (2011). Activating and inhibitory receptors of natural killer cells. *Immunology and Cell Biology*, 89(2), 216-224. <https://doi.org/10.1038/ICB.2010.78>
- Pende, D., Biassoni, R., Cantoni, C., Verdiani, S., Falco, M., Di Donato, C., ... Moretta, L. (1996). The natural killer cell receptor specific for HLA-A allotypes: A novel member of the p58/p70 family of inhibitory receptors that is characterized by three immunoglobulin-like domains and is expressed as a 140-kD disulphide-linked dimer. *Journal of Experimental Medicine*, 184(2), 505-518. <https://doi.org/10.1084/jem.184.2.505>
- Persson, B., Hedlund, J., y Jörnvall, H. (2008). Medium- and short-chain dehydrogenase/reductase gene and protein families. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65(24), 3879-3894. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-8587-z>
- Petrasek, J., Bala, S., Csak, T., Lippai, D., Kodys, K., Menashy, V., ... Szabo, G. (2012). IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammasome-dependent alcoholic steatohepatitis in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 122(10), 3476-3489. <https://doi.org/10.1172/JCI60777>
- Piano, S., Tonon, M., y Angeli, P. (2018, febrero 1). Management of ascites and hepatorenal syndrome. *Hepatology International*, Vol. 12, pp. 122-134. <https://doi.org/10.1007/s12072-017-9815-0>

- Pinzani, M., y Marra, F. (2001, octubre 1). Cytokine receptors and signaling in hepatic stellate cells. *Seminars in Liver Disease*, Vol. 21, pp. 397-416. <https://doi.org/10.1055/s-2001-17554>
- Pinzani, Massimo, Marra, F., y Carloni, V. (1998). Signal transduction in hepatic stellate cells. *Liver*, Vol. 18, pp. 2-13. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0676.1998.tb00120.x>
- Plan Nacional sobre Drogas. (2019). Encuesta sobre alcohol y drogas en población general en España: EDADES 1995-2017. *INFORME 2019: Alcohol, tabaco y drogas ilegales en España.*, 125. Recuperado de <http://www.pnsd.mscbs.gob.es/>
- Planas, R., Montoliu, S., Ballesté, B., Rivera, M., Miquel, M., Masnou, H., ... Solà, R. (2006). Natural History of Patients Hospitalized for Management of Cirrhotic Ascites. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 4(11). <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2006.08.007>
- Pone, E. J., Zan, H., Zhang, J., Al-Qahtani, A., Xu, Z., y Casali, P. (2010). Toll-like receptors and b-cell receptors synergize to induce immunoglobulin class-switch dna recombination: Relevance to microbial antibody responses. *Critical Reviews in Immunology*, Vol. 30, pp. 1-29. <https://doi.org/10.1615/critrevimmunol.v30.i1.10>
- Portal Hypertension - Liver and Gallbladder Disorders - Merck Manuals Consumer Version. (s. f.). Recuperado 12 de febrero de 2021, de <https://www.merckmanuals.com/home/liver-and-gallbladder-disorders/manifestations-of-liver-disease/portal-hypertension>
- Pose, E., y Cardenas, A. (2017). Translating Our Current Understanding of Ascites Management into New Therapies for Patients with Cirrhosis and Fluid Retention. *Digestive Diseases*, 35(4), 402-410. <https://doi.org/10.1159/000456595>
- Poupon, R. E., Nalpas, B., Coutelle, C., Fleury, B., Couzigou, P., y Higuieret, D. (1992). Polymorphism of alcohol dehydrogenase, alcohol and aldehyde dehydrogenase activities: Implication in alcoholic cirrhosis in white patients. *Hepatology*, 15(6), 1017-1022. <https://doi.org/10.1002/hep.1840150608>
- Prakash Kolla, B., Schneekloth, T. D., Biernacka, J., Shah, V., Lazaridis, K. N., Geske, J., y Karpyak, V. (2018). PNPLA3 Association with Alcoholic Liver Disease in a Cohort of Heavy Drinkers. *Alcohol and Alcoholism*, 53(4), 357-360. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agy007>

- Pritchard, M. T., McMullen, M. R., Stavitsky, A. B., Cohen, J. I., Lin, F., Medof, M. E., y Nagy, L. E. (2007). Differential Contributions of C3, C5, and Decay-Accelerating Factor to Ethanol-Induced Fatty Liver in Mice. *Gastroenterology*, 132(3), 1117-1126. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.01.053>
- Promega Maxwell 16 Promega DNA RNA Purification System w WARRANTY | For Sale | Labx Ad 10873151. (s. f.). Recuperado 22 de diciembre de 2020, de <https://www.labx.com/item/promega-maxwell-16-promega-dna-rna-purification-system/10873151>
- Purohit, V., Bode, J. C., Bode, C., Brenner, D. A., Choudhry, M. A., Hamilton, F., ... Turner, J. R. (2008, agosto 1). Alcohol, intestinal bacterial growth, intestinal permeability to endotoxin, and medical consequences: Summary of a symposium. *Alcohol*, Vol. 42, pp. 349-361. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2008.03.131>
- Purohit, V., Gao, B., y Song, B. J. (2009). Molecular mechanisms of alcoholic fatty liver. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 33(2), 191-205. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00827.x>
- Pyo, C. W., Guethlein, L. A., Vu, Q., Wang, R., Abi-Rached, L., Norman, P. J., ... Geraghty, D. E. (2010). Different patterns of evolution in the centromeric and telomeric regions of group A and B haplotypes of the human killer cell Ig-like receptor locus. *PLoS ONE*, 5(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015115>
- Pyo, C. W., Wang, R., Vu, Q., Cereb, N., Yang, S. Y., Duh, F. M., ... Geraghty, D. E. (2013). Recombinant structures expand and contract inter and intragenic diversification at the KIR locus. *BMC Genomics*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-89>
- Qin, H., Wang, Z., Witing, D., Wen-Hui, L., Xiwei, W., Riggs, A.D., y Chih-Ping, L. (2011). Killer cell Ig-like receptor (KIR) 3DL1 down-regulation enhances inhibition of type 1 diabetes by autoantigen-specific regulatory T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(5), 2016-2021. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1019082108>
- Racanelli, V., y Rehermann, B. (2006a, febrero). The liver as an immunological organ. *Hepatology*, Vol. 43. <https://doi.org/10.1002/hep.21060>
- Racanelli, V., y Rehermann, B. (2006b, febrero). The liver as an immunological organ. *Hepatology*, Vol. 43. <https://doi.org/10.1002/hep.21060>

- Radaeva, S., Sun, R., Jaruga, B., Nguyen, V. T., Tian, Z., y Gao, B. (2006). Natural killer cells ameliorate liver fibrosis by killing activated stellate cells in NKG2D-dependent and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-dependent manners. *Gastroenterology*, 130(2), 435-452. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.10.055>
- Rafer. (s. f.). Innovación tecnológica para laboratorios RAFER S.L. Recuperado 9 de septiembre de 2021, de <https://www.rafer.es/>
- Raghavan, M. (1999, marzo 1). Immunodeficiency due to defective antigen processing: The molecular basis for type 1 bare lymphocyte syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, Vol. 103, pp. 595-596. <https://doi.org/10.1172/JCI6455>
- Rajagopalan, S., y Long, E. O. (1999). A human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-G-specific receptor expressed on all natural killer cells. *Journal of Experimental Medicine*, 189(7), 1093-1099. <https://doi.org/10.1084/jem.189.7.1093>
- Rajagopalan, S., y Long, E. O. (2005, abril 4). Understanding how combinations of HLA and KIR genes influence disease. *Journal of Experimental Medicine*, Vol. 201, pp. 1025-1029. <https://doi.org/10.1084/jem.20050499>
- Rajalingam, R. (2011, diciembre). Human diversity of killer cell immunoglobulin-like receptors and disease. *Korean Journal of Hematology*, Vol. 46, pp. 216-228. <https://doi.org/10.5045/kjh.2011.46.4.216>
- Ramadori, G. (1992, diciembre). The stellate cell (Ito-cell, fat-storing cell, lipocyte, perisinusoidal cell) of the liver - New insights into pathophysiology of an intriguing cell. *Virchows Archiv B Cell Pathology Including Molecular Pathology*, Vol. 61, pp. 147-158. <https://doi.org/10.1007/BF02890417>
- Rao, R. (2009). Endotoxemia and gut barrier dysfunction in alcoholic liver disease. *Hepatology*, Vol. 50, pp. 638-644. <https://doi.org/10.1002/hep.23009>
- Rao, R. K. (1998). Acetaldehyde-Induced Increase in Paracellular Permeability in Caco-2 Cell Monolayer. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 22(8), 1724-1730. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1998.tb03972.x>
- Rayo Llerena, I., y Marín Huerta, E. (1998). Vino y corazón. *Revista Española de Cardiología*, 51(6), 435-449. Recuperado de

- <https://medes.com/publication/121140>
- Rehm, J. (2011). The risks associated with alcohol use and alcoholism. *Alcohol research y health : the journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*, 34(2), 135-143. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22330211>
- Rincón y Bañares. (2016). Medicine (Barcelona). *Medicine: Programa de Formación Médica Continuada Acreditado, ISSN 0304-5412, Serie 12, N.º. 11, 2016 (Ejemplar dedicado a: Enfermedades del aparato digestivo (XI) Enfermedades hepáticas. Cirrosis hepática)*, págs. 597-605, 12(11), 597-605. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5508446>
- Rivera, C. A., Bradford, B. U., Hunt, K. J., Adachi, Y., Schrum, L. W., Koop, D. R., ... Thurman, R. G. (2001). Attenuation of CCl4-induced hepatic fibrosis by GdCl3 treatment or dietary glycine. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 281(1 44-1). <https://doi.org/10.1152/ajpgi.2001.281.1.g200>
- Rizzo, R., Bortolotti, D., Gentili, V., Rotola, A., Bolzani, S., Caselli, E., ... di, D. (2019). KIR2DS2/KIR2DL2/HLA-C1 Haplotype Is Associated with Alzheimer's Disease: Implication for the Role of Herpesvirus Infections. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 67(4), 1379-1389. <https://doi.org/10.3233/JAD-180777>
- Rizzo, R., Gentili, V., Casetta, I., Caselli, E., Gennaro, R. De, Granieri, E., ... Rotola, A. (2012). Altered natural killer cells' response to herpes virus infection in multiple sclerosis involves KIR2DL2 expression. *Journal of Neuroimmunology*, 251(1), 55-64. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUROIM.2012.07.004>
- Rizzo, S., Schiuma, G., Beltrami, S., Gentili, V., Rizzo, R., y Bortolotti, D. (2021). Role of KIR Receptor in NK Regulation during Viral Infections. *Immuno*, 1(3), 305-331. <https://doi.org/10.3390/IMMUNO1030021>
- Rizzo, R., Gentili, V., Rotola, A., Bortolotti, D., Cassai, E., y Luca, D. (2014). Implication of HLA-C and KIR Alleles in Human Papillomavirus Infection and Associated Cervical Lesions. <https://home.liebertpub.com/vim>, 27(9), 468-470. <https://doi.org/10.1089/VIM.2014.0017>
- Roberts, C. h., Molina, S., Makalo, P., Joof, H., Harding-Esch, E. M., Burr, S. E., ... Holland, M. J. (2014). Conjunctival Scarring in Trachoma Is Associated with the HLA-C Ligand of KIR and Is Exacerbated by Heterozygosity at

- KIR2DL2/KIR2DL3. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(3).
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002744>
- Robinson, J., Mistry, K., McWilliam, H., Lopez, R., y Marsh, S. G. E. (2010). IPD-the Immuno Polymorphism Database. *Nucleic Acids Research*, 38(suppl_1), 863–869.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkp879>
- Roe, D., Vierra-Green, C., Pyo, C. W., Eng, K., Hall, R., Kuang, R., ... Maiers, M. (2017). Revealing complete complex KIR haplotypes phased by long-read sequencing technology. *Genes and Immunity*, 18(3), 127-134.
<https://doi.org/10.1038/gene.2017.10>
- Rovini, L., Pellegris, G., Cascinelli, N., Cantoni, L., Vaglini, M., Placucci, M., ... Illeni, M. (1988). HLA antigens in familial and sporadic cutaneous melanoma. *Tumori*. Recuperado de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3232210/>
- Roychowdhury, S., McMullen, M. R., Pritchard, M. T., Hise, A. G., van Rooijen, N., Medof, M. E., ... Nagy, L. E. (2009). An early complement-dependent and TLR-4-independent phase in the pathogenesis of ethanol-induced liver injury in mice. *Hepatology*, 49(4), 1326-1334. <https://doi.org/10.1002/hep.22776>
- Rubén Coscojuela. (2019). Células NK y receptores KIR (Parte II) | Blog Rafer. Recuperado 17 de julio de 2020, de <https://www.rafer.es/innovacion-laboratorio-clinico/celulas-nk-y-receptores-kir-parte-ii/>
- S, R.-D. los S., PE, S.-H., JF, M.-V., CA, P.-S., LY, R.-R., T, G.-I., ... MG, R.-D. (2012). Associations of killer cell immunoglobulin-like receptor genes with rheumatoid arthritis. *Disease markers*, 33(4), 201-206.
<https://doi.org/10.3233/DMA-2012-0927>
- Sadhu, J. S., Novak, E., Mukamal, K. J., Kizer, J. R., Psaty, B. M., Stein, P. K., y Brown, D. L. (2018). Association of Alcohol Consumption After Development of Heart Failure With Survival Among Older Adults in the Cardiovascular Health Study. *JAMA Network Open*, 1(8), e186383.
<https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.6383>
- Salerno, F, Angeli, P., Bernardi, M., Laffi, G., Riggio, O., y M, S. (1999). *Clinical practice guidelines for the management of cirrhotic patients with ascites. Committee on Ascites of the Italian Association for the Study of the Liver - PubMed*. Recuperado de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10604107/>

- Salerno, Francesco, Guevara, M., Bernardi, M., Moreau, R., Wong, F., Angeli, P., ... Lee, S. S. (2010). Refractory ascites: pathogenesis, definition and therapy of a severe complication in patients with cirrhosis. *Liver International*, 30(7), 937-947. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2010.02272.x>
- Salgado Cecilia, M. G. (2019). *Evaluación Inmunología en Pacientes con Fibromialgia Tipo I*. Recuperado de <https://fibro.pro/wp-content/uploads/2020/06/198.pdf>
- Sambrook, J. G., Bashirova, A., Andersen, H., Piatak, M., Vernikos, G. S., Coghill, P., ... Beck, S. (2006). Identification of the ancestral killer immunoglobulin-like receptor gene in primates. *BMC Genomics*, 7(1), 209. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-209>
- Sánchez, F., Poyato, A., Salcedo, M., Gómez, M.A., Pardo F., Fernández, R., Castillo F., Rivas, J.I., López, R., Boscá, A., Vila, J.J., Nuño, A., ... (s. f.). *Registro español de Trasplante Hepático. Memoria general de resultados*. Recuperado de <http://www.ont.es>
- Sánchez, C. L., Franco, L., Bravo, R., Rubio, C., Rodríguez, A. B., Barriga, C., y Cubero, J. (2010). Cerveza y salud, beneficios en el sueño. *Revista Española de Nutrición Comunitaria*, 16(3), 160-163. [https://doi.org/10.1016/S1135-3074\(10\)70034-X](https://doi.org/10.1016/S1135-3074(10)70034-X)
- Sarem, M., Znaidak, R., Macías, M., y Rey, R. (2006). Las células estrelladas del hígado: su importancia en condiciones normales y patológicas. *Gastroenterol Hepatol.*, 29, 93-101. Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-gastroenterologia-hepatologia-14-pdf-13083906>
- Schrier, R. W., Arroyo, V., Bernardi, M., Epstein, M., Henriksen, J. H., y Rodés, J. (1988). Peripheral arterial vasodilation hypothesis: A proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis. *Hepatology*, 8(5), 1151-1157. <https://doi.org/10.1002/hep.1840080532>
- Schwan, R., y Allen, J. P. (2005). Unhealthy Alcohol Use. *New England Journal of Medicine*, 352(20), 2139-2140. <https://doi.org/10.1056/NEJM200505193522021>
- Seitz, H. K., Bataller, R., Cortez-Pinto, H., Gao, B., Gual, A., Lackner, C., ... Tsukamoto, H. (2018a, diciembre 1). Alcoholic liver disease. *Nature Reviews Disease Primers*, Vol. 4, pp. 1-22. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0014-7>

- Selvakumar, A., Steffens, U., Palanisamy, N., Chaganti, R. S. K., y Dupont, B. (1997). Genomic organization and allelic polymorphism of the human killer cell inhibitory receptor gene KIR103. *Tissue Antigens*, 49(6), 564-573. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.1997.tb02803.x>
- Serena, M., Parolini, F., Biswas, P., Sironi, F., Blanco Miranda, A., Zoratti, E., ... Zipeto, D. (2017). HIV-1 Env associates with HLA-C free-chains at the cell membrane modulating viral infectivity. *Scientific Reports* 2017 7:1, 7(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/srep40037>
- Sharma, R. (2013). Biochemical Mechanisms of Fatty Liver and Bioactive Foods: Fatty Liver, Diagnosis, Nutrition Therapy. En *Bioactive Food as Dietary Interventions for Liver and Gastrointestinal Disease* (pp. 623-655). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397154-8.00181-0>
- Shield, K. D., Parry, C., y Rehm, J. (2014). Chronic diseases and conditions related to alcohol use. *Alcohol Research: Current Reviews*, 35(2), 155-171. Recuperado de [/pmc/articles/PMC3908707/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24881111/)
- Shilling, H. G., Guethlein, L. A., Cheng, N. W., Gardiner, C. M., Rodriguez, R., Tyan, D., y Parham, P. (2002). Allelic Polymorphism Synergizes with Variable Gene Content to Individualize Human KIR Genotype. *The Journal of Immunology*, 168(5), 2307-2315. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.5.2307>
- Singal, A. K., Louvet, A., Shah, V. H., y Kamath, P. S. (2018, agosto 1). Grand Rounds: Alcoholic Hepatitis. *Journal of Hepatology*, Vol. 69, pp. 534-543. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.05.001>
- Singal, A. K., y Shah, V. H. (2019, febrero 1). Current trials and novel therapeutic targets for alcoholic hepatitis. *Journal of Hepatology*, Vol. 70, pp. 305-313. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.10.026>
- Sivori, S., Falco, M., Carlomagno, S., Romeo, E., Soldani, C., Bensussan, A., ... Moretta, A. (2010). A novel KIR-associated function: Evidence that CpG DNA uptake and shuttling to early endosomes is mediated by KIR3DL2. *Blood*, 116(10), 1637-1647. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-12-256586>
- Slukvin, I. I., y Jerrells, T. R. (1995). Different pathways of in vitro ethanol-induced apoptosis in thymocytes and splenic T and B lymphocytes. *Immunopharmacology*, 31(1), 43-57. [https://doi.org/10.1016/0162-3109\(95\)00032-4](https://doi.org/10.1016/0162-3109(95)00032-4)

- Solín Herruzo, J. A. (2000). Factors involved in hepatic fibrogenesis. *Gastroenterol. Hepatol*, 23(4), 186-199. Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-gastroenterologia-hepatologia-14-articulo-factores-involucrados-fibrogenesis-hepatica-9819>
- Sophos, N. A., Pappa, A., Ziegler, T. L., y Vasiliou, V. (2001). Aldehyde dehydrogenase gene superfamily: The 2000 update. *Chemico-Biological Interactions*, 130-132, 323-337. [https://doi.org/10.1016/S0009-2797\(00\)00275-1](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(00)00275-1)
- Sorgho, P. A., Djigma, F. W., Martinson, J. J., Yonli, A. T., Nagalo, B. M., Compaore, T. R., ... Simpore, J. (2019). Role of Killer cell immunoglobulin-like receptors (KIR) genes in stages of HIV-1 infection among patients from Burkina Faso. *Biomolecular Concepts*, 10(1), 226-236. <https://doi.org/10.1515/BMC-2019-0024>
- Sotil, E. U., Gottstein, J., Ayala, E., Randolph, C., y Blei, A. T. (2009). Impact of preoperative overt hepatic encephalopathy on neurocognitive function after liver transplantation. *Liver Transplantation*, 15(2), 184-192. <https://doi.org/10.1002/lt.21593>
- Sozio, M. S., Liangpunsakul, S., y Crabb, D. (2010). The role of lipid metabolism in the pathogenesis of alcoholic and nonalcoholic hepatic steatosis. *Seminars in Liver Disease*, Vol. 30, pp. 378-390. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1267538>
- Stern, M., Carter, E. A., y Walker, W. A. (1986). Food proteins and gut mucosal barrier - IV. Effects of acute and chronic ethanol administration on handling and uptake of bovine serum albumin by rat small intestine. *Digestive Diseases and Sciences*, 31(11), 1242-1248. <https://doi.org/10.1007/BF01296527>
- Stewart, C. A., Laugier-Anfossi, F., Vély, F., Saulquin, X., Riedmuller, J., Tisserant, A., ... Vivier, E. (2005). Recognition of peptide-MHC class I complexes by activating killer immunoglobulin-like receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(37), 13224-13229. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503594102>
- Stickel, F., Datz, C., Hampe, J., y Bataller, R. (2017, marzo 1). Pathophysiology and management of alcoholic liver disease: Update 2016. *Gut and Liver*, Vol. 11, pp. 173-188. <https://doi.org/10.5009/gnl16477>
- Sugimoto, T., Yamashita, S., Ishigami, M., Sakai, N., Hirano, K. I., Tahara, M., ... Matsuzawa, Y. (2002). Decreased microsomal triglyceride transfer protein activity

- contributes to initiation of alcoholic liver steatosis in rats. *Journal of Hepatology*, 36(2), 157-162. [https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(01\)00263-X](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(01)00263-X)
- Suk, K. T., Kim, M. Y., y Baik, S. K. (2014, septiembre 28). Alcoholic liver disease: Treatment. *World Journal of Gastroenterology*, Vol. 20, pp. 12934-12944. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i36.12934>
- Sun, H. S., Liu, D. X., Bai, Y. Y., y Hu, N. W. (2019). Disease-association of different killer cell immunoglobulin-like receptors (KIR) and HLA-C gene combinations in reactive arthritis. *Modern Rheumatology*, 29(3), 531-537. <https://doi.org/10.1080/14397595.2018.1483292>
- Szabo, G. (1998). Monocytes, Alcohol Use, and Altered Immunity. *Alcoholism: Clinical y Experimental Research*, 22(Supplement 1), 216. <https://doi.org/10.1097/00000374-199805001-00002>
- Szabo, G., y Momen-Heravi, F. (2017, agosto 1). Extracellular vesicles in liver disease and potential as biomarkers and therapeutic targets. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, Vol. 14, pp. 455-466. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.71>
- Taimr, P., Higuchi, H., Kocova, E., Rippe, R. A., Friedman, S., y Gores, G. J. (2003). Activated stellate cells express the TRAIL receptor-2/death receptor-5 and undergo TRAIL-mediated apoptosis. *Hepatology*, 37(1), 87-95. <https://doi.org/10.1053/jhep.2003.50002>
- Tanaka, F., Shiratori, Y., Yokosuka, O., Imazeki, F., Tsukada, Y., y Omata, M. (1996). High incidence of ADH2*1/ALDH2*1 genes among Japanese alcohol dependents and patients with alcoholic liver disease. *Hepatology*, 23(2), 234-239. <https://doi.org/10.1002/hep.510230206>
- Tang, Y., Banan, A., Forsyth, C. B., Fields, J. Z., Lau, C. K., Zhang, L. J., y Keshavarzian, A. (2008). Effect of Alcohol on miR-212 Expression in Intestinal Epithelial Cells and Its Potential Role in Alcoholic Liver Disease. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 32(2), 355-364. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00584.x>
- Tapia, A. A. (2013). *Estudio del perfil inflamatorio de macrófagos peritoneales de pacientes con cirrosis y ascitis . Posibles dianas.*

- Taurog, J. D. (2010). The role of HLA-B27 in spondyloarthritis. *Journal of Rheumatology*, 37(12), 2606-2616. <https://doi.org/10.3899/jrheum.100889>
- Thakur, V. (2006). Chronic ethanol feeding increases activation of NADPH oxidase by lipopolysaccharide in rat Kupffer cells: role of increased reactive oxygen in LPS-stimulated ERK1/2 activation and TNF- production. *Journal of Leukocyte Biology*, 79(6), 1348-1356. <https://doi.org/10.1189/jlb.1005613>
- Thananchai, H., Gillespie, G., Martin, M. P., Bashirova, A., Yawata, N., Yawata, M., ... Rowland-Jones, S. (2007). Cutting Edge: Allele-Specific and Peptide-Dependent Interactions between KIR3DL1 and HLA-A and HLA-B. *The Journal of Immunology*, 178(1), 33-37. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.1.33>
- The Allele Frequency Net Database - Allele, haplotype and genotype frequencies in Worldwide Populations. (s. f.). Recuperado 18 de septiembre de 2021, de <http://www.allelefreqencies.net/>
- Thiele, G., Duryee, M., Willis, M., Sorrell, M., Freeman, T., Tuma, D., y Klassen, L. (2004). Malondialdehyde-acetaldehyde (MAA) modified proteins induce pro-inflammatory and pro-fibrotic responses by liver endothelial cells. *Comparative Hepatology*, 3(1), 1-4. <https://doi.org/10.1186/1476-5926-2-S1-S25>
- Thiele, G. M., Freeman, T. L., y Klassen, L. W. (2004, agosto). Immunologic mechanisms of alcoholic liver injury. *Seminars in Liver Disease*, Vol. 24, pp. 273-287. <https://doi.org/10.1055/s-2004-832940>
- Thiruchelvam-Kyle, L., Hoelsbrekken, S. E., Saether, P. C., Bjørnsen, E. G., Pende, D., Fossum, S., ... Dissen, E. (2017). The Activating Human NK Cell Receptor KIR2DS2 Recognizes a β 2 -Microglobulin-Independent Ligand on Cancer Cells . *The Journal of Immunology*, 198(7), 2556-2567. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600930>
- Thomasson, H. R., Edenberg, H. J., Crabb, D. W., Mai, X.-L., Jerome, R. E., Li, T.-K., ... Yint, S.-J. (1991). Alcohol and Aldehyde Dehydrogenase Genotypes and Alcoholism in Chinese Men. En *Am. J. Hum. Genet* (Vol. 48). Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1682953/pdf/ajhg00088-0039.pdf>
- Tian, C., Stokowski, R. P., Kershenovich, D., Ballinger, D. G., y Hinds, D. A. (2010). Variant in PNPLA3 is associated with alcoholic liver disease. *Nature Genetics*, 42(1), 21-23. <https://doi.org/10.1038/ng.488>

- Torkar, M., Norgate, Z., Colonna, M., Trowsdale, J., y Wilson, M. (1998). Isotypic variation of novel immunoglobulin-like transcript/killer cell inhibitory receptor loci in the leukocyte receptor complex. *European journal of immunology*, 28(12). [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4141\(199812\)28:12<3959::AID-IMMU3959>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4141(199812)28:12<3959::AID-IMMU3959>3.0.CO;2-2)
- Torres-garcía, D., Barquera, R., y Zúñiga, J. (2008). Receptores de células NK (KIR): Estructura, función y relevancia en la susceptibilidad de enfermedades. En *REV INST NAL ENF RESP MEX* (Vol. 21). Recuperado de www.iner.gob.mx57www.medigraphic.com
- Tsochatzis, E. A., Bosch, J., y Burroughs, A. K. (2014). Liver cirrhosis. *The Lancet*, 383(9930), 1749-1761. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60121-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60121-5)
- Tsukamoto, H. (1999). Cytokine Regulation of Hepatic Stellate Cells in Liver Fibrosis. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 23(5), 911-916. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1999.tb04202.x>
- Uhrberg, M., Valiante, N. M., Shum, B. P., Shilling, H. G., Lienert-Weidenbach, K., Corliss, B., ... Parham, P. (1997). Human diversity in killer cell inhibitory receptor genes. *Immunity*, 7(6), 753-763. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80394-5](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80394-5)
- Umemura, T., Joshita, S., Saito, H., Wakabayashi, S. I., Kobayashi, H., Yamashita, Y., ... Ota, M. (2021). Investigation of the effect of kir-hla pairs on hepatocellular carcinoma in hepatitis c virus cirrhotic patients. *Cancers*, 13(13). <https://doi.org/10.3390/CANCERS13133267>
- Ursu, L., Calenic, B., Diculescu, M., Dima, A., y Constantinescu, I. (2020). HLA Alleles and KIR Genes in Romanian Patients with Chronic Hepatitis C. *Journal of gastrointestinal and liver diseases: JGLD*, 29(4), 595-601. <https://doi.org/10.15403/JGLD-2546>
- Urtasun, R., y Nieto, N. (2007). Hepatic stellate cells and oxidative stress. *Revista española de Enfermedades Digestivas*, 99. Recuperado de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082007000400007
- Valencia, J.L., González, M.J., y Galán, I. (2014). Aspectos metodológicos en la medición del consumo de alcohol: la importancia de los patrones de consumo. *Revista Española de Salud Pública*, 88(4), 433-446. <https://doi.org/10.4321/S1135->

57272014000400002

- Van den Elsen, P. J. (2011). Expression Regulation of Major Histocompatibility Complex Class I and Class II Encoding Genes. *Frontiers in Immunology*, 0(OCT), 48. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2011.00048>
- Van Den Elsen, P. J., Holling, T. M., Kuipers, H. F., y Van Der Stoep, N. (2004). Transcriptional regulation of antigen presentation. *Current Opinion in Immunology*, 16(1), 67-75. <https://doi.org/10.1016/J.COI.2003.11.015>
- Varbanova, V., Popov, G., Grigorova, V., Petrova, D., Naumova, E., y Mihaylova, A. (2020). KIR/HLA ligands immunogenetics markers associated with outcome of hepatitis B virus infection in the Bulgarian population. *Biomedical Papers*. <https://doi.org/10.5507/BP.2020.043>
- Vasanthi, Hannah, R., Royapuram P. Parameswari, Joel deLeiris, y Dipak K. Das. (2012). Health benefits of wine and alcohol from neuroprotection to heart health. *Frontiers in Bioscience*, E4(1), 1505. <https://doi.org/10.2741/476>
- Vidal-Castiñeira, J. R., López-Vázquez, A., Martínez-Borra, J., Martínez-Cambor, P., Prieto, J., López-Rodríguez, R., ... López-Larrea, C. (2014). Diversity of Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptor (KIR) Genotypes and KIR2DL2/3 Variants in HCV Treatment Outcome. *PLoS ONE*, 9(6), 99426. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0099426>
- Vilches, C., Pando, M. J., y Parham, P. (2000). Genes encoding human killer-cell Ig-like receptors with D1 and D2 extracellular domains all contain untranslated pseudoexons encoding a third Ig-like domain. *Immunogenetics*, 51(8-9), 639-646. <https://doi.org/10.1007/s002510000184>
- Vilches, C., y Parham, P. (2002). K IR : Diverse, Rapidly Evolving Receptors of Innate and Adaptive Immunity . *Annual Review of Immunology*, 20(1), 217-251. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.20.092501.134942>
- Vilches, C., Rajalingam, R., Uhrberg, M., Gardiner, C. M., Young, N. T., y Parham, P. (2000). KIR2DL5, a Novel Killer-Cell Receptor with a D0-D2 Configuration of Ig-Like Domains. *The Journal of Immunology*, 164(11), 5797-5804. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.11.5797>
- Vinay Kumar, A. K., y Abbas, J. C. A. (2015). *Patología estructural y funcional*

- (Elsevier). Recuperado de <https://www.elsevier.com/books/robbins-y-cotran-patologia-estructural-yfuncional/kumar/978-84-9022-878-4>
- Waltenbaugh, C., Vasquez, K., y Peterson, J. D. (1998). Alcohol Consumption Alters Antigen-Specific Th1 Responses. *Alcoholism: Clinical y Experimental Research*, 22(Supplement 1), 220. <https://doi.org/10.1097/00000374-199805001-00003>
- Watson, Ronald R., Borgs, P., Witte, M., Mccuskey, R. S., Lantz, C., Johnson, M. I., ... Earnest, D. L. (1994, marzo 1). Alcohol, immunomodulation, and disease. *Alcohol and Alcoholism*, Vol. 29, pp. 131-139. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.alcalc.a045499>
- Watson, Ronald Ross, Jackson, J. C., Hartmann, B., Sampliner, R., Mobtey, D., y Eskelson, C. (1985). Cellular Immune Functions, Endorphins, and Alcohol Consumption in Males. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 9(3), 248-254. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1985.tb05745.x>
- Watzl, C., Peterson, M., y Long, E. O. (2000). Homogenous expression of killer cell immunoglobulin-like receptors (KIR) on polyclonal natural killer cells detected by a monoclonal antibody to KIR2D. *Tissue Antigens*, 56(3), 240-247. <https://doi.org/10.1034/j.1399-0039.2000.560306.x>
- Wheeler, M. D., y Thurman, R. G. (2003). Up-regulation of CD14 in liver caused by acute ethanol involves oxidant-dependent AP-1 pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 278(10), 8435-8441. <https://doi.org/10.1074/jbc.M212076200>
- Wiest, R., Lawson, M., y Geuking, M. (2014). Pathological bacterial translocation in liver cirrhosis. *Journal of Hepatology*, 60(1), 197-209. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.07.044>
- Wilson, M. J., Torkar, M., y Trowsdale, J. (1997). Genomic organization of a human killer cell inhibitory receptor gene. *Tissue Antigens*, 49(6), 574-579. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.1997.tb02804.x>
- Wilson, Michael J., Torkar, M., Haude, A., Milne, S., Jones, T., Sheer, D., ... Trowsdale, J. (2000). Plasticity in the organization and sequences of human KIR/ILT gene families. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(9), 4778-4783. <https://doi.org/10.1073/pnas.080588597>

- Winter, C C, y Long, E. O. (1997). A single amino acid in the p58 killer cell inhibitory receptor controls the ability of natural killer cells to discriminate between the two groups of HLA-C allotypes. *The Journal of Immunology*, 158(9).
- Winter, Christine C, Gumperz, J. E., Parham, P., Long, E. O., y Wagtmann, N. (1998). Direct Binding and Functional Transfer of NK Cell Inhibitory Receptors Reveal Novel Patterns of HLA-C Allotype Recognition. *The Journal of Immunology*, 571-577. Recuperado de <http://www.jimmunol.org/content/161/2/571>
- World health organization. (1994). *Lexicon of alcohol and drug terms*. Recuperado de https://www.who.int/substance_abuse/terminology/lexicon_alcohol_drugs_spanish.pdf
- World health organization. (2018). *Global status report on alcohol and health 2018*. Recuperado de <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274603/9789241565639-eng.pdf>
- Yee, C., Riddell, S. R., y Greenberg, P. D. (1997). Prospects for adoptive T cell therapy. *Current Opinion in Immunology*, 9(5), 702-708. [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(97\)80052-0](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(97)80052-0)
- You, M., y Crabb, D. W. (2004, julio). Recent advances in alcoholic liver disease - II. Minireview: Molecular mechanisms of alcoholic fatty liver. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, Vol. 287. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00056.2004>
- You, M., Fischer, M., Deeg, M. A., y Crabb, D. W. (2002). Ethanol induces fatty acid synthesis pathways by activation of sterol regulatory element-binding protein (SREBP). *The Journal of biological chemistry*, 277(32), 29342-29347. <https://doi.org/10.1074/jbc.M202411200>
- You, M., Matsumoto, M., Pacold, C. M., Cho, W. K., y Crabb, D. W. (2004). The role of AMP-activated protein kinase in the action of ethanol in the liver. *Gastroenterology*, 127(6), 1798-1808. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.09.049>
- Zaieg, R. A., Maldonado, J., Rodríguez, B., Quaglia, M., y Tarán, M. (2019). Características clínicas de los pacientes con cirrosis internados en el servicio de clínica médica. *revista argentina de medicina*, 7(1), 19-25. Recuperado de <http://revistasam.com.ar/revistasam.com.ar/index.php/RAM/article/view/261>

- Zhang, Y., Guo, T., Yang, F., Mao, Y., Li, L., Liu, C., ... Huang, J. (2018, septiembre 1). Single-nucleotide rs738409 polymorphisms in the PNPLA3 gene are strongly associated with alcoholic liver disease in Han Chinese males. *Hepatology International*, Vol. 12, pp. 429-437. <https://doi.org/10.1007/s12072-018-9889-3>
- Zhao, D., Zhang, G., Wang, M., Zhang, C., y Li, J. (2019). Portal pressure gradient and serum albumin: A simple combined parameter associated with the appearance of ascites in decompensated cirrhosis treated with transjugular intrahepatic portosystemic shunt. *Clinical and Molecular Hepatology*, 25(2), 210-217. <https://doi.org/10.3350/cmh.2018.0083>
- Zhao, N., Guo, F. F., Xie, K. Q., y Zeng, T. (2018, septiembre 1). Targeting Nrf-2 is a promising intervention approach for the prevention of ethanol-induced liver disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*, Vol. 75, pp. 3143-3157. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2852-6>
- Zhao, X.-J., Dong, Q., Bindas, J., Piganelli, J. D., Magill, A., Reiser, J., y Kolls, J. K. (2008). TRIF and IRF-3 Binding to the TNF Promoter Results in Macrophage TNF Dysregulation and Steatosis Induced by Chronic Ethanol. *The Journal of Immunology*, 181(5), 3049-3056. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.5.3049>
- Zhou, Z., Sun, X., y Kang, Y. J. (2001). Ethanol-induced apoptosis in mouse liver: Fas- and cytochrome c-mediated caspase-3 activation pathway. *American Journal of Pathology*, 159(1), 329-338. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)61699-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)61699-9)
- Zhu, L., Wang, L., Wang, X., Luo, X., Yang, L., Zhang, R., ... Chen, Y. (2011). Hepatic Deletion of Smad7 in Mouse Leads to Spontaneous Liver Dysfunction and Aggravates Alcoholic Liver Injury. *PLoS ONE*, 6(2), e17415. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017415>

