

UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA



**“RELACIÓN ENTRE MARCADORES SOLUBLES
DE ACTIVACIÓN DE LA INMUNIDAD
CELULAR Y RECAMBIO ÓSEO EN PACIENTES
CIRRÓTICOS.”**

TESIS DOCTORAL

PEDRO LUIS GARCÍA SAURA

GRANADA, 2003

Agradecimientos:

- *A mis Directores de Tesis los Doctores **Jorge González Calvín, Antonio Díez Ruiz y Pablo García Ruiz**, por su labor de apoyo, tutelaje y comprensión, gracias a la cual he podido ver plasmado en una realidad este sueño. Especialmente a **Pablo** mi gran amigo, porque supo separar la amistad del trabajo, y cuando flaqueé no dudó en presionarme para sacar adelante este proyecto.*
- *A **mis padres** por su tesón y paciencia para hacerme comprender la importancia relativa de las cosas, y las cosas que realmente son importantes.*
- *A la **Fundación Hospital Clínico**, por su ayuda.*
- *A los **compañeros del Complejo Hospitalario de Jaén**, en especial a **Gabi Castilla**, mi pareja de guardia, pues gracias a su sacrificio dispuse de un tiempo precioso para finalizar mi labor.*
- *A **Cristina** mi mujer, amorosa pero firme, mi conciencia y mi soporte; contigo pagué alguna frustración y disgusto, pero sabes que sin ti y sin tu apoyo y comprensión no lo habría conseguido. No lo habríamos logrado.*
- *A **Manolo y a Cristina** que en la sombra cuidaron con todo su amor de Pedro y Alejandro, permitiendo con su esfuerzo que me centrara más en este proyecto.*
- *A **Pedrito y Alejandro**, nuestros bebés, habéis logrado que mi vida sea plena. Conseguís que por muy duro que sea el trabajo, por muchos temores que tengamos a la vida o por muchas incertidumbres que nos planteen el futuro, vivir sea una delicia. Sentir vuestro amor y afecto, es lo mejor que puedo desear.*

“No basta dar pasos que un día pueden conducir hasta la meta, sino que cada paso ha de ser una meta, sin dejar de ser un paso.”

ÍNDICE

I.	ÍNDICE	Pág 5
II.	INTRODUCCIÓN	Pág 8
	a. CIRROSIS HEPÁTICA	Pág 9
	<i>i. DEFINICIÓN</i>	<i>Pág 9</i>
	<i>ii. CLASIFICACIÓN ETIOPATOGENICA</i>	<i>Pág 9</i>
	<i>iii. ETIOLOGÍA</i>	<i>Pág 10</i>
	1) CIRROSIS ALCOHÓLICA	<i>Pág 12</i>
	<i>iv. CLÍNICA</i>	<i>Pág 16</i>
	<i>v. DIAGNÓSTICO</i>	<i>Pág 18</i>
	<i>vi. VALORACIÓN PRONÓSTICA DE LA CIRROSIS HEPÁTICA</i>	<i>Pág 20</i>
	b. METABOLISMO MINERAL ÓSEO	Pág 23
	<i>i. ESTRUCTURA ÓSEA</i>	<i>Pág 23</i>
	<i>ii. FORMACIÓN Y RESORCIÓN ÓSEA</i>	<i>Pág 24</i>
	<i>iii. METABOLISMO MINERAL</i>	<i>Pág 28</i>
	<i>iv. MARCADORES BIOQUÍMICOS DE RECAMBIO ÓSEO</i>	<i>Pág 33</i>
	<i>v. MASA ÓSEA. OSTEOPOROSIS</i>	<i>Pág 38</i>
	<i>vi. ALTERACIONES OSEAS EN LA CIRROSIS HEPÁTICA</i>	<i>Pág 44</i>
	c. EL SISTEMA INMUNE	Pág 48
	<i>i. INTRODUCCIÓN</i>	<i>Pág 48</i>
	<i>ii. COOPERACIÓN CELULAR EN LA RESPUESTA INMUNE</i>	<i>Pág 50</i>

iii.	CITOKINAS	Pág 55
iv.	NEOPTERINA	Pág 63
v.	ALTERACIONES DEL SISTEMA INMUNE EN LA CIRROSIS	Pág 64
vi.	ALTERACIONES INMUNOLÓGICAS EN LA OSTEOPOROSIS	Pág 70
III.	OBJETIVOS	Pág 74
IV.	PACIENTES Y MÉTODOS	Pág 76
a.	PACIENTES	Pág 76
i.	CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	Pág 76
b.	MÉTODOS	Pág 78
i.	PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE MUESTRAS Y PARÁMETROS DETERMINADOS	Pág 81
ii.	DENSITOMETRÍA ÓSEA	Pág 88
iii.	MÉTODOS ESTADÍSTICOS	Pág 90
V.	RESULTADOS	Pág 94
a.	ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS VARIABLES OBJETO DE ESTUDIO	Pág 94
b.	TEST DE BONDAD DE AJUSTE A UNA DISTRIBUCIÓN NORMAL DE CADA UNA DE LAS VARIABLES CUANTITATIVAS OBJETO DE ESTUDIO EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE COMPARACIÓN	Pág 94
c.	TEST DE COMPARACIÓN DE MEDIAS ENTRE LOS GRUPOS DE CATEGORIZACIÓN	Pág 94
d.	MATRIZ DE CORRELACIÓN	Pág 102

VI. TABLAS	Pág 109
VII. GRÁFICOS	Pág 165
VIII. DISCUSIÓN	Pág 181
IX. CONCLUSIONES	Pág 195
X. BIBLIOGRAFÍA	Pág 197

INTRODUCCIÓN

II. INTRODUCCIÓN

a. CIRROSIS HEPÁTICA

i. DEFINICIÓN

La cirrosis hepática es un proceso que afecta de forma difusa al hígado y cuyo diagnóstico fundamentalmente anatomopatológico, se acompaña de un espectro de manifestaciones clínicas características. Los hallazgos anatomopatológicos muestran un daño crónico e irreversible del parénquima hepático y se caracterizan por la aparición, al mismo tiempo, de fibrosis unido a una transformación de la normal arquitectura hepática, que se ve sustituida por nódulos de regeneración. (Anthony y cols, 1977) (Hillaire y Boitot, 1999) (Ampurdanés, 2000)

ii. CLASIFICACIÓN ETIOPATOGENICA

Aunque la cirrosis es un concepto anatomopatológico, resulta muy difícil establecer un diagnóstico etiológico utilizando los datos que nos proporcionan la biopsia hepática puesto que en la mayoría de las ocasiones en que se desarrolla una cirrosis estos hallazgos no suelen ser específicos de ningún agente causal.

Para aproximarnos al diagnóstico etiológico deberemos tener en cuenta factores epidemiológicos, clínicos, bioquímicos, inmunológicos e histológicos.

Si atendemos a criterios morfológicos (Erlinger y Benhamou, 1991), podemos clasificar a la cirrosis hepática (CH) como:

CH Micronodular: nódulos menores de 3 mm de diámetro que dan una apariencia granular a la superficie hepática.

CH Macronodular: nódulos mayores de 3 mm de diámetro separados por bandas fibrosas que dan un aspecto irregular a la superficie del hígado.

CH Mixta: en ella coexisten nódulos de diversos tamaños.

La cirrosis es el resultado final de una necrosis hepatocelular iniciada por un proceso inflamatorio. Hay una activación de las células hepáticas estrelladas a través de factores liberados por los hepatocitos y las células de Kupffer. Dichas células estrelladas asumen una conformación de tipo miofibroblasto, y con la influencia de citoquinas como el factor de crecimiento transformador β , (TGF- β), producen colágeno de tipo I formador de fibrillas. Dicho colágeno se deposita alrededor de los hepatocitos y en las membranas de los sinusoides hepáticos provocando profundas alteraciones en la función del hepatocito y en el flujo sanguíneo hepático. (Achord, 1989). Generalmente al inicio de la enfermedad se observa con más frecuencia un patrón micronodular; conforme esta progresa suelen aparecer nódulos mayores, siendo bastante elevado el porcentaje de cirrosis mixtas. (Fauerholdt y cols, 1983).

iii. ETIOLOGÍA

Hay múltiples causas que pueden producir una cirrosis hepática, podríamos establecer diferentes grupos dentro de estas (Bataller, 1996). (Ampurdanés, 2000)

1) ALCOHOL

2) VIRUS DE LA HEPATITIS CRÓNICA

- Hepatitis B.
- Hepatitis C.
- Hepatitis D.
- Otros virus hepatotropos.

3) ENFERMEDADES BILIARES

- PRIMARIA.
 - Cirrosis biliar primaria

- Colangitis esclerosante primaria
- Atresia de vías biliares

- SECUNDARIA

- Litiasis biliar
- Carcinoma de vías biliares
- Otras estenosis de vías biliares

4) TRASTORNOS METABÓLICOS

- Hemocromatosis.
- Enfermedad de Wilson.
- Déficit de α -1 antitripsina.
- Enfermedades por depósito de glucógeno.
- Fibrosis quística
- Galactosemia.
- Tirosinemia hereditaria.
- Intolerancia hereditaria a la fructosa.
- Abetalipoproteinemia
- Protoporfiria eritropoyética
- Porfiria hepatocutanea tarda
- Enfermedad de Byler
- Telangiectasia hemorrágica hereditaria.

5) CAUSAS VASCULARES

- Enfermedad venooclusiva
- Síndrome de Budd-Chiari
- Obstrucción de la vena cava inferior
- Insuficiencia cardíaca
- Pericarditis constrictiva

6) FÁRMACOS Y TOXINAS

- Alcohol (clasificado como causa aparte)
- Metotrexate
- Amiodarona
- Micotoxinas

7) HEPATITIS AUTOINMUNE

8) CIRROSIS HEPÁTICA CRIPTOGENÉTICA

9) MISCELANEA

- Sarcoidosis
- Esquistosomiasis
- By-pass intestinal
- Sífilis
- Malnutrición
- Esteatohepatitis no alcohólica
- Cirrosis infantil de la India

En nuestro medio las causas más frecuentes de CH son las derivadas del consumo crónico de alcohol (60 % de los casos) (Planas y Quer, 1992) (Hillaire y Voitot, 1999), y las de etiología viral crónica, dentro de las cuales destaca la producida por virus C (Sánchez-Tapias y cols, 1990) (Hillaire y Voitot, 1999).

CIRROSIS ALCOHÓLICA.

El alcohol es el responsable de aproximadamente un 60 % de los casos de cirrosis hepática en el mundo occidental, es pues su causa más frecuente. (Planas y Quer. 1992)

Las lesiones anatomopatológicas que el alcohol puede inducir a nivel hepático, varían desde la esteatosis macro o microvesicular, fibrosis centrolobulillar, hepatitis alcohólica y finalmente cirrosis hepática.

La duración y cantidad en el consumo alcohólico influyen de manera notable en el desarrollo de la cirrosis alcohólica (Pequignot 1978), habiéndose estimado el consumo de alcohol medio para desarrollar una cirrosis en

aproximadamente 100 gramos/día tomados regularmente durante 25 años. (Lelbach 1975). También se han asociado al desarrollo de esta patología otros factores como nutricionales, genéticos, inmunológicos e infecciosos. (Lieber 1994)

De los **factores genéticos** que pueden ser responsables de una distinta susceptibilidad individual, el más importante es el **sexo**. Se ha observado que las mujeres desarrollan lesiones hepáticas más graves con un menor consumo de alcohol, tanto en cantidad como en duración, que los hombres. Así, la ingesta habitual de 20 gramos de alcohol al día en mujeres produce un incremento significativo en la incidencia de cirrosis, frente a los 40-60 gramos de alcohol necesarios para producir dicho incremento en los varones. (Pequignot 1978) También hay evidencias de que la progresión hacia lesiones hepáticas más severas está acelerada en las mujeres. (Morgan 1977, Nakamura 1979) Pudiera deberse a que las mujeres debido a su menor contenido corporal de agua, poseen menor volumen de distribución para el alcohol, así como menor actividad de la enzima alcohol deshidrogenasa gástrica (responsable del metabolismo de primer paso) lo que produce pues una mayor biodisponibilidad. (Zorzano 1990, Frezza 1990)

Aunque diversos estudios han relacionado la presencia de determinados antígenos HLA con la enfermedad hepática alcohólica, como el HLA-Bw40 (Gludd 1980), o el HLA-B8 (Saunders 1982), la influencia de los **antígenos del sistema HLA** en el desarrollo de una hepatopatía alcohólica no ha podido ser establecida de forma definitiva. (List 1994)

También se ha investigado la prevalencia de las distintas **isoenzimas de la alcohol deshidrogenasa**, encontrándose diferentes niveles de ADH3 en pacientes con lesiones hepáticas relacionadas con el alcohol, incluyendo cirrosis, en comparación con individuos controles, lo que sugiere diferencias genéticamente determinadas que aumentan la susceptibilidad a las enfermedades relacionadas con el alcohol (Day 1991), este hecho se cuestiona por diversos autores que consideran que sería la distinta actividad de dichas enzimas una consecuencia de la enfermedad hepática y no una causa. (Parés 1994, Panés 1989)

En los alcohólicos crónicos son frecuentes las **deficiencias nutricionales**, debido a una dieta inadecuada y por la acción del alcohol que altera la absorción y metabolismo de principios inmediatos, vitaminas y oligoelementos que podrían

contribuir al desarrollo de diversas lesiones hepáticas. (Tsukamoto 1985, Caballeria 1991) Sin embargo, algunos estudios recientes dudan del papel que los déficit nutricionales jueguen en la patogénesis de la enfermedad hepática alcohólica. (Sarin 1997)

Respecto a las alteraciones de la **inmunidad humoral y celular** evidenciadas en pacientes alcohólicos con hepatopatía, no está aún bien establecido si son la consecuencia o la causa de las lesiones hepáticas. (Klanssen 1995) Sí se ha encontrado, en los alcohólicos crónicos, una mayor prevalencia de anticuerpos frente al **virus C**, asociada a la magnitud de la lesión hepática, lo que sugeriría la contribución del virus C al desarrollo de lesiones hepáticas en pacientes alcohólicos. (Grellier 1997, Rosman 1993, Parés 1990) Así como una mayor prevalencia de marcadores de infección por el virus de la **hepatitis B** en pacientes alcohólicos, lo que pudiera contribuir a la progresión de la enfermedad inducida por el alcohol (Villanueva 1991).

PATOGENIA DE LA ENFERMEDAD HEPÁTICA ALCÓHOLICA.

La **absorción** del alcohol se produce a nivel gástrico y de intestino delgado, siendo metabolizado en el hígado en un 90 % y el resto eliminado a través de la vía renal y pulmonar.

En el hepatocito el alcohol va a sufrir dos procesos oxidativos: (Caballería 1996) El primero es la oxidación de etanol a acetaldehído, que puede tener lugar a través de tres vías localizadas en diferentes compartimentos subcelulares: Cuantitativamente la más importante es la catalizada por la **alcohol deshidrogenasa citosólica**, actuando como cofactor el nicotin adenin dinucleotido (NAD) que se convierte en su forma reducida (NADH). En menor proporción el etanol también es oxidado por el **sistema oxidativo microsomal para el etanol** (MEOS) localizado en el retículo endoplásmico y por las **catalasas** localizadas en los peroxisomas. El segundo proceso oxidativo es la transformación del acetaldehído en acetato (que se incorporará al ciclo de Krebs), a través de la enzima **acetaldehído deshidrogenasa**. En esta reacción también actúa como cofactor el NAD.

Al desequilibrio oxidoreductor resultante del incremento en la relación NADH/NAD se le responsabiliza de diversos trastornos del metabolismo, incluyendo hiperlactacidemia que contribuye a la acidosis y reduce la capacidad del riñón para excretar ácido úrico, produciendo secundariamente hiperuricemia. (Faller 1982) El aumento de NADH bloquea la gluconeogénesis hepática. También el desequilibrio redox provoca un incremento de las concentraciones de α -glicerofosfato por aumento de su producción, e inhibe la oxidación de los ácidos grasos, produciéndose un aumento de la lipogénesis, dando lugar a un acúmulo de triglicéridos, que explican la esteatosis. (Lieber 1997)

El **acetaldehído** es el primer producto de la oxidación del etanol por las tres vías referidas y se comporta como un metabolito tóxico debido a su gran capacidad para reaccionar con los grupos tiol y amino de las proteínas (Nomura 1981), alterando sus funciones biológicas mediante la interferencia en la actividad de diversas enzimas (Solomon 1987), la reparación de nucleoproteínas (Espina 1988), y la modificación de la arquitectura celular por alteración de las proteínas del citoesqueleto. El acetaldehído también promueve una peroxidación lipídica a través de la interacción con la cisteína, el glutatión, la vitamina E y el hierro. (Shaw 1983, Tanner 1986, Lieber 1997)

En definitiva, los mecanismos por los cuales el alcohol es capaz de conducir a la aparición de una cirrosis hepática no son conocidos en su totalidad pero existen evidencias de que su efecto tóxico per se, junto con el de sus metabolitos, ejercen una acción fibrogenética que da lugar a una estimulación de las células estrelladas hepáticas, que serían las últimas responsables de la fibrogénesis hepática.

iv. CLÍNICA

Desde un punto de vista clínico podemos describir a las cirrosis como compensadas o descompensadas según existan o no manifestaciones clínicas que se traduzcan en una alteración del funcionalismo hepático (Díaz y cols, 1994) (Benhamou y Erlinger, 1995) (Trinchet, 1996). Aproximadamente entre el 30 y el 40% de los casos de cirrosis hepática se descubren en pacientes completamente asintomáticos. Los primeros síntomas suelen ser bastante inespecíficos. (Ampurdanés, 2000). Con mucha frecuencia se llega al diagnóstico cuando aparecen alteraciones analíticas que sugieran hipertensión portal o insuficiencia hepática (leuco y trombopenia, hipergammaglobulinemia o alteraciones de la coagulación), algunos estigmas durante la exploración física (hepato-esplenomegalia, arañas vasculares...) o gracias a diferentes pruebas complementarias (varices esofágicas, alteraciones ecográficas típicas en hígado...)

Aunque los signos y síntomas que acompañan a la cirrosis hepática son muy variados, no todos aparecen siempre y de estos, ninguno tiene valor patognomónico.

a. MANIFESTACIONES GENERALES

Pueden no existir en determinadas fases de la enfermedad. La manifestación más frecuente es la **anorexia**, que suele acompañarse de pérdida de masa muscular, de pániculo adiposo y de **signos de malnutrición**.

La **fatigabilidad y la astenia** son síntomas bastante constantes y precoces, aunque inespecíficos.

Aunque frecuentemente suele existir un **adelgazamiento progresivo**, puede haber retención de líquidos que lo encubran.

El **fétor hepático** derivado de la exhalación de metilmercaptan, por defecto en la metilación de la metionina, es un signo frecuente en estadios avanzados.

b. MANIFESTACIONES DERMATOLÓGICAS

Son muy frecuentes, sobre todo en varones, aunque ninguna de ellas, como anteriormente señalamos, se considera patognomónica de la enfermedad.

La **piel** suele estar **áspera, seca y rugosa**.

Hay **arañas vasculares**, pequeñas dilataciones arteriolas centrales de la que parten pequeños capilares que se distribuyen exclusivamente en el territorio de la vena cava superior.

Las **telangiectasias** son dilataciones vasculares cutáneas, finas pero sin arteriola central; son menos específicas de la enfermedad.

El **eritema palmar** consiste en un enrojecimiento de las eminencias ténar e hipoténar atribuido, al igual que las arañas vasculares, al hiperestrogenismo asociado a la cirrosis, por un déficit en la depuración hepática.

También hay **alteraciones ungueales** como fragilidad, deformidad en vidrio de reloj o acropaquias.

Otro signo cutáneo frecuente es la **retracción palmar** de Dupuytren.

c. MANIFESTACIONES DIGESTIVAS

En relación probable a un aumento en la producción de bilirrubina debido al hiperesplenismo y a la hemólisis, suelen aparecer episodios de **Colelitiasis**.

Vómitos y diarrea son frecuentes en la cirrosis alcohólica.

Hay una mayor incidencia de **úlcera péptica** en cirróticos que en la población general, aunque se desconocen sus causas.

También hay **hepatoesplenomegalia**.

d. MANIFESTACIONES NEUROLÓGICAS

Por inhibición de la sustancia reticular ascendente, puede padecerse **asterixis** o flapping tremor. También **mioclonias** y **alteraciones** del estado de **conciencia**, **atención** o **memoria** relacionados con una encefalopatía hepática.

e. MANIFESTACIONES HEMATOLÓGICAS

Trombopenia, por la esplenomegalia.

Alteraciones de la **hemostasia** por disminución de los factores de la coagulación sintetizados en el hígado.

Anemia de origen multifactorial.

Síndrome de Zieve (infiltración grasa del hígado junto a anemia hemolítica e hiperlipemia)

f. MANIFESTACIONES METABÓLICAS Y
ENDOCRINAS

Ginecomastia y cambios en la distribución del vello sexual secundario.

Hipogonadismo con atrofia testicular, impotencia, infertilidad, pérdida de la libido, etc, atribuidos a un incremento en la conversión de andrógenos en estrógenos en los tejidos periféricos.

Trastornos en la **menstruación**. Mayor incidencia de **abortos**. Aumento en la incidencia de **diabetes mellitus**.

Hiperaldosteronismo secundario por descenso del volumen circulante efectivo que estimula el sistema renina- angiotensina.

g. OTRAS MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Hipertrofia paratiroidea, muy frecuente en la cirrosis alcohólica.

Ictericia.

h. COMPLICACIONES

Hemorragia digestiva alta por rotura de varices esofágicas, **ascitis**, **peritonitis bacteriana espontánea**, **insuficiencia renal** o **encefalopatía hepática**.

v. **DIAGNÓSTICO**

Aunque, como expondremos más adelante, generalmente el diagnóstico de cirrosis hepática se basa en hallazgos anatomopatológicos característicos, a veces podemos llegar a dicho diagnóstico gracias a la evaluación de diferentes parámetros clínicos, analíticos y a la ayuda de diversas técnicas de imagen. Así:

a. **LABORATORIO**

Anemia: es el trastorno hematológico más frecuente. Puede tener variadas causas como déficit de ácido fólico y acción tóxica directa del alcohol sobre la médula osea (anemia macrocítica), pérdidas por tubo digestivo (anemia microcítica

hipocroma), por hiperesplenismo (con trombopenia y leucopenia) o por hemólisis (anemia normocítica con reticulocitosis, aumento de bilirrubina indirecta y de LDH).

Transaminasas: suelen estar moderadamente elevadas. Su normalidad no excluye el diagnóstico. Con frecuencia sus valores no superan en 5 veces las cifras normales aunque a veces sí están francamente elevadas.

El cociente GOT / GPT > 1 en pacientes con hepatopatía crónica no alcohólica, es un indicativo de su progresión a cirrosis. Por el contrario un cociente GOT / GPT > 2 en pacientes no cirróticos será sugerente de hepatopatía alcohólica. (Ellis y cols, 1978).

Fosfatasa alcalina: está generalmente aumentada pero de forma discreta (no suele superar en tres veces los valores normales). Una elevación franca es sugerente de colestasis o transformación neoplásica.

Gammaglutamil transpeptidasa: Estará elevada en situaciones de colestasis y también será útil como marcador de alcoholismo activo cuando su elevación sea desproporcionada en relación a los niveles de transaminasas y fosfatasa alcalina.

Proteínas plasmáticas: La mayoría de éstas son sintetizadas a nivel hepático, por lo que su descenso puede poner de manifiesto una insuficiencia hepatocelular.

También suele existir una hipergammaglobulinemia, que da un patrón electroforético policlonal. Esto es consecuencia de la hiperestimulación antigénica del sistema mononuclear fagocítico, motivada por el paso a la circulación sistémica de antígenos de origen intestinal no depurados por el hígado. Además otras alteraciones inmunitarias contribuyen también a esta hipergammaglobulinemia.

La albúmina suele estar disminuida sobre todo en fases avanzadas de la enfermedad y traduce un trastorno en las funciones de síntesis del hepatocito. Contribuye a la génesis de edemas y ascitis.

Alargamiento del tiempo de protrombina y disminución de los factores de coagulación consecuencia de los trastornos de la síntesis a nivel hepático. Se alteran en fases avanzadas.

Otros datos de laboratorio útiles en el diagnóstico son: serología vírica (VHB; VHC, VHD), Hierro sérico, ferritina, saturación de la transferrina, cobre y ceruloplasmina séricos, cupruria, colesterol, etc.

b. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS.

Gammagrafía con tecnecio coloidal: el tecnecio coloidal es captado por las células de Kupffer, existiendo en los pacientes cirróticos una captación hepática irregular y un aumento de captación a nivel de médula ósea y bazo, relacionada con la existencia de anastomosis portosistémicas, que permite a la sangre portal alcanzar la circulación sistémica sin entrar en contacto con las células de Kupffer.

Ecografía abdominal: permite valorar el tamaño del hígado y del bazo, la presencia o no de ascitis, y la existencia de signos de hipertensión portal, como el aumento de diámetro en la vena porta y en la vena esplénica. Un signo ecográfico bastante específico de la cirrosis es la existencia de una relación lóbulo caudado / lóbulo derecho, mayor de 0,65. (Harbin y cols, 1980).

Endoscopia digestiva alta: Permite poner de manifiesto la presencia de alteraciones secundarias a la hipertensión portal, como las varices esofágicas y la gastropatía hipertensiva.

Biopsia hepática: es el método que permite establecer el diagnóstico de forma definitiva, aunque a veces no podrá llevarse a cabo, sobre todo en fases avanzadas de la enfermedad, por el riesgo de hemorragia derivado de la trombopenia y el descenso en la actividad de protrombina. Nos servirá además para determinar el grado de actividad histológica y la etiología. En determinadas ocasiones la biopsia hepática se realizará dirigida mediante laparoscopia o por vía transyugular.

vi. VALORACIÓN PRONÓSTICA DE LA CIRROSIS HEPÁTICA

La cirrosis hepática supone una de las principales causas de muerte en la población adulta, sobre todo en varones. (Alfonso y cols, 1989). Es muy importante conocer su historia natural y sus factores pronósticos para establecer el tipo de medidas terapéuticas.

Los factores que influyen en el pronóstico son muy variados e incluyen etiología, manifestaciones clínicas, complicaciones, alteraciones analíticas,

intensidad de las lesiones histológicas y posibilidades de tratamiento, aunque el factor que más afecta al pronóstico en un cirrótico compensado, es el riesgo de descompensación.

La probabilidad de desarrollar algún signo de descompensación de la enfermedad en un paciente estable varía entre un 40% de éstos a los 5 años del diagnóstico y un 60% a los 10 años. (Ginés y cols, 1987) (D'Amico y cols, 1986). El porcentaje de pacientes que anualmente se descompensan se estima en torno a un 10% siendo el principal motivo de ello la ascitis.

Se estima que la supervivencia a los 10 años de cirróticos compensados está sobre un 50%, descendiendo a un 20% a los 6 años si el cirrótico está descompensado. (Ginés y cols, 1987) (D'Amico y cols, 1986)

La búsqueda de variables predictivas de la evolución y supervivencia de la cirrosis hepática, es si cabe aún más importante a raíz de la aparición de los trasplantes de hígado. Valorar el pronóstico de la cirrosis es capital para decidir sobre la oportunidad o no del recambio hepático. Los primeros estudios realizados sobre factores pronósticos fueron llevados a cabo en 1964 (Child y Turkotte, 1964), con posteriores revisiones en 1973 (Campbell y cols, 1973). Estos autores establecieron un índice pronóstico mediante la valoración de cinco variables: albúmina, bilirrubina, presencia y grado de ascitis, presencia y gravedad de encefalopatía hepática y estado nutricional, que permitían clasificar a los cirróticos en tres grupos de mejor a peor pronóstico (A, B o C).

Aunque esta clasificación resultó útil como método para predecir supervivencia y aparición de complicaciones, presentaba algunos problemas; de una parte la valoración de datos subjetivos variaba según el observador y por otro lado valores de cada variable en un determinado paciente podrían pertenecer a los diferentes grupos A, B o C. Para solucionar esto se introducen unas modificaciones que permitían incluir sólo criterios objetivos (sustituyen el estado nutricional por los valores del tiempo de protrombina y aplican un sistema de puntuación de los diferentes parámetros). (Pugh y cols, 1973)

CLASIFICACIÓN DE CHILD Y PUGH

PARÁMETRO	PUNTUACIÓN		
	1	2	3
Bilirrubina total mg/dL	< 2	2-3	> 3
Albúmina g/L	> 35	30-35	< 30
Ascitis	No	<i>Fácil control</i>	Difícil control
Encefalopatía (grados)	0	I-II	III-IV
Actividad Protrombina	> 50%	30-50%	< 30%

Grupo A: 5-6 puntos. **Grupo B:** 7-9 puntos. **Grupo C:** 10-15 puntos.

Esta clasificación se ha mostrado muy útil por su simplicidad, disponibilidad y buena capacidad de predicción de la supervivencia, que se basa en que las cinco variables que incluye poseen por separado un gran valor pronóstico, calculándose su especificidad y su sensibilidad en aproximadamente un 80% (Infante y cols, 1987)

Otros factores que poseen valor pronóstico son:

La abstinencia alcohólica en cirróticos alcohólicos.

Presencia de insuficiencia renal funcional en pacientes con ascitis, que supone un pésimo pronóstico (Ginés y cols, 1993).

La peritonitis bacteriana espontánea complicación que se asocia a mal pronóstico.

Se han propuesto varios índices que emplean múltiples variables y modelos de regresión de riesgos proporcionales, que son complejos y no han mostrado ser superiores a la clasificación de Child y Pugh (Gludd y cols, 1988).

Últimamente se ha postulado la utilización de índices de puntuación en enfermedad hepática en últimos estadios (MELD) frente a la clasificación de Child y

Pugh para valoración de pronóstico a corto plazo (menos de tres meses) ante derivaciones portosistémicas terapéuticas, sin tampoco resultados claros (Salerno y cols, 2002).

b. METABOLISMO MINERAL ÓSEO

i. ESTRUCTURA ÓSEA.

El hueso está constituido por un tipo especial de tejido conectivo, cuyo mayor porcentaje lo integra una fase mineral sólida íntimamente unida a una matriz orgánica. Se denomina **matriz ósea mineralizada**.

En condiciones normales el 99% del volumen que constituye la matriz ósea presenta depósitos de fosfato cálcico en forma de cristales de hidroxapatita y de depósitos amorfos. El otro 1%, llamado osteoide, no presenta depósitos de sales minerales.

Entre un 90 a un 95% de la matriz orgánica está compuesta por **fibras de colágeno tipo I** (proteína muy rica en hidroxiprolina), el 5% restante es material amorfo constituido por proteínas procedentes del suero (albúmina y glucoproteínas α_2 -HS), osteocalcina, osteonectina, osteopontina, sialoproteínas, tromboespondina y otras proteínas.

En el tejido óseo se distinguen tres tipos celulares: osteocitos, osteoblastos y osteoclastos.

Los **osteoblastos** son las células encargadas de sintetizar y secretar la matriz orgánica. Tienen un precursor común con los fibroblastos. Pueden estar en situación de reposo (en este caso forman una cubierta continua en la superficie del tejido óseo, el endostio), o en actividad (con receptores para hormona paratiroidea y 1-25-hidroxi vitamina D3 y con la capacidad de sintetizar proteínas específicas de la matriz, siendo entonces su aspecto cúbico y disponiéndose en las superficies óseas en formación).

Los **osteocitos**, cuya función no está muy clara, son osteoblastos que se han transformado tras quedar enterrados por el propio tejido óseo por ellos sintetizado.

Siguen recibiendo su riego a través de canalículos. Se piensa son los mecanorreceptores del hueso, que transmiten las señales a los osteoblastos de superficie a través de la red canalicular.

Los **osteoclastos**, relacionados con las células del sistema mononuclear fagocítico, son células gigantes multinucleadas, responsables de la resorción ósea; desarrollan su actividad en la superficie ósea.

La disposición de las fibras de colágeno, nos permite clasificar el tejido óseo en dos tipos: maduro o laminar, e inmaduro o plexiforme. El **laminar** presenta una disposición en láminas paralelas de las fibras colágenas de la matriz. Compone la mayor parte del esqueleto adulto. El **plexiforme** tiene una disposición sin orden de las fibras colágenas, es mucho menos resistente y solamente suele aparecer durante el desarrollo embrionario (para posteriormente ser sustituido por tejido laminar) o en situaciones patológicas en las que haya producción acelerada de matriz ósea (Vg.: hiperparatiroidismo).

La estructura ósea está constituida por una capa externa llamada **cortical**, formada por tejido compacto de espesor variable, recorrida por unos canales de disposición longitudinal (conductos de Havers) o transversal (canales de Volkmann), que transportan vasos y nervios, y una capa interna de tejido más ligero y aspecto esponjoso, formado por una intrincada red de tabiques y espículas orientados paralelamente a las líneas de fuerza, llamada capa **trabecular**.

El hueso cortical predomina en los huesos largos de las extremidades y el trabecular en el esqueleto axial (vértebras y pelvis). En el esqueleto adulto el hueso compacto representa el 80% del volumen óseo total y el esponjoso el 20% restante, sin embargo el 70% de la superficie ósea corresponde a hueso esponjoso y esto es muy importante ya que es en la superficie ósea en donde se produce la mayor actividad celular del hueso

ii. FORMACIÓN Y RESORCIÓN ÓSEA.

El hueso experimenta continuamente transformaciones que podemos agrupar en dos tipos: modelación y remodelación óseas.

Modelación: así se definen el conjunto de modificaciones que experimenta el hueso durante su crecimiento para mantener la forma que le es característica.

Los huesos crecen en longitud mediante la formación de hueso en el cartílago de crecimiento; puesto que la zona que es metáfisis posteriormente se transformará en diáfisis (que es menos ancha), deberá sufrir fenómenos de resorción subperióstica. Por otro lado la diáfisis experimentará fenómenos de resorción para permitir el crecimiento de la cavidad medular y fenómenos de aposición subperióstica por los que crece en anchura.

Remodelación: es el proceso gracias al cual el hueso se renueva continuamente. Su finalidad es evitar la acumulación de lesiones de fatiga. Se lleva a cabo mediante la acción sucesiva de los osteoclastos y osteoblastos en un punto en concreto de la superficie ósea. Los primeros, fijados a componentes de la matriz ósea como la osteopontina mediante una integrina específica ($\alpha\gamma\beta3$), excavan el hueso, dando origen a las lagunas de Howship. El extremo resorbente del osteoclasto forma un borde rugoso especializado que está en contacto con el hueso; en su membrana se encuentran proteínas incluida una bomba de protones ATPasa especializada que contribuye a crear un medio ácido, que solubiliza la fase mineral. También es necesario la presencia de anhidrasa carbónica (isoenzima tipo II), para mantener el pH ácido. Otras características de los osteoclastos activos son la expresión del protooncogen c-src, la fosfatasa ácida resistente a tartrato, los receptores de superficie celular para calcitonina, las bombas de sodio tipo renal, un intercambiador de bicarbonato / fluoruro y la capacidad para resorber hueso mineralizado.

Posteriormente los osteoblastos rellenan la zona excavada. La aposición del hueso nuevo se efectúa por capas. La formación de hueso implica el depósito de una matriz orgánica por parte de los osteoblastos seguida de mineralización. El hueso recién formado no se mineraliza inmediatamente, sino que lo hace tras un tiempo de maduración (promedio de 10 días). Dicho período se conoce como tiempo de desfase de la mineralización. Ésta se realiza también por capas, siguiendo el mismo orden que la aposición ósea. La fase mineral se compone de calcio y fósforo y la concentración de estos iones en el plasma y en líquido extracelular condiciona la tasa de formación de la porción mineralizada del hueso. Al comienzo de la mineralización la fase sólida de fosfato cálcico es la brushita; conforme avanza la mineralización la

fase sólida se constituye por hidroxiapatita poco cristalizada y un cociente molar calcio/fosfatos bastante bajo. Con la edad y la maduración aumentan la perfección de los cristales y el cociente calcio fosfatos. Cuando los iones de flúor se incorporan a la fase mineral, disminuye la proporción de fosfato cálcico amorfo y aumenta la estructura cristalina. La zona de

transición entre el hueso mineralizado y el que no lo está constituye el “frente de mineralización”. El hueso sin mineralizar se denomina osteoide y queda por delante de dicho frente; su grosor es directamente proporcional a la velocidad de formación de la matriz orgánica, e inversamente a la de avance del frente de mineralización. La matriz ósea es resorbida en el medio ácido adyacente al borde rugoso por las proteinasas que actúan a pH bajo, como la catepsina K, después de que se haya solubilizado la fase mineral.

Se denomina **acoplamiento** a la coordinación temporal y espacial entre los osteoclastos y los osteoblastos, en virtud de la cual los osteoblastos actúan a continuación de los osteoclastos y en el mismo lugar en que estos lo hicieron previamente. Se piensa puede deberse a la liberación desde el hueso por parte de los osteoclastos cuando lo destruyen, de sustancias que atraen y estimulan a los osteoblastos, tales como el TGF (transforming growth factor).

Se conoce como **recambio o turnover óseo** al volumen de hueso renovado por unidad de tiempo.

El conjunto de osteoclastos y osteoblastos que de manera coordinada actúan en un lugar concreto de una superficie ósea para su remodelación recibe el nombre de **unidad de remodelación ósea**.

El número de unidades que se ponen en marcha por unidad de tiempo se conoce como **frecuencia de activación**.

Se denomina **balance óseo** a la diferencia entre el volumen de hueso formado y el resorbido en cada unidad de remodelación. Cuando se forma menos hueso del que es destruido, el balance óseo resulta negativo, lo que determina pérdida de masa ósea. Cuando coincide una situación de balance óseo negativo con una de aumento de recambio, las pérdidas ósea totales se incrementan.

La máxima masa ósea se alcanza entre los 20 y 40 años de edad. En las regiones esqueléticas ricas en hueso esponjoso, como los cuerpos vertebrales, suele

haberse finalizado la constitución del capital óseo a los 20 años. Los factores determinantes del pico de masa ósea son varios, pero destacan la raza, la herencia, las hormonas y el ejercicio físico. El factor genético es esencial, como lo han demostrado mediciones de densidad ósea en gemelos mono y dicigóticos (Slemenda y cols, 1991). Los factores ambientales tienen menos importancia en la adquisición del capital óseo pero pueden ser determinantes en el riesgo ulterior de osteoporosis. El ejercicio físico y el aporte de calcio durante la infancia y la adolescencia así como periodo prepuberal son claves en el desarrollo del pico de masa ósea. (Matkovic y cols, 1979). A partir de entonces el balance óseo de cada unidad que hasta entonces era cero, se negativiza. El resultado es una pérdida progresiva de masa ósea que representa el 0,6-0,7% del esqueleto al año. Aunque durante mucho tiempo se pensó que la pérdida de masa ósea era superior en la mujer frente al varón, estudios longitudinales han demostrado que la pérdida ósea trabecular del varón difiere poco de la de la mujer (Mosekilde, 1990), y como en ésta aumenta con la edad. (Slemenda y cols, 1992)

Los factores que intervienen en la regulación de la remodelación ósea, pueden clasificarse en generales y locales. Entre los primeros destacan las hormonas calciotropas (parathormona –PTH-, vitamina D y sus metabolitos y calcitonina) así como otros menos específicos. Entre los locales destacan la sobrecarga ósea así como factores paracrinos y autocrinos fundamentalmente integrados por citocinas, factores de crecimiento y prostaglandinas.

La PTH estimula los osteoclastos, y en virtud del fenómeno de acoplamiento, secundariamente a los osteoblastos, por lo que en definitiva incrementa el recambio óseo. El metabolito activo de la vitamina D (1-25-(OH)₂-D, o calcitriol) estimula de forma directa la actividad osteoclástica y el recambio óseo como la PTH; pero indirectamente, al frenar a la PTH, ya que aumenta la absorción intestinal de calcio, ejerce el efecto contrario. Además estimula la mineralización ósea. La calcitonina inhibe la actividad osteoclástica. La acción de la PTH y del calcitriol sobre los osteoclastos es mediada por células de estirpe osteoblástica. Entre los factores inespecíficos, destacan los estrógenos (que disminuyen el recambio óseo), la tiroxina (que lo estimula) y los glucocorticoides (que aumentan la destrucción y disminuyen la formación).

La sobrecarga mecánica estimula la formación ósea por medio del efecto piezoeléctrico. Respecto a los factores paracrinos podemos concluir que la interleucina 1 (IL-1), el factor de necrosis tumoral (TNF) y la interleucina 6 (IL-6) estimulan la resorción ósea, y que el TGF y los IGF tipo I y II, estimulan la formación. (Rico, 2002).

iii. METABOLISMO MINERAL

Metabolismo del calcio.

El organismo adulto tiene, en promedio de 1 a 2 kg de calcio, del cual más de 98% se encuentra en el esqueleto. El calcio de la fase mineral, está en equilibrio con el del LEC, pero sólo una minúscula fracción de la reserva total (aproximadamente el 0,5%) es intercambiable. El calcio del LEC es esencial para una serie de funciones y su concentración se mantiene en valores muy constantes. El calcio del plasma se encuentra en tres formas: iones libres, iones unidos a las proteínas del plasma y en menor cuantía formando complejos difusibles. La concentración de iones de calcio libres está sujeta a un estricto control hormonal especialmente a través de la PTH. La concentración de proteínas séricas es un determinante importante de la concentración de iones de calcio, la mayoría del calcio iónico está unido a la albúmina.

Una fórmula para obtener la cantidad aproximada de calcio unido a proteínas es:

$$**Ca unido a proteínas (%) = 0,8 x albúmina (g/L) + 0,2 x globulinas (g/L) + 3**$$

Cuando la concentración sérica del calcio total es anormal por hipoproteinemia hemos de aplicar un factor de corrección. Este consiste en añadir 1 mg/dL al valor del calcio sérico, por cada 1 g/L de seroalbúmina que desciende por debajo de 4 g/dL.

El calcio que contiene el plasma, procede del absorbido en el intestino y del reabsorbido en el hueso. La resorción y formación de hueso, son dos procesos rigurosamente interrelacionados, de tal manera que cada día entran y salen del esqueleto 12 mMol de calcio (500 mg aproximadamente). La mayor parte del calcio

absorbido lo es en los tramos proximales del intestino, a través de procesos de transporte activo y de absorción limitada por la difusión. Ambos procesos dependen de la vitamina D.

Metabolismo del fósforo.

El fósforo es un componente esencial del hueso y de otros tejidos. Participa en prácticamente todos los procesos metabólicos, como el almacenamiento de energía, el transporte de membrana, la composición de estas y las señales de transducción.

A diferencia del calcio, sólo un 12% del fósforo está unido a proteínas. El HPO_4^{-2} representa alrededor del 75% del fósforo total y el PO_4HNa en forma libre, supone el 10%.

Aproximadamente, del 60-70% del fósforo de la dieta se absorbe pasivamente en el intestino delgado. La $1-25(\text{OH})_2\text{D}$ favorece la absorción del fósforo a todo lo largo del intestino delgado aunque las porciones más eficientes son yeyuno e ileon.

Metabolismo del magnesio.

El magnesio es el catión divalente intracelular más abundante. Es un cofactor esencial en múltiples reacciones enzimáticas que son importantes para la generación de energía a partir del ATP. Aproximadamente el 30% del magnesio está unido a proteínas, el 55% ionizado y el 15% restante es complejo. Al igual que el calcio, el magnesio se une a la albúmina y es su fracción ionizada la que participa en los distintos procesos fisiológicos. Aproximadamente el 30% del magnesio de la dieta se absorbe en intestino delgado, aumentando esta proporción en caso de ingesta reducida.

Vitamina D.

La vitamina D es más una hormona que una vitamina, ya que si hay exposición suficiente a la luz solar no hace falta ningún suplemento dietético. Esta ejerce sus funciones biológicas sobre el hueso, el intestino, el riñón y las glándulas paratiroides, para regular el metabolismo del calcio y del fósforo. La vitamina D3 es

un derivado del 7-deshidrocolesterol (provitamina D₃). Expuesta la piel a la luz del sol, penetra en epidermis la radiación ultravioleta y convierte la provitamina en vitamina D₃. una vez sintetizada es traslocada desde la epidermis hacia la circulación mediante la proteína de unión a la vitamina D. La melanina de la piel compite con el deshidrocolesterol por los fotones ultravioleta y es capaz por tanto de restringir la síntesis de previtamina D₃. Con el envejecimiento, disminuye la capacidad de la piel para producir vitamina D₃; a los 70 años esa capacidad ha disminuido más de 4 veces, además hay un aumento más notable de la pérdida ósea. (LJ DeGroot, 2000) (Szulc y Delmas, 2001)

En el hígado, la vitamina D se convierte en 25 hidroxí vitamina D por acción de enzimas mitocondriales hepáticas. La 25-hidroxilación hepática de la vitamina D, está regulada por un mecanismo de retroacción. Los niveles séricos de 25-(OH)D, disminuyen en las hepatopatías crónicas graves. Tras formarse en el hígado, la 25-(OH)D se une a la proteína de unión y pasa al riñón donde se realiza otra hidroxilación estereoespecífica sobre los carbonos 1 ó 24.

Toda disminución de la calcemia por debajo de sus niveles normales, es un estímulo para la secreción de PTH, lo cual aumenta la síntesis de 1-25-(OH)₂D en el túbulo contorneado proximal del riñón. La producción de 1-25-(OH)₂D por el riñón incrementa los efectos de la PTH para que disminuyan las concentraciones del fosfato circulante. La 1-25-(OH)₂D influye también en el metabolismo renal de la 25(OH)D al reducir la actividad de la 25(OH)D-1 α -hidroxilasa y potenciar la conversión de la 25(OH)D en 24R,25 dihidroxí vitamina D (24-25-(OH)₂D).

La 1-25-(OH)₂D, unida a una proteína fijadora de la vitamina D, es enviada a diversos órganos efectores, donde la forma libre es captada por las células y transportada a una proteína receptora específica situada en el núcleo. El receptor de la 1-25-(OH)₂D (RVD) pertenece a la superfamilia de receptores nucleares que son factores de regulación de la transcripción de los esteroides-retinoles-hormona tiroidea-vitamina D. En el intestino el RVD activado estimula la síntesis de la proteína fijadora del calcio, y en el hueso se producen osteocalcina, osteopontina y fosfatasa alcalina. En el intestino el efecto final de la 1-25-(OH)₂D consiste en estimular el transporte del calcio y el fosfato desde la luz del intestino delgado a la circulación. Se cree que la 1-25-(OH)₂D y la PTH aumentan de forma sinérgica la

resorción ósea. Los osteoclastos maduros no tienen receptores para la PTH ni para la 1-25-(OH)₂D, y las dos hormonas interactúan con sus receptores específicos en los osteoblastos o los fibroblastos estromales para inducir la producción del ligando RANKL en la superficie de los osteoblastos. (Jevon y cols, 2002), (Hofbauer y Heufelder, 2001) Tanto el receptor activador del factor nuclear (NF-kappaB) o ligando RANKL, su receptor celular o receptor activador del factor nuclear-kappaB (RANK) y el receptor señuelo osteoprotegerina (OPG) constituyen un nuevo sistema de citocinas. El RANKL producido por una línea celular osteoblástica y linfocitos T activados es el factor esencial para la formación de osteoclastos, fusión y activación, siendo responsable de la resorción y pérdida ósea. (Jevon y cols, 2002), (Hofbauer y Heufelder, 2001) El ligando RANK interactúa con el receptor RANK de los osteoclastos inmaduros, estimulando a los precursores osteoclásticos inmaduros a diferenciarse a osteoclastos maduros. Los efectos del RANKL están contrarrestados por la OPG que actúa como un receptor soluble neutralizante. Tanto RANK como OPG están regulados por hormonas (corticoides, vitamina D, estrógenos), citocinas (TNF, interleukinas 1, 4, 6, 11, 17) y varios factores de transcripción mesenquimales (cbfa-1, receptor gamma activador de la activación peroxisómica, etc). (Jevon y cols, 2002), (Hofbauer y Heufelder, 2001) (Khosla, 2001). Hay receptores de la 1-25-(OH)₂D en ciertas células que no son consideradas clásicamente como órganos efectores de esta hormona; así la 1-25-(OH)₂D inhibe la proliferación de los queratinocitos y fibroblastos, estimula a los monocitos para que formen interleucina I y para que maduren hacia macrófagos y células de tipo osteoclastos, e inhibe la producción de PTH, así como la de IL-2 y de inmunoglobulinas por los linfocitos B y T respectivamente.

El principal mecanismo fisiológico que regula normalmente la formación de 1-25-(OH)₂D parece depender de variaciones en la concentración de calcio extracelular del suero que se deben a cambios en la secreción de PTH, hormona que regula el ritmo de producción de la 1-25-(OH)₂D a través de efecto sobre los niveles de fósforo sérico o tisulares.

Otras sustancias que aumentan la producción de 1-25-(OH)₂D son los estrógenos, la prolactina y la hormona del crecimiento.

Factor de crecimiento insulinoide tipo I (IGF-I).

El sistema constituido por la familia de ligandos del factor de crecimiento insulinoide tipo I (IGF-I), sus proteínas transportadoras y sus receptores, son un importante conjunto de factores de crecimiento, estrechamente relacionados con el desarrollo del organismo, con el normal mantenimiento de las funciones de muchas células de éste, así como la regulación de la proliferación y diferenciación celular. Además se ha descubierto que este sistema tiene efectos mitogénicos y antiapoptóticos tanto en células normales como en transformadas, siendo considerado como un elemento importante en la regulación o desarrollo de procesos cancerosos. (LeRoith y Roberts 2003, Yakar 2002)

Estos factores de crecimiento peptídicos, son producidos prácticamente por todos los tejidos y pueden actuar de modo endocrino, autocrino y o paracrino. La forma endocrina del factor de crecimiento insulinoide tipo I es un polipéptido de 7649 Da, producido en más de un 75% por el hígado. Su actividad metabólica es similar a la de la insulina y sus efectos en el crecimiento, desarrollo, regeneración y metabolismo han sido ampliamente estudiados. Incluso se ha utilizado la administración exógena de este polipéptido para el tratamiento de alteraciones relacionadas con el crecimiento y promoción de la salud ósea. (Yakar y Rosen 2003)

Sin embargo como muchos otros péptidos, el IGF-I tiene una vida media muy corta siendo retirado rápidamente de la circulación tras su administración sistémica. En el sistema vascular, esta retirada se compensa habitualmente con la asociación del IGF-I con sus proteínas transportadoras (IGFBPs), que parecen jugar un importante papel en la regulación de la actividad de dicho péptido. (Torrado y Carrascosa 2003)

El IGF-I, gracias a estudios in vitro de células óseas o al análisis epidemiológico de grandes cohortes poblacionales, se ha asociado con el proceso de síntesis ósea. Hoy se sabe que la expresión esquelética de dicho factor es fundamental para una adecuada diferenciación funcional de las células óseas pluripotenciales. También se sabe que es básico para que la hormona paratiroidea logre sus efectos anabólicos máximos en hueso trabecular, así como para algunos componentes de la biomineralización. (Yakar y Rosen 2003). Por otra parte, un déficit en su síntesis, se ha asociado a descensos en la densidad mineral ósea y osteoporosis en individuos que padecen cirrosis de etiología vírica (Gallego-Rojo et

al 1998). De hecho se ha implicado a este polipéptido y a la regulación de su sistema como un importante eslabón en el futuro tratamiento coadyuvante de la osteoporosis.

iv. MARCADORES BIOQUÍMICOS DE REMODELADO ÓSEO

El remodelado óseo también llamado turnover es fundamental para la salud del hueso. Debido a su actividad diaria, el hueso sufre microfracturas y lesiones por fatiga que deben ser reparadas para que el hueso mantenga su consistencia. Sin el remodelado el esqueleto se colapsaría fácilmente.

El remodelado está regulado tanto por factores locales como sistémicos entre los que destacan: fuerzas mecánicas o eléctricas, hormonas (PTH, hormonas tiroideas, vitamina D y sus metabolitos, estrógenos, andrógenos, cortisol, calcitonina u hormona del crecimiento), factores de crecimiento (IGF-1, o factor transformador del crecimiento β) o citokinas (interleucinas 1 ó 6). El remodelado sólo se lleva a cabo en la superficie ósea y unidades muy próximas y coordinadas. En un ciclo normal de remodelado, la resorción tarda de 7 a 10 días, mientras que la formación requiere de 2 a 3 meses. Aproximadamente un 10% del hueso se repone cada año. El proceso de remodelado puede definirse como un proceso emparejado, ya que la formación de hueso está muy ligada a la resorción ósea y salvo raras excepciones, la formación ósea debe ir precedida de resorción.

Los marcadores bioquímicos de remodelado óseo pueden medirse tanto en sangre como en orina y se clasifican en tres categorías:

- a) Enzimas o proteínas secretadas por células relacionadas con el proceso de remodelado.
- b) Productos de degradación generados en la resorción de hueso antiguo.
- c) Derivados producidos durante la síntesis de hueso nuevo.

Debido al fenómeno de acoplamiento, estos marcadores reflejan el proceso general de recambio óseo estando el hueso estable; sin embargo, los marcadores generalmente se clasifican según la parte del proceso de remodelado que principalmente reflejen en situaciones agudas (formación o resorción). Puesto que el

proceso de resorción es mucho más corto que el proceso de formación, los marcadores de resorción responden más rápido a los cambios en el remodelado que aquellos marcadores de formación.

Marcadores de resorción ósea.

Los marcadores de resorción ósea incluyen a la enzima fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP) así como productos de degradación del hueso, los cuales incluirían calcio y productos de degradación de la matriz ósea como hidroxiprolina, entrecruzamientos de piridinio y teleopéptidos. Los marcadores urinarios de la resorción ósea son la hidroxiprolina, la hidroxilisina y sus glucósidos, y los entrecruzamientos hidroxipiridínicos del colágeno específico del hueso. El calcio urinario se influye por la dieta y la función renal y no se considera suficientemente sensitivo y específico para valoración del remodelado óseo.

Fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP).

La fosfatasa ácida es una enzima lisosomal que se encuentra en hueso, próstata, plaquetas, eritrocitos y bazo. De las 5 isoenzimas de fosfatasa ácida, la isoforma ósea es tartrato resistente, pero inestable. La TRAP puede medirse en plasma o suero por electroforesis tras tratamiento con tartrato o por inmunoensayo. Las concentraciones en suero de fosfatasa ácida son típicamente mayores que las plasmáticas debido a la liberación de fosfatasa ácida por los eritrocitos durante el proceso de coagulación.

Productos de degradación del colágeno.

El colágeno tipo 1, rico en el aminoácido hidroxiprolina, tiene una estructura triphelicoidal con ramas conectadas por puentes entre lisina o restos de hidroxilisina que unen los terminales carboxi y amino no helicoidales de una molécula de colágeno a la porción helicoidal de una molécula adyacente. (Eyre, 1987) Los entrecruzamientos son piridinolinas y deoxipiridinolinas. Durante la resorción ósea la hidroxiprolina y los entrecruzamientos de piridinio, pueden ser liberados ellos solos o con restos de la molécula de colágeno adheridos. No son

reutilizables. Aunque puede encontrarse algo de colágeno tipo 1 en tejidos no esqueléticos, el hueso tiene una proporción mucho mayor así como una mayor tasa de recambio.

Hidroxirolina.

El colágeno es rico en el aminoácido prolina, que se transforma tras una hidroxilación, en hidroxiprolina. La mayoría de la hidroxiprolina libre liberada desde el hueso se degrada en el hígado y el 10% aproximadamente se excreta por vía renal en forma de pequeñas cadenas polipeptídicas. También se libera tras la degradación del complemento y el colágeno no esquelético, incluido el de la dieta y de los péptidos de extensión de procolágeno (que son productos de formación ósea). Aproximadamente el 50% de la hidroxiprolina urinaria deriva de la degradación del colágeno óseo. (Deacon y cols, 1997) La hidroxiprolina generalmente se mide en orina por colorimetría.

Entrecruzamientos de piridinio (piridinolina y deoxipiridinolina).

La modificación postransducción de la lisina e hidroxilisina produce los entrecruzamientos no reducibles de piridinio, piridinolina y deoxipiridinolina, que estabilizan la molécula de colágeno maduro. Tanto la Piridinolina como la deoxipiridinolina se liberan desde el hueso en una proporción aproximada de 3:1. La deoxipiridinolina, es relativamente específica para el hueso. La Piridinolina también se halla en cartílago articular y tejidos blandos (ligamentos y tendones). Aproximadamente el 60% de los entrecruzamientos liberados durante la resorción se unen a proteínas y el 40% restante queda libre. Los entrecruzamientos de piridinio no se metabolizan o absorben de la dieta. (Colwell y cols, 1993) Tanto piridinolina como deoxipiridinolina pueden medirse en orina por inmunoensayo o HPLC antes o después de hidrólisis. (Rosano y cols, 1998) También recientemente se ha logrado realizar la determinación de estos por inmunoensayo en suero (Garnero y Delmas, 1999)

Puentes o entrecruzamientos de telopéptidos.

Tanto estos como los entrecruzamientos de piridinio, hoy día se consideran los marcadores de resorción ósea más específicos. (Seibel y Woitge, 1999) En el proceso de resorción ósea los fragmentos amino y carboxiterminal de colágeno son liberados con puentes pegados. Estos fragmentos con entrecruzamientos pegados se denominan telopéptidos. Tanto los N-telopéptidos (NTx) como los C-telopéptidos (CTx) se excretan por la orina. NTx se mide por inmunoensayo utilizando un anticuerpo para la cadena a-2 del fragmento NTx (esta contiene los puentes de piridinio, aunque el inmunoensayo en si no reconoce dichos puentes). (Hanson y cols, 1992) CTx se mide por inmunoensayo. (Bonde y cols, 1995) La orina ha sido el tipo de muestra más conveniente para el inmunoensayo, aunque hay bastantes líneas dirigidas a desarrollar sistema para inmunoensayo en suero. (Christgau y cols, 1998) (Scariano y cols, 1998)

Marcadores de formación ósea.

Los marcadores de formación ósea incluyen una enzima (la fosfatasa alcalina) y tres derivados de la síntesis de la matriz ósea (osteocalcina y péptidos de extensión de procolágeno 1 amino y carboxi terminal).(Gundberg, 2000) (Seibel y Woitge, 1999)

Fosfatasa alcalina.

La fosfatasa alcalina es un marcador de los osteoblastos, y las concentraciones intracelulares de esta enzima, guardan relación con la velocidad de formación del hueso. Los osteoblastos son ricos en fosfatasa alcalina, sin embargo esta, una enzima asociada con las membranas plasmáticas de las células, se halla también en hígado, intestino o placenta (Moss, 1987) y todas ellas pueden contribuir a los niveles totales de fosfatasa encontrada en sangre. La isoenzima ósea predomina en la infancia y particularmente durante la pubertad; en adultos las fracciones ósea y hepática contribuyen por igual a la suma total, siendo la fracción intestinal menor del 10%. La función en si de la fosfatasa alcalina se desconoce, aunque se sabe que en los cuadros de hipofosfatasa, en los cuales la enzima es deficitaria, se caracterizan por cursar con osteomalacia, sugiriendo que la fosfatasa alcalina tuviera papel en la

mineralización del hueso neoformado. Mediciones del total de fosfatasa alcalina en suero son útiles cuando la cantidad proveniente del hueso es excepcionalmente alta (como en la enfermedad de Paget) y las concentraciones provenientes de otros lugares no están aumentadas y son estables. Puesto que tiene múltiples orígenes junto al hecho de que la isoforma ósea generalmente no está aumentada en la osteoporosis y en otras enfermedades óseas metabólicas, la utilización de la fosfatasa alcalina total como marcador de remodelado óseo, no se ha extendido en demasía. Ensayos para la determinación de fosfatasa alcalina ósea, también denominada fosfatasa alcalina ósea específica o fosfatasa alcalina esquelética, se han desarrollado utilizando electroforesis precipitación de lectinas o técnicas de inmunoensayo. Este último es el método de elección debido a su alta especificidad y precisión. (Gómez y cols, 1995)

Osteocalcina.

Es la principal proteína no colágena de la matriz ósea, se trata de una pequeña proteína formada por 49 aminoácidos rica en ácido glutámico. (Catherwood y cols, 1985) Además de en hueso se halla en la dentina. Su función no está clara, se piensa pudiera servir como base para los cristales de hidroxiapatita. Durante el proceso de síntesis de la matriz ósea se libera ciertas cantidades de osteocalcina que circulan en sangre, con una vida media corta determinada por el aclaramiento renal. La osteocalcina puede medirse por inmunoensayo en plasma o suero. Es lábil en sangre y sus niveles se reducen en suero rico en lípidos debido a su unión a estos. También puede ser degradada in vitro por enzimas proteolíticas liberadas desde los eritrocitos. No hay un proceso estandarizado de inmunoanálisis para osteocalcina, existiendo diferentes anticuerpos específicos para distintos fragmentos. (Knapen y cols, 1998) Tanto la molécula completa como el fragmento hemimolecular N terminal, parece que dan mejor información clínica que los anticuerpos. (Minisola y cols, 1997) Aunque los valores de vitamina K no afectan la concentración total de osteocalcina, sí afecta al total de la carboxilación. La osteocalcina decarboxilada puede servir como marcador de algunos fenómenos como las fracturas (Vergnaud y cols, 1997)

Péptidos de extensión de procolágeno.

Los osteoblastos secretan grandes moléculas de procolágeno que sufren escisión extracelular en sus extremos carboxi y aminoterminal. Los metabolitos derivados de la síntesis de colágeno tipo 1 son los péptidos de extensión de procolágeno tipo 1 amino y carboxiterminales (PINP y PICP) (Scariano y cols, 1998), (Jensen y cols, 1998) Ambos péptidos de extensión son metabolizados en el hígado y ambos pueden incorporarse al hueso. Se miden por inmunoensayo y sus concentraciones pueden aumentar cuando hay un recambio elevado del colágeno no esquelético (Vg: piel o músculo).

v. MASA ÓSEA. OSTEOPOROSIS

En la Conferencia de Consenso sobre osteoporosis celebrada en 1993, se había definido ésta como: una enfermedad sistémica del esqueleto caracterizada por:

- Descenso de la masa ósea
- Deterioro de la microarquitectura del tejido óseo

y que como consecuencia resultaba en un aumento de la fragilidad y riesgo de fracturas. (Panel, 1993).

La conferencia de consenso del Instituto Nacional de la Salud de los Estados Unidos, ha redefinido osteoporosis como “**un desorden esquelético caracterizado por alteración de la resistencia ósea que predispone a un individuo a un riesgo aumentado de fractura**”.

Resistencia ósea refleja la integración de dos hallazgos principales: densidad ósea y calidad ósea (NHI consensus statement, 2000).

Probablemente el único índice clínicamente aplicable de calidad ósea por el momento sea la historia en el paciente de **fracturas por fragilidad**. Ante la ausencia de métodos para medir la calidad ósea, el diagnóstico de osteoporosis tiende a hacerse utilizando el concepto de baja densidad ósea.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define fractura por fragilidad como una fractura causada por un daño que sería insuficiente para fracturar un hueso normal, resultado de una reducción en la resistencia ósea a las fuerzas de compresión o de torsión. (WHO, 1998).

La definición de osteoporosis puede solaparse con el concepto de **osteopenia**, acuñado en 1966 y que hace referencia a pérdida de hueso. (Bauer, 1966). Al principio esta disminución de hueso no era cuantificable, pero hoy día ya sí es valorable gracias a los múltiples métodos de medida de masa ósea.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) dice que podemos hablar de osteopenia cuando la masa ósea de una persona está por debajo de una puntuación-T (T-score) de -1,0 en relación con la masa ósea patrón de una población joven (Kanis y cols, 1994), y de osteoporosis, cuando la puntuación -T está por debajo de -2,5, esto es que su densidad ósea disminuye 2,5 desviaciones estándar por debajo de la media.

La **puntuación-T** se define como el número de desviaciones estándar por debajo o encima de la media de densidad mineral ósea para una población de adultos jóvenes (entre 25 y 45 años de edad). Así un T-score de 0 significaría que el paciente tiene un valor de BMD que coincide exactamente con el valor medio para adultos jóvenes, mientras que un T-score de -2.5 significaría que el individuo tiene un valor de BMD en ese lugar concreto y con un método de medición concreto que estaría 2.5 veces por debajo de la media para adultos jóvenes. (Cummings et al 2002). Otra forma de definir osteopenia y / u osteoporosis es la llamada **puntuación-Z**; en este caso la medida es el número de desviaciones estándar por debajo o encima de la media para un grupo de población sana, de la misma edad del individuo en cuestión. Así un Z-score de -2.5 significaría que el individuo tiene un valor de BMD en ese lugar concreto y con un método de medición concreto que estaría 2.5 veces por debajo de la media para adultos de su misma edad. (Cummings et al 2002).

Todas estas definiciones están muy limitadas por los múltiples factores que pueden influir en la masa ósea y que pueden hacer incluso que individuos con valores de masa ósea similares sean diagnosticados o no como osteopénicos según sus características físicas, constitución, etc. En resumen es difícil indicar, para un individuo dado, el que tenga osteopenia y para definir osteoporosis, nos apoyaremos

en la existencia de un T-score de -2.5 o menos en cuello femoral o columna lumbar junto a existencia o no de fractura. (Eddy et al 1998)

La masa ósea que posee un individuo en un momento determinado depende de dos factores: la masa ósea que llegó a tener al completar su desarrollo y las pérdidas sufridas con posterioridad.

Hasta los 70 años parece más importante el primer factor en la génesis de la osteoporosis, igualándose posteriormente la importancia de ambos factores. (Melton, 2000) Las pérdidas se deben a la instauración de un balance negativo en las unidades de remodelación, aumentándose dichas pérdidas, cuando a dicho balance se le añade un aumento del recambio óseo. Si sólo hay balance negativo hablamos de “perdedores lentos”, si al balance negativo se le añade un recambio alto, hablamos de “perdedores rápidos”.

Los factores que intervienen en la pérdida de masa ósea se pueden clasificar en tres apartados: edad, menopausia y otros. Los dos primeros son obligados y el tercero es esporádico.

Clasificación de las osteoporosis.

En general aunque pueden existir osteoporosis u osteopenias localizadas como la provocada por inmovilización o por la distrofia simpático refleja y clínicamente suelen tener una zona de preferente localización, suele y se deben considerar como generalizadas al ser un fenómeno universal.

Las más frecuentes dentro de las primarias son la juvenil (antes de los 20 años y por igual en ambos sexos), la del adulto joven y la gestación (entre los 20 y 45 años), la postmenopáusica (sobre los 65 años) y la senil (por encima de los 75 años) (Rico, 2002).

Así podemos distinguir entre osteoporosis localizadas y generalizadas y subdividir las según su etiología. (Rico, 2002).

1) Osteoporosis generalizadas.

- Idiopáticas.
 - Juvenil y del adulto joven (idiopática y de la gestación)
 - Involutiva (postmenopausica y senil)
- Secundarias.
 - Genéticas por hipogonadismo.
 - a) Turner.
 - b) Klinefelter.
 - Alimenticias.
 - a) Baja ingesta cálcica.
 - b) Baja ingesta proteica.
 - c) Alta ingesta de fosfatos.
 - d) Baja ingesta de vitaminas C y D.
 - e) Alimentos bloqueantes de la absorción cálcica (fitatos, oxalatos, etc).
 - Digestivas.
 - a) Gastrectomizados.
 - b) Hepatopatías.
 - c) Resecados intestinales.
 - d) Síndromes de malabsorción.
 - e) Elevación del pH gástrico.
 - f) Déficit en la producción y / o liberación de sales biliares.
 - Endocrinas.
 - a) Cushing.
 - b) Hipertiroidismo.
 - c) Hiperparatiroidismo.
 - d) Senil por involución hipofisiaria.
 - e) Hipogonadal.
 - f) Acromegálica.

- Metabólicas.
 - a) Diabetes.
 - b) Acidosis mantenida.
 - c) Hepatopatías.
 - d) Hemocromatosis.
 - e) Hipercalciuria idiopática o renal.
- Farmacológicas.
 - a) Corticoides.
 - b) Heparina.
 - c) Vitamina A.
 - d) Fósforo.
 - e) Hidantoinas.
 - f) Barbitúricos.
 - g) Citotóxicos.
 - h) Hormonas tiroideas.
 - i) Alcalinos.
 - j) Alcohol.
 - k) Aguda en enfermos neoplásicos tratados con corticoides y citotóxicos.
 - l) Litio.
 - m) Por toma continuada de vitamina D.
- Hemopatías.
 - a) Anemias.
 - b) Leucosis.
 - c) Mieloma.
 - d) Macroglobulinemia.
 - e) Reticulohistiocitoma.
 - f) Hipereosinofílica.
 - g) Mastocitosis.

- Inmovilización general por cualquier causa.
- Reumáticas.
 - a) Artritis reumatoide.
 - b) Espondilitis anquilopoyética.
 - c) Otras.
- Del transplantado.

2) Osteoporosis localizadas.

- Traumáticas.
 - Aguda de Lichwitz.
 - Crónica de Sudeck.
- Por inmovilización.
 - Artritis reumatoide.
 - Procesos infecciosos articulares.
 - Procesos neurológicos.
 - a) Monoplejías.
 - b) Hemiplejías.
 - c) Paraplejías.
 - d) Tetraplejías.
 - e) Parkinson.
 - f) Poliomiелitis.
 - g) Enfermedad de Little.
 - De los astronautas.
- Hemopáticas.
 - Hemofilia.
- Migratorias.
- Algoneurodistrofias o distrofia simpático-refleja.
- Inflamatorias.

La raza blanca y amarilla son las que más padecen osteoporosis, siendo un hallazgo raro en la raza negra. (Rico, 2002). Las denominadas involutivas (postmenopáusica y senil) se consideran hoy día como un gran problema de salud de nivel mundial. Su prevalencia ha aumentado en los últimos años debido al aumento de la esperanza de vida. (Díaz y cols, 2001).

La epidemiología de las fracturas sigue una tendencia similar a la de la pérdida de densidad ósea. Las fracturas del radio distal se incrementan en frecuencia antes de los 50 años y alcanzan la meseta a los 60, con tan sólo un moderado incremento relacionado con la edad a partir de entonces. Al contrario que la incidencia de fractura de cadera que se duplica cada 5 años a partir de los 70 de edad. Esta diferente epidemiología puede estar relacionada con la manera en que la gente cae conforme envejece, ya que disminuye el número de caídas sobre la mano extendida. (Melton, 1995)

vi. ALTERACIONES OSEAS EN LA CIRROSIS HEPÁTICA

Hoy se sabe que la osteoporosis es el factor más importante para la aparición de fracturas por fragilidad. La masa ósea de cada individuo dependerá del balance establecido entre el pico de masa ósea alcanzado durante las tres primeras décadas de vida y la pérdida fisiológica posterior, así como del proceso de remodelado que continúa a lo largo de toda la vida.

Son múltiples los factores que regulan este proceso a lo largo de la vida: genéticos, ambientales y hormonales.

El control hormonal del remodelado óseo es un proceso complejo en el que intervienen diversas hormonas, factores de crecimiento (TGF- β , IGF-1), interleucinas, etc.

No es de extrañar que determinadas enfermedades endocrinológicas que provoquen exceso o defecto en la secreción hormonal afecten de forma sustancial al metabolismo óseo teniendo un efecto directo y que la mayoría de las veces es medible sobre la masa ósea.

Mención especial por su frecuencia y relevancia, merece el efecto de las enfermedades hepáticas sobre el metabolismo óseo. La osteoporosis es un problema frecuente en las hepatopatías crónicas y dentro de ellas en las cirrosis, que no se halla limitado a las colestasis prolongadas. Su origen es multifactorial y están implicados tanto la malabsorción intestinal de calcio y vitamina D, como alteraciones en los mecanismos de recambio óseo inducidos por distintos mediadores. Puede haber algunas agravantes como el tratamiento corticoide prolongado en caso de procesos autoinmunes.

El normal funcionamiento hepático se requiere para una adecuada absorción y digestión del calcio incluido en los nutrientes. Como sabemos el hígado juega un importante papel en el metabolismo de la vitamina D (la 25-hidroxilación tiene lugar en el hígado), sin embargo la capacidad enzimática del hígado sólo se ve alterada en los casos de una insuficiencia hepática completa. (Ziegler, 1994)

Por otra parte alteraciones del metabolismo de la vitamina D sólo en contadas ocasiones tienen un importante papel en la osteopenia hepática (McCaughan y Feller, 1994) (Ziegler, 1994) (Duarte y cols, 2001), aunque podría tenerlo en efectos tóxicos directos sobre las células formadoras de hueso (osteoblastos) por ejemplo a través de las sales biliares.

La pérdida ósea es una complicación establecida de las cirrosis hepáticas colestáticas, y aunque menos estudiadas también, en el caso de las no colestáticas.

En el caso de cirrosis secundarias a patología viral hepática sabemos que hay menor densidad ósea que en sujetos sanos y que la prevalencia y severidad de la pérdida de hueso aumentará según lo haga la severidad de la enfermedad hepática. Los índices de metabolismo óseo y los de función gonadal muestran un comportamiento similar al de controles sanos, pero hay un aumento significativo de la resorción ósea en todos los estadios de Child-Pugh. Así en el estadio A había valores medios de densidad ósea normales, pero un notable incremento en los niveles de teleopéptido tipo I (Corazza y cols, 2000)

La cirrosis viral es causa notable de osteoporosis en varones, en los que bajos niveles plasmáticos de IGF-I se relacionan con manifiesta pérdida de masa ósea. Los marcadores bioquímicos de remodelado óseo (deoxipiridolina urinaria como marcador de resorción ósea y fosfatasa alcalina ósea en suero como marcador de

formación ósea) sugieren una osteoporosis de recambio aumentado en estos pacientes. (Gallego Rojo y cols, 1998) (Duarte y cols, 2001)

El hipogonadismo coexistente con los cuadros de cirrosis hepática también podría jugar un papel importante en el descenso de hueso. Se sabe que el nivel de testosterona es inferior en varones afectos de cirrosis que en controles sanos, con incremento en los valores de globulinas transportadoras de hormonas sexuales, y que los niveles de testosterona y de gonadotropinas están inversamente relacionados con la clasificación de Child-Pugh. (Monegal y cols, 1997) Dicho hipogonadismo no es siempre coincidente con signos radiológicos de osteoporosis pero sí con descensos del volumen óseo trabecular. Aumento en los frentes de resorción formados por osteoclastos parece que guardan una correlación significativa con niveles de testosterona, de forma que un descenso de ésta se acompañaba de aumento de aquellos. (Chappard y cols, 1989)

Otros cuadros de cirrosis como la cirrosis biliar primaria pueden acompañarse de osteoporosis y fracturas patológicas. En esta los estudios anatomopatológicos muestran una normal resorción pero un descenso en la síntesis ósea. Es controvertido actualmente afirmar que dicho cuadro se asocia per se a la cirrosis biliar primaria o se debe a un descenso hormonal asociado a la edad (este cuadro es más frecuente en mujeres de edad media y los estudios que se han hecho en casos de CBP en mujeres jóvenes no iban claramente asociados con estos descensos de la masa ósea), en cualquier caso parece que un factor clave para la posible aparición de dicha osteoporosis sería un déficit hormonal prematuro posiblemente desencadenado por la patología hepática crónica. (Bagur y cols, 1998) (Newton y cols, 2001) (Le Gars y cols, 2002)

También el alcoholismo crónico da un cuadro histológico de características similares en el hueso (descenso en la síntesis con una resorción normal, lo que se traduce en un balance óseo negativo). Un marcado déficit en la función osteoblástica con reducción de parámetros de función osteoide, descenso en el grosor medio de las paredes óseas así como una síntesis enlentecida llevan a un adelgazamiento de las trabéculas óseas. Converge a su vez un aumento muy marcado de las superficies de resorción trabecular. Estudios realizados con microscopía electrónica de biopsias óseas eran compatibles con un retraso y dificultad en la actividad osteoblástica que

llevaban a superficies de resorción ensanchadas y festoneadas, cubiertas por capas inusualmente finas de fibras colágenas calcificadas. (Chappard y cols, 1991) Todos estos cambios pueden ser reversibles con la abstinencia alcohólica siempre que no se haya desarrollado aún el cuadro de cirrosis.

Los pacientes que van a recibir un trasplante hepático por un estadio final de cualquier insuficiencia hepática, incluida la cirrosis, suelen presentar un descenso en la masa ósea previo a la recepción del trasplante. Descenso en la formación ósea y alteraciones notables en el metabolismo mineral óseo tales como deficiencias de vitamina D, niveles reducidos de hormonas paratiroideas e hipogonadismo son algunas de las causas de dichas alteraciones. (Monegal y cols, 1997) Incluso en estadios inmediatos al trasplante continúan con dicha pérdida debida al efecto de las drogas inmunosupresoras y los corticoides. Aunque finalmente tras el trasplante hepático hay una recuperación y aumento en la densidad ósea (Eastell y cols, 1991) (Newton y cols, 2001)

No existe un tratamiento específico para la pérdida de masa ósea u osteoporosis debida a cirrosis. Los esfuerzos deben encaminarse hacia una prevención, evitando bajos niveles de calcio y o vitamina D (incluso suplementando si hace falta), evitando inmovilización e hipogonadismo, y en algunos casos utilizando tratamientos activos como los fluoridos tras el trasplante hepático.

c. EL SISTEMA INMUNE

i. INTRODUCCIÓN

El sistema inmune está constituido por un conjunto de elementos cuyo objetivo es mantener la integridad del organismo frente a sustancias extrañas, incluidos los microorganismos y macromoléculas como las proteínas o polisacáridos.

Para ello sus diferentes mecanismos quedan estructurados en dos niveles (Roitt y cols, 1996) (Fresno, 1997)

INMUNIDAD NATURAL O INNATA:

Constituida por una serie de mecanismos de defensa presentes antes de la exposición al agente extraño, que actúan de manera inmediata sin necesidad de período de latencia entre la exposición y el desencadenamiento de su acción, careciendo de especificidad y no aumentando por tales exposiciones. Está constituida por las **barreras físico-químicas naturales** (piel, mucosas, pH gástrico ácido, etc), las **células fagocíticas** (macrófagos, neutrófilos) y los **eosinófilos** de la sangre y los tejidos, un tipo especial de linfocitos llamados natural killer o células agresoras naturales, y **factores solubles** (citokinas derivadas de macrófagos, lisozima, proteínas de fase aguda y sistema del complemento).

INMUNIDAD ADQUIRIDA O ESPECÍFICA:

Mecanismos de defensa inducidos por la exposición a sustancias extrañas denominadas antígenos y que poseen como características más importantes: la especificidad, la memoria (posteriores encuentros con un mismo antígeno desarrollarán una respuesta inmune más eficaz e intensa) y la capacidad para amplificar los mecanismos protectores de la inmunidad natural. Está constituida por los **linfocitos y sus productos de secreción** (anticuerpos, citokinas derivadas de linfocitos, etc).

a) TIPOS DE INMUNIDAD ESPECÍFICA.

Las respuestas específicas del sistema inmune se pueden clasificar en función de los componentes del sistema inmunitario que actúan. Estas tienen en común que se inician tras el reconocimiento específico del antígeno por medio de la activación de un linfocito T helper o cooperador (Th0) (Abbas y cols, 1995). Las podemos subdividir en dos tipos:

Inmunidad humoral: mediada por anticuerpos. Es el principal mecanismo de defensa frente a microorganismos extracelulares y sus toxinas.

Inmunidad celular: se ocupa de la eliminación de microorganismos intracelulares a los que no pueden llegar los anticuerpos. Está mediada por los linfocitos T.

b) FASES DE LA RESPUESTA INMUNE.

Reconocimiento: en ella se produce la unión de los antígenos a los receptores específicos, que se hallan en la superficie de los linfocitos B y T.

Activación: conjunto de fenómenos que tienen lugar tras el reconocimiento del antígeno. Destacan la diferenciación hacia células efectoras de aquellas reconocedoras del antígeno y la proliferación de clones específicos de éste.

Fase efectora: aquí los linfocitos que han sido activados específicamente por los antígenos, realizarán las funciones tendentes a la eliminación de aquellos.

ii. COOPERACIÓN CELULAR EN LA RESPUESTA INMUNE

a) PRESENTACIÓN Y RECONOCIMIENTO DEL ANTÍGENO

Los anticuerpos y los receptores antigénicos de las células T tienen algunas características comunes, como poseer dominios constantes y dominios variables, así como el proceso de recombinación genética que produce los dominios variables. Sin embargo, las células B y T poseen mecanismos de reconocimiento de antígenos, diferentes.

Las células T, reconocen y responden a antígenos peptídicos extraños solamente cuando éstos están unidos a la superficie de otras células accesorias, en asociación a los productos de los genes del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) propio.

Los linfocitos T cooperadores CD4+, reconocen antígenos asociados a los productos de los genes de clase II del CMH. Las proteínas exógenas extrañas son internadas por las células presentadoras del antígeno y sufren un procesamiento que permite que los péptidos inmunodominantes de dicha proteína, se unan a las moléculas de clase II del CMH constituyendo complejos inmunogénicos que se expresan en la superficie de las células presentadoras de antígeno y son reconocidas por las células T CD4+. (Roitt y cols, 1996).

Los linfocitos T citotóxicos CD8+, reconocen antígenos asociados a los productos de los genes de clase I del CMH. Los antígenos diana de los linfocitos T CD8+ son las proteínas sintetizadas en el citosol celular (vg antígenos virales), que son transportados al retículo endoplásmico para su asociación a las cadenas de las moléculas de clase I del CMH.

Además, existen otras moléculas que intervienen en las interacciones moleculares entre la célula T y las células presentadoras de antígeno. Entre ellas destacan los receptores que interactúan con el endotelio y controlan el asentamiento

de los linfocitos en los diferentes tejidos, así como los antígenos de función linfocitaria LFA-1, LFA-2 y LFA-3.

LFA-1 y LFA-2 se hallan presentes sobre los linfocitos. Mientras que LFA-3 tiene una distribución más amplia. El ligando para LFA-1 es una molécula de adhesión intercelular denominada ICAM-1. el CD2 es un receptor para el antígeno de función linfocitaria 3 (LFA-3). Es probable que haya otras moléculas de superficie importantes en la presentación del antígeno, pero aún están sujetas a investigación. (Springer, 1990)

Los anticuerpos reconocen al antígeno en solución o sobre las superficies celulares, pero conservando el antígeno su morfología original. El anticuerpo puede producirse como receptor antigénico de las células B o como anticuerpo secretado, mientras que el receptor antigénico de las células T es una proteína de membrana.

b) RESPUESTA EFECTORA

Las células Th tienen un importante papel en la respuesta inmune, ya que seleccionan los mecanismos efectoros que van dirigidos contra los antígenos diana. La respuesta inmune puede estar mediada por células efectoras o bien llevarse a cabo gracias a la producción de anticuerpos dirigidos contra el antígeno. El tipo de reacción va a depender de cómo el antígeno es presentado a los linfocitos, y con gran frecuencia tendrá lugar ambos tipos de respuesta. (Konenberg y cols, 1986) (Clevers y cols, 1988)

La forma en que se realiza la selección del mecanismo efector no se conoce, pero parece relacionarse con la secreción de citocinas a partir de diferentes subpoblaciones de células Th. Las células que no han sido estimuladas previamente, células vírgenes (Thp), segregan sólo IL-2. Inmediatamente tras la estimulación, se desarrollan las células Th0, que pueden liberar una gran variedad de citocinas (IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10). Como respuesta a la estimulación crónica las células Th0 se diferencian en Th1 y Th2.

Las células Th1 segregan IFN- γ , IL-2, mientras que las Th2 liberan IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10. el patrón de secreción de citocinas puede dirigir las respuestas hacia cada uno de los mecanismos efectoros. Así Th1 tiende a activar a los macrófagos, mientras que Th2 incrementa la producción de anticuerpos. Una vez cesado el

estímulo, parte de las células permanecen recirculantes en forma de linfocitos T memoria (ThM), con capacidad de producir IL-2.

d) PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS POR LAS CÉLULAS B

La activación de las células B sólo alcanza su desarrollo completo en presencia de células T y sus productos, aunque puede tener lugar en ausencia de éstas células (Sanz y cols, 1997)

La primera sustancia liberada por las células T que actúa sobre las células B en reposo, es la IL-4. Las células B estimuladas por el antígeno, la IL-1 y la IL-4 aumentan su tamaño y se inicia el ciclo celular. Posteriormente las células B activadas se ponen en contacto con la IL-5 derivada también de las células T, interviniendo en el crecimiento de las células y en la producción de inmunoglobulinas. La IL-6, producida por las células T, determina la producción de inmunoglobulinas a ritmo elevado por las células B. Las células B activadas expresan receptores para la IL-2 que actúa como un potente factor de crecimiento y diferenciación. El IFN- γ también actúa como factor de diferenciación de las células B.

e) CITOTOXICIDAD MEDIADA POR CÉLULAS

La puesta en marcha de este mecanismo efector trae como consecuencia la lisis de células diana por un mecanismo directo. Esta forma de acción es realizada por diferentes tipos celulares: células T citotóxicas y células NK.

a. Citotoxicidad mediada por células anticuerpo-independiente.

Células T citotóxicas CMH-restringidas: este mecanismo es llevado a cabo por linfocitos, la mayoría de los cuales son CD8⁺, que reconocen antígenos en asociación con moléculas CMH de clase I, o moléculas de clase I extrañas en células

alógenicas o xenogénicas. Existen también células T citotóxicas CD4+, las cuales reconocen al antígeno unido a moléculas de clase II.

Células citotóxicas no restringidas por el CMH: las células que actúan por este mecanismo son las células NK. Se caracterizan por lisar células sin que intervenga el CMH. Al parecer reconocen estructuras de células en proliferación, aunque se desconoce cual es el receptor de la célula NK a través del cual se realiza el conocimiento.

b. Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos.

Las células NK, a través del FcRIII (CD16), pueden unirse y lisar células previamente recubiertas con IgG. Estas células se denominaban anteriormente células K, término en desuso, ya que no hay diferencias ni funcionales ni morfológicas con las células NK. Los macrófagos, que tienen también FcRIII, pueden presentar ADCC, aunque la lisis se efectúe de manera diferente.

En cualquiera de los casos tras la unión entre la célula citotóxica y las diana, tiene lugar un proceso ligado al calcio (Ca^{++}), en el que la célula efectora vacía su contenido de vesículas citoplasmáticas que contienen perforina, enzimas líticas y TNF α y β , que llevan finalmente a la muerte de la célula diana por un mecanismo de muerte programada por fragmentación de ADN (apoptosis) (McConkey y cols, 1990) (Hansson y cols, 1996)

f) ACTIVACIÓN DE MACRÓFAGOS

Los macrófagos actúan en todos los niveles de la respuesta inmune. En primer lugar intervienen como barrera de defensa inespecífica. A continuación pueden iniciar la respuesta inmune específica procesando y presentando el antígeno a los linfocitos Th. Finalmente, forman parte de la fase efectora de la respuesta mediada por células tras su activación por las células T, actuando como células inflamatorias, bactericidas y tumoricidas. (Edwards y Watson, 1995)

La activación de los macrófagos dependiente de las células T tiene lugar a través de la secreción de IFN- γ . Como consecuencia de la activación se producen algunos fenómenos:

Aumento en la expresión de antígenos de clase II y de receptores Fc.

Secreción de IL-1, IL-6 e IFN- γ (Martin y Edwards, 1994)

Liberación de mediadores inflamatorios.

Producción de óxido nítrico, proteasas, peróxido de hidrógeno, lisozima y proteínas catiónicas, que dan lugar globalmente a un aumento de la actividad lítica intracelular. (Marcinkiewicz y cols, 1996)

g) CÉLULAS T DE MEMORIA

La activación primaria de las células T no sólo induce respuestas efectoras, también conduce al desarrollo de una población de células T de memoria que darán lugar a una respuesta mayor y más rápida ante un nuevo contacto con el antígeno. Las células T memoria pueden diferenciarse de las células T vírgenes no sólo por su capacidad de respuesta funcional, sino también por la expresión de marcadores de superficie. (Sanders y cols, 1988)

La molécula CD45 es expresada por todas las células linfoides y mieloides. Se trata de una glicoproteína asociada a CD4 y CD8 con una función reguladora de la activación linfocitaria por medio del estímulo de la actividad kinasa de p56lck. Hay diferentes isoformas de la molécula CD45 con un peso molecular entre 180 y 240 kD, las cuales son expresadas de forma específica por diferentes tipos celulares.

Las células T vírgenes presentan característicamente una forma de alto peso molecular, CD45RA, mientras que las células activadas y memoria expresan predominantemente la forma de menor peso molecular, CD45RO. La expresión diferencial de isoformas de CD45 puede distinguir entre células vírgenes y memoria, de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ y células T δ ⁺. (Akbar y cols, 1988)

Las células activadas y de memoria expresan además niveles mayores de moléculas de adhesión, tales como LFA-1, CD29 (VLA β) y diferentes cadenas VLA α . Las células activadas también presentan moléculas CMH de clase II y la

cadena α del receptor para la interleukina 2 (CD25). Se ha visto una alta expresión de ICAM-1 (CD54) en células T activadas. Estos tres marcadores de activación celular T se expresan también a bajo nivel por células T memoria (Akbar y cols, 1991).

iii. CITOKINAS

Las citokinas son una serie de factores solubles no antígeno específicos, que se sintetizan fundamentalmente por los leucocitos, en respuesta a estímulos antigénicos o inflamatorios, actuando por medio de su unión a receptores específicos de la misma célula que las produce (acción autocrina), de células cercanas (acción paracrina) o de células distantes (acción endocrina) (Gehr y cols, 1992)

Estas moléculas incluyen a las interleukinas (IL), linfokinas, interferones y monocinas (Prieto y cols, 1997). Como consecuencia de las definiciones funcionales de las citokinas se creó un sistema de nomenclatura impreciso, que pudo consensuarse en el 2º Congreso Internacional de linfokinas, utilizándose a partir de entonces una terminología que se ceñía a factores bien caracterizados por criterios bioquímicos y biológicos. (Mizel y Farrat, 1979). de esta manera se crea el término interleukina para definir factores que actúan como señales de comunicación entre diferentes poblaciones de leucocitos.

Algunas citokinas han mantenido una terminología propia, quizás por realizar una actividad más específica. Entre ellas se encuentran los interferones, el factor de necrosis tumoral, etc.

Sus **funciones** son variadas pudiendo actuar como:

- Mediadores de la **inmunidad natural** (incluye a la interleukina-1, interleukina-6, factores de necrosis tumoral e interferones tipo I antivirales, que provienen fundamentalmente de los fagocitos mononucleares).
- **Regulando** la activación, proliferación y diferenciación de los **linfocitos T y B** (incluye a la IL-2, la IL-4, el factor transformador del crecimiento- β , secretados por los linfocitos CD4+).
- Como **mediadores del proceso inflamatorio** (interferon γ , IL-10, IL-5 e IL-12, producidas por los linfocitos T CD4+ y CD8+).

- Como **factores estimuladores de colonias**.(Prieto y cols, 1997).

a) INTERLEUKINA-1 (IL-1).

Está producida por los fagocitos mononucleares activados, aunque también por células dendríticas, monocitos, linfocitos B y células hísticas como los fibroblastos, células epiteliales, endoteliales, etc.

Existen dos formas IL-1 α e IL-1 β producidas por dos genes diferentes y aunque muestran una homología estructural menor del 25%, sus funciones biológicas son idénticas al igual que su afinidad por los mismos receptores de superficie. Se han caracterizado dos tipos de receptores con homología estructural con la superfamilia de las inmunoglobulinas, poseen la misma afinidad por las IL-1 α e IL-1 β , aunque distinta distribución tisular. (Solari, 1990).

Varios son los efectos de la IL-1 (Dinarello y Wolf, 1993):

- Actúa como mediador local de la inflamación, estimulando tanto en los fagocitos mononucleares como en el endotelio vascular, la síntesis de IL-1 e IL-6.
- Actúa sobre las células endoteliales, aumentando la expresión de moléculas de superficie que median en la adhesión de los leucocitos, y promoviendo la coagulación.(Dinarello, 1992)
- Puede tener también efectos endocrinos, cuando secretada en grandes cantidades, pasa al torrente circulatorio. De esta manera puede inducir la síntesis de proteínas de fase aguda a nivel hepático, puede producir fiebre, puede actuar sobre el sistema esquelético estimulando a los osteoclastos y sobre la médula ósea estimulando la hematopoyesis.

b) INTERLEUKINA-2 (IL-2).

Es una glucoproteína de unos 17 kD, sintetizada por las células CD4+ y algo menos por las CD8+ y las células NK.

La IL-2 puede ejercer como factor autocrino de proliferación, actuando sobre la misma célula que lo produce, o bien como factor paracrino, actuando en este caso sobre los linfocitos T cercanos. Estimula así mismo la proliferación de las células NK, aumentando su función citolítica. Sobre las células B actúa como factor de proliferación y sirve como estímulo en la síntesis de inmunoglobulinas.

Las acciones de la IL-2 sobre las células T están mediadas por la unión a su receptor. Se han identificado dos proteínas de membrana capaces de unirse a la IL-2. Un polipéptido de 55 kD, llamado IL-2R- α , que aparece tras la activación de la célula T y de cuya unión a la IL-2 no se conoce ninguna respuesta biológica, y un polipéptido de 70 kD, llamado IL-2R- β , con mayor afinidad por la IL-2 que el anterior. Este último se expresa unido de forma no covalente a otro polipéptido llamado IL-2R- γ , constituyendo un complejo llamado IL-2R- $\beta\gamma$. La IL-2 estimula la proliferación de aquellas células que expresan sólo el IL-2R- $\beta\gamma$. La IL-2R- α forma un complejo con el IL-2R- $\beta\gamma$, que aumenta la afinidad de éste último por la IL-2, permitiendo que se produzca una señal de proliferación con menores concentraciones de IL-2 (Minami y cols, 1993) (Asao y cols, 1993)

c) INTERLEUKINA-3 (IL-3).

Es un polipéptido de unos 25 kD producido por las células T CD4+. Actúa sobre gran cantidad de células diana como macrófagos, megacariocitos, mastocitos y neutrófilos, estimulando el crecimiento de colonias desde sus precursores hematopoyéticos. (Schrader, 1986)

d) INTERLEUKINA-4 (IL-4).

Fundamentalmente la producen los linfocitos T CD4+ del subgrupo TH2, aunque también la pueden producir los mastocitos y basófilos activados, así como algunas células T CD8+.

Su principal función biológica es regular las reacciones alérgicas, así: (Stout y Bottomly, 1989)

- Inhibe la activación del macrófago mediante el bloqueo de los efectos del interferón- γ .
- Actúa como un factor de proliferación de los mastocitos.

- También estimula la expresión de ciertas moléculas de adhesión (molécula de adhesión celular vascular-1).
- Estimula la proliferación de células B.

e) INTERLEUKINA-5 (IL-5).

Es una citokina producida por los linfocitos T CD4+ del subgrupo TH2 y por los mastocitos activados. su peso molecular es de unos 40 kD. Estimula la proliferación y diferenciación de los eosinófilos y activa los eosinófilos maduros. También estimula la proliferación y diferenciación de las células B, actuando de forma sinérgica con las IL-2 e IL-4. (Takatsu, 1992)

f) INTERLEUKINA-6 (IL-6).

Producida por los fagocitos mononucleares, las células endoteliales vasculares, los fibroblastos y las células T activadas, es una citokina de 26 kD. Su síntesis se estimula por el factor de necrosis tumoral y la IL-1.

Sus principales acciones biológicas son:

- Actuar como factor de proliferación para las células B activadas en fases avanzadas de su diferenciación .
- Contribuir a la respuesta de fase aguda induciendo la síntesis de fibrinógeno y otras proteínas plasmáticas.

Sus propiedades antiinflamatorias también se deben en parte, a la inducción de la síntesis de antagonistas de los receptores de la IL-1 (IL-1 Ra) y a la liberación de receptores solubles del factor de necrosis tumoral (p55) (Tilg y cols, 1994) Además puede actuar como cofactor de otras citokinas, en la proliferación de células madre hematopoyéticas y como estimulador de las células T y los timocitos. (Hirano, 1994)

g) INTERLEUKINA-7 (IL-7).

Es una leukina que actúa sobre progenitores hematopoyéticos de las células B. La segregan las células estromales de la médula ósea. (Henney, 1989)

h) INTERLEUKINA-8 (IL-8).

Leukina implicada en la quimiotaxis de neutrófilos y células T. La producen los macrófagos, fibroblastos y células endoteliales en respuesta al factor de necrosis tumoral y a la IL-1. (Djeu y cols, 1990)

i) INTERLEUKINA-9 (IL-9).

Es una proteína de 30 a 40 kD que induce la proliferación de algunas líneas de células T y de los progenitores de los mastocitos en la médula ósea. (Houssiau y cols, 1992)

j) INTERLEUKINA-10 (IL-10).

Proteína que inhibe la producción de citocinas por parte de los macrófagos (TNF, IL-1 e IL-2) así como la activación de la célula T por parte de los macrófagos. Esta producida por linfocitos T CD4+, algunas células B activadas y por macrófagos activados. (Moore y cols, 1993) (Mossman, 1994)

k) INTERLEUKINA-12 (IL-12).

Es un importante regulador de las respuestas inmunitarias mediadas por células pues es un potente activador de las células NK. También actúa como regulador en la fase efectora de las reacciones inmunitarias mediadas por células estimulando la diferenciación de células T CD8+ a linfocitos T citotóxicos activos y maduros. Tiene dos cadenas polipeptídicas. Es producida básicamente por los monocitos activados y por las células B. (Schoenhaut y cols, 1992)

l) INTERFERONES (IFN).

Son una familia heterogénea de proteínas que podemos dividir en dos tipos: El **tipo I** que incluye al IFN- α y al IFN- β ,y que comparten el mismo receptor y el **tipo II** o IFN- γ que se une a un receptor distinto (Farrar y Schreiber, 1993). Ambos tipos estimulan la síntesis de proteínas capaces de inhibir la replicación viral y de regular el crecimiento celular, gracias a la unión específica a sus receptores de membrana con las células diana.

- Tipo I: IFN- α e IFN- β

Estimulan la proliferación y diferenciación de las células B, la actividad de las células NK y aumentan la expresión de CMH de clase I. Inhiben la expresión de CMH de clase II.

- Tipo II: IFN- γ

Es una glucoproteína segregada por células T CD4+, células T CD8+ y por células NK estando aumentada su producción por la acción de la IL-2 y la IL-12. Posee dos subunidades que contienen un polipéptido idéntico de 18 kD.

Sus principales acciones inmunoregulatoras son las siguientes: (Sen y Lengyel, 1992)

- Es un potente activador de los fagocitos mononucleares, aumenta el número de receptores para la fracción Fc de la IgG, contribuye al aclaramiento de inmunocomplejos, al aumento de la capacidad fagocítica y de la capacidad lítica celular.

- Por otro lado, aumenta la expresión de moléculas de clase I del CMH, y al contrario que el IFN tipo I, también las de clase II del CMH en diversas células.

- Promueve la diferenciación de las células T CD4+ nativas al subgrupo Th1 e inhibe la proliferación de células Th2. Intervienen en la maduración de los linfocitos T CD8+ y promueve la diferenciación de las células B.

- Activa a los neutrófilos y estimula la actividad citolítica de las células NK.

- Activa a las células endoteliales vasculares facilitando la adhesión y extravasación de los linfocitos T CD4+.

m) FACTOR TRANSFORMADOR DEL CRECIMIENTO - β (TGF- β).

Es una familia de moléculas codificadas por genes diferentes. Está producido por un amplio número de tipos celulares, incluyendo células T activadas y fagocitos mononucleares activados por el lipopolisacárido.

Es un regulador negativo de las respuestas inmunitarias; inhibe la proliferación de las células T y la maduración de los linfocitos T citotóxicos. También puede inhibir la activación de los macrófagos y antagonizar los efectos de las citokinas pro-inflamatorias. (Sasaki y cols, 1992) (Moses y cols, 1990)

n) FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (TNF α)

El **factor de necrosis tumoral α** es una citokina polipeptídica producida por los monocitos, macrófagos y linfocitos T activados, que juega un importante papel durante la respuesta inmune y como mediador del proceso inflamatorio. (Beutler y Cerami, 1988)

Se sintetiza inicialmente como una proteína transmembrana, no glicosilada de unos 25 kD. El extremo aminoterminal, es intracelular y el carboxiterminal, extracelular. Un fragmento de 17 kD del extremo carboxiterminal, es escindido de la membrana plasmática, por proteólisis, dando lugar a la forma secretada.

Ejerce sus efectos biológicos mediante la unión específica a sus receptores de la superficie celular. Existen dos receptores de diferente estructura molecular: (Hohmann y cols, 1989) (Olsson y cols, 1993) el **tipo I o TNF-R55** (de 55 a 60 kD) y el **tipo II o TNF-R75** (con 75 a 80 kD). Las porciones extracelulares de ambos receptores poseen una estructura idéntica en un 28%, pero los dominios intracelulares son diferentes. La mayoría de tipos celulares y tejidos expresan ambos tipos de receptores. El interferón γ puede inducir la expresión de los dos tipos de receptores sobre la superficie celular. (Pandita y cols, 1992)

Las células activadas se desprenden de sus receptores para el TNF (Nophar y cols, 1990). Estos receptores solubles del factor de necrosis tumoral actúan como moduladores de las funciones biológicas del factor de necrosis tumoral α , de esta manera:

- Actúan como antagonistas o inhibidores del TNF (bloqueando su acción directamente, mediante competición con sus receptores de superficie celular o uniéndose a las proteínas transportadoras de TNF α).
- Mantienen los efectos del TNF α mediante la disminución del paso a la forma monomérica inactiva con lo cual, sirven de reservorio bioactivo de TNF y prolongan así su actividad. (Díez-Ruiz y cols, 1994)

Las concentraciones elevadas de estos receptores solubles son indicador de la activación de la inmunidad celular. (Zangerle y cols, 1994)

Las acciones biológicas del TNF- α son las siguientes:

Acciones paracrinas:

Produce la expresión de receptores de superficie en las células endoteliales vasculares, haciendo la superficie endotelial adherente a los leucocitos.

Activa a los neutrófilos, induciendo la citólisis de microorganismos.

Estimula fagocitos mononucleares a producir citokinas (IL-1, IL-6...).

Aumenta la expresión de moléculas de clase I del CMH.

Acciones sistémicas:

Actúa sobre las células reguladoras hipotalámicas como pirógeno endógeno.

Estimula la secreción a la circulación de las IL-1 e IL-6 por parte de los fagocitos mononucleares.

Estimula la síntesis hepática de proteínas séricas, como la proteína A del amiloide.

Altera el equilibrio procoagulante-anticoagulante del sistema de la coagulación.

Suprime la división de la célula madre de la médula ósea.

o) LINFOTOXINA O FACTOR DE NECROSIS TUMORAL β .

Es una glucoproteína de 21 a 24 kD que presenta una homología de aproximadamente el 30 % con el TNF- α y compite con él por la unión a los mismos receptores.

Se sintetiza como una proteína secretada por los linfocitos T activados. Sus acciones biológicas son similares al TNF- α , aunque predominan sus acciones paracrinas.

iv. NEOPTERINA

Es un producto de degradación proveniente de la biosíntesis de la tetrahidrobiopterina. Una sustancia producida por los macrófagos después de ser estimulados con interferón- γ o lipopolisacárido. Pertenece a la familia de las pteridinas. (Blau y cols, 1989) Su estructura (2-amino-4-hidroxi-6-(1,2,3-trihidroxipropil)-pteridina), fue identificada en 1963. (Rembold y Buschmann, 1963).

Las funciones bioquímicas y fisiológicas de la neopterina o de la 7,8-dihidroneopterina procedentes de su oxidación, no están bien establecidas en la actualidad. La producción y liberación de ambos componentes acompaña a la activación de los macrófagos inducida por la acción del interferón γ tanto in vitro como in vivo. La exposición de los macrófagos al interferón- γ produce un aumento de la secreción de formas reducidas de oxígeno molecular similares al anión superóxido o al peróxido de hidrógeno. La activación de los macrófagos por el interferón- γ induce la capacidad de producir una gran cantidad de peróxido de hidrógeno y este paso es paralelo a la síntesis de neopterina. Por tanto, la neopterina no tiene una función biológica propia conocida en la actualidad, sino que es un indicador de la activación de la inmunidad celular, por la producción endógena de interferón- γ por los monocitos macrófagos activados. (Watcher y cols, 1989) (Wachter y cols, 1992)

Existe una correlación positiva entre la respuesta inmune y las concentraciones de neopterina, tanto in vivo como in vitro. Varios estudios clínicos ponen de manifiesto el incremento de las concentraciones de neopterina tanto en suero como en orina, en pacientes afectados de enfermedades en las que es conocida su asociación con la activación de la inmunidad celular, como hepatitis virales (Reibnegger y cols, 1988), diferentes infecciones (Fuch y cols, 1983), rechazo de aloinjertos (Niederwieser y cols, 1984), enfermedades autoinmunes (Hausen y cols,

1983), tumores (Reibnegger y cols, 1986) y en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida. (Fuchs y cols, 1991) (Domingo y cols, 1993)

En enfermedades hepáticas han sido observados niveles altos de neopterinina, tanto en suero como en orina de pacientes con hepatitis agudas, crónicas y cirrosis hepática. (Prior y cols, 1987) (Reibnegger y cols, 1988, Antoniello y cols, 1989).

En la actualidad se trata de relacionar los niveles de neopterinina en las diferentes enfermedades hepáticas con las fases de la enfermedad, etiología y gravedad de dichas enfermedades.

v. ALTERACIONES DEL SISTEMA INMUNE EN LA CIRROSIS

Los mecanismos responsables del inicio y la progresión de las lesiones hepáticas en la enfermedad hepática alcohólica no se conocen bien en la actualidad. En los pacientes afectados de cirrosis alcohólica se produce una progresión del daño hepático a pesar del abandono de la ingesta etílica. Este hecho sugiere la participación de un mecanismo perpetuador, existiendo múltiples evidencias de la intervención del sistema inmune en la progresión de la enfermedad. (Paronetto, 1993)

La elevada susceptibilidad a las infecciones bacterianas, sobre todo en pacientes que han desarrollado una cirrosis, pone de manifiesto la existencia de alteraciones tanto a nivel celular como humoral en el sistema inmune. (Rolando y Wyke, 1991)

Se han postulado distintos mecanismos para explicar el ataque inmune en la hepatopatía alcohólica.

Se ha atribuido capacidad antigénica a la hialina detectada en el suero y en los hepatocitos de pacientes con enfermedad hepática alcohólica. (Zetterman, 1990)

En el suero de pacientes con hepatopatía alcohólica se ha detectado anticuerpos frente a estructuras del hepatocito, semejantes a los descritos en la cirrosis biliar primaria. Estos anticuerpos se dirigen frente a la proteína específica hepática (LSP) y al antígeno hepático de membrana (LMA). (Kaku y cols, 1988.) La existencia de estos anticuerpos podría explicarse por la exposición de antígenos del hepatocito tras el daño celular mediado por el alcohol, lo que desencadenaría una respuesta inmunitaria. Se desconoce el papel que pueden tener los autoanticuerpos en

la génesis de la cirrosis, aunque se ha sugerido que la unión de etanol y acetaldehído a la membrana del hepatocito puede dar lugar a la formación de neoantígenos que desencadenarían la respuesta inmunitaria. (Thompson y cols, 1991)

Los niveles de **IgA** están aumentados en todas las formas histológicas de hepatopatía crónica alcohólica y este incremento se correlaciona con el grado de insuficiencia hepática. (González y cols, 1982) Este aumento de IgA puede ser causado por la lesión que se produce en la mucosa gastrointestinal por la ingesta crónica de alcohol. (Dunne, 1989)

Se ha implicado a la IgA en la patogenia de la enfermedad hepática alcohólica al activar al sistema mononuclear fagocítico y la síntesis de mediadores citotóxicos (IL-1 y TNF α). (Koskinas y cols, 1992) También se ha relacionado a la actividad de la IgA con una reducción de la capacidad quimiotáctica y de agregación de los leucocitos, así como con una deficiente respuesta celular para el C5a del complemento. (Rajkovic y cols, 1986) (Onishi y cols, 1989)

Las causas de esta elevación de inmunoglobulinas son diversas. Por un lado serían reflejo de la respuesta inmune ante un estímulo antigénico repetido. El hígado lesionado tiene menor capacidad para el aclaramiento antigénico y la existencia de cortocircuitos portosistémicos daría lugar a una mayor antigenemia y al estímulo de los linfocitos, responsables de la hipergammaglobulinemia. (Nolam, 1989) (Spinozzi y cols, 1987) No obstante, en pacientes con obstrucción extrahepática de la vena porta, que también presentan estos cortocircuitos, no se evidencia aumento de inmunoglobulinas, por lo que este factor no parece ser determinante. (Webb y cols, 1980)

En pacientes con hepatopatía alcohólica se describen **alteraciones en la regulación de los linfocitos B**, que podrían estar relacionados con el aumento de la síntesis de inmunoglobulinas. (Esparza y cols, 1991) Por otra parte, se detectan **anticuerpos no órganoespecíficos** comunes a otras enfermedades hepáticas, tales como anticuerpos antinucleares, antimitocondriales y antimúsculo liso, lo que hace suponer la existencia de alteraciones en la inmunoregulación. (Thomson y cols, 1991)

Existen evidencias clínicas de que el etanol está relacionado con la depresión de la inmunidad celular incluyendo altas incidencias de tuberculosis y neoplasias en

pacientes alcohólicos y test cutáneos de hipersensibilidad retardada con respuesta hipoérgica. (Lieber y cols, 1979) (Ledesma y Pons, 1991) (Gómez y cols, 1994) Esta depresión esta posiblemente causada por el efecto directo del alcohol sobre las funciones de los neutrófilos y de los fagocitos mononucleares.

Están descritas un gran número de **alteraciones linfocitarias** incluyendo linfopenia en sangre periférica (posiblemente secundaria al secuestro hepático de linfocitos CD8+ activados) (Pape y cols, 1983) (Mutchnick y cols, 1990), reducción de la producción in vitro de IL-2, y disminución de la actividad citotóxica de las células NK. (Hirofuji y cols, 1987)

Diversas **pruebas “in vitro”** ponen también de manifiesto la alteración de la inmunidad celular en la enfermedad hepática alcohólica. La transformación linfocitaria en respuesta a fitohemaglutinina (PHA) se encuentra disminuida en estos pacientes (Cuppone y cols, 1988), mientras que la respuesta en linfocitos procedentes de individuos sanos estimulados con PHA en presencia de suero de cirróticos está descendida. Por otra parte, las células T de pacientes con hepatopatía alcohólica presentan una disminución de la actividad supresora tras la estimulación con concavalina-A. (Mutchnick y Lee, 1988) (Spinozzi y cols, 1993)

En modelos experimentales los linfocitos desarrollan citotoxicidad frente a las células hepáticas en un estadio temprano de la enfermedad, pudiendo ser uno de los mecanismos iniciales del daño hepático. (Thestrup-Pedersen y cols, 1988)

Se ha demostrado un aumento de la expresión antigénica del **complejo mayor de histocompatibilidad de clase II** en los linfocitos T de pacientes con hepatopatía crónica, más evidente en hepatitis crónica activa, en cirrosis alcohólica HbsAg + y en cirrosis biliar primaria, y en menor grado en cirrosis hepática HbsAg -. (Scudeletti y cols, 1986) (Chedid y cols, 1993)

Se han evidenciado mediante técnicas de inmunoperoxidasa, el incremento del número de **linfocitos CD4+ y CD8+** a nivel portal y sinusoidal en hígados de pacientes alcohólicos. (Chedid y cols, 1993)

También se ha observado que la **actividad NK** estaba disminuida en pacientes con hepatopatía alcohólica. (Nakajima y cols, 1986) Este descenso de la actividad NK y de la función citotóxica general puede deberse a la alteración en la producción de interferón y de IL-2, a alteraciones funcionales de los linfocitos o a

factores inhibidores séricos. (Roughneen y cols,1988). Se ha sugerido que el descenso de la actividad NK pudiera ser un factor predictivo para el desarrollo de hepatocarcinoma. (Nakajima y cols, 1987)

Distintos estudios demuestran alteraciones en los niveles de citokinas séricas en pacientes con hepatopatía alcohólica, que parecen desempeñar un papel fundamental en el desarrollo de la enfermedad, interviniendo en la regulación de las relaciones entre monocitos, células de Kupffer y otros tipos celulares. (Deviere, 1992)

En diferentes trabajos se ha evidenciado la elevación de $TNF\alpha$, $IL-1\beta$ e $IL-6$ en pacientes con cirrosis hepática de etiología alcohólica, así como el descenso de $IL-2$, $IFN\alpha$ e $IFN\gamma$. (Díez-Ruiz y cols, 1993) (Vicente-Gutiérrez y cols, 1991)

Los **altos niveles de endotoxina** en la circulación portal y sistémica condicionan la liberación por parte del sistema mononuclear fagocítico de $IL-1$, $IL-6$ y $TNF\alpha$. (Tilg y cols, 1992)

Recientemente se han comunicado también elevados niveles de **receptores solubles del TNF** (sTNF-R55) en pacientes con cirrosis de etiología alcohólica. (Díez y cols, 1995)

El efecto más importante que se atribuye a las citokinas en el desarrollo de la cirrosis hepática es su acción reguladora sobre la fibrogénesis hepática. En modelos experimentales se observa que las células perisinusoidales (células de Ito, lipocitos parasinusoidales), se transforman bajo estímulos inflamatorios en miofibroblastos, los cuales tienen una gran capacidad de síntesis de colágeno. Esta transformación está mediada por el $TGF\beta$, el cual es sintetizado por macrófagos hepáticos y por células endoteliales. (Gressner, 1992) Además, los macrófagos peritoneales y los monocitos de sangre periférica estimulados por $IL-2$ expresan genes que codifican diversas citokinas, tales como $IL-1$, $TNF\alpha$, $TGF\beta$ y $PDGF$. (Kovacs, 1991)

Las células mesoteliales peritoneales parecen ser capaces de producir diversas citokinas bajo determinadas circunstancias. Se ha detectado en cultivos de estas células la síntesis de $IL-1\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-6$, M-CSF y G-CSF. La producción de estas citokinas parece estar regulada por la $IL-1$. (Lanfrancone, 1992)

También está descrito el aumento de los niveles de **neopterina** tanto en orina como en suero en pacientes con hepatitis agudas, crónicas y cirrosis hepática. Estas

concentraciones elevadas de neopterinina están asociadas con la activación de la inmunidad celular. (Reibnegger y cols, 1988) (Antoniello y cols, 1989) (Daito y cols, 1992)

Los mecanismos responsables del daño hepatocelular presente en las hepatopatías crónicas de origen vírico, no están aún perfectamente aclarados. No se conoce bien si este daño celular se produce a través de un efecto citopático directo de estos virus, o bien es consecuencia de la respuesta del sistema inmune frente a los mismos. (Cerny y Chisary, 1994) (González y cols, 1994).

El papel que desempeñan determinados mediadores del sistema inmune en el daño celular hepático ha sido puesto de manifiesto en varios estudios inmunohistoquímicos que muestran la intervención de moléculas de adhesión dependientes de las citokinas en la patogenia de estos procesos. (Mosnier y cols, 1994) (Jaeschke, 1997)

En estos últimos años han sido descritos numerosos mediadores inmunológicos con posibles implicaciones en la patogenia de las hepatopatías crónicas de origen viral, incluyendo citokinas, receptores de citokinas, enzimas intracelulares o componentes solubles de los receptores de las células T. Todos ellos constituyen un sistema regulador esencial en el adecuado funcionamiento del sistema inmune, estando implicados en el inicio de la respuesta inmune intrahepática y en la lesión celular en el curso de las hepatopatías virales. (Andus y cols, 1991)

Los **linfocitos T CD4** son fundamentales en la inducción de la respuesta antiviral y pueden ser subdivididos de acuerdo con la secreción de citokinas predominante. (Mossmann y cols, 1986) Las células Th1 producen citokinas como la IL-2 y el interferon- γ que promueven la respuesta inmune celular, mientras que las células Th2 producen citokinas como la IL-4 e IL-10 que median la respuesta inmune humoral.

En un trabajo reciente se postula que la progresión del daño celular hepático en hepatopatías crónicas por virus C, sería consecuencia de un aumento de citokinas producidas por linfocitos **Th1** con respecto a las producidas por los Th2, relacionando por tanto el daño hepático con reacciones de hipersensibilidad retardada. (Napoli y cols 1996)

Se ha demostrado un aumento de **células T citotóxicas** en hígados de pacientes con infección aguda o crónica por el virus B. (Onji y cols, 1988) Esta actividad de las células T produce **interleucina 2** y ésta a su vez estimula la producción de receptores de IL-2 y de receptores solubles de IL-2 (**sIL-2R**).

Varios estudios muestran que los niveles de sIL-2R están significativamente elevados en pacientes con hepatitis C con respecto a los controles, y que este incremento se correlaciona con la severidad del daño hepático. (Yamaguchi y cols, 1988) (Alberti y cols, 1989) (Izzo y cols, 1996)

En los últimos años se ha desarrollado un nuevo modelo experimental de hepatitis con lesiones inflamatorias hepáticas específicas tras la inyección de concanavalina A. (Tiegs y cols, 1992) En recientes trabajos se ha demostrado que se produce un gran aumento de **interferon- γ** y de **factor de necrosis tumoral** tras la inyección de concanavalina A. El tratamiento previo con anticuerpos monoclonales anti IFN- γ y anti TNF, resultaba ser un potente protector frente al daño hepático (Mizuhara y cols, 1996), así como la administración de IL-6 (Mizuhara y cols, 1994). Estos trabajos indican que tanto el IFN- γ como el TNF juegan un importante papel en la inducción de la activación de las células T asociada a la hepatitis, y sus manifestaciones pueden ser prevenidas con IL-6 a través de mecanismos que reducen la secreción de IFN- γ y TNF.

Existen dos tipos de **receptores para el factor de necrosis tumoral** que median diferentes efectos del TNF- α . El TNF-R 55 media los efectos citotóxicos, la proliferación de fibroblastos y la actividad antiviral, mientras que el TNF-R 75 está implicado en la proliferación de timocitos y la síntesis de factor estimulador de colonias de granulocitos. (Tartaglia y cols, 1991) (Vandenabeele y cols, 1992) (Heller y cols, 1992) Formas solubles de ambos tipos de receptores de TNF están presentes en suero derivados de la proteólisis de los receptores de superficie celulares y se elevan significativamente durante los procesos inflamatorios. (Porteu y Nathan, 1990) En estudios recientes se ha puesto de manifiesto que en hepatitis crónicas por virus B están significativamente aumentados los niveles de receptores solubles de TNF, siendo mediadas la actividad citotóxica directa y las acciones antivirales principalmente por el TNF-R 55, mientras que el aumento de TNF-R 75 se asocia al

incremento de los niveles de TNF- α y a la seroconversión HbeAg a anti-Hbe tras el tratamiento con interferon. (Marinos y cols, 1995)

La **neopterina** es secretada en grandes cantidades por los monocitos-macrófagos humanos en respuesta a la estimulación con interferón- γ . Diversos trabajos han encontrado una asociación entre el incremento de secreción de neopterina y hepatopatías crónicas virales, relacionándose así mismo con la severidad de las manifestaciones clínicas de la hepatitis. (Wachter y cols, 1992) (Wilmer y cols, 1995)

vi. ALTERACIONES INMUNOLÓGICAS EN LA OSTEOPOROSIS

Se piensa que un desequilibrio entre la formación y resorción ósea es la causa responsable de la osteoporosis.

La remodelación ósea se regula por varias hormonas circulantes (estrógenos, andrógenos, vitamina D, PTH), factores de crecimiento locales (IGF-I y II), prostaglandinas, interleukinas, factor de necrosis tumoral y ligandos de osteointegrinas.

Se ha visto en algunos trabajos que hay una menor respuesta en los pacientes osteoporóticos ante la administración de antígenos de histocompatibilidad en cultivos de leucocitos. Este defecto se debe tanto a una pobre respuesta en la población linfocitaria, como a un factor supresor en el suero osteoporótico. Hay además un aumento significativo tanto en valores absolutos como relativos de células T en sangre periférica de los pacientes, mientras que los niveles en plasma de IgG, IgA e IgM permanecen normales. (Duke-Cohan y cols, 1985)

En los últimos diez años se han realizado múltiples investigaciones en relación a la fisiopatología de dos péptidos ubícuos, el IGF-I e IGF-II. Los sistemas reguladores que controlan la bioactividad tisular de las IGF se han definido. Tanto las concentraciones circulantes como las tisulares de IGF son importantes para definir la relación entre la IGF-I y la actividad celular. La IGF-I circulatoria, ósea y la hepática han sido las más estudiadas por los investigadores en parte por su fácil determinación y también por su interacción con enfermedades tales como la

osteoporosis. (Rosen, 1999) Hay una relación numérica entre IGF-I medible y masa ósea o riesgo de fracturas. En situaciones de desnutrición crónica que pueden llevar a inestabilidad musculoesquelética o fracturas la síntesis hepática de IGF-I está dificultada. Parece ser que bajos niveles de IGF-I circulantes son causa de osteoporosis. No se sabe con certeza si los niveles plasmáticos de este producto reflejan las concentraciones tisulares, aunque algunos trabajos apuntan hacia estas teorías (Rosen, 2000) (Yakar y cols, 2002) La densidad ósea mineral se correlaciona con los niveles plasmáticos de IGF-I y con la severidad de los procesos patológicos, y en patologías que cursan con alteraciones del sistema inmune como cirrosis de etiología viral, bajos niveles plasmáticos de IGF-I juegan un importante papel tanto en la génesis de osteoporosis como en la pérdida de masa ósea. (Gallego Rojo y cols, 1998)

La osteoprotegerina es un regulador del metabolismo óseo que también influye en algunos procesos que tienen lugar en el sistema inmune, fundamentalmente en el desarrollo de las células B. Un descenso en la síntesis de esta sustancia o una alteración en el gen que la regula se traduce en una alteración del metabolismo óseo y menor respuesta en la producción de una reacción antígeno específica por medio de la IgG3. En procesos patológicos óseos relacionados con este déficit hay también una alteración inmune. (Yun y cols, 2001)

También se ha identificado el alcohol como causa de osteoporosis, el abuso crónico de esta sustancia ha sido identificado como causa de un descenso en la masa ósea y un aumento en la incidencia de fracturas. El efecto era provocado al alterar el metabolismo óseo a través de sus efectos en la síntesis de hormonas sexuales y en la liberación de citocinas, efecto notablemente mayor en mujeres menopausicas. Parece que la IL-1 y el TNF tienen un papel causal directo en la pérdida ósea que se produce en la pérdida estrogénica y estudios han demostrado que las mismas citocinas se producen en la enfermedad hepática inducida por alcohol con el mismo efecto potencial en la pérdida ósea (Kimble, 1977)

En algunas enfermedades de etiología autoinmune que asocian osteopenia y osteoporosis, como la enfermedad celíaca, se han descubierto la presencia de autoanticuerpos circulantes antihueso, contra la matriz cartilaginosa, pericondrio y superficie ósea, en áreas donde tenía lugar un proceso activo de mineralización. Son

anticuerpos tipo IgA que reconocen la transglutaminasa ósea tisular como autoantígeno. (Sugai y cols, 2002)

También en artritis reumatoide hay estudios que demuestran la existencia de asociación entre un incremento en la resorción ósea tanto periarticular como sistémica y un aumento en la secreción de IL-6, junto a una regulación negativa de los niveles plasmáticos de PTH y de 1-25(OH)₂D₃, que se traduce en un descenso en la formación de hueso. Se puede concluir que la IL-6 es un marcador crítico de aumento en la resorción ósea en mujeres menopausicas con AR, y que los niveles plasmáticos de 1-25(OH)₂D₃ están inversamente relacionados con la activación de células T. (Oelzner y cols, 1999)

OBJETIVOS

III. OBJETIVOS

1º. Estudiar las posibles **alteraciones de la activación del sistema inmune** (mediante las determinaciones de los niveles plasmáticos del receptor soluble de factor de necrosis tumoral, receptor soluble de la interleukina 2 y neopterina) en pacientes con **cirrosis de etiología alcohólica**.

2º. Valorar las posibles alteraciones de la **masa ósea y del metabolismo mineral** en pacientes con cirrosis de etiología alcohólica.

3º. Comprobar si hay **relación entre las modificaciones de la inmunidad celular y las alteraciones de la masa ósea y el metabolismo mineral** en dichos pacientes.

PACIENTES Y MÉTODOS

IV. PACIENTES Y MÉTODOS

a. PACIENTES

i. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Para la realización de nuestro estudio hemos contado con la colaboración de 57 individuos, todos ellos de sexo masculino, y con edades comprendidas entre 31 y 72 años. De éstos, 33 eran portadores de una cirrosis hepática de etiología alcohólica, mientras que el resto constituían un grupo control de sujetos sanos no bebedores. No existieron diferencias significativas entre los dos grupos respecto a la distribución por edades.

Los sujetos objeto de estudio, fueron seleccionados en las consultas externas del Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Clínico “San Cecilio” de Granada.

De los 33 casos de cirrosis hepática de etiología alcohólica, en 26 de ellos se llegó al diagnóstico a través de la realización de una biopsia hepática. En los restantes 7 casos la biopsia estaba contraindicada o bien existía una negativa expresa por parte del paciente a su realización, por lo que basamos el diagnóstico en la asociación de un dato clínico evidente (presencia de ascitis y / o varices esofágicas), unido al hallazgo de datos analíticos característicos de cirrosis (hipoalbuminemia, hipoprotrombinemia, gammapatía policlonal y trombopenia), hallazgos ecográficos (relación lóbulo caudado vs. lóbulo derecho $> 0,65$) o imágenes características en la gamma grafía hepática (atrofia del lóbulo hepático derecho, captación por parte de bazo o columna, etc).

Aquellos casos que no reunieron la asociación simultánea de dichos criterios clínicos, analíticos y de imagen, fueron excluidos del estudio.

También fueron excluidos aquellos pacientes que además presentaban enfermedades neoplásicas, endocrinas, cardíacas, pulmonares, etc., que en su patogenia pudieran conllevar alteraciones del sistema inmune o que afectaran a la masa ósea o al metabolismo mineral (Insuficiencia cardíaca congestiva severa, EPOC severo, insuficiencia renal –creatinina en plasma $> 1,2$ mg/dl-, diabetes

melitus insulino dependiente, hiper e hipotiroidismo, hiper e hipoparatiroidismo, otras enfermedades óseas –excepto osteoporosis-,etc.) , así como aquellos pacientes que estuvieran en tratamiento con corticoides u otra medicación inmunomoduladora, o fármacos que produjesen alteraciones en el metabolismo mineral (suplementos de calcio, derivados de la vitamina D o colestiramina).

La toma de diuréticos tipo espironolactona y / o furosemida no se consideró criterio de exclusión.

Los pacientes fueron clasificados en varios subgrupos atendiendo a los siguientes criterios:

- **Gravedad de la cirrosis:** Siguiendo la clasificación de Child-Pugh.

- **Grupo Child-Pugh A:**

Sujetos que padecen una cirrosis hepática, incluidos dentro del estadio A de la clasificación de Child-Pugh. Lo constituían 10 individuos con edades comprendidas entre 46 y 69 años (media 57,0 años).

- **Grupo Child-Pugh B:**

Sujetos que padecen una cirrosis hepática, incluidos dentro del estadio B de la clasificación de Child-Pugh. Lo constituían 13 pacientes con edades comprendidas entre 34 y 67 años (media 52,9 años).

- **Grupo Child-Pugh C:**

Sujetos que padecen una cirrosis hepática, incluidos dentro del estadio C de la clasificación de Child-Pugh. Constituido por 10 pacientes con edades comprendidas entre los 31 y los 61 años (media 49,5 años).

- **Presencia o no de osteoporosis:** Pacientes con T score menor de – 2.5.

- **Grupo de cirróticos alcohólicos sin osteoporosis:** Constituido por 20 pacientes cirróticos etílicos con un valor de T score en L2-L4 o en cuello de fémur superior a – 2.5. De ellos 7 pacientes pertenecían al grupo A de la clasificación de Child-Pugh, 10 al grupo B y 3 al grupo C.

- **Grupo de cirróticos alcohólicos con osteoporosis:** Constituido por 13 pacientes cirróticos etílicos con unos valores de T score en L2-L4 o en cuello de fémur inferiores a -2.5; de ellos 3 pacientes pertenecen al grupo A de la clasificación de Child, 3 al grupo B y 7 al grupo C de esta clasificación.

El **grupo control** esta constituido por 24 sujetos sanos (edad media 52,5 años) con una ingesta etílica inferior a 30 gramos por día. Se comprobó que no fueran portadores de enfermedades que pudieran afectar al metabolismo óseo, hepático o sistema inmune. Su estado de salud se valoró mediante la realización de una historia clínica detallada que además incluía una exploración física general y un estudio analítico que incluía hemograma completo con velocidad de sedimentación, actividad de protrombina, orina elemental y sedimento, bioquímica general –glucemia basal, calcio, fósforo, urea y creatinina, proteínas totales, colesterol, ácido úrico, bilirrubinas directa e indirecta, fosfatasa alcalina, ALT Y AST- y serología vírica.

b. MÉTODOS

i. PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE MUESTRAS Y PARÁMETROS DETERMINADOS

Previamente al inicio de la extracción de muestras, se realizó un interrogatorio exhaustivo a todos los sujetos incluidos en el estudio, sobre sus hábitos etílicos, incluyendo el tipo de bebidas, la cantidad diaria ingerida y el momento de inicio de la ingesta. Las respuestas fueron contrastadas a través de un familiar directo.

La determinación de la cantidad de alcohol ingerida diariamente, expresada en gramos de etanol por día, se realizó de acuerdo a la siguiente fórmula para cada tipo de bebida:

$$\text{Gramos de etanol} = \frac{\text{Volumen ingerido (ml)} \times 0,8 \times \text{n}^\circ \text{ de grados de la bebida}}{100}$$

En todos los sujetos se llevó a cabo una extracción de sangre en ayunas, a primera hora de la mañana. En ésta se analizaron los siguientes parámetros:

Hemograma completo, actividad de protrombina, calcio, fósforo, magnesio, urea, creatinina sérica, AST, ALT, GGT, bilirrubina total sérica, fosfatasa alcalina total sérica, fosfatasa alcalina isoenzima ósea, parathormona media molécula y molécula intacta, osteocalcina, 25 hidroxivitamina D3, fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP), factor de crecimiento insulinoide tipo I (IGF-I), testosterona total, globulina transportadora de esteroides sexuales (SHBG), proteínas totales en suero, albúmina sérica, sTNF-R55, sIL-2R y neopterinina.

Una muestra de suero de cada paciente fue congelada a -20°C , hasta la realización de las determinaciones correspondientes.

A cada paciente se le realizó una densitometría ósea por absorciometría dual de Rx (DXA).

Basándonos en estos datos confeccionamos un protocolo constituido por las siguientes variables:

- Edad.
- Ingesta semanal de calcio. (Lact)
- Gramos de alcohol por día. (Gr/A/D)
- Estadio de Child-Pugh de la hepatopatía.
- Actividad de protrombina. (A Prot)
- Proteínas totales en suero. (PT)
- Albuminemia. (Alb)
- Creatinina sérica. (Crs)
- Bilirrubina total sérica. (BRT)
- Calcemia. (Cas)
- Calcemia corregida. (Cac)
- Magnesio sérico. (Mgs)
- AST.

- ALT.
- GGT.
- Fosfatasa alcalina total sérica. (FA)
- Fosfatasa alcalina isoenzima ósea. (FAO)
- Testosterona total. (Test)
- Globulina transportadora de esteroides sexuales. (SHBG)
- Índice de testosterona libre. (ITL)
- Parathormona media molécula. (PTH mm)
- Parathormona molécula intacta. (PTH int)
- Osteocalcina. (BGP)
- 25-hidroxivitamina D sérica. (VitD)
- Factor de crecimiento insulinoide tipo I. (IGF-I)
- Fosfatasa ácida tartrato resistente. (TRAP)
- Cociente calcio/creatinina en orina. (Cao/Cro)
- Excreción de calcio en ayunas. (ECA)
- Cociente magnesio/creatinina en orina. (Mgo/Cro)
- Cociente deoxipiridinolina / creatinina en orina. (DPyr/Cro)
- Densidad mineral en el cuello femoral. (BMD-Neck)
- Valor T-Score de BMD-Neck. (Ta-Neck)
- Valor Z-Score de BMD-Neck. (Za-Neck)
- Densidad mineral de la columna lumbar. (BMD L₂-L₄)
- Valor T-Score de LS (columna lumbar). (Ta L₂-L₄)
- Valor Z-Score de LS. (Za L₂-L₄)
- Receptor soluble del factor de necrosis tumoral. (sTNF-R55).
- Receptor soluble de la interleukina 2. (s-IL-2R).
- Neopterina.

Para determinados parámetros se utilizaron las siguientes fórmulas o ecuaciones:

- a) Índice de testosterona libre (ITL): (Loric y cols, 1988)

$$ITL = \text{Testosterona total} \times SHBG / 100.$$

SHBG: Globulina transportadora de testosterona.

- b) Calcio corregido (CAc): (Parffit AM, 1974)

$$CAc = Cas / (0,55 + PT / 16).$$

Cas: Calcemia (mgr/dl). PT: Proteínas totales (gr/dl)

- c) Excreción de calcio en ayunas (ECA): (Coe FL, 1977)

$$ECA = Cao / Cro \times Crs.$$

Cro: Creatinina en orina (mgr/dl).

Crs: Creatinina en suero (mgr/dl).

Los valores de referencia se encuentran entre 0,03 y 0,16 mgr de calcio por cada 100 ml de filtrado glomerular

ii. TÉCNICAS DE ENSAYO

- **Métodos enzimáticos y colorimétricos.**

+ **Calcio total en suero y orina:** Se determinó mediante el método complexofluorométrico (Diehlh y Ellingbol, 1956). El complejo formado por la calceína, un derivado de la fluoresceína, y el calcio es fluorescente. Posteriormente se titula con EDTA, un quelante del calcio, hasta el nivel mínimo de fluoresceína inherente a la calceína. En orina el procedimiento es similar llevando previamente la muestra a pH 5-6. El equipo utilizado es el Calcímetro Corning 940. los valores de referencia del laboratorio se establecen entre 8,8 y 10,5 mgr/dl.

+ **Fósforo inorgánico en suero y orina:** el método colorimétrico con el que se consigue su determinación se basa en la formación del compuesto molibdifosfonadato en un medio de ácido nítrico, previa desproteinización con el ácido tricloroacético (Zilversmit DB, 1950). El equipo utilizado fue el Spectronic 70 de Bausch & Lomb. El rango normal en suero es de 2,5 – 5 mgr/dl.

+ **Magnesio en suero y en orina:** Por medio del método colorimétrico del amarillo de titán (Alcock y McIntyre, 1960). Previa desproteinización con ácido tricloroacético, en medio alcalino, se determina el complejo formado por partículas coloidales de hidróxido de magnesio, mantenidas en solución con alcohol polivinílico, mediante el colorante amarillo de titán. Se utilizó el equipo Spectronic 70 de Bausch & Lomb. Los valores de referencia varían entre 1,8 y 2,3 mgr/dl.

+ **Proteínas totales en suero:** Determinadas por el método de Biuret (Weichselbaum, 1975). Las sustancias con al menos dos uniones peptídicas y sales de cobre, rinden en solución alcalina, un complejo de iones cobre-II con 4 átomos de nitrógeno peptídico de absorbencia máxima para las proteínas de 456 nm. Se utilizó el equipo LKB, Bromma Ultalab system 7400. Los valores normales estaban comprendidos entre 6,8 y 8,9 gr/dl.

+ **Albúmina:** Se determinó mediante el método *verde de bromocresol*. (Doumas et al, 1971) Se trata de un método colorimétrico que mide la variación de color debida a la formación de complejos entre la albúmina y el verde de bromocresol a pH de 4,2. Se utilizó para su medición el sistema de análisis automatizado BM/Hitachi System 704. Los valores de referencia para el adulto son de 3,5 a 5 gr./dl o 35-40 gr./L.

+ **Bilirrubina:** Se determinó mediante el método DPD para la bilirrubina total (Wahlefeld 1972). La bilirrubina total se une a un compuesto de diazonio, dando lugar al compuesto azobilirrubina. El detergente libera la correspondiente bilirrubina indirecta. Se utilizó el sistema de análisis automatizado BM/Hitachi System 704. Los valores de referencia para la bilirrubina total son hasta 1 mg/dl.

+ **Creatinina en suero y orina:** Se aplicó un método de determinación cinética (25,6 seg.), que emplea un reactivo Jaffé modificado (complejo de picatro alcalino de creatinina). (Larsen 1972) El equipo utilizado fue el analizador 2 de creatinina de Beckman. El rango de normalidad del laboratorio se situaba entre 0,5 y 1,5 mg/dl.

+ **AST y ALT (Aspartato amino transferasa y alamina amino transferasa):** Se determinaron mediante un test ultravioleta utilizando como sustrato común el α -oxoglutarato unido a la alanina en el caso de la ALT y a la L-aspartato en el caso de la AST. Tras la acción enzimática se determinaba lactato y L-malato respectivamente. (Bergmeyer 1986) Se utilizó el sistema de análisis automatizado BM/Hitachi System 704.

+ **Gamma Glutamil Transpeptidasa (γ -GT):** Se determinó mediante el test colorimétrico de la L- γ -3-carboxi-4-nitro-anilida, a la que se adiciona glicilglicina, determinando 5-amino-2-nitrobenzoato tras la acción enzimática. (Persjin y Van der Slik, 1976). Se utilizó el sistema de análisis automatizado BM/Hitachi System 704.

+ **Actividad de la fosfatasa alcalina total (FAT):** Se utilizó el método cinético-colorimétrico basado en la formación de p-nitroferol a partir de p-nitrofenilfosfato, catalizada por las fosfatasas alcalinas en medio alcalino. (Bessey 1946) Se utilizó el equipo Enzyme Activity Analyzer System TR, Beckman. Los valores de referencia se situaban entre los 100 y 280 UI/L.

+ **Actividad de la fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP):** Se utilizó el método cinético-colorimétrico de D'Hillmann modificado (Hillmann, 1971), mediante el kit comercial Enzyline. Para determinar la actividad de la fosfatasa ácida resistente al tartrato, se utiliza como sustrato el α -naftilfosfato junto con la sal Fast-red TR (Diazot, cloro 5 tolueno). Finalmente se añade tartrato como inhibidor específico de la fracción de fosfatasa ácida prostática. El colorante resultante de la actividad catalizada por la TRAP en medio ácido (ácido acético) tras añadir la muestra, es el colorante azoico, cuya medición se realiza mediante el equipo Enzyme Activity Analyzer System de Beckman.

Los valores de referencia de la TRAP sérica a 30°C son $\leq 4,8$ U/L, que aumentan hasta 6,5 U/L a una temperatura de 37°C.

- **Métodos inmunológicos.**

- **Radioinmunoanálisis (RIA):**

+ **Neopterina:** Se realizó mediante el kit Neopterina RI Acid (Henning Berlin, West Germany). Esta técnica utiliza el principio de la inhibición competitiva de la unión en un inmunocomplejo de una molécula (Ag o Ac) marcado radioactivamente. Se utilizó anticuerpo de conejo frente a neopterina no marcada (antígeno), procedentes de los sueros de las muestras y neopterina radiomarcada (trazador). Se utilizó ^{125}I -Neopterina. La prueba se realizó en tubos de ensayo de poliestireno y se procedió de la siguiente manera:

- Se incubó 0.1 ml de suero con el anticuerpo frente a la Neopterina durante 18 a 24 horas a 4° C, en los tubos de ensayo de poliestireno.
- Tras este periodo de incubación se añadió ^{125}I -Neopterina y se incubó durante 4 horas a 4°C.
- Pasado este tiempo se añadió solución DAPGE (antigammaglobulina de conejo mezclada con polietilenglicol, celulosa y tween 20).
- Después de veinte minutos se centrifugó a 1000 g durante 15 minutos.
- La radioactividad es determinada en un contador gamma de centelleo.
- Se construyó una curva estándar y la concentración de Neopterina es obtenida por interpolación en dicha curva, teniendo en cuenta que la cantidad de radioactividad obtenida es inversamente proporcional al nivel de neopterina en suero. Estos cálculos se realizaron con el programa BESS 2.1 (Behring, Alemania). (Rokos 1983, Nagatsu 1984)

+ **Testosterona total:** Para su determinación se empleó un kit de radioinmunoensayo directo, suministrado por SORIN Biomédica (Saluggia, Vercelli, Italia), que utiliza el anticuerpo ligado a las paredes del tubo (Dufau y cols, 1972). Los valores de referencia son 1,5-6,6 ngr/ml en varones y 0-0,6 ngr/ml en mujeres.

+ **Globulina transportadora de testosterona (SHBG):** Determinada por medio de un kit de ensayo radioinmunométrico, suministrado por Farnos (SF-90460 Oulunsalo, Finlandia). El procedimiento se basa en un radioinmunoensayo de fase líquida, no competitivo (Hammond y cols, 1985). Los valores de referencia varían entre 16-46 nmol/L para varones y de 20-50 nmol/L en mujeres.

+ **Parathormona media molécula (PTH mm):** Determinada utilizando un kit para RIA suministrado por Immuno Nuclear Corporation (Cat. N° 5100R. Minesota USA). Esta técnica mide específicamente el fragmento de PTH humana que contiene la secuencia de aminoácidos comprendidas entre 44-68, basándose en un nuevo anticuerpo sensible a dicha región. (Nordin et al, 1981). Los valores de referencia proporcionado por dicho kit varían entre 29 y 85 pmol/L.

+ **Parathormona molécula intacta (PTH int):** Determinado utilizando un kit para RIA suministrado por INCSTAR Corporation (Cat. N° 22800 Stillwater, Minesota, USA). Este método utiliza dos anticuerpos policlonales diferentes, purificados mediante cromatografía de afinidad (Chu y Chu, 1986). Estos anticuerpos son específicos para dos regiones diferentes de la molécula de PTH. El primero, específico para la fracción aminoácida 39-84, está unido a una fase sólida (granos de poliestrieno). El segundo es específico para la fracción 1-34 de la PTH y está marcado con I^{125*} . Las muestras se incuban simultáneamente con ambos anticuerpos. La PTH intacta, contiene las dos secuencias aminoácidas mencionadas y es la única forma en que se encontrará unida simultáneamente a ambos anticuerpos. Tras el periodo de incubación, cada gránulo de poliestrieno es lavado para desprender los anticuerpos no adheridos. Posteriormente se mide la radioactividad residual de aquellos que han permanecido unidos a las partículas de poliestrieno mediante un contador gamma. La concentración de PTH intacta es directamente proporcional a la radioactividad medida. Los valores de referencia varían entre 10 y 55 pgr/ml.

+ **Osteocalcina (BGP):** Determinada utilizando un kit de RIA suministrado por Immuno Nuclear Corporation (Cat N° 1500, Stillwater, Minesota 55082, USA). En esta técnica se utiliza como estándar y trazador BGP, bovina y como antisuero anti-BGP, bovina de conejo. El antisuero anti BGP bovino reconoce a la BGP humana de manera totalmente homóloga a la bovina (Gundberg, 1985). Los valores de referencia suministrados para este kit oscilan entre 1,8 y 6,6 ngr/ml.

+ **Factor de crecimiento insulinoide tipo I (IGF-I):** Para su determinación utilizamos un kit de RIA indirecto en fase líquida suministrado por Nichols Institute Diagnostics, San Juan Capistrano, USA. Previo a la realización del RIA, separamos las proteínas transportadoras de IGF-I (IGBP-1 y 3), por medio de una reacción de precipitación en alcohol ácido Daughaday y cols, 1980). En esta técnica, como estándar se utiliza IGF-I humana obtenida por ingeniería genética y como trazador, IGF-I marcada con I^{125*}, que compite con la IGF problema. Como antisuero se utiliza anti IGF-I de conejo, que reconoce a la IGF-I

humana de forma homóloga. Como pasos finales se administra como segundo anticuerpo, antisuero de cabra antisuero de conejo. Gracias a una reacción de precipitación se separa el antígeno libre (que quedará en el sobrenadante) del ligado. Una vez eliminado el sobrenadante, se determina con una gammacámara la radiactividad existente en el precipitado, cuya cuantificación se corresponde de forma inversa a la cantidad de IGF-I en el suero problema (reacción inversa). (Underwood y cols, 1987).

Los valores normales varían con la edad. En adultos oscilan de la siguiente forma:

- 16-24 años: 182-780 ngr/ml.
- 25-34 años: 114-492 ngr/ml.
- 40-54 años: 90-360 ngr/ml.
- Mayores de 55 años: 71-290 ngr/ml.

+ **25-hidroxivitamina D₃ (25-(OH)-D₃):** Para su determinación utilizamos un kit comercial de RIA competitivo indirecto en fase líquida, suministrado por

INCSTAR® Corporation, Stillwater Minesota, USA. Como estándar se utiliza 25 (OH) D3 humana, obtenida por ingeniería genética, y como trazador 25 (OH)D3 humana marcada con I^{125*} (Iodo radiactivo), que compite con el 25(OH)D3 del suero problema. Como antisuero se utiliza 25(OH)D3 de cabra, que reconoce a la 25(OH)D3 humana de forma homóloga. Finalmente como segundo anticuerpo se utiliza antisuero de burro-antisuero de cabra. Mediante una reacción de precipitación se separa el antígeno libre [25(OH)D3 libre], que quedará en el sobrenadante del ligado. Tras eliminar el sobrenadante, se determina la radiactividad existente en el precipitado, cuya cuantificación se corresponde de forma inversa a la cantidad de 25(OH)D3 en el suero problema. Los valores que se consideran normales en España varían según la región y estación del año (luminosidad). En Andalucía se consideran valores normales entre 16 y 74 ngr/ml.

- Enzimoimmunoanálisis (ELISA):

+ **sTNF- R55:** Las concentraciones de receptor soluble de factor de necrosis tumoral (sTNF-R55) han sido determinadas en una solución sérica (1:5) mediante enzimoimmunoanálisis. Varios pocillos fueron cubiertos con TNF- α unido a anticuerpos monoclonales contra el sTNF-R55 manteniéndose durante 24 horas a temperatura ambiente. Con posterioridad se procedió al lavado de los mismos y a las proteínas ligadas remanentes se les añadió 1% de suero bovino, 0,1% de fenol y 0,1% Tween 20 (Sigma Chemical Co., Dorset, United Kingdom) hasta completar la capacidad de los pocillos. Las muestras y los estándar (receptores solubles de TNF recombinantes) fueron incubados con TNF- α peroxidasa durante 24 horas a temperatura ambiente. Se utilizaron un conjunto de diluciones seriadas de receptor soluble de TNF-R55 recombinante humano previamente descritas (Loetscher, 1991) y usadas como curvas estándar. El TNF- α conjugado enzimáticamente fue medido mediante métodos enzimáticos y determinado fotométricamente.

+ **sIL – 2R**: Los niveles de sIL-2R han sido determinados en las muestras de suero de pacientes y controles mediante ELISA específico (CELL-FREE, T-Cell Science, Cambridge, Massachusetts). Este método (Rubin, 1985) descrito en resumen, consiste en un enzimoimmunoensayo tipo “sándwich”. El sIL-2R presente en las muestras es introducido en unos pocillos de poliestireno cubiertos previamente con 100 µl de anticuerpos monoclonales anti-IL-2R (1 µg/ml). Otros anticuerpos monoclonales dirigidos contra diferentes epitopos de la molécula de IL-2R y conjugados con peroxidasa fueron añadidos para obtenerse la unión al IL-2R unido a su vez al primer anticuerpo, completando el sándwich. Después de un lavado en tres tiempos quedan eliminados los anticuerpos monoclonales anti-IL-2R no unidos a la enzima conjugada, añadiéndose entonces la solución sustrato a los pocillos. La reacción es detenida y la absorbancia es determinada a 490 nm. Estos valores fueron comparados con una curva estándar obtenida con una solución de sIL-2R estándar a una dilución conocida.

+ **Deoxipiridinolina libre en orina (D-Pyr)**: Para su determinación, utilizamos un kit comercial de ELISA competitivo en fase sólida (Pyrilinks®), suministrado por Metra Biosystems Inc, USA. La fase sólida la constituyen pocillos cubiertos con anti-deoxipiridinolina monoclonal de ratón, que reacciona de forma homóloga con la D-Pyr humana. La D-Pyr de la muestra compete con un conjugado de D-Pyr/fosfatasa alcalina por el anticuerpo. La reacción colorimétrica se detecta tras añadir p-nitrofenol-fosfato como sustrato. Al tratarse de una reacción inversa, la cantidad de color es inversa a la cantidad de D-Pyr de la muestra. Tras la corrección con la creatinina en orina, los valores de referencia oscilan entre 2,5-5,5 nM de D-Pyr/nM de creatinina en orina para varones, y de 2,5 a 6,5 en mujeres.

iii. DENSITOMETRÍA ÓSEA

La medición del contenido (BMC) y de la densidad mineral ósea (BMD) de la columna lumbar y fémur proximal, se llevó a cabo por absorbiometría dual por rayos X (DXA) (Jonson, Roos y Hansoon, 1986), empleándose para ello el densitómetro óseo de rayos X modelo Hologic QDR-1000™.

Este densitómetro utiliza radiografías digitales cuantitativas para medir de forma exacta y rápida el contenido mineral óseo (BMD) en gramos/cm^2 , en las localizaciones antes mencionadas.

El densitómetro Hologic QDR-1000™, utiliza rayos X de dos niveles de energía diferentes para representar y medir el contenido mineral óseo de la columna lumbar y fémur. Los tejidos blandos que se hallan en al área de examen son substraídos, y sólo se miden y representan los huesos.

Con el método QDR, los tejidos blandos no ejercen un efecto sustancial sobre el cálculo de la densidad ósea mineral, siendo pues los resultados exactos para la mayoría de las medidas de pacientes en el área anatómica deseada. La precisión es superior al 1% [coeficiente de variación (CV): 1% con BMD: $1,0 \text{ gr/cm}^2$] y la resolución espacial de 1,5 mm. Para nuestro estudio se realizaron mediciones en cuatro regiones del fémur proximal derecho: cuello femoral (FN), trocánter (Troch), región intertrocantérea (Inter) y triángulo de Ward (Ward's), así como en las vértebras lumbares L₂, L₃ y L₄ (L₂-L₄). La prueba se realiza en un período de tiempo inferior a 25 minutos y la radiación para el paciente es aproximadamente de 2,0 a 5,0 mR, lo cual es equivalente a la décima parte de la radiación recibida en una radiografía simple de tórax.

Se realiza la exploración con el sujeto en decúbito supino en la mesa de exploración. Disminuimos la lordosis fisiológica lumbar, colocando a dicho nivel un bloque de unos 30 cm de altura de goma espuma. De esta manera mejoramos la capacidad para individualizar las vértebras en la imagen obtenida y disminuye la variación de la distancia de la columna a la superficie de la mesa. (Wahner y cols, 1988). Para la medición en fémur derecho, aseguramos una óptima angulación de éste por medio de un dispositivo que sitúa el pie en rotación interna con la pierna extendida.

Utilizamos como valores de referencia tanto para cuello de fémur como para columna lumbar, los suministrados de mediciones realizados en voluntarios de la Universidad de California, empleados de las instalaciones QDR-1000™, distribuidas en USA y voluntarios explorados en las instalaciones Ologic en Walthman, Massachusetts. Los datos se obtienen para las distintas edades y localizaciones mediante tablas.

Para la comparación de densidad mineral ósea (BMD) entre los sujetos de los diferentes grupos del estudio, se utilizó el valor Z-score de BMD de las localizaciones de interés, que representa el número de desviaciones estándar (DS) de la densidad mineral ósea (BMD) respecto a la población control del aparato, corregido para la edad y sexo, y cuya fórmula se expresa a continuación:

$$Z \text{ score} = \frac{\text{BMD paciente} - \text{media BMD sujetos normales}}{\text{DS de la media BMD en sujetos normales}}$$

Definimos osteoporosis a través de una T-score de BMD (número de DS de BMD respecto a la población adulta de referencia), por debajo de dos veces y media desviaciones estándar, en columna lumbar, triángulo de Ward y cuello femoral (< -2,5 DS). La fórmula que define el valor T-score es:

$$T \text{ score} = \frac{\text{BMD paciente} - \text{BMD a los 25-45 años (pobl. normal)}}{\text{DS de la media BMD a los 25-45 años (pobl. normal)}}$$

iv. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

El tratamiento estadístico de este trabajo lo hemos realizado, utilizando el programa informático **SPSS 10.1** para Windows.

Previamente realizamos un **análisis descriptivo de cada una de las variables cuantitativas objeto de estudio**, en los diferentes grupos de categorización: grupo control, grupo de cirróticos de etiología alcohólica, grupo de cirróticos en estadio A de Child, grupo de cirróticos en estadio B de Child y grupo de cirróticos en estadio C de Child. Dentro de este primer análisis se incluyen el cálculo de la *media*, la *desviación típica*, la *varianza*, el *error estándar de la media* el *rango* y los *valores máximo y mínimo* de cada una de las variables en los diferentes grupos.

Posteriormente comprobamos la **bondad de ajuste a una distribución Normal** de cada una de las variables cuantitativas, por medio del **test de Kolmogorov-Smirnov**. (Massev, 1951). En este test la hipótesis nula consiste en

que la variable objeto de estudio se distribuye según una Normal, y es rechazada cuando la significación de la prueba de dos colas (2-tailed p) es menor que el nivel de significación prefijado, que en nuestro caso ha sido $\alpha=0.05$. En aquellas variables que no seguían una distribución Normal, se han utilizado métodos de inferencia estadística para datos no paramétricos.

Para las comparaciones de los valores de Z-score de la densitometría ósea en la región lumbar y el cuello femoral se utilizaron los valores de Z-score de un grupo constituido por 350 sujetos varones sanos que no tenían historia relevante de enfermedad ósea o metabólica ni tomaban medicación con efectos negativos sobre el metabolismo óseo.

Con posterioridad, se realizó una **comparación de medias** de cada una de las variables cuantitativas entre los distintos grupos, mediante el *test de la t de Student* (Student 1908) para comparación de dos medias de muestras independientes, en el caso de que las variables se ajustaran a una distribución Normal y comprobando en cada caso la igualdad o no de varianzas entre ambas muestras mediante el *test de Levene*, aplicando la *corrección de Welch* si las varianzas no son homogéneas. En el caso de no ajustarse las variables a una distribución normal se utilizó el test para datos no paramétricos de *Mann-Whitney*, considerando significativo un intervalo de confianza menor de 0.05 y comenzando por comprobar que no existen diferencias significativas entre las edades medias de los distintos grupos de comparación.

Seguidamente, dentro del grupo total de cirróticos, con las categorizaciones de los grados de Child, se efectuó una **comparación de tres medias** mediante el *análisis de la varianza* de un factor, cuando las variables a comparar se ajustaban a una distribución Normal y sus varianzas eran homogéneas. El resultado del ANOVA se expresó mediante la probabilidad F de Snedecor, que si es menor que el nivel de significación prefijado (en nuestro caso $\alpha=0.05$), obliga a rechazar la igualdad de medias. (Bishop 1978) En aquellas variables que no se ajustaban a una distribución normal o sus varianzas no son homogéneas se ha utilizado el *Test no paramétrico de Kruskal-Wallis*. En el caso de existir significación estadística ($p<0.05$), se llevó a cabo la **comparación múltiple de medias** según el método de Bonferroni..

Finalmente se realizó un **análisis de correlación lineal simple** entre las distintas variables en los distintos grupos de categorización (grupo control y grupo

cirrosis alcohólica.) Cuando la variable cuantitativa se ajustaba a una distribución normal, se calculó el coeficiente de correlación de *Pearson*, cuyo valor puede estar entre -1 y $+1$. Este índice o coeficiente se obtiene dividiendo la covarianza de las dos variables en estudio (σ_x e σ_y).

En aquellos casos en los que las variables no se ajustaban a una distribución Normal se calculó el coeficiente de correlación de *Spearman*. Este test esta basado en la asignación de rangos a los valores de la variable no normal en estudio.

Para ambos casos, el nivel de significación prefijado fue de $\alpha= 0.05$.

RESULTADOS

V. RESULTADOS

a. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS VARIABLES OBJETO DE ESTUDIO

Los datos individuales de cada una de las variables objeto de estudio, quedan recogidos en las **tablas 1 a 13** para los sujetos que padecen cirrosis alcohólica (casos) y en las **tablas 14 a 17** para los sujetos sanos (controles).

b. TEST DE BONDAD DE AJUSTE A UNA DISTRIBUCIÓN NORMAL DE CADA UNA DE LAS VARIABLES CUANTITATIVAS OBJETO DE ESTUDIO EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE COMPARACIÓN.

Los datos referentes al grupo Control se recogen en las **tablas 18 a 19**. En ellos únicamente no se ajusta a una distribución Normal el parámetro “actividad de protrombina” ($P < 0.001$).

Los datos referentes al grupo Casos se recogen en las **tablas 20 a 22**. En este grupo los parámetros analizados que no se ajustaban a una distribución Normal, fueron: “bilirrubina total” ($P = 0.0257$), “cociente de oxipiridinolina / creatinina en orina” ($P = 0.022$), “excreción de calcio en ayunas” ($P = 0.002$) e “índice de testosterona libre” ($P = 0.007$).

c. TEST DE COMPARACIÓN DE MEDIAS ENTRE LOS GRUPOS DE CATEGORIZACIÓN

Los resultados se expresan como valores medios más/menos la desviación típica, quedando pormenorizados en las **tablas 23 a 63**. Los hemos agrupado siguiendo una ordenación lógica según procesos. Sólo expresamos las tablas de los parámetros cuyo análisis es significativo.

1. PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL DIAGNÓSTICO Y FUNCIÓN HEPÁTICA

- **ALBÚMINA:**

Los valores de albúmina en suero son significativamente inferiores en el grupo de cirróticos (3.73 ± 0.68) respecto al grupo control (4.50 ± 0.46), ($p < 0.0001$). Así mismo existen diferencias significativas entre los distintos estadios de Child. (**Tablas 23, 24 y 25**).

- **ACTIVIDAD DE PROTROMBINA:**

Los valores de actividad de protrombina son significativamente mayores en el grupo de sujetos sanos (99.837 ± 0.64) con respecto al total de cirróticos (66.97 ± 14.43), ($p < 0.0001$). Así mismo existen diferencias significativas entre los distintos estadios de Child. (**Tablas 26, 27 y 28**).

- **BILIRRUBINA TOTAL:**

Los valores de bilirrubina total son significativamente mayores en el grupo de pacientes con cirrosis alcohólica (2.14 ± 1.62) con respecto al total de sujetos sanos (0.86 ± 0.41), ($p < 0.0001$). Además existen diferencias significativas entre los distintos estadios de Child. (**Tablas 29, 30 y 31**)

- **GAMMA GLUTAMIL TRANSPEPTIDASA :**

Los valores de gamma glutamil transpeptidasa son significativamente mayores en el grupo de pacientes cirróticos alcohólicos (130.88 ± 103.67) con respecto al total de controles sanos (31.83 ± 12.65), ($p < 0.0001$). Además existen diferencias estadísticamente significativas entre los distintos estadios de Child. (**Tablas 37, 38 y 39**)

- **FOSFATASA ALCALINA (FA):**

Los valores de FA son significativamente menores en el grupo control (150.66 ± 24.62) con respecto al grupo total de cirróticos (282.91 ± 98.91), ($p < 0.0001$), existiendo así mismo diferencias entre los distintos estadios de Child. (**Tablas 49, 50 y 51**)

2. FACTORES RELACIONADOS CON EL METABOLISMO MINERAL:

♣ CALCEMIA CORREGIDA:

No existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de Calcemia corregida entre los grupos control (9.46 ± 0.26) y total de cirróticos (9.21 ± 0.73) ni existen diferencias significativas entre los distintos estadios de Child.

♣ CALCEMIA SÉRICA:

No existen diferencias significativas en los valores de calcio sérico entre los grupos control (9.45 ± 0.33) y total de cirróticos (9.27 ± 0.63) ni entre los distintos estadios de Child.

♣ FACTOR DE CRECIMIENTO INSULINOIDE TIPO I (IGF-I):

Los valores de IGF-I son significativamente mayores en el grupo control (161.35 ± 69.32) con respecto al grupo total de cirróticos (82.56 ± 48.17), ($p < 0.0001$), no existiendo diferencias significativas entre los distintos estadios de Child (**Tabla 40**)

♣ PARATHORMONA MOLÉCULA ÍNTACTA (PTHmi):

No hallamos diferencias estadísticamente significativas respecto a PTHmi ni comparando grupo control (26.69 ± 9.39) frente a cirróticos alcohólicos (23.44 ± 14.12), ni entre los diferentes estadios de Child.

**♣ PARATHORMONA MOLÉCULA MEDIA
(PTHmm):**

No hallamos diferencias estadísticamente significativas respecto a PTHmm al comparar entre grupo control (48.32 ± 17.04) frente a cirróticos (50.43 ± 15.53), pero sí entre los diferentes estadios de Child. ($p < 0.041$) (**Tabla 41**)

♣ 25-HIDROXI VITAMINA D SÉRICA:

Los valores de 25-hidroxivitamina D sérica son significativamente más elevados en el grupo control (45.51 ± 24.97) con respecto al grupo total de cirróticos (26.42 ± 26.88), ($p < 0.01$), no existiendo diferencias entre los distintos estadios de Child. (**Tabla 42**).

**♣ TESTOSTERONA TOTAL EN PLASMA
(TESTOS):**

Los valores hallados de testosterona total en plasma son significativamente mayores en el grupo control (4.18 ± 2.18) comparando con respecto al grupo de pacientes con cirrosis alcohólica (3.21 ± 1.10), ($p < 0.034$). No hemos hallado diferencias entre los diferentes estadios de Child. (**Tabla 43**)

♣ ÍNDICE DE TESTOSTERONA LIBRE:

Los valores que obtenemos en nuestros pacientes para el índice de testosterona libre (ITL), son significativamente mayores en el grupo control (9.64 ± 3.48) comparado con el grupo de pacientes con cirrosis alcohólica (7.71 ± 8.45), ($p < 0.04$), no existiendo diferencias significativas entre los distintos estadios de Child. (**Tabla 44**)

♣ GLOBULINA TRANSPORTADORA DE ESTEROIDES SEXUALES (SHBG):

Los valores que obtenemos en nuestros pacientes al comparar entre grupos control y cirróticos alcohólicos para valorar los niveles de globulinas transportadoras de esteroides sexuales (SHBG), son significativamente mayores en el grupo de cirrosis alcohólica (70.948 ± 42.705) que en el grupo de controles sanos (31.32 ± 8.86), ($p < 0.0001$). Además también encontramos diferencias estadísticamente significativas entre estadios de Child. ($p < 0.029$) (**Tablas 45, 46 y 47**).

• MARCADORES BIOQUÍMICOS DE REMODELADO ÓSEO:

i. FORMACIÓN ÓSEA (ACTIVIDAD OSTEOBLÁSTICA):

◆ OSTEOCALCINA (BGP):

No existen diferencias significativas en los niveles de osteocalcina entre los grupos control (2.70 ± 2.29) y el grupo de cirróticos (3.36 ± 1.91), tampoco se hallaron diferencias significativas entre los distintos estadios de Child.

◆ FOSFATASA ALCALINA ISOENZIMA ÓSEA (FAOS):

Los valores hallados de fosfatasa alcalina isoenzima ósea (FAOS) son significativamente mayores en el grupo de pacientes con cirrosis alcohólica (17.85 ± 6.76) frente a los hallados en sujetos controles sanos (12.36 ± 4.50), ($P < 0.001$). Además también hallamos diferencias estadísticamente significativas entre estadios de Child ($p < 0.027$) (**Tablas 52, 53 y 54**)

ii. RESORCIÓN ÓSEA (ACTIVIDAD OSTEOCLÁSTICA):

◆ COCIENTE DEOXIPIRIDINOLINA / CREATININA EN ORINA (DPyrCRo):

Los valores que encontramos en nuestros pacientes para el cociente deoxipiridinolina / creatinina en orina son significativamente mayores en el grupo de pacientes con cirrosis alcohólica (7.47 ± 5.60) que en el grupo de sujetos controles sanos (4.22 ± 2.38), ($P < 0.003$). No encontramos diferencias entre los distintos estadios de Child (**Tabla 55**)

◆ FOSFATASA ÁCIDA RESISTENTE A TARTRATO (TRAP):

No existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de TRAP para grupos control (1.765) y cirróticos (1.462) ni entre los distintos estadios de Child.

3. VALORES DE DENSITOMETRÍA ÓSEA:

◆ VALOR Z-SCORE DE DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN COLUMNA LUMBAR :

Encontramos que los valores Z Score de densidad mineral ósea en columna lumbar (L2-L4), son significativamente menores en el grupo de pacientes con cirrosis alcohólica (-1.25 ± 1.05) frente al grupo de sujetos controles sanos (0.05 ± 1.3), ($P < 0.0001$), no hallando diferencias estadísticamente significativas entre los distintos estadios de Child. (**Tabla 57**)

◆ VALOR Z-SCORE DE DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN CUELLO FEMORAL:

Hemos encontrado que los valores de Z score de densidad mineral ósea en cuello de fémur son significativamente menores en el grupo de pacientes con cirrosis alcohólica (-0.5821 ± 0.993) al compararlo con el grupo de sujetos controles sanos (0.025 ± 1.49), ($p < 0.03$), no encontrándose diferencias entre los diferentes estadios de Child. (Tabla 58)

◆ VALOR T-SCORE DE DENSIDAD MINERAL ÓSEA:

Los valores medios de T score L2-L4 en el grupo de pacientes cirróticos son de -1.78 DS y los valores medios de T score en cuello de fémur son de -1.89 DS.

El porcentaje de pacientes que padecían osteoporosis en el grupo de cirróticos alcohólicos fue de 39.40 %. El porcentaje de pacientes que padecían osteoporosis en el grupo A de la clasificación de Child fue del 30%, en el grupo B del 23.08 % y en el grupo C de 70 %.

4. PARÁMETROS DE ACTIVACIÓN DE INMUNIDAD CELULAR:

• RECEPTOR SOLUBLE DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (sTNF-R55):

Los valores de sTNF-R55 hallados en nuestros pacientes son significativamente mayores en los individuos que padecen una cirrosis alcohólica (5.93 ± 2.784) que en los sujetos sanos controles (1.27 ± 0.58), ($p < 0.0001$). Así mismo encontramos diferencias significativas entre los distintos estadios de Child, (Tablas 59, 60 y 61).

Cuando establecemos la comparación dentro de nuestro grupo de pacientes con cirrosis alcohólica, separando entre aquellos que padecen osteoporosis y aquellos que no la padecen, encontramos que los valores de sTNF-R55 son significativamente

mayores en los pacientes con cirrosis alcohólica que sufren osteoporosis (8.6325) que en aquellos cirróticos alcohólicos que no la padecen (5.0776) ($p < 0.01$) (**Tabla 59 bis**)

- **RECEPTOR SOLUBLE DE LA INTERLEUKINA 2 (sIL-2R):**

Los valores de receptor soluble de la interleukina 2 (sIL-2R) hallados en nuestros pacientes son significativamente mayores en el grupo de cirróticos alcohólicos (953.06 ± 488.44) con respecto a los controles sanos (545.33 ± 182.73), ($p < 0.0001$). No encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los distintos estadios de Child. (**Tabla 62**).

Cuando establecemos la comparación dentro de nuestro grupo de pacientes con cirrosis alcohólica, separando entre aquellos que padecen osteoporosis y aquellos que no la padecen, encontramos que los valores de sIL-2R son significativamente mayores en los pacientes con cirrosis alcohólica que sufren osteoporosis (1290.00) que en aquellos cirróticos alcohólicos que no la padecen (845.24) ($p < 0.022$) (**Tabla 62 bis**)

- **NEOPTERINA:**

Los valores que encontramos de neopterina en nuestros pacientes, son significativamente mayores para aquellos que padecen cirrosis alcohólica (7.69 ± 4.27) comparándolos con los sujetos controles sanos (4.91 ± 1.45), ($p < 0.001$). No encontramos diferencias significativas entre los distintos estadios de Child. (**Tabla 63**).

d. MATRIZ DE CORRELACIÓN

Los datos y análisis estadísticos se encuentran en las **tablas 64 a 90**.

1. FACTORES RELACIONADOS CON EL METABOLISMO MINERAL

IGF-I:

Grupo Cirrosis alcohólica (Tabla 69):

Existe una **correlación positiva** del factor de crecimiento insulinoide tipo I con varios parámetros, a saber: ALBÚMINA (r: 0.3644; p:0.040), INGESTA SEMANAL DE CALCIO(r:0.4602; p: 0.008), ACTIVIDAD DE PROTROMBINA (r= 0.3534; P = 0.047), PTHmm (r: 0.4961; p: 0.005), TESTOSTERONA TOTAL EN PLASMA (r:0.3491; p:0.050)

PTHmm:

Grupo Cirrosis alcohólica (Tabla 70):

Existe una **correlación positiva** de la PTHmm con varios parámetros, a saber: ALBÚMINA (r: 0.5918; p:<0.0001), IGF-I. (r = 0.4961; p = 0.005),

Mientras existe una **correlación negativa** con el parámetro: sNTF-R55 (r = - 0.3495; p:0.050)

Testosterona total plasmática:

Grupo Cirrosis alcohólica (tabla 71):

Existe una **correlación positiva** de la Testosterona con varios parámetros, a saber: ALBÚMINA (r: 0.3897; p: 0.025), IGF-I. (r = 0.391; p = 0.050), ITL (r:0.4951; p:0.003).

Mientras existe una **correlación negativa** con el parámetro: sNTF-R55 (r = -0.3625; p:0.038)

2. MARCADORES BIOQUÍMICOS DE REMODELADO ÓSEO

- **FORMACIÓN (ACTIVIDAD OSTEOBLÁSTICA).**

- * **Osteocalcina (BGP):**

Grupo Cirrosis alcohólica (Tabla 72):

Existe una **correlación positiva** de la osteocalcina con varios parámetros, a saber: VITD. (r: 0.2898; p : 0.019),

Mientras existe una **correlación negativa** con el parámetro: Neopterina (r : -0.3312 ; p:0.020)

- * **Fosfatasa alcalina isoenzima ósea (FAOS):**

Grupo Cirrosis alcohólica (Tabla 74):

Existe una **correlación positiva** de la FAOS con varios parámetros, a saber: FA (r: 0.6158; p:<0.0001), PTHmi (r:= 0.4113; p = 0.017), SHBG (r:0.4989; p:0.003)

- **RESORCIÓN (ACTIVIDAD OSTEOCLÁSTICA).**

- * **Cociente deoxipiridinolina / creatinina en orina**

Grupo Cirrosis alcohólica (Tabla 75):

Existe una **correlación negativa** de Cociente deoxipiridinolina / creatinina en orina (DpyrCRo) con varios parámetros, a saber: PTHmi (r = -0.2894; p = 0.049), RTP (r = -0.5791; p<0.0001)

Mientras que se **correlaciona de manera positiva** entre otros, con el parámetro: sNTF-R55 ($r = 0.3535$; $p = 0.014$)

3. VALORES DE DENSITOMETRÍA ÓSEA

- **DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN COLUMNA LUMBAR (BMDL_{2L4}):**

Grupo Cirrosis alcohólica (Tabla 76)

Existe una **correlación positiva** de BMDL_{2L4} entre otros con el parámetro: ALBÚMINA. ($r = 0.3874$; $p = 0.026$)

Mientras existe una **correlación negativa** con los parámetros: sIL-2R ($r = -0.3828$; $p = 0.028$) y sNTF-R55 ($r = -0.3639$; $p = 0.037$)

- **DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN TRIÁNGULO DE WARD (BMDW):**

Grupo Cirrosis alcohólica (Tabla 79):

Encontramos una **correlación negativa** con sTNF-R55 ($r = -0.293$; $p < 0.049$)

- **VALOR T-SCORE DE BMD EN COLUMNA LUMBAR (TaL_{2L4}):**

Grupo Cirrosis alcohólica (Tabla 80):

Existe una **correlación positiva** de TaL con varios parámetros, entre ellos: ALBÚMINA. ($r = 0.3872$; $p = 0.026$)

Además, existe una **correlación negativa** con los parámetros: sIL-2R ($r = -0.3827$; $p = 0.028$) y sNTF-R55 ($r = -0.3630$; $p = 0.001$)

- **VALOR T-SCORE DE BMD EN TRIÁNGULO DE WARD (TaW):**

Grupo Cirrosis alcohólica (Tabla 83):

Existe una **correlación positiva** de TaW con varios parámetros, a saber: ALBÚMINA. ($r = 0.3720$; $p < 0.033$).

Encontramos una **correlación negativa** con sIL-2R ($r = -0.299$; $p < 0.045$)

- **VALOR Z-SCORE DE BMD EN COLUMNA LUMBAR (ZaL₂L₄)**

Grupo Cirrosis alcohólica (Tabla 84):

Existe una **correlación positiva** de ZaL₂L₄ con varios parámetros, a saber: ALBÚMINA. ($r = 0.3441$; $p = 0.050$),

Mientras existe una **correlación negativa** con los parámetros: FA. ($r = -0.3519$; $p < 0.045$), sIL-2R ($r = -0.3717$; $p = 0.033$) y sTNF-R55 ($r = -0.3061$; $p = 0.050$)

- **VALOR Z SCORE DE BMD EN TRIÁNGULO DE WARD (ZaW):**

Grupo Cirrosis alcohólica (Tabla 87):

Existe una **correlación negativa** con el parámetro: RTP. ($r = -0.4322$; $p = 0.019$) y con el sIL-2R ($r = -0.309$; $p < 0.04$)

4. PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS

- **RECEPTOR SOLUBLE DE LA INTERLEUKINA 2 (sIL-2R):**

Grupo Cirrosis alcohólica (Tabla 88):

Existe una **correlación positiva** de la sIL-2R con varios parámetros, a saber: FA.($r = 0.5636$; $p = 0.001$) y sTNF-R55($r = 0.5448$; $p = 0.001$)

Mientras existe una **correlación negativa** con los parámetros: ALBÚMINA.($r = -0.5140$; $p = 0.002$), BMDL.($r = -0.3828$; $p = 0.028$), Cas.($r = -0.5461$; $p = 0.001$), CRs. ($r = -0.3851$; $p = 0.027$), ACT. PROTROMB. ($r = -0.39364$; $p = 0.023$), TaL. ($r = -0.3827$; $p = 0.028$) y ZaL ($r = -0.3717$; $p = 0.033$)

- **RECEPTOR SOLUBLE DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL R-55 (s- TNF-R55):**

Grupo Cirrosis alcohólica (tabla 89):

Existe una **correlación positiva** del sTNF-R55 con varios parámetros, a saber: BILIRRUB.($r = 0.3604$; $p < 0.0001$), DpyrCRo ($r = 0.3535$; $p = 0.014$), FA. ($r = 0.5344$; $p = 0.001$) y sIL-2R ($r = 0.5448$; $p = 0.001$)

Mientras existe una **correlación negativa** con los parámetros: ALBÚMINA.($r = -0.6506$; $p < 0.0001$), BMDL.($r = -0.3639$ $p = 0.039$), Cac.($r = -0.4753$; $p = 0.006$), Cas.($r = -0.6200$; $p < 0.0001$), ITL.($r = -0.4847$; $p = 0.004$), LACT.($r = -0.3735$; $p = 0.032$), ACT. PROTROMB. ($r = -0.5124$; $p = 0.002$), PTHmm. ($r = -0.3495$; $p = 0.050$), TaL. ($r = -0.3630$; $p = 0.038$), TESTOS ($r = -0.3625$; $p = 0.038$) y ZaL ($r = -0.3061$; $p = 0.050$)

- **NEOPTERINA:**

Grupo Cirrosis alcohólica (Tabla 90):

Existe una **correlación negativa** de la neopterina con los parámetros: OSTEOCALCINA (BGP).($r = -0.3312$; $p:0.020$), ALT($r = -0.4893$ $p = 0.004$), AST($r = -0.3505$; $p = 0.045$).

TABLAS

VI. TABLAS

TABLA 1: GRUPO TOTAL PACIENTES CIRRÓTICOS.

Nº	EDAD	E.CHILD	G.A/DIA	A.PROT.	ALBUM
1	49	A	167	89	4.35
2	57	C	120	50	2.80
3	63	A	140	78	3.82
4	53	B	122	55	4.00
5	60	B	111	70	3.60
6	61	C	200	76	1.80
7	62	B	304	56	3.80
8	38	B	111	65	4.66
9	52	B	410	63	4.10
10	54	B	500	66	4.11
11	54	A	156	70	4.43
12	59	B	233	63	3.40
13	69	A	189	69	4.06
14	61	B	155	78	4.37
15	57	A	100	100	4.08
16	66	A	200	80	4.00
17	56	A	88	100	4.83

ABREVIATURAS:

ETIOL: Etiología; **E.CHILD:** Estadio de Child-Pugh; **G.A/DIA:** Gramos alcohol/día; **A.PROT:** Actividad de protrombina; **ALBUM:** albúmina; **ALCOH:** alcohólica; **VHB:** Virus de la hepatitis B; **VHC:** Virus de la hepatitis C;

TABLA 2: GRUPO TOTAL PACIENTES CIRRÓTICOS. (Continuación)

Nº	EDAD	E.CHILD	G.A/DIA	A.PROT.	ALBUM
18	53	B	180	73	3.50
19	47	C	243	70	4.02
20	61	A	281	90	4.44
21	40	B	172	65	3.90
22	60	C	222	64	3.24
23	67	B	122	62	3.41
24	31	C	200	48	4.50
25	54	B	152	70	3.85
26	49	C	149	49	3.34
27	49	A	208	75	4.27
28	35	C	312	44	3.16
29	34	B	134	53	4.02
30	55	C	111	51	230
31	46	A	478	67	3.10
32	45	C	93	50	2.80
33	55	C	132	51	3.20

ABREVIATURAS:

ETIOL: Etiología; **E.CHILD:** Estadio de Child-Pugh; **G.A/DIA:** Gramos alcohol/día; **A.PROT:** Actividad de protrombina; **ALBUM:** albúmina; **ALCOH:** alcohólica; **VHB:** Virus de la hepatitis B; **VHC:** Virus de la hepatitis C;

TABLA 3: GRUPO TOTAL PACIENTES CIRRÓTICOS (Continuación).

NÚM.	AST	ALT	GGT	F.A.	B.TOT.	sTNF-R55	sIL-2R	NEOPT.
1	40	25	302	221	1.30	2.38	1223	9.1
2	60	19	47	338	4.26	6.64	1006	14.0
3	45	26	109	217	2.00	8.60	895	10.8
4	61	36	74	290	6.03	8.73	532	8.3
5	90	66	135	244	2.30	6.93	561	6.5
6	64	24	46	466	0.60	12.50	1428	5.4
7	52	36	107	163	2.26	6.18	1109	3.3
8	33	28	211	313	0.90	4.75	746	6.4
9	84	76	280	307	2.30	6.13	937	5.1
10	61	18	43	246	2.13	6.09	601	11.6
11	32	26	186	250	0.74	3.19	344	5.7
12	36	15	42	451	2.00	8.16	1057	14.6
13	42	33	51	232	1.09	2.89	826	15.4
14	53	34	249	416	0.85	6.59	1635	8.7
15	34	31	115	300	1.10	0.80	532	3.3
16	22	14	32	247	0.70	2.68	591	14.3
17	36	60	27	113	1.10	3.19	307	5.8

ABREVIATURAS:

AST: Aspartato-Aminotransferasa. **ALT:** Alanina-Aminotransferasa. **GGT:** Gamma Glutamil Transpeptidasa. **F.A.:** Fosfatasa Alcalina. **B.TOT.:** Bilirrubina Total. **sTNF-R55:** Receptor Soluble del Factor de Necrosis Tumoral. **sIL-2R:** Receptor Soluble de la Interleukina 2. **NEOPT.:** Neopterina.

TABLA 4: GRUPO TOTAL PACIENTES CIRRÓTICOS (Continuación).

NÚM.	AST	ALT	GGT	F.A.	B.TOT.	sTNF-R55	sIL-2R	NEOPT.
18	35	22	438	164	1.10	1.52	494	6.3
19	90	95	95	154	0.68	5.16	415	2.4
20	60	55	55	131	0.68	2.75	503	4.4
21	42	41	395	395	2.32	4.95	1297	1.8
22	60	41	55	280	1.50	7.80	622	11.1
27	26	20	157	185	0.46	3.97	344	18.2
28	137	108	169	251	4.58	5.45	974	3.8
29	103	53	155	456	2.14	3.81	1136	6.0
30	81	43	109	361	3.10	9.54	1176	5.1
31	15	8	98	241	1.20	4.60	1502	9.7
32	127	81	39	423	6.40	8.60	1707	6.3
33	79	39	121	450	2.40	10.70	1718	4.8

ABREVIATURAS:

AST: Aspartato-Aminotransferasa. **ALT:** Alanina-Aminotransferasa. **GGT:** Gamma Glutamil Transpeptidasa. **F.A.:** Fosfatasa Alcalina. **B.TOT.:** Bilirrubina Total. **sTNF-R55:** Receptor Soluble del Factor de Necrosis Tumoral. **sIL-2R:** Receptor Soluble de la Interleukina 2. **NEOPT.:** Neopterina.

TABLA 5: GRUPO TOTAL PACIENTES CIRRÓTICOS. (Continuación)

Nº	LACT	Cas	Cac	Mgs	CRs	FAOS	TEST	SHBG
1	5750	9.30	8.70	2.5	0.90	12.0	5.70	27.7
2	10520	9.00	9.18	2.3	0.70	13.0	0.40	38.4
3	3060	9.50	9.26	2.5	1.33	14.7	4.40	139
4	410	9.30	8.85	1.8	1.10	24.0	1.60	60.2
5	4890	9.60	9.36	2.0	1.10	17.6	3.30	100
6	3060	7.30		2.7	0.60	20.4	0.30	49.0
7	11050	9.50	9.21	2.3	1.00	10.0	5.60	106
8	9560	9.48	9.34	2.6	0.92	16.0	10.9	42.3
9	820	10.0	9.68	2.7	0.90	18.0	4.40	60.6
10	6720	9.60	8.72	2.7	1.19	20.0	6.90	144
11	7240	9.12	8.29	2.1	0.99	12.0	6.90	26.5
12	4480	8.20	7.76	2.4	0.80	28.0	4.80	147
13	8960	10.3	9.69	2.1	0.80	8.4	1.30	48.7
14	6120	9.27	9.00	3.0	0.85	34.7	2.60	189
15	12020	9.48	11.8	2.6	0.83	23.7	6.85	48.5
16	12880	9.66	9.00	2.5	0.87	15.0	5.80	92.1
17	6940	9.93	9.85	3.1	1.02	8.0	3.50	43.3

ABREVIATURAS:

LACT: Ingesta semanal de calcio. **Cas:** Calcemia sérica. **Cac:** Calcemia corregida. **Mgs:** Magnesio sérico. **CRs:** Creatinina sérica. **FAOS:** Fosfatasa alcalina isoenzima ósea. **TEST:** Testosterona total. **SHBG:** Globulina transportadora de esteroides sexuales.

TABLA 6: GRUPO TOTAL PACIENTES CIRRÓTICOS. (Continuación)

N^a	LACT	Cas	Cac	Mgs	CRs	FAOS	TEST	SHBG
18	3430	9.80	9.73		1.10	12.0	3.10	7.3
19	7580	8.90	8.60	2.4	0.83	17.0	3.50	55.5
20	2460	10.6	10.8	2.3	1.00	20.0	4.30	89.7
21	10680	8.92	9.10	2.6	1.02	34.0	4.00	82.0
22	10230	9.95	9.00	2.1	1.16	22.0	1.60	78.0
23	1640	8.31	8.65	2.9	0.86	15.8	2.60	88.6
24	3584	9.30	9.48	1.7	0.70	24.0	4.50	56.2
25	8960	9.00	9.20	1.8	0.77	19.0	4.50	139
26	0	8.93	8.70	2.4	0.97	16.0	2.90	42.6
27	4290	9.44	9.60	2.0	1.03	8.0	2.99	23.9
28	9869	9.11	8.50	2.5	0.82	15.0	6.85	48.5
29	4590	9.87	8.76	2.0	0.89	20.0	4.80	67.0
30	1792	9.00	9.40	1.8	0.60	11.0	4.40	62.5
31	10080	8.60	8.60	1.7	0.60	12.0	3.53	25.4
32	6570	8.80	9.13	2.1	0.80	24.0	6.60	25.4
33	6680	9.00	8.90	1.9	0.80	24.0	2.66	87.5

ABREVIATURAS:

LACT: Ingesta semanal de calcio. **Cas:** Calcemia sérica. **Cac:** Calcemia corregida. **Mgs:** Magnesio sérico. **CRs:** Creatinina sérica. **FAOS:** Fosfatasa alcalina isoenzima ósea. **TEST:** Testosterona total. **SHBG:** Globulina transportadora de esteroides sexuales.

TABLA 7: GRUPO TOTAL PACIENTES CIRRÓTICOS (Continuación).

Nº	ITL	PTHmi	PTHmm	BGP	VITD	IGF	TRAP
1	2.50	17.0	50.	4.4	9.0	96.0	2.1
2	1.04	20.0	46.0	1.4	0.8	55.5	1.6
3	0.31	27.0	41.0	2.5	6.2	46.1	1.8
4	2.65	56.0	51.0	5.0	25.9	82.0	0.5
5	3.30	15.3	43.0	4.4	49.5	65.0	1.4
6	0.61	14.0	44.0	0.5	12.7		0.9
7	5.27	19.0	33.0	3.6	15.0	85.0	1.9
8	25.76	19.0	56.0	5.5	4.8	180	1.6
9	7.26	26.3	52.0	0.2	45.0	70.0	1.3
10	4.79	34.0	53.0	3.6	24.9	108	1.4
11	26.30	31.0	64.0	4.0	6.3	104	1.7
12	3.26	40.4	51.0	1.4	2.0	85.0	3.3
13	2.69	29.0	64.7	3.0	15.8	67.0	2.3
14	1.37	64.0	60.0	6.0	5.4	40.5	3.0
15	14.10	33.0	70.6	4.0	13.0	104	1.2
16	6.29	35.6		0.3	10.1	124	1.8
17	8.08	34.0	76.0	3.0	48.1	234	1.3

ABREVIATURAS:

ITL: Índice de testosterona libre. **PTHmi:** PTH molécula intacta. **PTHmm:** PTH molécula media. **BGP:** Osteocalcina. **VITD:** 25-hidroxitamina D sérica. **IGF:** Factor de crecimiento insulinoide tipo I. **TRAP:** Fosfatasa ácida tartrato resistente.

TABLA 8: GRUPO TOTAL PACIENTES CIRRÓTICOS (Continuación).

Nº	ITL	PTHmi	PTHmm	BGP	VITD	IGF	TRAP
18	42.46	17.0	14.0	2.0	10.2	42.0	
19	6.30	19.0	55.0	1.6	5.8	96.0	1.5
20	4.79	18.0	47.0	2.5	28.1	67.5	2.9
21	4.87	20.0	53.0	3.0	12.0	77.8	0.3
22	2.05	11.0	38.0	3.4	33.8	27.6	3.1
23	2.93	25.0	44.0	7.0	67.0	22.0	2.1
24	8.55	44.0	83.0	5.5	10.8	77.6	2.1
25	3.23	4.9	55.0	5.0	109	22.5	1.3
26	6.80	17.0	26.0	5.0	11.0	39.1	-0.9
27	12.50	8.8	67.5	1.0	45.6	70.0	1.6
28	14.20	9.9	39.4	4.0	5.8	22.5	1.5
29	7.16	6.8	65.0	8.0	99.0	83.7	
30	7.04	6.9	21.7	1.0	51.0	60.0	
31	13.89	13.7	66.6	2.1	42.1	193	0.7
32	25.98	33.0	29.7	3.1	43.0	84.8	-2.7
33	3.04	4.1	53.8	4.0	3.2	110	1.3

ABREVIATURAS:

ITL: Índice de testosterona libre. **PTHmi:** PTH molécula intacta. **PTHmm:** PTH molécula media. **BGP:** Osteocalcina. **VITD:** 25-hidroxivitamina D sérica. **IGF:** Factor de crecimiento insulinoide tipo I. **TRAP:** Fosfatasa ácida tartrato resistente.

TABLA 9: GRUPO TOTAL PACIENTES CIRRÓTICOS (Continuación).

Nº	CaoCRo	ECA	MgoCRo	RTP	DPyrCRo	BMDNeck	TaNeck
1	0.074	0.083	0.0560	88.0	7.23	0.690	-2.63
2	0.427	0.610	0.2200	83.0	7.68	0.738	-2.19
3	0.156	0.117	0.1090	51.1	11.6	0.782	-1.79
4	0.782	0.711	0.0270	97.9	2.92	0.732	-2.24
5	0.090	0.081	0.2400	85.2	13.5	0.690	-2.63
6	0.040	0.067	0.090		2.70	0.734	-2.23
7	0.205	0.205	0.1130	75.9	6.33	0.809	-1.54
8	0.115	0.125	0.0650	87.1	6.01	0.831	-1.35
9	0.246	0.253	0.1730	87.4	6.81	0.956	-0.21
10	0.167	0.140	0.1040	70.9	7.44	0.786	-1.76
11	0.012	0.012	0.036	84.7	6.98	0.788	-1.83
12	0.023	0.028	0.078	90.9	4.23	0.870	-1.00
13	0.079	0.100	0.1270	80.5	5.59	0.933	-0.42
14	0.026	0.030	0.1050	78.6	5.52	0.509	-4.27
15	0.076	0.090	0.0510	88.1	3.01	0.767	-1.92
16	0.132	0.150	0.0630	92.5	2.84	0.595	-3.49
17	0.030	0.030	0.0760	76.6	5.02	0.827	-1.38

ABREVIATURAS:

CaoCRo: Cociente calcio/creatinina en orina. **ECA:** Excreción de calcio en ayunas. **MgoCRo:** Cociente magnesio/creatinina en orina. **RTP:** Reabsorción tubular de fosfatos. **DPyrCRo:** Cociente deoxipiridinolina/creatinina en orina. **BMDNeck:** Densidad mineral en cuello femoral. **TaNeck:** Valor T-score de BMD-Neck.

TABLA 10. GRUPO TOTAL DE PACIENTES CIRROTICOS (Continuación)

Nº	CaoCRo	ECA	MgoCRo	RTP	DPyrCRo	BMDNeck	TaNeck
18	0.057	0.050	0.0700		3.67	0.831	-1.34
19	0.415	0.500	0.2300	82.8	28.9	0.653	-2.96
20	0.134	0.134	0.0410	83.1	2.61	0.748	-1.77
21	0.088	0.086	0.0520	80.6	6.46	0.872	-0.97
22			0.1670		11.3	0.736	-2.21
23	0.290	0.338	0.1540	84.7	9.64	0.785	-0.95
24	0.022	0.032	0.0630	80.8	4.54	0.709	-2.64
25	0.251	0.327	0.0610	86.5	16.3	0.880	-0.9
26	0.099	0.102	0.0370		6.70	0.811	-1.53
27	0.052	0.050	0.0670	91.3	2.10	0.873	-0.97
28	0.034	0.042	0.1790	86.4	5.80	0.716	-2.39
29	0.123	0.138	0.0960	86.9	10.8	0.800	-1.63
30	0.039	0.066	0.0810	90.6	4.34	0.606	-3.39
31	0.036	0.060	0.450	92.2	4.30	0.621	-3.25
32	0.160	0.200	0.0300	87.0	3.77	0.891	-0.80
33	0.023	0.028	0.1100	85.4	20.0	0.797	-1.65

ABREVIATURAS:

CaoCRo: Cociente calcio/creatinina en orina. **ECA:** Excreción de calcio en ayunas. **MgoCRo:** Cociente magnesio/creatinina en orina. **RTP:** Reabsorción tubular de fosfatos. **DPyrCRo:** Cociente deoxipiridinolina/creatinina en orina. **BMDNeck:** Densidad mineral en cuello femoral. **TaNeck:** Valor T-score de BMD-Neck.

TABLA 11: GRUPO TOTAL PACIENTES CIRRÓTICOS (Continuación).

N°	ZaNec	BMDTro	TaTro	ZaTro	BMDW	TaW	ZaW	BMDL
1	-1.48	0.567	-2.09	-1.61	0.392	-3.67	-2.10	0.870
2	-0.73	0.713	-0.76	-0.14	0.434	-3.31	-1.33	1.101
3	-0.10	0.794	-0.03	0.69	0.630	-1.68	0.63	1.128
4	-0.94	0.553	-2.22	-1.67	0.473	-2.99	-1.21	0.792
5	-0.96	0.705	-0.84	-0.13	0.425	-3.39	-1.11	0.972
6	-0.64	0.602	-1.78	-1.11	0.443	-3.24	-1.08	0.842
7	0.10	0.718	-0.72	-0.02	0.478	-2.95	-0.71	0.933
8	-0.63	0.699	-0.89	-0.590	0.645	-1.56	-0.56	1.143
9	1.63	0.659	-1.26	-0.73	0.649	-1.53	0.16	0.902
10	-0.38	0.627	-1.55	-0.97	0.468	-3.03	-1.16	0.974
11	-0.50	0.670	-1.15	-0.59	0.505	-2.73	-0.92	1.068
12	0.50	0.730	-0.61	0.02	0.372	-3.84	-1.80	0.970
13	0.88	0.688	-0.99	-0.44	1.00	-0.54	0.20	0.998
14	-2.69	0.470	-2.97	-2.30	0.223	-5.07	-2.91	0.634
15	-0.46	0.617	-1.64	-1.02	0.488	-2.86	-0.87	0.944
16	-1.73	0.563	-2.13	-1.38	0.389	-3.69	-1.27	1.025
17	0.02	0.673	-1.13	-0.54	0.645	-1.56	0.36	0.938

ABREVIATURAS:

ZaNeck: Valor Z-score de BMD-neck. **BMDTroch:** Densidad mineral en la región trocánterea. **TaTroch:** Valor T-score de BMDTR. **ZaTroch:** Valor Z-score de BMDTR. **BMDW:** Densidad mineral en el triángulo de Ward. **TaW:** Valor T-score de BMDW. **ZaW:** Valor Z-score de BMDW. **BMDL:** Densidad mineral de la columna lumbar (L2-L4).

TABLA 12: GRUPO TOTAL PACIENTES CIRRÓTICOS (Continuación).

N°	ZaNec	BMDTro	TaTro	ZaTro	BMDW	TaW	ZaW	BMDL
18	-0.07	0.646	-1.38	-0.84	0.522	-2.58	-0.84	0.870
19	-1.89	0.704	-0.85	-0.39	0.508	-2.70	-1.24	0.942
20	-0.19	0.974	-0.02	0.65	0.523	-2.57	-0.41	1.046
21	-0.18	0.657	-1.27	-0.94	0.614	-1.82	-0.74	0.893
22	-0.65	0.593	-1.86	-1.20	0.475	-2.98	-0.85	0.839
23	0.85	0.655	-1.30	-0.54	0.437	-3.29	-0.85	0.895
24	-2.01	0.528	-2.45	-2.26	0.578	-2.12	-1.51	0.934
25	0.40	0.606	-1.73	-1.18	0.591	-2.01	-0.25	0.855
26	-0.38	0.767	-0.27	0.21	0.504	-2.74	-1.17	1.005
27	0.16	0.640	-1.42	-0.95	0.495	-2.80	-1.27	0.944
28	-1.78	0.591	-1.87	-1.61	0.440	-3.27	-2.43	0.902
29	-1.09	0.653	-1.31	-1.08	0.633	-1.66	-0.93	1.003
20	-2.03	0.435	-3.29	-2.72	0.281	-4.59	-2.74	0.591
31	-2.26	0.526	-2.46	-2.04	0.387	-3.71	-2.35	0.805
32	0.27	0.768	-0.26	0.19	0.604	-1.90	-0.43	0.787
33	-0.25	0.497	-2.73	-2.14	0.383	-3.75	-1.84	0.805

ABREVIATURAS:

ZaNeck: Valor Z-score de BMD-neck. **BMDTroch:** Densidad mineral en la región trocantérea. **TaTroch:** Valor T-score de BMDTR. **ZaTroch:** Valor Z-score de BMDTR. **BMDW:** Densidad mineral en el triángulo de Ward. **TaW:** Valor T-score de BMDW. **ZaW:** Valor Z-score de BMDW. **BMDL:** Densidad mineral de la columna lumbar (L2-L4).

TABLA 13: GRUPO TOTAL PACIENTES CIRRÓTICOS (Continuación).

N°	TaL	ZaL		N°	TaL	ZaL		N°	TaL	ZaL
1	-2.23	-1.88		12	-1.32	-0.72		23	-2.00	-1.19
2	-0.12	0.45		13	-1.07	-0.61		24	-1.64	-1.64
3	0.11	0.86		14	-4.37	-3.71		25	-2.36	-1.91
4	-2.93	-2.48		15	-1.56	-0.98		26	-1.00	-0.66
5	-1.30	-0.57		16	-0.82	-0.02		27	-1.56	-1.23
6	-2.48	-1.81		17	-1.61	-1.07		28	-1.94	-1.94
7	-1.65	-0.95		18	-2.23	-1.79		29	-1.02	-1.02
8	0.25	0.25		19	-1.57	-1.28		30	-4.77	-4.27
9	-1.94	-1.53		20	-0.63	0.04		31	-2.82	-2.58
10	-1.28	-0.78		21	-2.02	-2.00		32	-2.98	-2.69
11	-0.43	0.05		22	-2.51	-1.86		33	-2.82	-2.29

ABREVIATURAS:

TaL: Valor T-score de BMDL. **ZaL:** Valor Z-score de BMDL

TABLA 14: GRUPO CONTROL.

Nº	EDAD	GA/Dia	PROTROM	ALBUM	AST	ALT
1	73	20	100	4.30	19	23
2	62	0	100	4.40	23	13
3	65	0	100	3.80	19	13
4	70	30	100	4.50	21	20
5	62	30	100	4.70	21	36
6	63	30	97	4.80	15	15
7	58	0	100	4.40	28	28
8	57	20	100	4.00	22	28
9	60	20	100	4.40	26	33
10	51	0	99	4.40	32	40
11	58	30	100	4.60	20	22
12	51	0	100	5.00	25	18
13	58	30	100	4.40	22	22
14	59	25	100	4.25	20	18
15	47	30	100	4.60	23	38
16	42	0	100	5.30	25	36
17	41	30	100	5.20	19	14
18	48	15	100	4.80	35	53
19	41	20	100	4.70	23	26
20	43	30	100	4.70	24	23
21	31	20	100	5.00	25	38
22	34	20	100	4.77	17	23
23	36	30	100	3.70	19	22
24	40	30	100	3.30	28	24

ABREVIATURAS:

G.A/Dia: Gramos alcohol/dia; **PROTROM:** Actividad de protrombina; **ALBUM:** albúmina; **AST:** Aspartato-Aminotransferasa. **ALT:** Alanina-Aminotransferasa.

TABLA 15: GRUPO CONTROL. (Continuación)

N°	GGT	F.A.	B.TOT	STNF-R55	sIL-2R	NEOPT
1	32	138	1.50	2.80	509	7.2
2	30	146	1.20	0.62	292	4.6
3	30	146	1.50	1.51	825	3.6
4	14	161	1.00	1.48	498	4.1
5	47	185	0.34	1.07	423	3.1
6	28	146	0.40	1.72	249	4.8
7	36	118	1.10	1.55	875	5.5
8	24	134	0.70	1.74	757	9.7
9	38	131	1.50	1.32	521	4.1
10	62	160	1.40	1.07	475	4.8
11	45	153	1.10	0.66	584	4.3
12	12	178	0.71	1.48	731	7.0
13	37	193	0.35	1.55	757	6.6
14	13	161	0.70	0.84	462	3.2
15	38	142	1.40	1.16	399	4.4
16	25	175	0.67	0.44	498	4.4
17	25	113	0.67	1.15	665	4.4
18	30	156	0.85	1.02	907	4.2
19	20	99	0.56	0.40	498	4.2
20	45	118	1.10	0.82	509	4.4
21	27	164	0.51	1.53	534	5.5
22	16	181	0.62	2.57	454	5.3
23	39	180	0.50	1.20	361	4.4
24	51	138	0.14	0.94	305	4.1

ABREVIATURAS:

GGT: Gamma Glutamyl Transpeptidasa. **F.A.:** Fosfatasa Alcalina. **B.TOT.:** Bilirrubina Total. **sTNF-R55:** Receptor Soluble del Factor de Necrosis Tumoral. **sIL-2R:** Receptor Soluble de la Interleukina 2. **NEOPT.:** Neopterina.

TABLA 16: GRUPO CONTROL.(Continuación)

Nº	LACT	Cas	Cac	Mgs	CRs	TEST	SHBG	ITL
1	3850	9.40	9.45	2.0	1.10	2.60	30.5	8.52
2	1940	9.50	9.62	2.1	1.10			
3	2240	9.00	9.60	2.0	1.00	3.66	36.3	10.00
4	13660	9.60	9.72	2.1	0.70	2.45	38.9	6.30
5	8960	9.50	9.44	2.1	1.00	2.38	19.2	12.40
6	4608	9.50	9.32	2.7	1.20	1.60	25.0	6.40
7	8960	9.40	9.76	2.2	0.8	3.07	38.9	7.90
8	5720	9.30	9.60	2.0	0.90	1.50	30.6	4.90
9	6120	9.00	9.11	2.3	0.90	4.00	40.8	9.80
10	5750	10.0	9.71	1.9	1.00	5.08	48.5	10.40
11	2460	9.60	9.84	2.1	0.90	3.70	27.8	13.30
12	7580	9.45	9.05	2.8	1.00	2.02	24.2	8.34
13	3430	9.50	9.44	2.4	1.00	3.00	48.8	6.14
14	8020	9.20	9.22	2.3	1.00	3.27	33.4	9.79
15	10230	9.50	9.74	2.2	1.00	4.50	33.0	13.60
16	8960	9.55	9.04	2.4	1.20	2.44	22.0	11.40
17	6000	10.0	9.42	2.3	1.20	4.23	21.9	11.60
18	4890	9.50	9.62	2.5	1.10	2.31	36.3	6.36
19	6000	9.50	9.45	2.2	1.10	5.90	25.0	2.60
20	8960	9.30	9.07	2.0	1.10	2.18	22.5	9.68
21	8960	10.0	9.79	2.5	1.20	2.74	14.6	18.70
22	4480	9.84	9.73	2.6	1.19	4.9	30.5	13.40
23	1060	9.30	9.35	2.8	1.00	3.90	35.0	11.10
24	1792	8.50	9.09	2.2	0.90	3.33	36.6	9.09

ABREVIATURAS:

LACT: Ingesta semanal de calcio. **Cas:** Calcemia sérica. **Cac:** Calcemia corregida. **Mgs:** Magnesio sérico. **CRs:** Creatinina sérica. **FAOS:** Fosfatasa alcalina isoenzima ósea. **TEST:** Testosterona total. **SHBG:** Globulina transportadora de esteroides sexuales. **ITL:** Índice de testosterona libre.

TABLA 17: GRUPO CONTROL. (Continuación)

NÚMERO	PTHmi	PTHmm	BGP
1	28.3	45.0	1.4
2			
3	38.4	47.0	
4	34.0	38.4	1.0
5	30.0	30.0	2.0
6	32.0	112	3.3
7	34.0	38.4	2.0
8	30.0	33.7	8.9
9		69.0	1.0
10	24.6	49.0	0.7
11	44.2	50.0	2.1
12	27.7	44.0	6.4
13	39.0	41.4	3.6
14	15.9	48.9	4.4
15	36.0	54.6	0.7
16	30.0	64.4	4.0
17	22.0	30.5	0.3
18	24.7	51.6	4.8
19	9.0	42.0	0.3
20	23.3	30.0	0.1
21	22.8	40.4	0.3
22	11.5	52.0	3.0
23	16.8	48.8	4.5
24	13.1	50.4	4.7

ABREVIATURAS:

PTHmi: Parathormona molécula intacta. **PTHmm:** Parathormona molécula media. **BGP:** Osteocalcina.

TABLA 18: TEST DE AJUSTE A UNA DISTRIBUCIÓN NORMAL DE KOLMOGOROV-SMIRNOV. GRUPO CONTROL.

VARIABLE	MEDIA	DESV. TIPICA	K-S Z	P
EDAD	52.08	11.67	0.7997	0.5446
ALBUMINA	4.5008	0.4660	0.8052	0.5358
ALT	26.08	10.03	0.8111	0.5262
AST	22.96	4.61	0.5947	0.8712
BGP	2.705	2.294	0.7008	0.7100
BILIR.TOTAL	0.8550	0.4131	0.8763	0.4263
Cac	9.4658	0.2606	0.7593	0.6116
CaoCRo	0.07392	0.04919	0.9647	0.3098
Cas	9.4558	0.3345	0.8161	0.5182
CRs	1.0246	0.1321	0.8632	0.4454
DPyrCRo	4.2222	2.3784	0.9612	0.3139
F.A.	150.67	24.63	0.4332	0.9919
FAOS	12.365	4.502	0.7208	0.6764
G.A.D	19.17	12.22	1.1538	0.1395
GGT	31.83	12.66	0.4862	0.9721
IGF	161.350	69.328	0.5212	0.9488
ITL	9.6400	3.4753	0.4090	0.9962

ABREVIATURAS:

AST: Aspartato Aminotransferasa. **ALT:** Alamina Aminotransferasa. **BGP:** Osteocalcina. **BILIR.TOTAL:** Bilirrubina Total. **Cac:** Calcemia corregida. **CaoCRo:** Cociente calcio /creatinina en orina. **Cas:** Calcemia. **CRs:** Creatinina sérica. **DPyrCRo:** Cociente deoxipiridinolina / creatinina en orina. **F.A.:** Fosfatasa alcalina. **FAOS:** Fosfatasa alcalina isoenzima ósea. **G.A.D.:** Gramos de alcohol/día. **GGT:** Gamma glutamil transpeptidasa. **IGF:** Factor de crecimiento insulinoide tipo I. **ITL:** Índice de testosterona libre.

TABLA 19: TEST DE AJUSTE A UNA DISTRIBUCIÓN NORMAL DE KOLMOGOROV-SMIRNOV. GRUPO CONTROL. (Continuación)

VARIABLE	MEDIA	DESV. TIPICA	K-S Z	P
LACT	6401.25	3073.70	0.6406	0.8064
MgoCRo	0.051100	0.034250	0.6676	0.7643
Mgs	2.279	0.260	0.7893	0.5617
NEOPTERIN	4.912	1.459	1.1712	0.1287
PROTROMB	99.83	0.64	2.5468	< 0.0001
PTHmi	26.695	9.394	0.4317	0.9922
PTHmm	48.326	17.049	1.1547	0.1389
RTP	85.138	10.160	0.5598	0.9127
SHBG	31.317	8.863	0.5267	0.9443
sIL-2R	545.33	182.73	0.9376	0.3429
sTNF-R55	1.2767	0.5800	0.7449	0.6358
TESTOS	3.2152	1.1097	0.4920	0.9688
TRAP	1.765	0.646	0.6296	0.8228
VITD	45.514	24.970	1.0992	0.1783
ZaL	0.05	1.30	0.5582	0.9273
Za-Neck	0.025	1.49	0.5347	0.9302

ABREVIATURAS:

LACT: Ingesta semanal de calcio. **MgoCRo:** Cociente magnesio / creatinina en orina. **Mgs:** Magnesio sérico. **NEOPTERIN:** Neopterin. **PROTROMB:** Actividad de protrombina. **PTHmi:** Parathormona molécula intacta. **PTHmm:** Parathormona media molécula. **RTP:** Reabsorción tubular de fosfatos. **SHBG:** Globulina transportadora de esteroides sexuales. **sTNF-R55:** Receptor soluble del factor de necrosis tumoral. **sIL-2R:** Receptor soluble de la interleukina 2. **TESTOS:** testosterona total. **TRAP:** Fosfatas ácida trartrato resistente. **VITD:** 25 OH Vitamina D sérica. **ZaL:** Valor Z-score en columna lumbar. **Za-Neck:** Valor Z-score de BMD-neck.

TABLA 20: TEST DE AJUSTE A UNA DISTRIBUCIÓN NORMAL DE KOLMOGOROV-SMIRNOV. GRUPO CASOS.

VARIABLE	MEDIA	DESV. TIPICA	K-S Z	P
EDAD	53.09	9.59	0.762	0.608
ALBUMINA	3.7352	0.6802	0.827	0.500
ALT	40.00	23.50	0.901	0.391
AST	56.91	28.57	0.979	0.294
BGP	3.365	1.915	0.386	0.998
BILIR.TOTAL	2.1864	1.6994	1.366	0.048
BMDL	0.91970	0.12243	0.510	0.957
BMDNeck	0.76867	0.10027	0.565	0.907
BMDTroch	0.64509	0.10417	0.520	0.950
BMDW	0.50409	0.13738	0.817	0.517
Cac	92137	0.7322	0.758	0.613
CaoCRo	0.14072	0.15878	1.219	0.102
Cas	92748	0.6332	0.720	0.677
CRs	0.9045	0.1735	0.526	0.945
DPyrCRo	74733	5.6021	1.395	0.041
ECA	0.15578	0.17037	1.491	0.023

ABREVIATURAS:

AST: Aspartato Aminotransferasa. **ALT:** Alamina Aminotransferasa. **BGP:** Osteocalcina. **BILIR.TOTAL:** Bilirrubina Total. **BMDL:** Densidad mineral de la columna lumbar (L2-L4). **BMDNeck:** Densidad mineral en cuello femoral. **BMDTroch:** Densidad mineral en la región trocantérea. **BMDW:** Densidad mineral en el triángulo de Ward. **Cac:** Calcemia corregida. **CaoCRo:** Cociente calcio / creatinina en orina. **Cas:** Calcemia. **CRs:** Creatinina sérica. **DPyrCRo:** Cociente deoxipiridinolina / creatinina en orina. **ECA:** Excreción de calcio en ayunas.

**TABLA 21: TEST DE AJUSTE A UNA DISTRIBUCIÓN NORMAL DE
KOLMOGOROV-SMIRNOV. GRUPO CASOS. (Continuación)**

VARIABLE	MEDIA	DESV. TIPICA	K-S Z	P
F.A.	282.91	98.91	0.814	0.522
FAOS	17.858	6.760	0.535	0.937
G.A.D	196.82	103.78	1.061	0.210
GGT	130.88	103.67	1.001	0.269
IGF	82.569	48.179	0.947	0.331
ITL	9.0718	9.4762	1.432	0.033
LACT	5809.45	3681.25	0.512	0.956
MgoCRo	9.745E-02	5.896E-02	0.893	0.403
Mgs	2.316	0.380	0.684	0.738
NEOPTERIN	7.691	4.275	1.065	0.206
PROTROMB	66.97	14.43	0.654	0.786
PTHmi	23.445	14.129	0.989	0.282
PTHmm	50.438	15.538	0.467	0.981
RTP	84.024	8.464	0.897	0.396

ABREVIATURAS:

F.A.: Fosfatasa alcalina. **FAOS:** Fosfatasa alcalina isoenzima ósea. **G.A.D.:** Gramos de alcohol/día. **GGT:** Gamma glutamil transpeptidasasa. **IGF:** Factor de crecimiento insulinoide tipo I. **ITL:** Índice de testosterona libre. **LACT:** Ingesta semanal de calcio. **MgoCRo:** Cociente magnesio / creatinina en orina. **Mgs:** Magnesio sérico. **NEOPTERIN:** Neopterina. **PROTROMB:** Actividad de protrombina. **PTHmi:** Parathormona molécula intacta. **PTHmm:** Parathormona media molécula. **RTP:** Reabsorción tubular de fosfatos.

TABLA 22: TEST DE AJUSTE A UNA DISTRIBUCIÓN NORMAL DE KOLMOGOROV-SMIRNOV. GRUPO CASOS. (continuación)

VARIABLE	MEDIA	DESV. TIPICA	K-S Z	P
SHBG	70.948	42.705	0.886	0.413
sIL-2R	953.06	488.44	0.833	0.492
sTNF-R55	5.9394	2.7842	0.464	0.983
TaL	-1.7764	1.1124	0.521	0.949
TaNeck	-1.8858	0.9288	0.573	0.898
TaTroch	-1.4312	0.8204	0.467	0.981
TaW	-2.7918	0.9594	0.606	0.856
TESTOS	4.1842	2.1850	0.668	0.763
TRAP	1.462	1.163	1.156	0.138
VITD	26.421	26.887	1.317	0.062
ZaL	-1.3276	1.1309	0.541	0.931
ZaNeck	-0.5821	0.9933	0.627	0.827
ZaTroch	-0.8900	0.8506	0.488	0.971
ZaW	- 1.0776	0.8392	0.801	0.543

ABREVIATURAS:

SHBG: Globulina transportadora de esteroides sexuales; **sIL-2R:** Receptor soluble de la interleukina 2; **sTNF-R55:** Receptor soluble del factor de necrosis tumoral; **TaL:** Valor T-score a nivel columna lumbar L2-L4; **TaNeck:** Valor T-score de densidad ósea mineral en cuello de fémur; **TaTroch:** Valor T-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **TaW:** Valor T-score de densidad ósea mineral en el Triángulo de Ward; **TESTOS:** niveles de testosterona total; **TRAP:** Fosfatasa ácida tartrato resistente; **VITD:** Niveles plasmáticos de Vitamina D; **ZaL:** Valor Z-score a nivel columna lumbar L2-L4; **ZaNeck:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel de cuello femoral; **ZaTroch:** Valor Z-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **ZaW:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel del triángulo de Ward;

TABLA 23: VALORES DE LA ALBÚMINA EN LOS GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

ALBÚMINA	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	t _{exp}	g.l.	p
CONTROL (n=24)	4.5008	0.466	0.9513	4.757	55	SIGNIFICATIVO < 0.0001
CIRROSIS (n=33)	3.7352	0.6802	0.1184			

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F=3.905; p=0.053 VARIANZAS HOMOGENEAS. DE: Desviación estándar; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad.

TABLA 24: VALORES DE LA ALBÚMINA EN GRUPOS SEGÚN LOS ESTADIOS DE CHILD CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

ALBÚMINA	COMPARACIÓN DE TRES MEDIAS MEDIANTE ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
	MEDIA	D.T.	E.E.	F	g.l.	p
CHILD A (n=10)	4.138	0.4625	0.146	9.706	32	SIGNIFICATIVO 0.001
CHILD B (n=13)	3.901	0.3719	0.103			
CHILD C (n=10)	3.116	0.774	0.245			

DE: Desviación estándar; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad.

TABLA 25: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS.

CHILD A - CHILD B	NOSIGNIFICATIVO
CHILD A - CHILD C	SIGNIFICATIVO
CHILD B - CHILD C	SIGNIFICATIVO

TABLA 26: VALORES DE LA ACTIVIDAD DE PROTROMBINA EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

ACTIVIDAD DE PROTROMBINA	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE MANN-WHITNEY					
	MEDIA	D.T.	E.E.	M.R.	U	p
CONTROL (n=24)	99.83	0.64	0.139	44.42	SIGNIFICATIVO 26.0 <0.0001	
CIRROSIS (n=33)	66.97	14.43	2.51	17.79		

DT: Desviación típica; EE: Error estándar; MR: Rango de medias.

TABLA 27: VALORES DE LA ACTIVIDAD DE PROTROMBINA EN GRUPOS SEGÚN LOS ESTADIOS DE CHILD CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

ACTIVIDAD DE PROTROMBINA	COMPARACIÓN DE TRES MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE KRUSKAL-WALLIS					
	MEDIA	D.T.	E.E.	Chi-scu.	g.l.	p
CHILD A (n=10)	81.80	12.33	3.90	SIGNIFICATIVO 8.7207 2 0.0128		
CHILD B (n=13)	64.54	7.21	2.00			
CHILD C (n=10)	55.30	10.72	3.39			

DT: Desviación típica; EE: Error estándar; Chi squ: Chi cuadrado; g.l.: Grados de libertad.

TABLA 28: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS

CHILD A – CHILD B	SIGNIFICATIVO
CHILD A – CHILD C	SIGNIFICATIVO
CHILD B – CHILD C	SIGNIFICATIVO

TABLA 29: VALORES DE BILIRRUBINA TOTAL EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

BILIRRUBINA TOTAL	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE MANN-WHITNEY					
	MEDIA	D.T.	E.E.	M.R.	U	p
CONTROL (n=24)	0.860	0.410	0.080	18.88	SIGNIFICATIVO 153.0	<0.0001
CIRROSIS (n=33)	2.140	1.620	0.230	36.36		

DT: Desviación típica; EE: Error estándar; MR: Rango de medias.

TABLA 30: VALORES DE BILIRRUBINA TOTAL EN GRUPOS SEGÚN ESTADIOS DE CHILD CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

BILIRRUBINA TOTAL	COMPARACIÓN DE TRES MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE KRUSKAL-WALLIS					
	MEDIA	D.T.	E.E.	Chi squ	g.l.	p
CHILD A (n=10)	1.109	0.487	0.118	SIGNIFICATIVO 16.2676	2	0.0003
CHILD B (n=13)	1.948	1.197	0.290			
CHILD C (n=10)	3.513	1.931	0.498			

DT: Desviación típica; EE: Error estándar; Chi squ: Chi cuadrado; g.l.: Grados de libertad.

TABLA 31: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS.

COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS	
CHILD A – CHILD B	NO SIGNIFICATIVO
CHILD A – CHILD C	SIGNIFICATIVO
CHILD B – CHILD C	NO SIGNIFICATIVO

TABLA 32: VALORES DE GAD EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

GAD	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
CONTROL (n=24)	19.1667	12.218	2.494	SIGNIFICATIVO		
CIRROSIS (n=33)	196.820	103.78	18.07			
				-9.742	32.215	<0.0001

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F=19.832; p<0.0001 VARIANZAS NO HOMOGENEAS. DT: Desviación Típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad. GAD: Gramos consumidos de alcohol por día

TABLA 33: VALORES DE ALT EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

ALT	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
CONTROL (n=24)	26.0823	10.03	2.05	SIGNIFICATIVO		
CIRROSIS (n=33)	40.00	23.50	4.09			
				-3.042	46.027	0.004

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F=8.566; p<0.005 VARIANZAS NO HOMOGENEAS. DT: Desviación Típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad. ALT: Alaninoaminotransferasa.

TABLA 34: VALORES AST EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

AST	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
CONTROL (n=24)	22.9583	4.611	0.94 1	SIGNIFICATIVO		
CIRROSIS (n=33)	56.91	28.572	4.97			
				-6.707	32.271	< 0.0001

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F=24.35; p<0.0001. VARIANZAS NO HOMOGENEAS. DE: Desviación estándar; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad.

TABLA 35: VALORES DE AST EN GRUPOS SEGÚN LOS ESTADIOS DE CHILD CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

AST	COMPARACIÓN DE TRES MEDIAS MEDIANTE ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
	MEDIA	D.T.	E.E.	F	g.l.	p
CHILD A (n=10)	35.20	12.73	4.03	8.769	32	0.001
CHILD B (n=13)	56.54	22.66	6.29			
CHILD C (n=10)	79.10	31.38	9.92			

DE: Desviación estándar; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad.

TABLA 36: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS.

CHILD A - CHILD B	NO SIGNIFICATIVO
CHILD A - CHILD C	SIGNIFICATIVO
CHILD B - CHILD C	SIGNIFICATIVO

TABLA 37: VALORES GGT EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

GGT	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
CONTROL (n=24)	31.8333	12.658	2.584	-5.433	33.306	<0.0001
CIRROSIS (n=33)	130.88	103.67	18.05			

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F= 19.314; p<0.0001 VARIANZAS NO HOMOGENEAS. DT: Desviación Típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad.

TABLA 38: VALORES DE GGT EN GRUPOS SEGÚN ESTADIOS DE CHILD CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

GGT	COMPARACIÓN DE TRES MEDIAS MEDIANTE ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
	MEDIA	D.T.	E.E.	F	g.l.	p
CHILD A (n=10)	113.20	84.59	26.75	3.466	32	0.044
CHILD B (n=13)	183.38	128.77	35.71			
CHILD C (n=10)	80.30	42.18	13.34			

TABLA 39: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS.

CHILD A – CHILD B	NO SIGNIFICATIVO
CHILD A – CHILD C	NO SIGNIFICATIVO
CHILD B – CHILD C	SIGNIFICATIVO

TABLA 40: VALORES DE IGF EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

IGF	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
CONTROL (n=24)	161.3500	69.328	14.152	5.018	54	<0.0001
CIRROSIS (n=32)	82.569	48.179	8.517			

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F=3.802; p=0.056 VARIANZAS HOMOGENEAS. DT: Desviación Típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad. IGF: Factor de crecimiento insulinoide tipo I.

TABLA 41: VALORES DE PTHmm EN GRUPOS SEGÚN LOS ESTADIOS DE CHILD CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

PTHmm	COMPARACIÓN DE TRES MEDIAS MEDIANTE ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
	MEDIA	D.T.	E.E.	F	g.l.	p
CHILD A (n= 10)	115.05	61.48	14.91	3.376	31	0.041
CHILD B (n= 13)	70.24	39.12	9.49			
CHILD C (n= 10)	68.78	40.90	10.93			

DE: Desviación estándar; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad.

TABLA 42: VALORES DE VITD EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

VITD	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
CONTROL (n=22)	45.5136	24.970	5.324	2.653	53	0.010
CIRROSIS (n=33)	26.421	26.887	4.681			

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F= 0.804; p=0.374 VARIANZAS HOMOGENEAS. DT: Desviación típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad.

TABLA 43: VALORES TESTOSTERONA EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

TEST	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
CONTROL (n=23)	4.1842	2.1850	0.3804	-2.177	50.089	0.034
CIRROSIS (n=33)	3.2152	1.1097	0.2314			

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F=5.559; p= 0.022 VARIANZAS NO HOMOGENEAS. DT: Desviación Típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad. Cac: Calcemia corregida.

TABLA 44: VALORES DE ITL EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

ITL	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE MANN-WHITNEY					
	MEDIA	D.T.	E.E.	M.R.	U	p
CONTROL (n=23)	9.64	3.48	0.72	33.76	SIGNIFICATIVO 258.5	0.04
CIRROSIS (n=33)	7.71	8.45	1.23	24.83		

DT: Desviación típica; EE: Error estándar; MR: Rango de medias. ITL: Índice de testosterona libre.

TABLA 45: VALORES DE SHBG EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

SHBG	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
CONTROL (n=23)	31.3174	8.863	1.848	SIGNIFICATIVO -5.174	35.879	<0.0001
CIRROSIS (n=33)	70.948	42.705	7.434			

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F=25.016; p<0.0001 VARIANZAS NO HOMOGENEAS. DT: Desviación típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad. SHBG: Globulina transportadora de esteroides sexuales.

TABLA 46: VALORES DE SHBG EN GRUPOS SEGÚN LOS ESTADIOS DE CHILD CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

SHBG	COMPARACIÓN DE TRES MEDIAS MEDIANTE ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
	MEDIA	D.T.	E.E.	F	g.l.	p
CHILD A (n= 10)	56.480	38.347	12.126	SIGNIFICATIVO 3.991	32	0.029
CHILD B (n= 13)	94.838	49.863	13.830			
CHILD C (n= 10)	54.360	18.327	5.795			

DE: Desviación estándar; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad.

TABLA 47: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS.

CHILD A - CHILD B	SIGNIFICATIVO
CHILD A - CHILD C	NO SIGNIFICATIVO
CHILD B - CHILD C	SIGNIFICATIVO

TABLA 48: VALORES DE CRs EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

CRs	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
CONTROL (n=24)	1.0246	0.132	0.027	2.840	55	0.006
CIRROSIS (n=33)	0.9045	0.1735	0.030			

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F=1.1790; p=0.186 VARIANZAS HOMOGENEAS. DT: Desviación Típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad.

TABLA 49: VALORES DE FA EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

FA	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
CONTROL (n=24)	150.6667	24.629	5.027	-7.373	37.312	<0.0001
CIRROSIS (n=33)	282.910	98.91	17.22			

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F=24.484; p<0.0001 VARIANZAS NO HOMOGENEAS. DT: Desviación Típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad. FA: Fosfatasa alcalina sérica

TABLA 50: VALORES DE FA EN GRUPOS SEGÚN LOS ESTADIOS DE CHILD CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

FA	COMPARACIÓN DE TRES MEDIAS MEDIANTE ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
	MEDIA	D.T.	E.E.	F	g.l.	p
CHILD A (n=10)	213.70	56.59	17.90	4.246	32	0.024
CHILD B (n= 13)	309.62	96.86	26.86			
CHILD C (n=10)	317.40	106.76	33.76			

DE: Desviación estándar; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad.

TABLA 51: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS. (FA)

CHILD A - CHILD B	NO SIGNIFICATIVO
CHILD A - CHILD C	SIGNIFICATIVO
CHILD B - CHILD C	NO SIGNIFICATIVO

TABLA 52: VALORES DE FAOS EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

FAOS	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
CONTROL (n=23)	12.3652	4.502	0.939	-3.401	54	0.001
CIRROSIS (n=33)	17.858	6.760	1.177			

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F=3.012; p=0.088 VARIANZAS NO HOMOGENEAS. DT: Desviación Típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad. FAOS: Fosfatasa alcalina isoenzima ósea.

TABLA 53: VALORES DE FAOS EN GRUPOS SEGÚN LOS ESTADIOS DE CHILD CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

FAOS	COMPARACIÓN DE TRES MEDIAS MEDIANTE ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
	MEDIA	D.T.	E.E.	F	g.l.	p
CHILD A (n=10)	13.380	5.197	1.643	4.062	32	0.027
CHILD B (n= 13)	20.700	7.605	2.109			
CHILD C (n= 10)	18.64	4.872	1.541			

DE: Desviación estándar; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad.

TABLA 54: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS.

CHILD A - CHILD B	SIGNIFICATIVO
CHILD A - CHILD C	NO SIGNIFICATIVO
CHILD B - CHILD C	NO SIGNIFICATIVO

TABLA 55: VALORES DE DPyrCRo EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

DPyrCRo	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE MANN-WHITNEY					
	MEDIA	D.T.	E.E.	M.R.	U	p
CONTROL (n=23)	4.2222	2.3784	0.4959	20.67	SIGNIFICATIVO 199.500 0.003	
CIRROSIS (n=33)	7.4733	5.6021	0.9752	33.95		

DT: Desviación típica; EE: Error estándar; MR: Rango de medias.

TABLA 56: VALORES DE MgoCRo EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

MgoCRo	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE MANN-WHITNEY					
	MEDIA	D.T.	E.E.	M.R.	U	p
CONTROL (n=24)	0.0510	0.034	0.006	25.58	SIGNIFICATIVO 314.0 0.0017	
CIRROSIS (n=33)	0.0974	0.058	0.010	41.96		

DT: Desviación típica; EE: Error estándar; MR: Rango de medias. MgoCRo: Cociente Mg creatinina en orina.

TABLA 57: VALORES DE Z SCORE L2-L4 EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

Z SCORE L2-L4	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
CONTROL (n=350)	0.05	1.3		SIGNIFICATIVO 7.23 397 <0.0001		
CIRROSIS (n=33)	-1.2571	1.057	0.1936			

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F= 0.10 ; p<0. 0001. VARIANZAS NO HOMOGENEAS. DT: Desviación típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad. Z SCORE L2-L4: Valor Z score en columna lumbar (L2-L4)

TABLA 58: VALORES DE Z SCORE EN CUELLO DE FÉMUR EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

Z SCORE EN CUELLO DE FÉMUR	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
CONTROL (n=350)	0.025	1.49		7.23	397	SIGNIFICATIVO <0.03
CIRROSIS (n=33)	-0.5821	0.9933	0.17296			

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F= 0.10 ; p<0. 0001. VARIANZAS NO HOMOGENEAS. DT: Desviación típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad.

TABLA 59: VALORES DE sTNF-R55 EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

sTNF-R55	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
CONTROL (n=24)	1.2767	0.580	0.118	-9.346	35.755	SIGNIFICATIVO <0.0001
CIRROSIS (n=33)	5.9394	2.7842	0.4847			

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F=29.298; p<0.0001 VARIANZAS NO HOMOGENEAS. DT: Desviación típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad. sTNF-R55: Receptor soluble del factor de necrosis tumoral R55.

TABLA 59 bis: VALORES DE sTNF-R55 PARA PACIENTES CON CIRROSIS ALCOHÓLICA DIVIDIDOS EN GRUPOS OSTEOPOROSIS Y NO OSTEOPOROSIS.

sTNF-R55 EN CIRROSIS ALCOHÓLICA	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
NO OSTEOPOROSIS (n=25)	5.0776	2.3298	0.4660	-3.721	31	SIGNIFICATIVO <0.001
OSTEOPOROSIS (n=8)	8.6325	2.4258	0.8577			

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F=0.123; p= 0.729 VARIANZAS HOMOGENEAS. DT: Desviación típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad. sTNF-R55: Receptor soluble del factor de necrosis tumoral R55.

TABLA 60: VALORES DE sTNF-R55 EN GRUPOS SEGÚN ESTADIOS DE CHILD CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

sTNF-R55	COMPARACIÓN DE TRES MEDIAS MEDIANTE ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
	MEDIA	D.T.	E.E.	F	g.l.	p
CHILD A (n=10)	3.505	2.049	0.648	10.603	32	<0.0001
CHILD B (n=13)	6.229	2.178	0.604			
CHILD C (n=10)	7.998	2.371	0.750			

sTNF-R55: Receptor soluble del factor de necrosis tumoral R55.

TABLA 61: COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS. (sTNF-R55)

CHILD A – CHILD B	SIGNIFICATIVO
CHILD A – CHILD C	SIGNIFICATIVO
CHILD B – CHILD C	NO SIGNIFICATIVO

TABLA 62: VALORES DE sIL-2R EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

sIL-2R	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
CONTROL (n=24)	545.3333	182.734	37.301	-4.391	43.272	<0.0001
CIRROSIS (n=33)	953.06	488.44	85.03			

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F=19.630; p<0.0001 VARIANZAS NO HOMOGENEAS. DT: Desviación típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad. sIL-2R: Receptor soluble de la IL2.

TABLA 62 bis: VALORES DE sIL-2R PARA PACIENTES CON CIRROSIS ALCOHÓLICA DIVIDIDOS EN GRUPOS OSTEOPOROSIS Y NO OSTEOPOROSIS.

sIL-2R EN CIRROSIS ALCOHÓLICA	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
NO OSTEOPOROSIS (n=25)	845.24	450.08	90.02	-2.403	31	SIGNIFICATIVO <0.022
OSTEOPOROSIS (n=8)	1290.00	474.17	167.64			

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F=0.140; p= 0.710 VARIANZAS HOMOGENEAS. DT: Desviación típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad. sTNF-R55: Receptor soluble del factor de necrosis tumoral R55.

TABLA 63: VALORES DE NEOPTERINA EN GRUPOS CONTROL Y CIRROSIS CON LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

NEOPTERINA	COMPARACIÓN DE DOS MEDIAS MEDIANTE EL TEST DE LA t DE STUDENT (CORRECCIÓN DE WELCH)					
	MEDIA	D.T.	E.E.	texp	g.l.	p
CONTROL (n=24)	4.9125	1.459	0.298	-3.466	41.584	SIGNIFICATIVO 0.001
CIRROSIS (n=33)	7.691	4.275	0.744			

Test de Levene para comparación de homogeneidad de varianzas: F=23.812; p<0.0001 VARIANZAS NO HOMOGENEAS. DT: Desviación Típica; EE: Error estándar; g.l.: Grados de libertad.

TABLA 64: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO ALBUMINA CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

ALBÚMINA	ALCOHOL	
	r	p
AST	-0.3613	0.039
BMDL	0.3874	0.026
CRs	0.4469	0.009
FA	-0.4821	0.004
IGF	0.3644	0.040
A.PROTROM	0.4434	0.010
PTHmi	0.3822	0.028
PTHmm	0.5918	0<0.0001
sIL-2R	-0.5140	0.002
sTNF-R55	-0.6506	<0.0001
TaL	0.3872	0.026
TaW	0.3720	0.033
TESTOS	0.3897	0.025
ZaL	0.3441	0.050

ABREVIATURAS:

AST: Aspartato-Aminotransferasa. BMDL: Densidad mineral de la columna lumbar (L₂-L₄). CRs: Creatinina sérica. F.A.: Fosfatasa Alcalina. IGF: Factor de crecimiento insulinoide tipo I. PROTROM: Actividad de protrombina. PTHmi: PTH molécula intacta. PTHmm: PTH molécula media. sIL-2R: Receptor Soluble de la Interleukina 2. sTNF-R55: Receptor Soluble del Factor de Necrosis Tumoral. TaL: Valor T-score de BMDL. TaW: Valor T-score de BMDW. TESTOS: Testosterona total. ZaL: Valor Z-score de BMDL

TABLA 65: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO ACTIVIDAD DE PROTROMBINA CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

A.PROTROM	ALCOHOL	
	r	p
ALBÚMINA	0.4434	0.010
AST	-0.4901	0.003
BILIRRUB	-0.6966	<0.0001
CaC	0.4812	0.05
FA	-0.3696	0.034
IGF	0.3534	0.047
Mgs	0.4550	0.009
Ps	-0.4467	0.010
sIL-2R	-0.3936	0.023
sTNF-R55	-0.5124	0.002

ABREVIATURAS:

AST: Aspartato-Aminotransferasa. **BILIRRUB:** Bilirrubina Total **CaC:** Calcio corregido. **F.A.:** Fosfatasa Alcalina. **IGF:** Factor de crecimiento insulinoide tipo I. **Mgs:** Magnesemia sérica. **Ps:** Fósforo sérico. **sIL-2R:** Receptor Soluble de la Interleukina 2. **sTNF-R55:** Receptor Soluble del Factor de Necrosis Tumoral.

TABLA 66: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO BILIRRUBINA CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

BILIRRUBIN	ALCOHOL	
	r	p
ALT	0.3434	0.050
AST	0.4779	0.005
Mgs	-0.3679	0.038
A.PROTROM	-0.6966	<.0001
sNTF-R55	0.3604	0.039
TRAP	-0.4981	0.005

ABREVIATURAS:

ALT: Alanino aminotransferasa. **AST:** Aspartato-Aminotransferasa. **Mgs:** Magnesio sérico. **PROTROM:** Actividad de protrombina. **sTNF-R55:** Receptor Soluble del Factor de Necrosis Tumoral. **TRAP:** Fosfatasa ácida resistente a tartrato.

TABLA 67: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO Cac CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

Cac	ALCOHOL	
	r	P
Cas	0.6227	<0.0001
PROTROM	0.4812	0.005
sNTF-R55	-0.4753	0.006
ZaW	0.3796	0.032

ABREVIATURAS:

Cas: Calcemia. **PROTROM:** Actividad de protrombina. **sNTF-R55:** Receptor soluble del NTF-R55. **ZaW:** Valor Z-score en triángulo de Ward.

TABLA 68: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO Cas CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

Cas	ALCOHOL	
	r	p
ALBUMINA	0.6280	<0.0001
BMDW	0.4245	0.014
Cac	0.6227	<0.0001
CRs	0.5148	0.002
FA	-0.5187	0.002
sIL-2R	-0.5461	0.001
sNTF-R55	-0.6200	<0.0001
TaW	0.4045	0.020
ZaW	0.3898	0.025

ABREVIATURAS:

BMDW: Densidad mineral ósea en triángulo de Ward. **Cac:** Calcemia. **CRs:** Creatinina sérica. **FA:** Fosfatasa alcalina. **sIL-2R:** Receptor soluble de la IL2. **sNTF-R55:** Receptor soluble del NTF-R55. **TaW:** Valor T- score en triángulo de Ward. **ZaW:** Valor Z- score en triángulo de Ward.

TABLA 69: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO IGF-I CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

IGF-I	ALCOHOL	
	r	P
ALBÚMINA	0.3644	0.040
LACT	0.4602	0.008
PROTROM	0.3534	0.047
PTHmm	0.4961	0.005
TESTOS	0.3491	0.050

ABREVIATURAS:

LACT: Consumo semanal de calcio. **PROTROM:** Actividad de protrombina. **PTHmm:** parathormona molécula media. **TESTOS:** Testosterona.

TABLA 70: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO PTHmm CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

PTHmm	ALCOHOL	
	r	P
ALBÚMINA	0.5918	<0.0001
IGF	0.4961	0.005
sTNF-R55	-0.3495	0.050

ABREVIATURAS:

IGF: Factor de crecimiento insulinoide tipo I. **sTNF-R55:** Receptor soluble para el TNF.

TABLA 71: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO TESTOSTERONA CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

TESTOST	ALCOHOL	
	r	p
ALBÚMINA	0.3897	0.025
IGF	0.391	0.050
ITL	0.4951	0.003
sTNF-R55	-0.3625	0.038

ABREVIATURAS:

IGF-I: Factor de crecimiento insulinoide tipo I. **ITL:** Índice de testosterona libre. **sTNF-R55:** Receptor soluble del factor de necrosis tumoral;

TABLA 72: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO OSTEOCALCINA (BGP) CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

BGP	ALCOHOL	
	r	P
NEOPT	-0.3312	0.020
Ps	0.4114	0.019
VITD	0.2898	0.043

ABREVIATURAS:

NEOPT: Neopterin. Ps: fósforo sérico. VITD: vitamina D.

TABLA 73: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO FA CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

FA	ALCOHOL	
	r	p
ALBUMINA	-0.4821	0.004
Cas	-0.5187	0.02
CRs	-0.4172	0.016
FAOS	0.6158	<0.0001
PROTROM	-0.3696	0.034
sIL-2R	0.5636	0.001
sNTF-R55	0.2921	0.001
ZaL	-0.3519	0.045

ABREVIATURAS:

Cas: Calcemia. CRs: Creatinina sérica. FAOS: Fosfatasa alcalina isoenzima ósea. PROTROM: actividad De protrombina. sIL-2R: Receptor soluble de la IL2. sNTF-R55: Receptor soluble del NTF-R55. ZaL: Valor Z-score de BMDL en columna lumbar.

TABLA 74: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO FAOS CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

FAOS	ALCOHOL	
	r	p
FA	0.6158	<0.0001
PTHmi	0.4113	0.017
SHBG	0.4989	0.003

ABREVIATURAS:

FA: Fosfatasa alcalina PTHmi: PTH molécula íntegra. SHBG: Globulina transportadora de esteroides sexuales.

TABLA 75: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO COCIENTE DEOXIPIRIDINOLINA / CREATININA EN ORINA (DpyrCRo) CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

DPyrCRo	ALCOHOL	
	r	p
MgCRo	0.5534	0.001
PS	0.3324	0.022
PTHmi	-0.2894	0.049
RTP	-0.5791	<0.0001
sNTF-R55	0.3535	0.014

ABREVIATURAS:

MgCRo: Cociente Magnesio creatinina en orina. **PS:** Fosforo plasmático. **PTHmi:** Parathormona molécula íntegra. **RTP:** Reabsorción tubular de fosfatos. **sNTF-R55:** Receptor soluble del NTF-R55.

TABLA 76: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO BMDL CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

BMDL	ALCOHOL	
	r	p
ALBUMINA	0.3874	0.026
BMDNeck	0.3512	0.045
BMDTroch	0.6673	<0.0001
BMDW	0.4648	0.006
CRs	0.3621	0.038
sIL-2R	-0.3828	0.028
sNTF-R55	-0.3639	0.037
TaL	1	<0.0001
TaNeck	0.3448	0.049
TaTroch	0.7063	<0.0001
TaW	0.5142	0.002
ZaL	0.9769	<0.0001
ZaTroch	0.6756	<0.0001
ZaW	0.5411	0.001

ABREVIATURAS:

BMDNeck: Densidad mineral en cuello femoral. **BMDTroch:** Densidad mineral en la región trocantérea. **BMDW:** Densidad mineral en el triángulo de Ward. **CRs:** Creatinina sérica. **sIL-2R:** Receptor soluble de la interleukina 2; **sTNF-R55:** Receptor soluble del factor de necrosis tumoral; **TaL:** Valor T-score a nivel columna lumbar L2-L4; **TaNeck:** Valor T-score de densidad ósea mineral en cuello de fémur; **TaTroch:** Valor T-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **TaW:** Valor T-score de densidad ósea mineral en el Triángulo de Ward; **ZaL:** Valor Z-score a nivel columna lumbar L2-L4; **ZaTroch:** Valor Z-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **ZaW:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel del triángulo de Ward;

TABLA 77: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO BMDNeck CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

BMDNeck	ALCOHOL	
	r	p
BMDL	0.3512	0.045
BMDTroch	0.4632	0.007
BMDW	0.7066	<0.0001
TaL	0.3508	0.045
TaNeck	0.9856	<0.0001
TaTroch	0.5478	0.001
TaW	0.7382	<0.0001
ZaNeck	0.9002	<0.0001
ZaTroch	0.5010	<0.0001
ZaW	0.6920	<0.0001

ABREVIATURAS:

BMDL: Densidad mineral de la columna lumbar (L2-L4). **BMDTroch:** Densidad mineral en la región trocantérea. **BMDW:** Densidad mineral en el triángulo de Ward. **TaL:** Valor T-score a nivel columna lumbar L2-L4; **TaNeck:** Valor T-score de densidad ósea mineral en cuello de fémur; **TaTroch:** Valor T-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **TaW:** Valor T-score de densidad ósea mineral en el Triángulo de Ward; **ZaNeck:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel de cuello femoral; **ZaTroch:** Valor Z-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **ZaW:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel del triángulo de Ward;

TABLA 78: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO BMDTroch CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

BMDTroch	ALCOHOL	
	r	p
BMDL	0.6673	<0.0001
BMDNeck	1	0.007
BMDW	0.4305	0.012
CRs	0.3880	0.026
TaL	0.6674	<0.0001
TaNeck	0.4976	0.003
TaTroch	0.9586	<0.0001
TaW	0.4881	0.004
ZaL	0.6836	<0.0001
ZaNeck	0.5126	0.001
ZaTroch	0.9504	<0.0001
ZaW	0.6247	<0.0001

ABREVIATURAS:

BMDL: Densidad mineral de la columna lumbar (L2-L4). **BMDNeck:** Densidad mineral en cuello femoral. **BMDTroch:** Densidad mineral en la región trocántera. **BMDW:** Densidad mineral en el triángulo de Ward. **CRs:** Creatinina sérica. **TaL:** Valor T-score a nivel columna lumbar L2-L4; **TaNeck:** Valor T-score de densidad ósea mineral en cuello de fémur; **TaTroch:** Valor T-score de densidad ósea mineral en región trocántera; **TaW:** Valor T-score de densidad ósea mineral en el Triángulo de Ward; **ZaL:** Valor Z-score a nivel columna lumbar L2-L4; **ZaNeck:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel de cuello femoral; **ZaTroch:** Valor Z-score de densidad ósea mineral en región trocántera; **ZaW:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel del triángulo de Ward;

TABLA 79: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN TRIÁNGULO DE WARD (BMDW) CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

BMDW	ALCOHOL	
	r	p
BMDL	0.4648	0.006
BMDNeck	0.4632	<0.0001
BMDTroch	1	0.012
Cas	0.4245	0.014
sTNF-R55	-0.2930	0.049
TaL	0.4643	0.006
TaNeck	0.6779	<0.0001
TaTroch	0.4885	0.004
TaW	0.9633	<0.0001
ZaL	0.3916	0.024
ZaNeck	0.5511	0.001
ZaTroch	0.4193	0.015
ZaW	0.7910	<0.0001

ABREVIATURAS:

BMDL: Densidad mineral de la columna lumbar (L2-L4). **BMDNeck:** Densidad mineral en cuello femoral. **BMDTroch:** Densidad mineral en la región trocantérea. **Cas:** Calcemia. **sTNF-R55:** receptor soluble del factor de necrosis tumoral R55. **TaL:** Valor T-score a nivel columna lumbar L2-L4; **TaNeck:** Valor T-score de densidad ósea mineral en cuello de fémur; **TaTroch:** Valor T-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **TaW:** Valor T-score de densidad ósea mineral en el Triángulo de Ward. **ZaL:** Valor Z-score a nivel columna lumbar L2-L4; **ZaNeck:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel de cuello femoral; **ZaTroch:** Valor Z-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **ZaW:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel del triángulo de Ward;

TABLA 80: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO TaL CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

TaL	ALCOHOL	
	r	p
ALBUMINA	0.3872	0.026
BMDL	1	<0.0001
BMDNeck	0.3508	0.045
BMDTroch	0.6674	<0.0001
BMDW	0.4643	0.006
sIL-2R	-0.3827	0.028
sNTF-R55	-0.3630	0.038
TaNeck	0.3443	0.050
TaTroch	0.7065	<0.0001
TaW	0.5139	0.002
ZaL	0.9770	<0.0001
ZaTroch	0.6758	<0.0001
ZaW	0.5409	0.001

ABREVIATURAS:

BMDL: Densidad mineral de la columna lumbar (L2-L4). **BMDNeck:** Densidad mineral en cuello femoral. **BMDTroch:** Densidad mineral en la región trocantérea. **BMDW:** Densidad mineral en el triángulo de Ward. **sIL-2R:** Receptor soluble de la interleukina 2; **sTNF-R55:** Receptor soluble del factor de necrosis tumoral; **TaNeck:** Valor T-score de densidad ósea mineral en cuello de fémur; **TaTroch:** Valor T-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **TaW:** Valor T-score de densidad ósea mineral en el Triángulo de Ward; **ZaL:** Valor Z-score a nivel columna lumbar L2-L4; **ZaTroch:** Valor Z-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **ZaW:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel del triángulo de Ward;

TABLA 81: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO TaNeck CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

TaNeck	ALCOHOL	
	r	p
BMDL	0.3448	0.049
BMDNeck	0.9856	<0.0001
BMDTroch	0.4976	0.003
BMDW	0.6779	<0.0001
TaL	0.3443	0.050
TaTroch	0.5667	0.001
TaW	0.7079	<0.0001
ZaNeck	0.9351	<0.0001
ZaTroch	0.5310	0.001
ZaW	0.6979	<0.0001

ABREVIATURAS:

BMDL: Densidad mineral de la columna lumbar (L2-L4). **BMDNeck:** Densidad mineral en cuello femoral. **BMDTroch:** Densidad mineral en la región trocantérea. **BMDW:** Densidad mineral en el triángulo de Ward. **TaL:** Valor T-score a nivel columna lumbar L2-L4; **TaNeck:** Valor T-score de densidad ósea mineral en cuello de fémur; **TaTroch:** Valor T-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **TaW:** Valor T-score de densidad ósea mineral en el Triángulo de Ward; **ZaNeck:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel de cuello femoral; **ZaTroch:** Valor Z-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **ZaW:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel del triángulo de Ward;

TABLA 82: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO TaTroch CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

TaTroch	ALCOHOL	
	r	p
BMDL	0.7063	<0.0001
BMDNeck	0.5478	0.001
BMDTroch	0.9586	<0.0001
BMDW	0.4885	0.004
CRs	0.4128	0.017
RTP	-0.3883	0.037
TaL	0.7065	<0.0001
TaNeck	0.5667	0.001
TaW	0.5491	0.001
ZaL	0.7137	<0.0001
ZaNeck	0.5666	0.001
ZaTroch	0.9847	<0.0001
ZaW	0.6708	<0.0001

ABREVIATURAS:

BMDL: Densidad mineral de la columna lumbar (L2-L4). **BMDNeck:** Densidad mineral en cuello femoral. **BMDTroch:** Densidad mineral en la región trocantérea. **BMDW:** Densidad mineral en el triángulo de Ward. **RTP:** Reabsorción tubular de fosfatos. **TaL:** Valor T-score a nivel columna lumbar L2-L4; **TaNeck:** Valor T-score de densidad ósea mineral en cuello de fémur; **TaW:** Valor T-score de densidad ósea mineral en el Triángulo de Ward; **ZaL:** Valor Z-score a nivel columna lumbar L2-L4; **ZaNeck:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel de cuello femoral; **ZaTroch:** Valor Z-score de densidad ósea mineral en región trocantérea;

TABLA 83: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO TaW CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

TaW	ALCOHOL	
	r	p
ALBUMINA	0.3720	0.033
BMDL	0.5142	0.002
BMDNeck	0.7382	<0.0001
BMCTroch	0.4881	0.004
BMDW	0.9633	<0.0001
Cas	0.4045	0.020
sIL-2R	-0.2990	0.045
TaL	0.5139	0.002
TaNeck	0.7079	<0.0001
TaTroch	0.5491	0.001
ZaL	0.4275	0.013
ZaNeck	0.5638	0.001
ZaTroch	0.4673	0.006
ZaW	0.8475	<0.0001

ABREVIATURAS:

BMDL: Densidad mineral de la columna lumbar (L2-L4). **BMDNeck:** Densidad mineral en cuello femoral. **BMDTroch:** Densidad mineral en la región trocantérea. **BMDW:** Densidad mineral en el triángulo de Ward. **Cas:** Calcemia. **sIL-2R:** receptor soluble de la IL-2 **TaL:** Valor T-score a nivel columna lumbar L2-L4; **TaNeck:** Valor T-score de densidad ósea mineral en cuello de fémur; **TaTroch:** Valor T-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **ZaL:** Valor Z-score a nivel columna lumbar L2-L4; **ZaNeck:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel de cuello femoral; **ZaTroch:** Valor Z-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **ZaW:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel del triángulo de Ward.

TABLA 84: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO ZaL CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

ZaL	ALCOHOL	
	r	p
ALBUMINA	0.3441	0.050
BMDL	0.9769	<0.0001
BMDTroch	0.6836	<0.0001
BMDW	0.3916	0.024
CRs	0.3994	0.021
FA	-0.3519	0.045
RTP	-0.3731	0.046
sIL-2R	-0.3717	0.033
sNTF-R55	-0.3061	0.050
TaL	0.9770	<0.0001
TaTroch	0.7137	<0.0001
TaW	0.4275	0.013
ZaNeck	0.3496	0.046
ZaTroch	0.7200	<0.0001
ZaW	0.5633	0.001

ABREVIATURAS:

BMDL: Densidad mineral de la columna lumbar (L2-L4). **BMDTroch:** Densidad mineral en la región trocantérea. **BMDW:** Densidad mineral en el triángulo de Ward. **CRs:** Creatinina sérica. **FA.:** Fosfatasa alcalina. **RTP:** Reabsorción tubular de fosfatos. **sIL-2R:** Receptor soluble de la interleukina 2; **sTNF-R55:** Receptor soluble del factor de necrosis tumoral; **TaL:** Valor T-score a nivel columna lumbar L2-L4; **TaTroch:** Valor T-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **TaW:** Valor T-score de densidad ósea mineral en el Triángulo de Ward; **ZaNeck:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel de cuello femoral; **ZaTroch:** Valor Z-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **ZaW:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel del triángulo de Ward;

TABLA 85: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO ZaNeck CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

ZaNeck	ALCOHOL	
	r	p
BMDNeck	0.9002	<0.0001
BMDTroch	0.5126	0.002
BMDW	0.5511	0.001
TaNeck	0.9351	<0.0001
TaTroch	0.5666	0.001
TaW	0.5638	0.001
ZaL	0.3496	0.046
ZaTroch	0.5913	<0.0001
ZaW	0.7332	<0.0001

ABREVIATURAS:

BMDNeck: Densidad mineral en cuello femoral . **BMDTroch:** Densidad mineral en la región trocantérea. **BMDW:** Densidad mineral en el triángulo de Ward. **TaNeck:** Valor T-score de densidad ósea mineral en cuello de fémur; **TaTroch:** Valor T-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **TaW:** Valor T-score de densidad ósea mineral en el Triángulo de Ward; **ZaL:** Valor Z-score a nivel columna lumbar L2-L4; **ZaTroch:** Valor Z-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **ZaW:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel del triángulo de Ward;

TABLA 86: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO $ZaTroch$ CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

ç

ZATROCK	ALCOHOL	
	r	p
BMDL	0.6756	<0.0001
BMDNECK	0.5010	0.003
BMDTROCK	0.9504	<0.0001
BMDW	0.4193	0.015
CRS	0.4380	0.011
RTP	-0.4088	0.028
TAL	0.6758	<0.0001
TANECK	0.5310	0.001
TATROCK	0.9847	<0.0001
TAW	0.4673	0.006
ZAL	0.7200	<0.0001
ZANECK	0.5913	<0.0001
ZAW	0.6755	<0.0001

ABREVIATURAS:

BMDL: Densidad mineral de la columna lumbar (L2-L4). **BMDNeck:** Densidad mineral en cuello femoral. **BMDTroch:** Densidad mineral en la región trocantérea. **BMDW:** Densidad mineral en el triángulo de Ward. **CRs:** Creatinina sérica. **RTP:** Reabsorción tubular de fosfatos. **TaL:** Valor T-score a nivel columna lumbar L2-L4; **TaNeck:** Valor T-score de densidad ósea mineral en cuello de fémur; **TaTroch:** Valor T-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **TaW:** Valor T-score de densidad ósea mineral en el Triángulo de Ward; **ZaL:** Valor Z-score a nivel columna lumbar L2-L4; **ZaNeck:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel de cuello femoral; **ZaW:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel del triángulo de Ward;

TABLA 87: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO ZaW CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

ZaW	ALCOHOL	
	r	p
BMDL	0.5411	0.001
BMDNeck	0.6920	<0.0001
BMDTroch	0.6747	<0.0001
BMDW	0.7910	<0.0001
Cac	0.3796	0.032
Cas	0.3898	0.025
CRs	0.4618	0.007
RTP	-0.4322	0.019
sIL-2R	-0.3090	0.040
TaL	0.5409	0.001
TaNeck	0.6979	<0.0001
TaTroch	0.6708	<0.0001
TaW	0.8475	<0.0001
ZaL	0.5633	0.001
ZaNeck	0.7332	<0.0001
ZaTroch	0.6755	<0.0001

ABREVIATURAS:

BMDL: Densidad mineral de la columna lumbar (L2-L4). **BMDNeck:** Densidad mineral en cuello femoral. **BMDTroch:** Densidad mineral en la región trocantérea. **BMDW:** Densidad mineral en el triángulo de Ward. **Cac:** Calcemia corregida. **Cas:** Calcemia. **CRs:** Creatinina sérica. **RTP:** Reabsorción tubular de fosfatos. **sIL-2R:** Receptor soluble de la interleukina 2; **TaL:** Valor T-score a nivel columna lumbar L2-L4; **TaNeck:** Valor T-score de densidad ósea mineral en cuello de fémur; **TaTroch:** Valor T-score de densidad ósea mineral en región trocantérea; **TaW:** Valor T-score de densidad ósea mineral en el Triángulo de Ward; **ZaL:** Valor Z-score a nivel columna lumbar L2-L4; **ZaNeck:** Valor Z-score de densidad ósea mineral a nivel de cuello femoral; **ZaTroch:** Valor Z-score de densidad ósea mineral en región trocantérea;

TABLA 88: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO sIL-2R CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

sIL-2R	ALCOHOL	
	r	p
ALBUMINA	-0.5140	0.002
BMDL	-0.3828	0.028
Cas	-0.5461	0.001
CRs	-0.3851	0.027
FA	0.5636	0.001
PROTROM	-0.3936	0.023
sNTF-R55	0.5448	0.001
TaL	-0.3827	0.028
TaW	-0.2990	0.045
ZaL	-0.3717	0.033
ZaW	-0.3090	0.040

ABREVIATURAS:

BMDL: Densidad mineral de la columna lumbar (L2-L4). **Cas:** Calcemia. **CRs:** Creatinina sérica. **F.A.:** Fosfatasa alcalina. **PROTROMB:** Actividad de protrombina. **sTNF-R55:** Receptor soluble del factor de necrosis tumoral; **TaL:** Valor T-score a nivel columna lumbar L2-L4; **TaW:** Valor T-score en triángulo de Ward. **ZaL:** Valor Z-score a nivel columna lumbar L2-L4; **ZaW:** Valor Z-score en triángulo de Ward.

TABLA 89: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO sTNF-R55 CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

sTNF-R55	ALCOHOL	
	r	p
ALBUMINA	-0.6506	<0.0001
BILIRRUB	0.3604	0.039
BMDL	-0.3639	0.037
Cac	-0.4753	0.006
Cas	-0.6200	<0.0001
DPyrCro	0.3535	0.014
FA	0.5344	0.001
ITL	-0.4847	0.004
LACT	-0.3735	0.032
PROTROM	-0.5124	0.002
PTHmm	-0.3495	0.050
sIL-2R	0.5448	0.001
TaL	-0.3630	0.038
TESTOS	-0.3625	0.038
ZaL	-0.3061	0.050

ABREVIATURAS:

BILIRRUB: Bilirrubina Total. **BMDL:** Densidad mineral de la columna lumbar (L2-L4). **Cac:** Calcemia corregida. **Cas:** Calcemia. **DpyrCro:** Cociente de oxipiridinolina / creatinina en orina. **F.A.:** Fosfatasa alcalina. **ITL:** Índice de testosterona libre. **LACT:** Ingesta semanal de calcio. **PROTROMB:** Actividad de protrombina. **PTHmm:** Parathormona media molécula. **sIL-2R:** Receptor soluble de la interleukina 2; **TaL:** Valor T-score a nivel columna lumbar L2-L4; **TESTOS:** niveles de testosterona total; **ZaL:** Valor Z-score a nivel columna lumbar L2-L4;

TABLA 90: CORRELACIONES SIGNIFICATIVAS DEL PARÁMETRO NEOPTERINA CON LAS DISTINTAS VARIABLES DEL GRUPO ALCOHOL (CIRROSIS).

NEOPTERIN	ALCOHOL	
	r	p
BGP	-0.3312	0.020
ALT	-0.4893	0.004
AST	-0.3505	0.045

ABREVIATURAS:

BGP: Osteocalcina. **ALT:** alaninoaminotransferasa. **AST:** Aspartatoaminotransferasa.

GRÁFICOS

VII. GRÁFICOS

*Comparaciones entre grupos control
y cirróticos (valores de media)
para IGF-I*

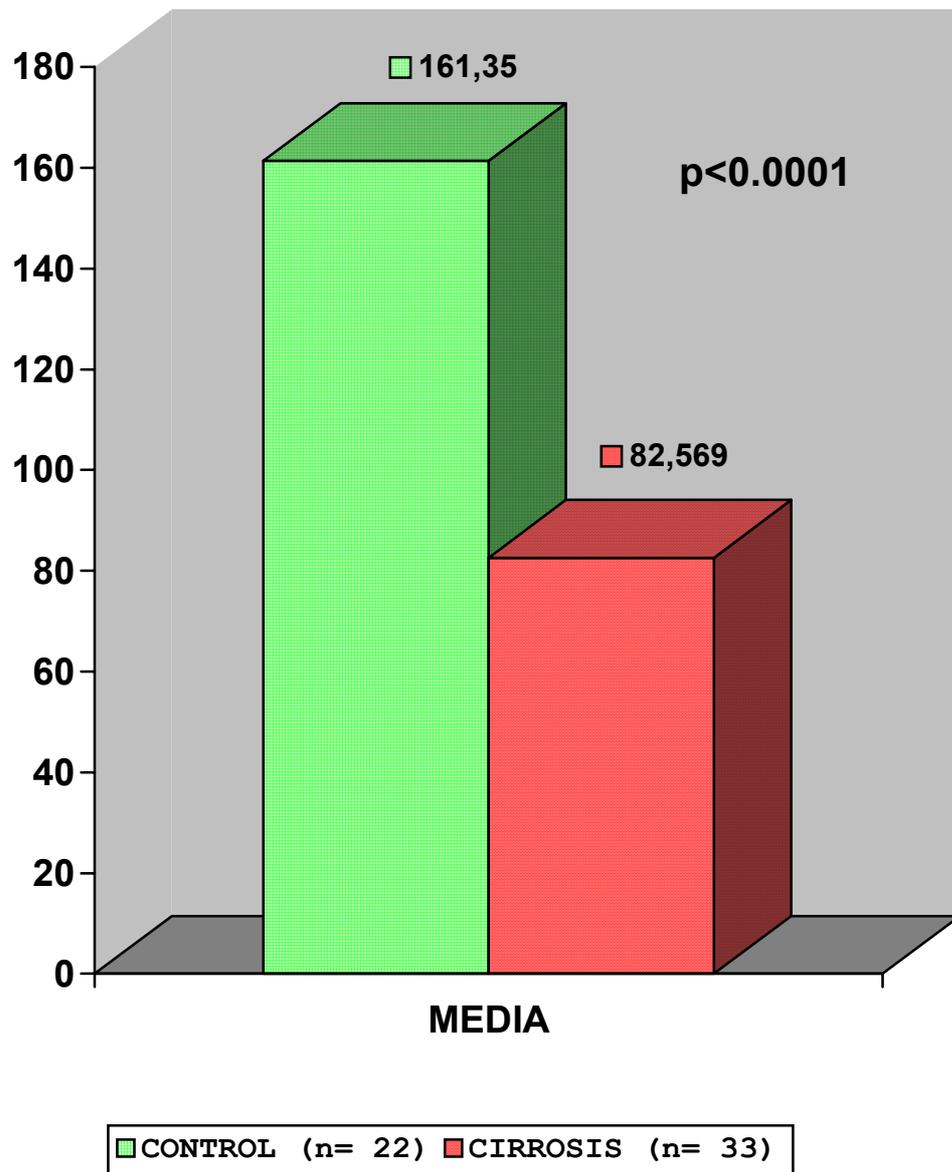
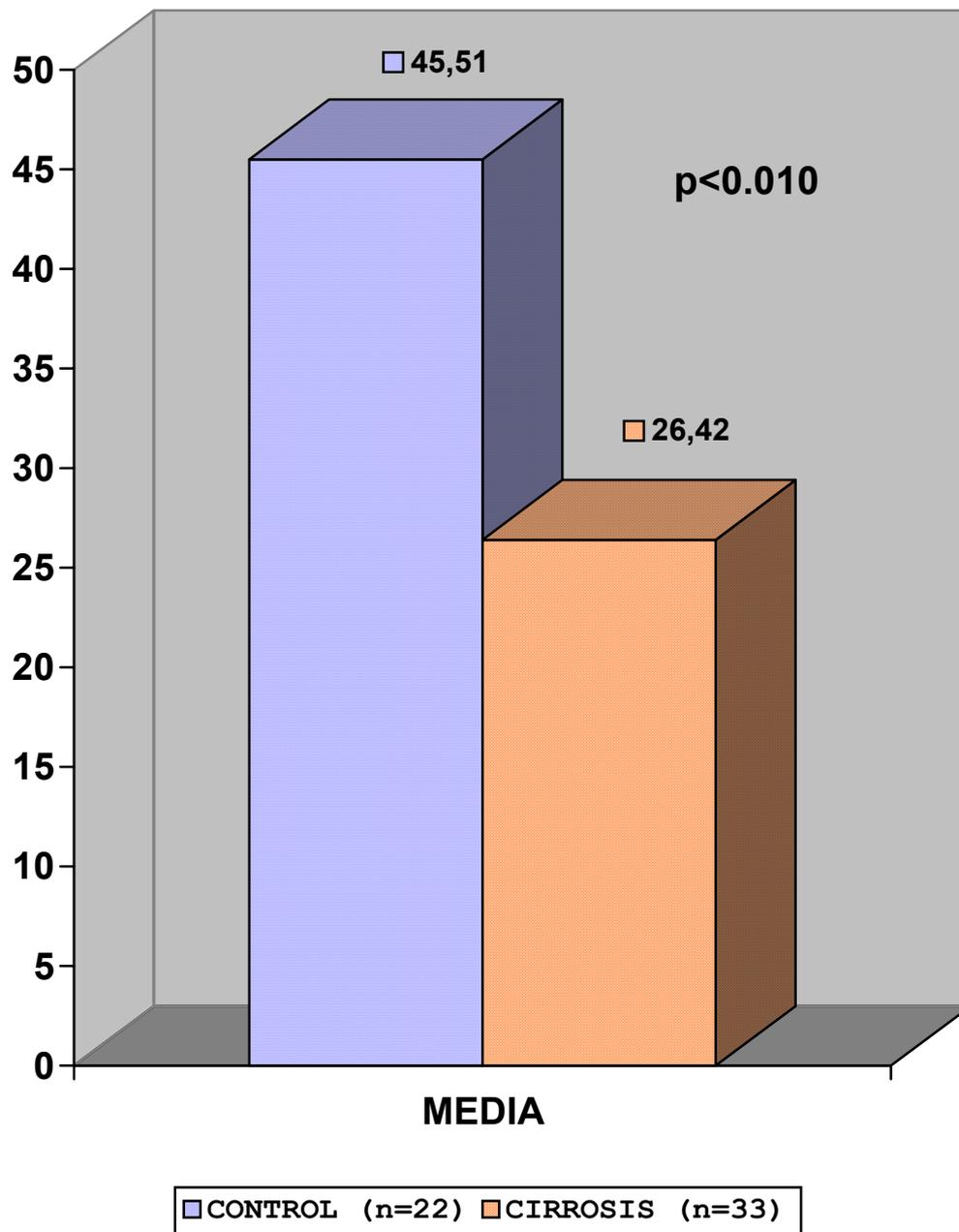


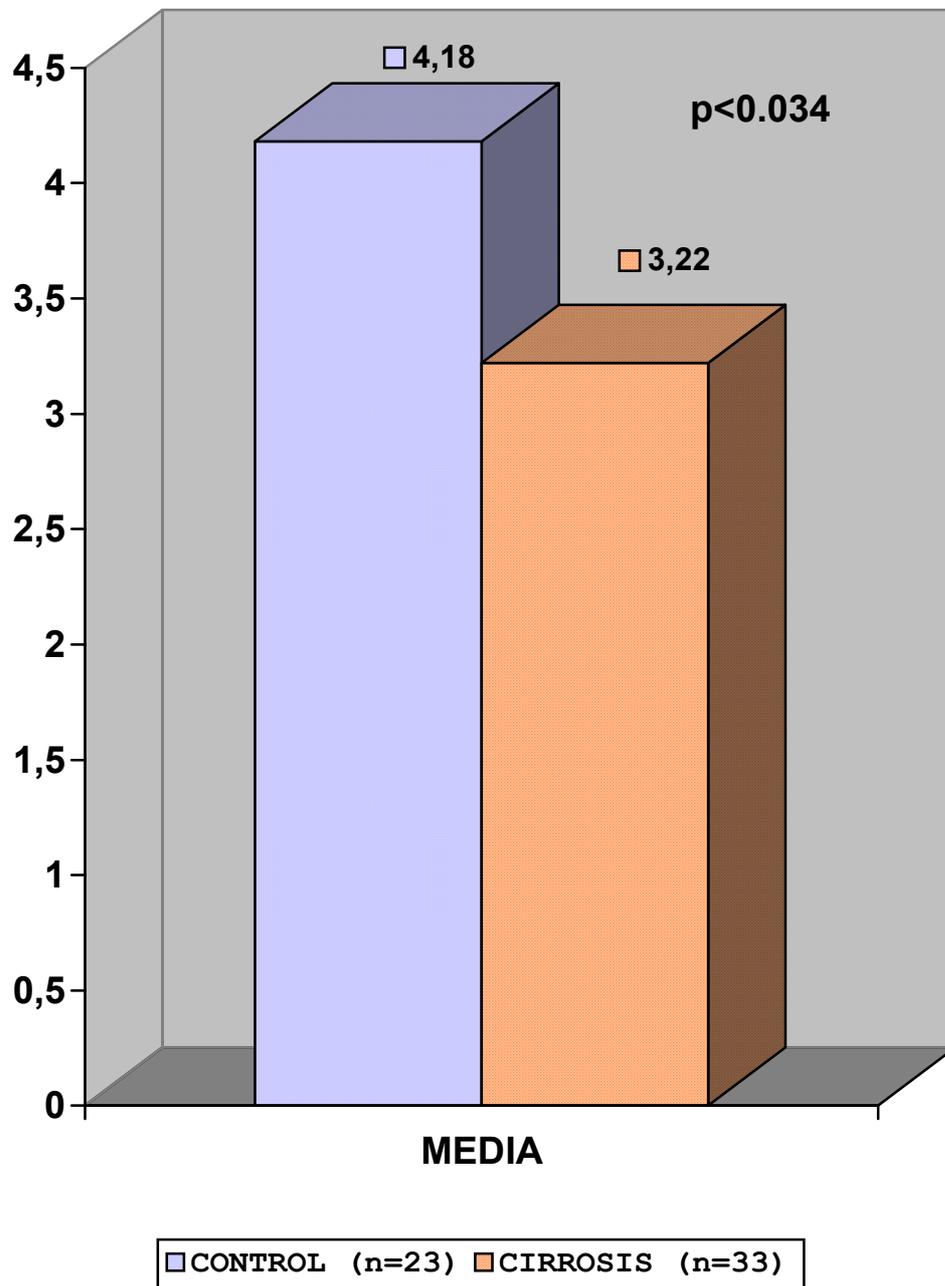
Gráfico número 1

*Comparaciones entre grupos control y
cirróticos (valores de media) para
Hidroxi vitamina D*



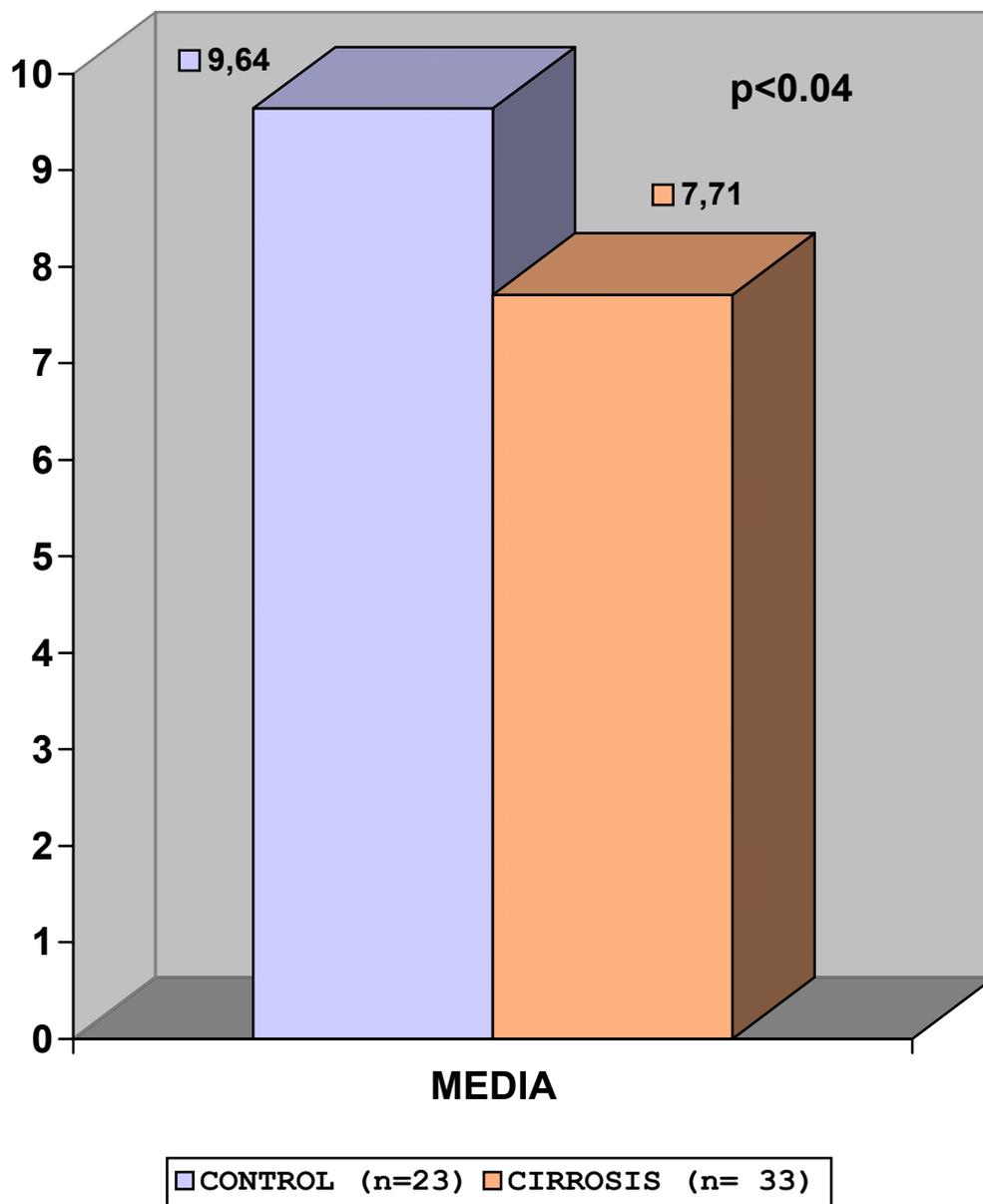
Gráfica número 2

*Comparaciones entre grupos control
y cirróticos (valores de media)
para Testosterona*



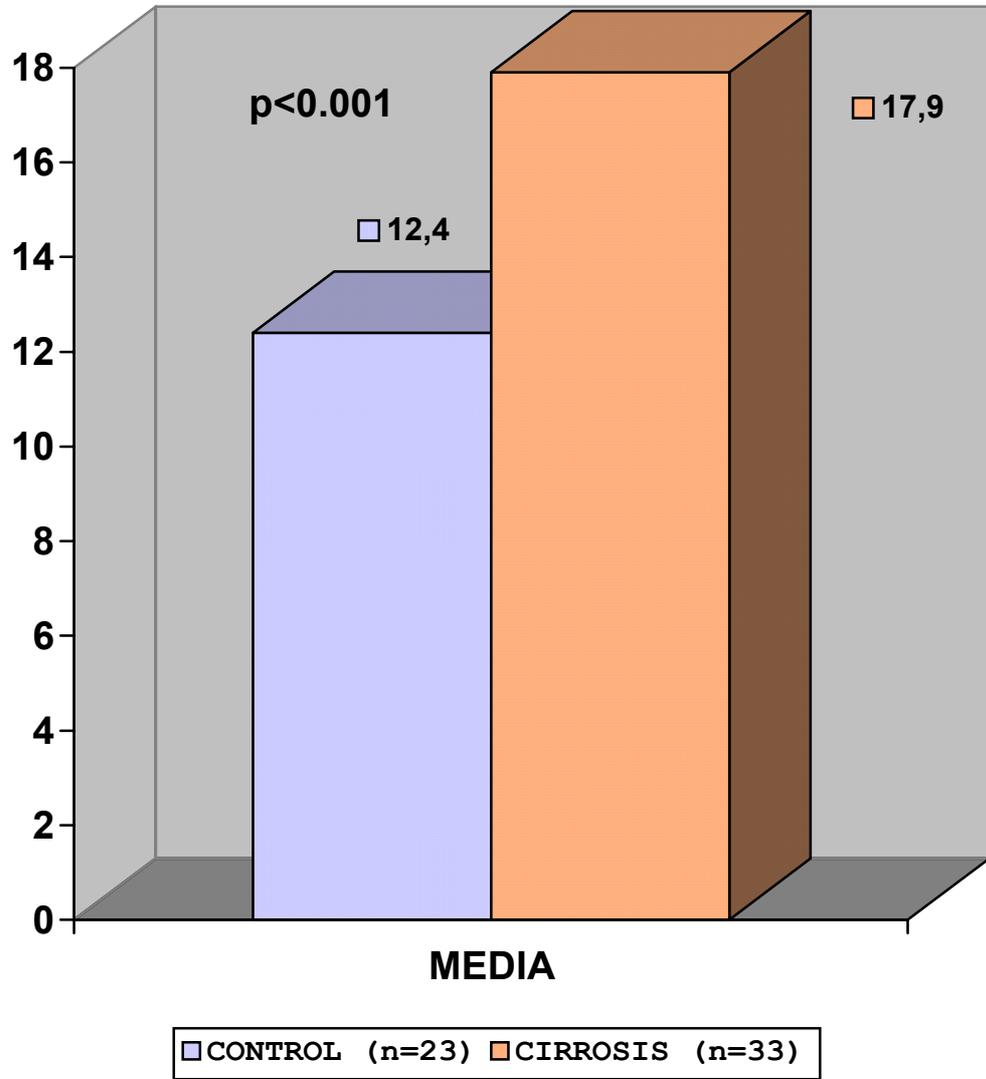
Gráfica número 3.

*Comparaciones entre grupos control y
cirróticos (valores de media) para
ITL*



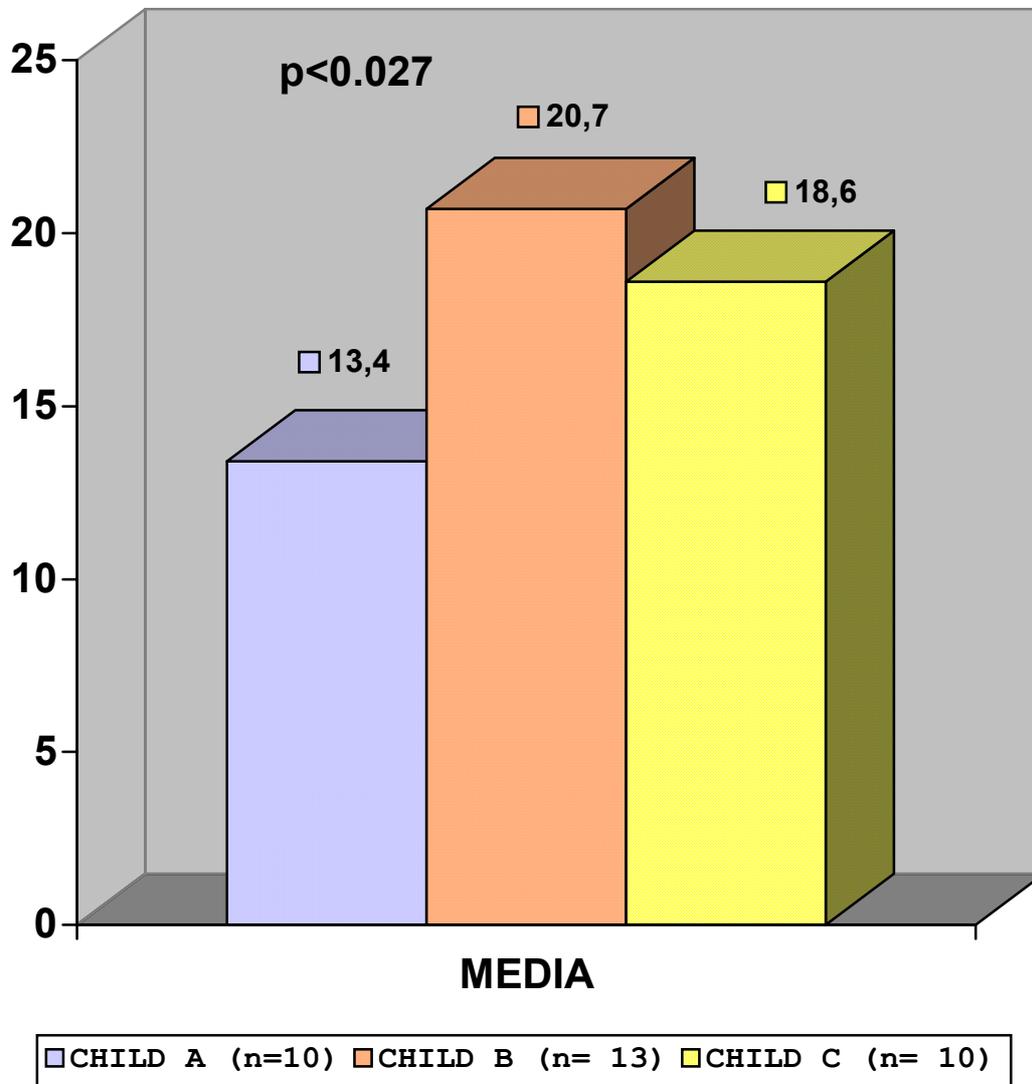
Gráfica número 4.

*Comparaciones entre grupos control
y cirróticos (valores de media)
para FAOS*



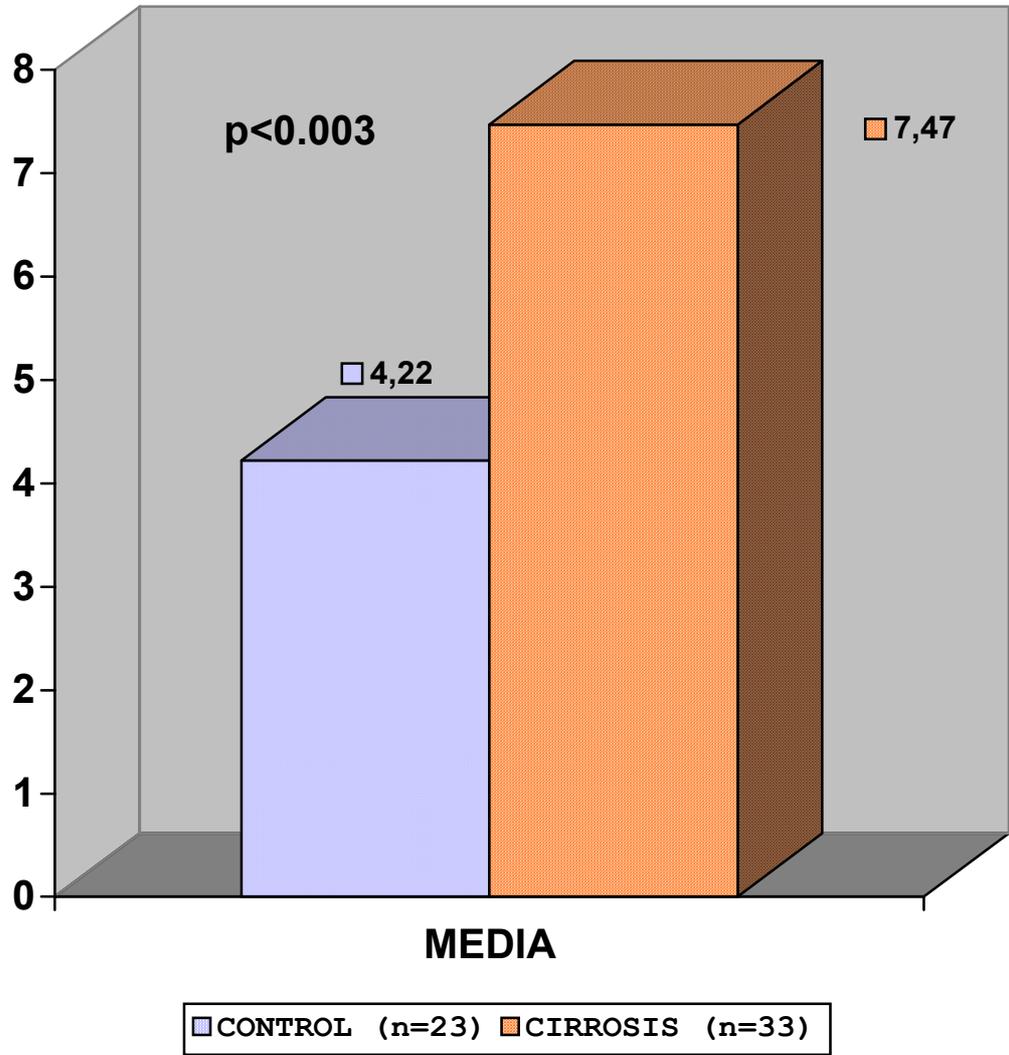
Gráfica número 5.

Comparaciones múltiples entre estadios de Child (Valores de media) para FAOS



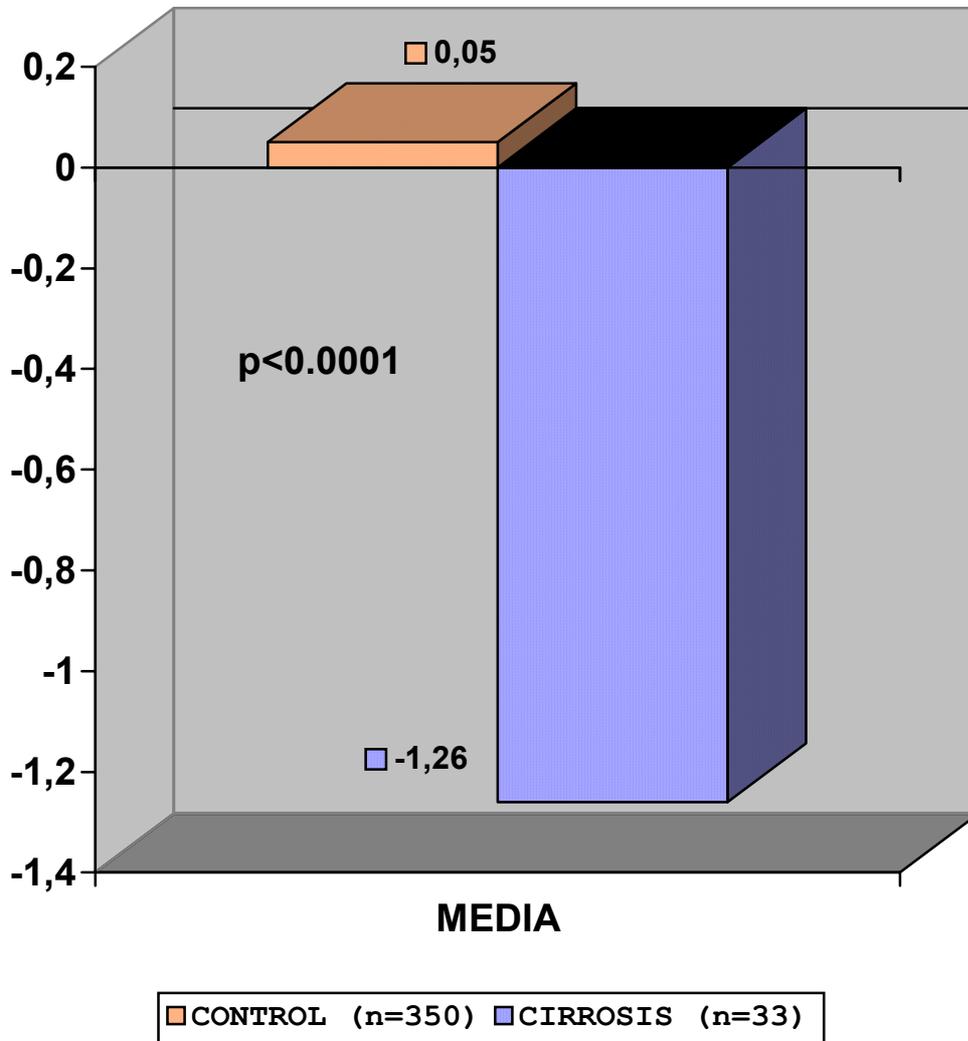
Gráfica número 6.

*Comparaciones entre grupos control y
cirróticos (valores de media) para
DPyrCro*



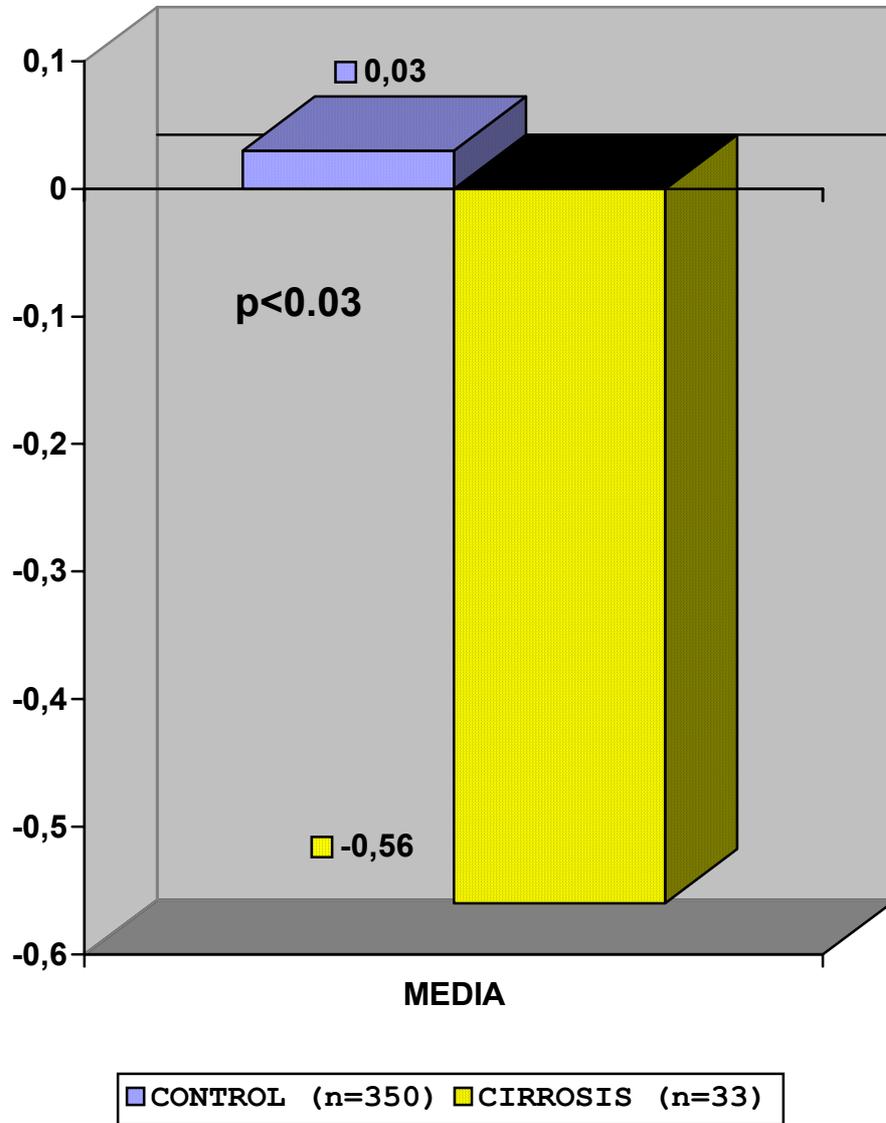
Gráfica número 7.

*Comparaciones entre grupos control
y cirróticos (valores de media)
para ZaL*



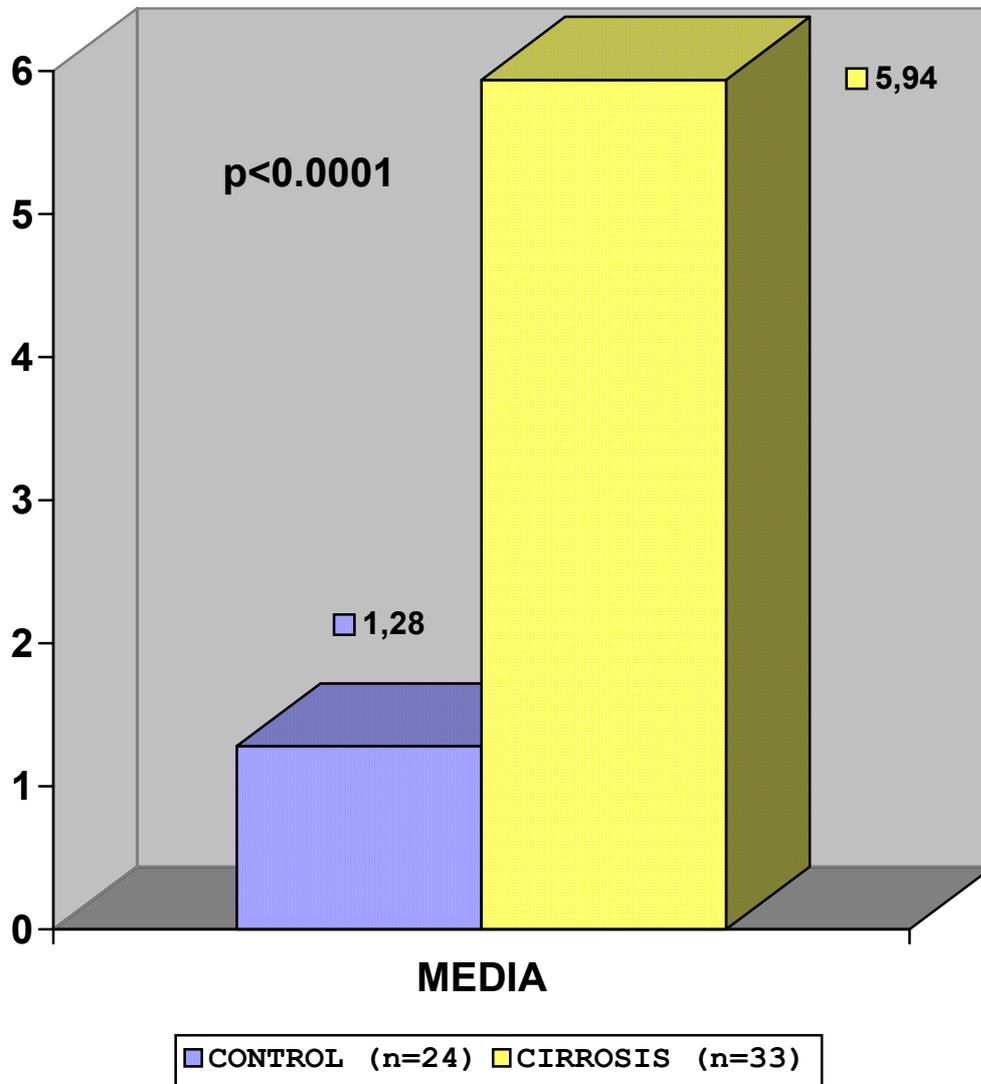
Gráfica número 8.

Comparaciones entre grupos control y cirróticos (valores de media) para ZaNeck



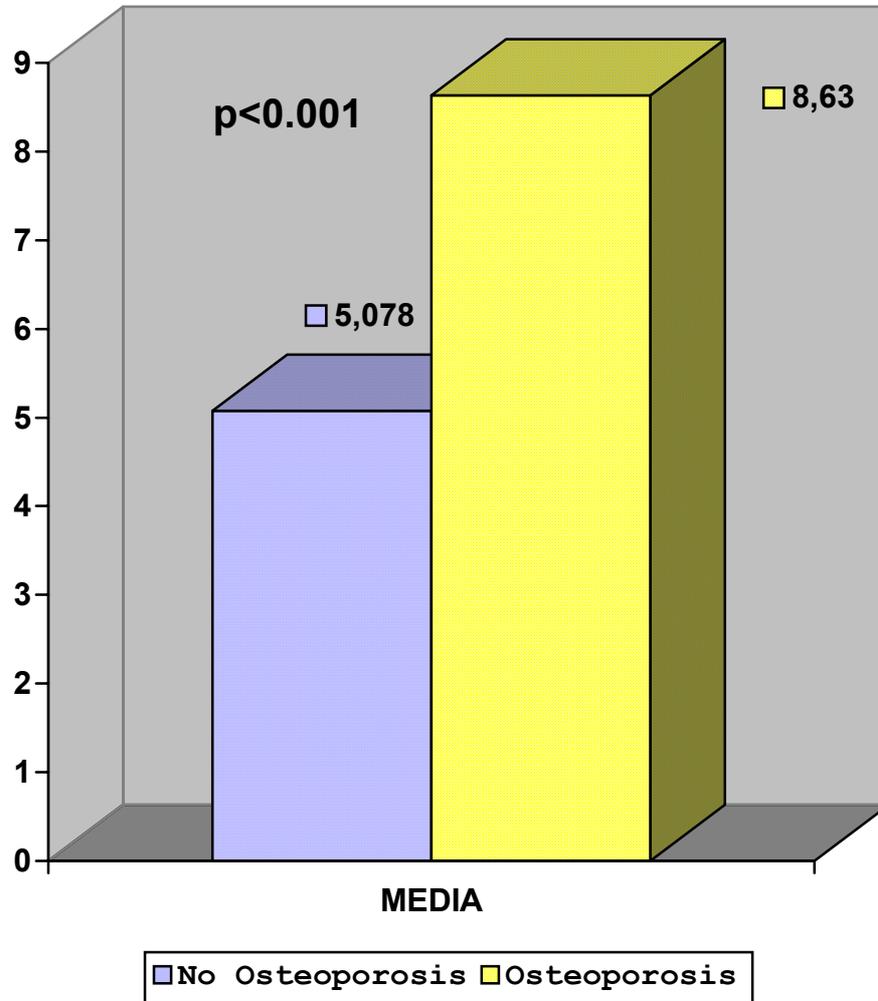
Gráfica número 9.

*Comparaciones entre grupos control y
cirróticos (valores de media) para
sTNF-R55*



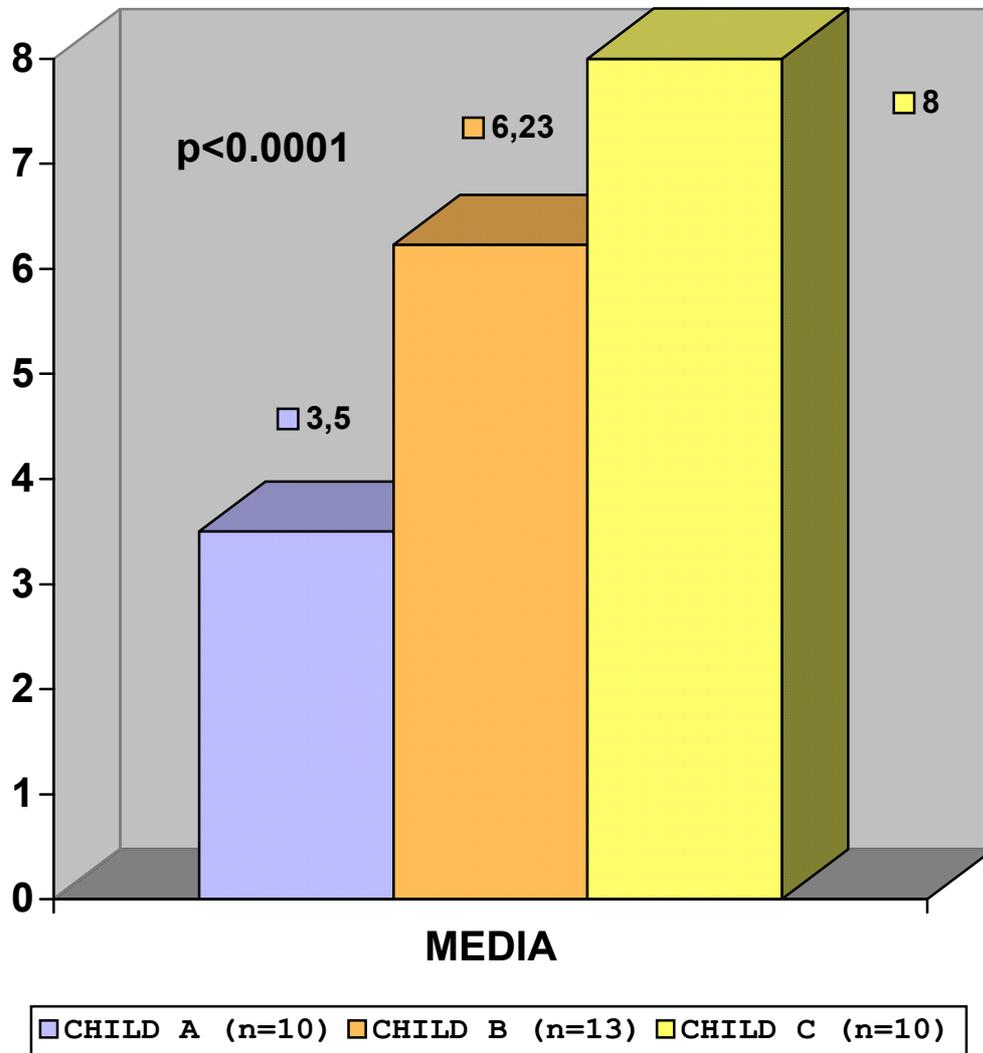
Gráfica número 10.

Comparación entre grupos No osteoporosis vs Osteoporosis (valores de media) para el parámetro sTNF-R55, en pacientes afectados de cirrosis alcohólica



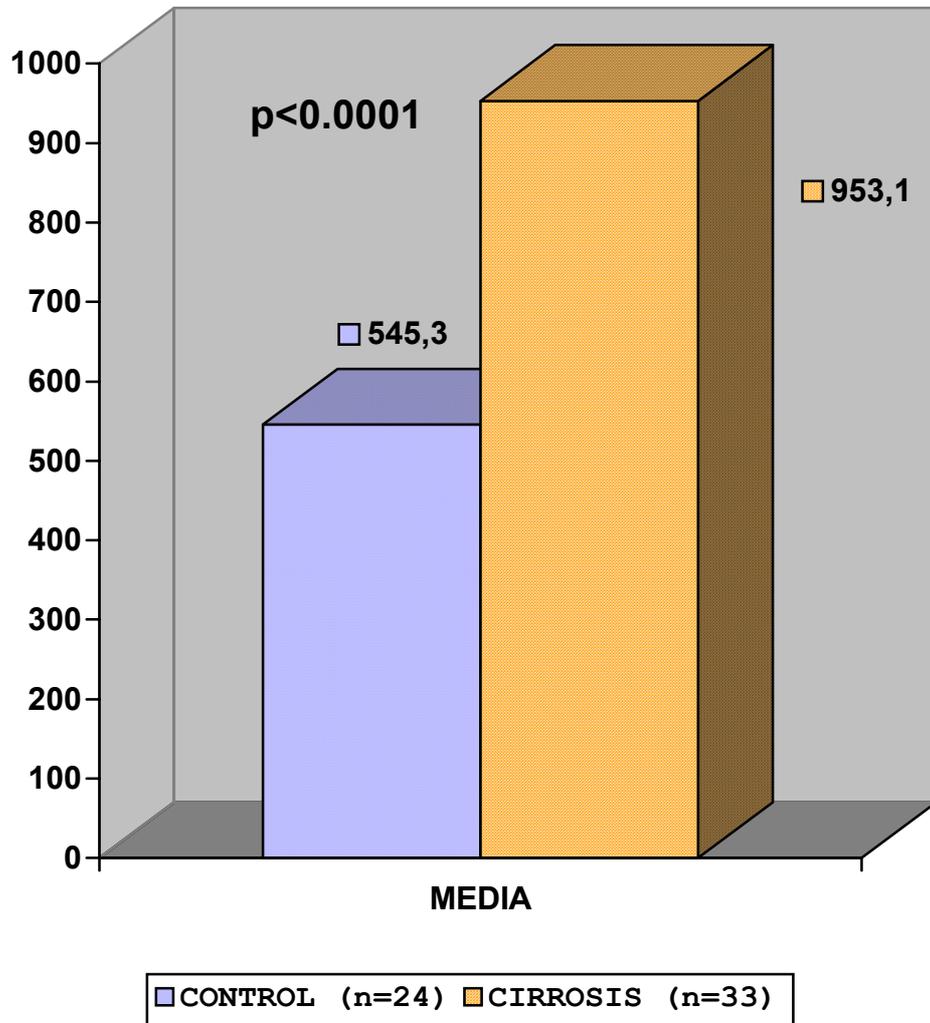
Gráfica número 11

Comparaciones múltiples entre estadios de Child (valores de media) para sTNF-R55



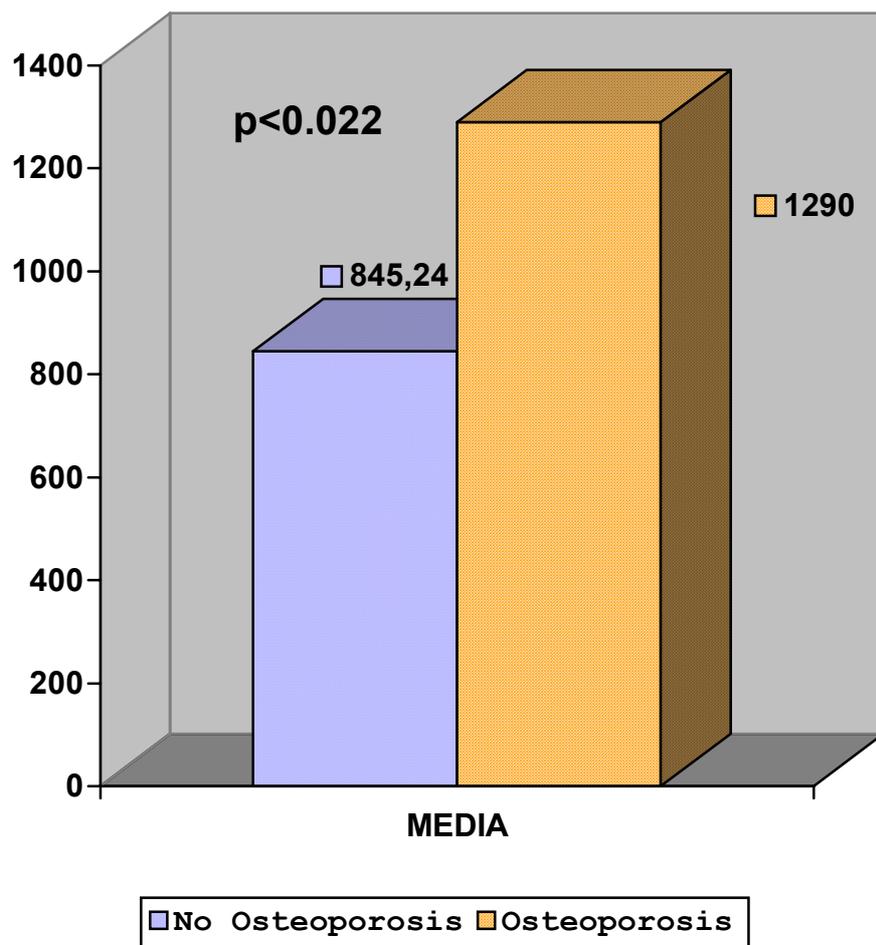
Gráfica número 12.

Comparaciones entre grupos control y cirróticos (valores de media) para sIL-2R



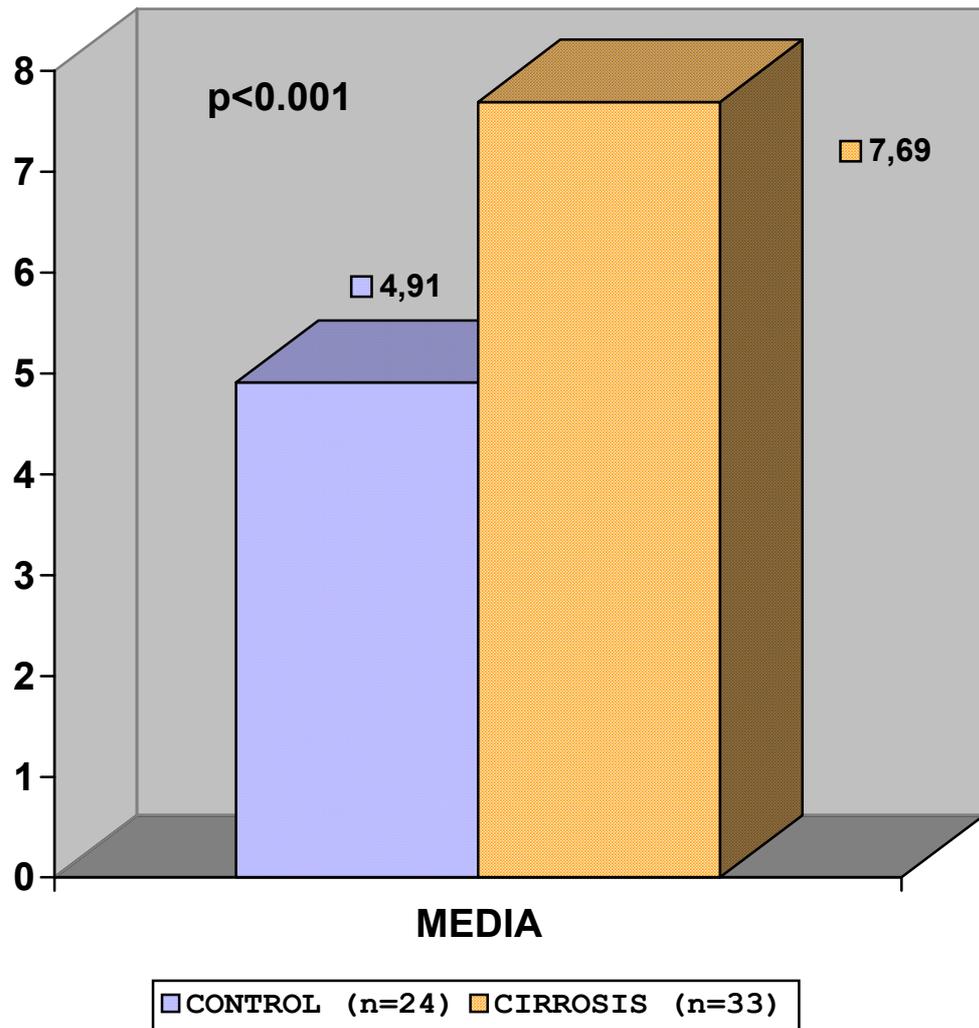
Gráfica número 13.

Comparación entre grupos No osteoporosis vs Osteoporosis (valores de media) para el parámetro sIL-2R, en pacientes con cirrosis alcohólica



Gráfica número 14

*Comparaciones entre grupos control y
cirróticos (valores de media) para
Neopterinina*



Gráfica número 15.

DISCUSIÓN

VIII. DISCUSIÓN.

En nuestro estudio, hemos observado que los **pacientes cirróticos de etiología alcohólica presentan una disminución de la masa ósea** con respecto a sujetos sanos no bebedores, y que **esta disminución es más intensa en los pacientes con hepatopatía más severa.**

Resultados similares han sido comunicados en individuos con alcoholismo crónico sin cirrosis hepática (Santolaria 2000. González-Calvín et al 1998. Kimble 1997. Ziegler 1994. González-Calvín et al 1993), y también en cirróticos alcohólicos, aunque en estos trabajos no se describía la relación con la gravedad de la cirrosis (Escalante et al 2002. Jorge-Hernández et al 1998. Chen 1996. Chappard 1991. Chappard et al 1989).

Existen evidencias de la posible intervención de alteraciones del sistema inmune y de la producción de citocinas en la patogenia de las lesiones hepáticas en la cirrosis de etiología alcohólica. (Díez-Ruiz et al 1993)

Por otro lado, se ha descrito que el aumento de determinadas citocinas puede ser causa de pérdida de masa ósea.(Kimble 1997. Feige et al 2000)

La patogenia de la pérdida de masa ósea en sujetos alcohólicos crónicos sin hepatopatía, no está aún completamente aclarada, aunque se postula que la pérdida de ésta estuviera relacionada con una disminución de la actividad osteoblástica con funcionalidad conservada de la actividad osteoclástica. (González Calvín et al 1999. Monegal et al 1997. García-Sánchez et al 1995. Ziegler 1994. González Calvín et al 1993. Chappard 1991). Por otra parte, en pacientes con cirrosis alcohólica, además del efecto tóxico del alcohol, podrían intervenir otros factores relacionados con la propia hepatopatía. (Santolaria 2000. Kimble 1997. Luna-Casado et al 1997. Díez Ruiz et al 1995. Díez-Ruiz et al 1993)

En el presente trabajo hemos encontrado, en relación a *factores que se asocian con el metabolismo mineral*, un **descenso de los valores plasmáticos del**

factor de crecimiento insulinoide tipo I (IGF-I) en los pacientes con cirrosis alcohólica frente al grupo de individuos sanos.

Anteriormente nuestro grupo de trabajo, había descrito la existencia de una disminución de los niveles plasmáticos de IGF tipo I en pacientes con cirrosis de etiología viral relacionados con una disminución de la densidad mineral ósea y osteoporosis. (Gallego-Rojo et al 1998)

La disminución de los niveles plasmáticos de IGF-I que encontramos en nuestros pacientes, podría estar relacionada con un descenso de la formación ósea y consecuentemente unos menores niveles de densidad mineral ósea en éstos. Esta afirmación se complementa con la **correlación positiva que hallamos en nuestros pacientes entre niveles plasmáticos de IGF-I y niveles de parathormona.**

La asociación entre niveles plasmáticos disminuidos de IGF-I y la pérdida de masa ósea, también ha sido descrita en animales de experimentación, así:

Yakar et al 2002, descubren como en ratones alterados genéticamente que mostraban importantes descensos en los niveles plasmáticos de IGF-I, se producían descensos superiores a un 10% en la densidad mineral ósea y a un 35% en el grosor de la cortical y como el posterior tratamiento con IGF-I exógeno normalizaba estas alteraciones, sugiriendo el papel notable que puede tener la IGF-I y sus subunidades en la fisiopatología de la osteoporosis.

Cemborain et al 1998, demostraban como en ratas Wistar masculinas a las que inducían una cirrosis y secundariamente a ésta desarrollaban osteopenia, la administración de IGF-I era efectiva en la restauración de la masa ósea. Extrapolando sus resultados a pacientes cirróticos en los que la osteoporosis se considera la presentación predominante de osteopenia.

El *factor de crecimiento insulinoide tipo I* es un polipéptido promotor del crecimiento, esencial para el desarrollo normal de distintos tejidos, entre los que se encuentran el tejido óseo, cuyo déficit se considera responsable en parte, en algunos casos de osteoporosis idiopática en varones (Steward et al 2001)

Una hormona fundamental en el metabolismo mineral y mantenimiento de la masa ósea, es la parathormona (PTH). En nuestro trabajo únicamente hemos

hallado **descensos significativos de los niveles de PTH en pacientes con cirrosis alcohólica avanzadas (grados B y C de Child-Pugh)**, ($p < 0.041$), sin embargo en los grados A de Child (en los que también encontramos descensos significativos de la masa ósea), los niveles de PTH son normales. Por otro lado no hemos encontrado relación entre los niveles séricos de PTH y los valores de Z-score de masa ósea ni diferencia con los cirróticos alcohólicos sin osteoporosis. Estos datos nos llevan a la conclusión de que **la parathormona podría influir en los estadios finales de la cirrosis, aunque no parece ser un factor determinante en la osteopenia de la cirrosis alcohólica.**

Tanto la parathormona como la vitamina D, aunque son hormonas con un efecto marcado sobre la resorción ósea también tienen efectos osteoanabólicos. (alteraciones significativas del metabolismo mineral óseo como niveles reducidos de hormona paratiroidea, déficit de vitamina D o hipogonadismo, se han asociado con descensos significativos de la masa ósea, aunque no se había encontrado asociación con la gravedad de la cirrosis – Monegal et al 1997-)

García Sánchez et al 1995, partiendo de la base de que el abuso alcohólico puede producir osteopenia, llevan a cabo un estudio para valorar el efecto que una ingesta aguda de alcohol puede tener en el metabolismo mineral. Concluyen que ésta tiene efecto tanto sobre la hormona paratiroidea como sobre la osteocalcina, disminuyéndolas, sugiriendo un efecto inhibitorio sobre el eje paratiroideo y la función osteoblástica.

Por otro lado, en nuestros pacientes, hemos encontrado unos **niveles disminuidos de 25 hidrox vitamina D únicamente en cuadros cirróticos avanzados (estadios B y C de Child)**, no apreciando diferencias significativas entre pacientes cirróticos con osteoporosis con respecto a aquellos que no la tienen, ni tampoco correlación entre los niveles plasmáticos de vitamina D y los valores de masa ósea.

La 25 hidrox vitamina D sérica, hormona esteroidea que regula el metabolismo del calcio y el fósforo, controla la proliferación celular y su diferenciación y ejerce actividad inmunoreguladora. Esta última se produce sobre varios tipos de células del sistema inmune, siendo sus **efectos farmacológicos** fundamentalmente **supresores**.

Es además incluso suficientemente potente como para tener un valor terapéutico en manejo y prevención de enfermedades mediadas por el sistema inmune. (Griffin, Xin y Cumar 2003. Adorini 2002)

Entre sus funciones inmunorregulatorias se encuentran la supresión de las células T activadas y la modulación de la secreción de citocinas proinflamatorias (Muller et al 1993; Bouillon et al 1995). Además ejerce sus efectos inhibitorios sobre células del sistema inmune, a través de su unión con el receptor de la vitamina D (VDR), miembro de la superfamilia de los receptores nucleares para las hormonas esteroideas, hormonas tiroideas y ácido retinoico. También regula la osteoprotegerina (OPG) y al ligando del receptor activador del factor nuclear NF-kappaB (RANKL), nuevo sistema de citocinas cuyo equilibrio es el responsable de la resorción y pérdidas óseas y que regulan la diferenciación, activación, formación y supervivencia de los osteoclastos. (Hofbauer 2001). Alteraciones del sistema RANKL / OPG han sido implicadas en la patogenia de diversas enfermedades como osteoporosis, artritis reumatoide, enfermedad de Paget, etc (Hofbauer 2001)

Las citocinas proinflamatorias se han demostrado que actúan sobre los osteoclastos y osteoblastos tanto in vivo como in vitro, provocando un aumento en la resorción ósea (Nguyen et al 1991; Ralston et al 1997; Pacifici et al 1995). Dicho efecto resorptivo, podría verse influenciado por la secreción de PTH y la síntesis de 1-25 hidroxivitamin D3. Más aún como quiera que el receptor de la vitamina D se expresa en las células T activadas, dicho estado de activación podría ser un determinante crítico de los niveles plasmáticos de 1-25 hidroxivitamin D.

De este modo las interacciones entre la secreción y el metabolismo de las hormonas reguladoras del calcio y las citocinas proinflamatorias podría jugar un papel importante en la regulación del recambio óseo en enfermedades inflamatorias en general y en la cirrosis hepática alcohólica en particular.

Oelzner et al, 1999 describen una asociación entre descensos en niveles plasmáticos de 1-25 OH Vit D y pérdida de masa ósea sistémica, dependientes del grado de actividad de enfermedades autoinmunes (en este caso artritis reumatoidea).

Koren et al en 1992 encontraron una correlación inversa entre osteoporosis y sensibilidad a la 1-25 OH vitamina D, de forma que a menor respuesta ante vitamina D, era mayor la incidencia de osteoporosis en los pacientes estudiados.

Santolaria et al 2000, describen en sus trabajos una correlación positiva entre niveles plasmáticos de hidroxí vitamina D (también de osteocalcina y PTH) y masa ósea en pacientes alcohólicos con una ingesta superior a 80 g de etanol por día.

El *hipogonadismo* se ha asociado a osteoporosis (Ziegler 1994. Monegal et al 1997) y a su vez es una complicación de la cirrosis hepática en los varones asociada a atrofia testicular y otras alteraciones relacionadas con un incremento en la conversión de andrógenos hacia estrógenos, en tejidos periféricos. (Ziegler 1994)

Nosotros hemos observado en nuestro grupo de pacientes con cirrosis alcohólica un **descenso estadísticamente significativo en los niveles de testosterona e índice de testosterona libre y secundariamente a estos un aumento en los niveles de globulinas transportadoras de esteroides sexuales (SHBG).**

Este descenso del índice de testosterona libre, que es la testosterona efectiva a nivel periférico, es una consecuencia del descenso de los niveles de testosterona total plasmática y del aumento de los niveles de SHBG.

Algunos autores ya habían comunicado disminución de los niveles de testosterona en cirróticos aunque no se habían relacionado con las alteraciones de la masa ósea (Monegal et al 1997 en sus trabajos, no encuentran correlación entre valores de masa ósea y niveles hormonales, aunque sí describen estos descensos).

Otros estudios realizados en cirróticos alcohólicos, como los estudios histomorfométricos llevados a cabo por Chappard y sus colaboradores en 1989 y 1991, establecen que la relación entre niveles de testosterona y masa ósea en cirróticos alcohólicos, sólo influye respecto al efecto que dicha hormona tiene sobre la conservación de la función osteoclástica, y no en el notable descenso de la actividad osteoblástica que ellos encuentran.

Nosotros tampoco hemos encontrado una correlación entre los niveles de índice de testosterona libre y la densidad mineral ósea en nuestros pacientes cirróticos, ni diferencias significativas de los niveles de testosterona total plasmática

($p < 0.057$) o del índice de testosterona libre entre pacientes con osteoporosis y pacientes sin ella. Todo esto nos hace sugerir que **en nuestros pacientes el descenso de hormonas sexuales no tiene un papel significativo en la patogenia de la osteoporosis desarrollada por los mismos.**

En nuestro estudio hemos hallado **niveles plasmáticos significativamente elevados de sTNF-R55, sIL-2R y neopterinina**, cuando comparamos medias entre los grupos control y cirróticos alcohólicos favor de estos últimos.

Así mismo hemos encontrado que los niveles plasmáticos de **sIL-2R y sTNF-R55 aumentan de manera significativa, conforme lo hace la gravedad de los cuadros cirróticos**, según la clasificación de **Child-Pugh**.

Junto a estos hallazgos, hemos encontrado una **correlación inversa entre los niveles séricos de sIL-2R y sTNF-R55 y los valores de densidad mineral ósea medidos en columna lumbar y cuello de fémur**, no hallando correlación entre los valores de densidad mineral ósea en las áreas citadas y los niveles plasmáticos de neopterinina.

Además hallamos unos valores de **sTNF-R55, significativamente elevados en el grupo de cirróticos alcohólicos con osteoporosis** (8.63 ± 2.43) con respecto a cirróticos alcohólicos sin osteoporosis (5.08 ± 2.33) ($p < 0.001$)

En nuestros pacientes **el sTNF-R55 se correlaciona** positivamente con bilirrubina total, fosfatasa alcalina y sIL-2R, encontrando **correlación inversa** con parámetros de función hepática (albúmina y actividad de protrombina), **PTHmm y esteroides sexuales** (Testosterona e índice de testosterona libre).

Así mismo encontramos **en nuestros pacientes** que las mayores concentraciones séricas de receptor soluble para la IL-2 (**sIL-2R**) **se presentan en individuos con enfermedad hepática avanzada y se correlacionan con parámetros clínicos y bioquímicos de gravedad** (correlación negativa con marcadores de función hepática -albúmina y actividad de protrombina-), por tanto podrían ser usados como marcadores pronósticos. Así mismo encontramos que **concentraciones elevadas de sIL-2R se acompañan de bajos niveles de**

mineralización ósea, fundamentalmente a nivel de columna lumbar (BMDL, TaL, ZaL).

Además hallamos unos **niveles de sIL-2R significativamente mayores en los pacientes cirróticos alcohólicos con osteoporosis** (1290 ± 474) en relación a aquellos cirróticos que no padecen osteoporosis (845 ± 450) ($p < 0.02$).

En nuestros pacientes, la **neopterina guarda una correlación negativa con la osteocalcina**. (Este hallazgo concuerda con los estudios que asocian descenso en los parámetros de densidad mineral ósea y cirrosis de etiología alcohólica con un descenso en la capacidad osteogénica del hueso frente a una osteolisis conservada. (Ziegler, 1994. Chappard et al, 1991. Chappard et al, 1989)

En relación al control del remodelado óseo, se han descubierto nuevos factores relacionados con la familia de productos derivados del TNF. Uno de ellos es el factor de transcripción *Osf2 / Cbfa1* que permite la transformación de las células madres mesenquimales en osteoblastos, siendo el otro el factor diferenciador de osteoclastos (ODF), también llamado RANKL, que es específico e indispensable para la diferenciación de los osteoclastos. (Marie et al 2000). La expresión del RNAm del RANKL en los osteoblastos se regula positivamente por factores osteotrópicos como la 1-25 OH Vit D3, PTH e IL-11. (Suda et al, 1999). Los precursores de los osteoclastos expresan el RANK, receptor específico para el RANKL y que está localizado en los osteoclastos y en las células dendríticas. El RANK, miembro de la familia de los receptores del TNF, reconoce al RANKL a través de la interacción célula a célula con los osteoblastos (Hofbauer y Heufelder, 2001. Suda et al, 1999). El ODF o RANKL, tiene un receptor soluble la osteoprotegerina que impide su unión a los osteoclastos, inhibiendo pues su actividad. Se ha podido demostrar que los linfocitos T activados sintetizan el ODF o RANKL, y que se ven implicados en las pérdidas óseas que pueden acompañar a los procesos inflamatorios, confirmando la antigua sospecha de que la inmunidad celular a través de linfocitos se encontraba relacionada con la remodelación ósea. (Marie et al, 2000. Hofbauer et al, 1999).

El importante papel jugado por estos factores en la regulación del metabolismo óseo, ha sido puesto de manifiesto por Khosla et al 2001 que

descubrieron como en ratones con expresión alterada de estas moléculas había importantes cambios fenotípicos en el esqueleto que variaban entre extremos opuestos (osteoporosis vs osteopetrosis). Duke-Cohan et al en 1985, descubrieron un déficit en la respuesta del suero de pacientes osteoporóticos ante antígenos de histocompatibilidad ajenos en una reacción de mezcla leucocitaria. Estos hallazgos se debían tanto a una pobre respuesta en la población linfocitaria, como a la presencia de un factor supresor en el suero osteoporótico (¿ODF?). Además se encontró un aumento estadísticamente significativo en los valores relativos y absolutos de células T en sangre periférica del paciente mientras que los niveles plasmáticos de IgA, IgG e IgM permanecían en rango normal.

Parece claro que **existe una relación entre activación de la inmunidad celular (sTNF-R55), y afectación / degradación ósea**, tal como se refleja en nuestros resultados (**correlación negativa entre niveles plasmáticos de sTNF-R55 y factores asociados a densidad mineral ósea en columna lumbar – BMDL, TaL y ZaL - o correlación positiva entre sTNF-R55 y DpyrCro**). Hay estudios en modelos animales que indican como un estado de activación aumentado en monocitos macrófagos junto a un aumento en la secreción de citocinas proinflamatorias y aumento en la osteoclastogénesis de la médula ósea, pueden contribuir a pérdidas óseas tanto de forma local como sistémicas. (Suzuki et al, 1995. Bauer et al, 1991)

Hay comunicados en la literatura distintos procesos patológicos en los que se han encontrado un incremento de las concentraciones séricas de sTNF-R; Así en pacientes con varios tipos de neoplasias hematológicas (linfomas, leucemias, mielomas), las concentraciones de sTNF se correlacionan con distintos indicadores de progresión de la enfermedad. (Denz et al, 1993. Digel et al, 1992). El incremento de los niveles séricos de sTNF-R en pacientes con carcinomas de distintos orígenes, puede representar un mecanismo de respuesta tumoral que antagonice los efectos citotóxicos del TNF sobre las células malignas. También se han comunicado niveles elevados de sTNF-R en pacientes con infección VIH (Aukrust et al, 1994), con infección meningocócica (Girardin et al, 1992. Van Deuren et al, 1994), con distintas enfermedades autoinmunes (Aderka et al, 1993. Heilig et al, 1992), etc.

Por otro lado, han sido además descritos, incrementos de los receptores para el TNF en los hepatocitos, en las células endoteliales sinusoidales y en el epitelio de los conductos biliares en hepatitis agudas y crónicas de varias etiologías, así como niveles séricos circulantes elevados de sTNF-R en hepatopatías de distintas causas. (Volpes et al, 1992, Marinós et al, 1995)

Se sabe que en la cirrosis alcohólica hay concentraciones elevadas de receptores para el TNF aunque era desconocido si en esta, las células mononucleares en sangre periférica, tenían receptores para dicho factor y si reflejaban la actividad clínica de la enfermedad. Para comprobarlo, se llevó a cabo un estudio en 22 cirróticos alcohólicos que puso de manifiesto como las células mononucleares no activadas en sangre periférica de dichos pacientes con cirrosis alcohólica severa (estadios B y C de Child) mostraban una activación sistémica de leucocitos y expresión del gen para TNF alfa y receptores solubles del TNF p55 / p75, que están correlacionados con la actividad de la enfermedad. (Hanck et al, 2000)

En definitiva, consideramos que **las concentraciones elevadas de sTNF-R55 que encontramos en los pacientes cirróticos**, pueden estar relacionados con la producción aumentada de TNF que ocurre en esta enfermedad y ser por tanto un **reflejo de la estimulación de la función de las células T y del sistema monocito-macrófago** en la cirrosis hepática. Al igual que en otras enfermedades, **esta persistencia de la activación del sistema inmune, puede influir** de manera determinante **en la evolución** de la cirrosis y otros procesos asociados como la **osteoporosis**.

Durante el proceso inflamatorio asociado con la activación de los linfocitos T, los receptores de la IL-2 son mostrados por las membranas celulares de las células mononucleares, incrementándose consecuentemente la forma soluble del receptor (sIL-2R). En trabajos previos se han encontrado elevados niveles séricos de sIL-2R en pacientes con enfermedades del colágeno (Harrington 1993), asmáticos (Lai 1993), artritis reumatoidea (Oelzner 1999), como marcador de enfermedad injerto contra huésped en transplantes alogénicos de médula ósea (Grimm, 1998) y en pacientes receptores de aloinjertos (Rubin 1985).

El receptor de la IL-2 no está presente en la superficie de los linfocitos T o B en reposo, pero son rápidamente expresados en la superficie de estas células después de la activación. (Diamantstein 1986)

El hallazgo de **niveles elevados de sIL-2R** en nuestros pacientes **cirróticos de etiología alcohólica** y su **asociación con** parámetros indicadores de **desmineralización ósea**, sugieren que el **mecanismo de destrucción hepatocelular** esta **relacionado con la respuesta inmune** más que con el daño directo producido por el alcohol. Y que la **desmineralización** que sufre el esqueleto de estos pacientes, **se deba más a una activación de la respuesta inmune que a la noxa alcohólica.**

La neopterina está producida por los macrófagos tras la estimulación de los mismos con interferón γ o por lipopolisacáridos. (Huber 1984; Woloszczuk 1986; Troppmair 1988)

En la actualidad la neopterina es considerada como un marcador de la activación de la inmunidad celular y de la actividad de los macrófagos en diferentes cuadros clínicos. La neopterina es reflejo por tanto, de una parte de la activación de la inmunidad celular, la proliferación y la diferenciación celular (Wachter 1982).

El incremento de las concentraciones de neopterina ha sido descrito en hepatitis agudas de origen viral (Prior 1987; Reibnegger 1988), en pacientes cirróticos de distinta etiología (Daito 1992; Wilmer 1995) incluyendo cirróticos de etiología alcohólica (Díez 1995). Nuestros resultados sugieren que los macrófagos activados participan en la patogenia de la cirrosis hepática, **no existiendo evidencias de que la neopterina pueda servir** como marcador para diferenciar las diferentes etiologías, ni el pronóstico de los pacientes cirróticos, ni tampoco **como marcador en la génesis de alteraciones en la densidad mineral ósea asociada a cirrosis, aunque sí a un descenso en la función de los osteoblastos.**

Respecto al **remodelado óseo** valoramos los niveles séricos de osteocalcina y de fosfatasa alcalina isoenzima ósea, marcadores bioquímicos de actividad osteoblástica y la excreción urinaria de deoxipiridinolina como marcador bioquímico de actividad osteoclástica.

Hemos encontrado en nuestros pacientes **valores aumentados en plasma de fosfatasa alcalina isoenzima ósea en el grupo de cirrosis alcohólica** respecto al grupo de controles sanos. Los **valores más elevados** se corresponden con los **estadios más graves de Child**. Este hallazgo indicaría un aumento de formación ósea en estos pacientes, si bien no hemos apreciado correlación entre la masa ósea y los valores de fosfatasa alcalina isoenzima ósea (FAO).

La *fosfatasa alcalina y en concreto su isoenzima ósea*, se considera un marcador de la función osteoblástica y por tanto de síntesis ósea. Los osteoblastos son ricos en esta enzima pero también está en otras membranas plasmáticas celulares (Moss 1987); Previamente se habían descrito, en pacientes afectos de cirrosis de etiología viral, niveles de fosfatasa alcalina isoenzima ósea aumentados, así como también marcadores de resorción ósea elevados, son las denominadas osteoporosis de alto recambio (Corazza et al 2000. Gallego-Rojo et al 1998. Tsuneoka et al 1996), sin embargo hasta ahora estos hallazgos no habían sido descritos para la cirrosis de etiología alcohólica.

En cuanto a los niveles séricos de osteocalcina, no hemos encontrado diferencias entre controles y cirróticos, ni entre los distintos grados de cirrosis, ni dentro de estos últimos al valorar según padecieran o no osteoporosis. La falta de paralelismo entre los valores de osteocalcina y FAO, ambos marcadores de actividad osteoblástica, podría ser explicada por el efecto supresor sobre la osteocalcina, que provoca el déficit de vitamina D (González-Calvín et al 1999).

Encontrar aumentado algún parámetro que indique síntesis ósea en cuadros en los que a priori podíamos esperar encontrar un descenso en ella, puede ser asumible en el contexto de una osteoporosis de alto recambio.

En el alcohólico crónico activo, sin cirrosis hepática, se han descrito descensos en los valores séricos de osteocalcina, que se recuperan y llegan a hacerse normales cuando se cede en la ingesta alcohólica (González-Calvín et al 1998, G^a-Sánchez et al 2000). En nuestros pacientes cirróticos alcohólicos, los valores plasmáticos de osteocalcina no sufren modificación, probablemente debido a que en el momento del estudio, los pacientes habían suspendido la ingesta alcohólica.

Corazza et al, 2000 llevan a cabo un estudio en 31 pacientes con cirrosis hepática (de etiología viral) y 37 controles sanos, valorando masa ósea, metabolismo mineral y función gonadal, concluyen que la prevalencia y severidad de la pérdida ósea aumenta según lo hacía la severidad de la hepatopatía.

Duarte et al, 2001 estudian 100 pacientes con hepatitis crónica secundaria a infección por virus C encontrando aumento de los niveles de FAOS en un 21% de éstos y una correlación negativa con densidad mineral ósea en trocánter y triángulo de Ward.

En cuanto a marcadores bioquímicos de actividad osteoclástica, hemos encontrado **valores aumentados del cociente deoxipiridinolina creatinina en orina (DpyrCRo) en el grupo de pacientes cirróticos alcohólicos** con respecto al grupo de varones sanos. Lo que indicaría aumento de la actividad de los osteoclastos y por lo tanto resorción ósea. Estos hallazgos habían sido previamente descritos en cirróticos víricos, pero no en cirróticos alcohólicos. (Gallego-Rojo et al 1998). Además hemos encontrado que los valores del **cociente deoxipiridinolina creatinina en orina** se **correlacionan** de manera **positiva** con los receptores solubles del **factor de necrosis tumoral R-55**.

El cociente deoxipiridinolina / creatinina en orina, refleja de manera selectiva la resorción ósea, al ser la deoxipiridinolina un marcador específico de la degradación del colágeno tipo I, localizado sólo en hueso y dentina.

Nuestros hallazgos respecto al aumento de marcadores específicos de resorción ósea en pacientes cirróticos alcohólicos, nos inducen a pensar que **esta osteoporosis de alto recambio no sólo se da en cirróticos virales sino posiblemente también en cirróticos alcohólicos**.

Estos hallazgos se complementan con aquellos relacionados con la función osteoblástica descritos en el punto anterior.

Hay varios estudios que han puesto de manifiesto la asociación existente entre enfermedades que cursan con alteraciones del sistema inmune y osteoporosis (Oelzner et al, 1999. Sugai et al, 2002. Bagur et al, 1998, etc).

Se postula desde hace tiempo que en algunas de las enfermedades con carácter crónico que padece el ser humano, independientemente de que se conozca o no su etiología, haya desequilibrios del sistema inmune que pudieran autoperpetuar los mecanismos fisiopatológicos que las generan. (Gish y Mason, 2001. Hanck et al, 2000. Feige et al, 2000. Boyce et al, 1999. Gersuck et al, 1998, etc).

En el caso de la población que estudiamos (pacientes cirróticos alcohólicos) se ha descrito que las concentraciones elevadas, tanto de sTNF-R55 como de sIL-2R, pueden ser consecuencia de la estimulación de las células T y del sistema monocito-macrófago que ocurre en ellas, estando el daño más relacionado con la respuesta inmune anómala que con la lesión directa producido por el alcohol. (Hank et al, 2000. kawakami et al, 1997. Izzo et al, 1996. Marinos et al, 1995. Hayashi et al, 1995. Volpes et al, 1992. Achord, 1989).

Los daños asociados que ocurren en otras zonas del organismo (no sólo el hígado), pudieran verse producidos o potenciados por la anteriormente referida disrregulación inmunológica.

En resumen, encontramos que en los pacientes con cirrosis alcohólica hay **descenso en los niveles de masa ósea tanto en hueso trabecular** (columna lumbar) **como en hueso cortical** (cuello de fémur) que guarda relación **con una activación de la inmunidad celular**, proceso que podemos valorar midiendo los niveles séricos de sTNF-R55 y sIL-2R.

Nuestros pacientes presentan no sólo un descenso en la capacidad funcional de los osteoblastos (por efecto tóxico del alcohol), sino un **remodelado óseo de alto recambio**, con **aumento de la actividad osteoclástica**, probablemente **asociada a una hiperestimulación de la respuesta celular inmune**.

CONCLUSIONES

IX. CONCLUSIONES

1. En la cirrosis hepática de etiología alcohólica hay un aumento de la activación de la inmunidad celular. Estas modificaciones son más acentuadas en los pacientes con hepatopatía más avanzada.
2. Los pacientes con cirrosis alcohólica tienen disminuida la masa ósea con respecto a la población sana. El deterioro óseo es más intenso en los casos más graves.
3. La pérdida de masa ósea guarda relación con las modificaciones observadas en la inmunidad celular.
4. Dicha relación aumenta en aquellos pacientes con mayor deterioro de la función hepática (valorada mediante la clasificación de Child).
5. La osteoporosis de los pacientes cirróticos alcohólicos es de alto recambio, evidenciándose un incremento del cociente deoxipiridinolina / creatinina en orina respecto a los sujetos sanos.

BIBLIOGRAFÍA

X. BIBLIOGRAFÍA

Abbas AK, Lichtman AH, Puler JS. *Inmunología celular y molecular*, 2ª edición. Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España, 1995.

Achord JL. Cirrhosis of the liver: new concepts. *Compr Ther* 1989; 15 (2): 11-6.

Adams D, Mianolfi E, Burra P, et al. Detection of circulating intercellular adhesion molecule-1 in chronic liver diseases. *Hepatology* 1992; 16: 810-814.

Aderka D, Wysenbeek A, Engelmann H, et al. Correlation between serum levels of soluble tumor necrosis factor receptor and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1993; 36: 1111-1120.

Adorini L. Immunomodulatory effects of vitamin D receptor ligands in autoimmune diseases. *Int Immunopharmacol* 2002; 2: 1017-28

Akbar AN, Salmon M, Janossy G. The synergy between native and memory T cells during activation. *Immunol Tod* 1991; 12: 184-8.

Akbar AN, Terry L, Timms A, Beverley PCL, Janossy G. Loss of CD45R and gain of UCHL1 reactivity is a feature of primed T cells. *J Immunol* 1988; 140: 2171-8.

Alberti A, Chemello L, Fattovich G, Pontisso P, Semenzato G, Colletta C, Vinante F, Pizzolo G. *Dig Dis Sci* 1989; 34: 1559-1563.

Alfonso JL, González L, Arnedo A, Beneyto F, Calatayud A. Cirrosis hepática. Estudio de la evolución de la mortalidad en España (1951-1983). *Rev Esp Enf Ap Digest* 1989; 76: 367-74.

Ampurdanés S. Cirrosis hepática. *Medicine* 2000; 8 (10): 485-92

Andus T, Bauer J, Gerok W. Effects of cytokines on the liver. *Hepatology* 1991; 13: 364-375.

Anthony PP, Ishack KG, Nayak NC, Poulsen HE, Scheuer PJ, Sobin A. The morphology of cirrhosis: definition, nomenclature and classification. *Bulletin of the World Health Organization* 1977; 55: 521-40.

Antoniello S, Russo M, Bizarro A et al. Serum neopterin levels in liver cirrhosis. *Journal of Biological Regulators and homeostatic Agents* 1989; 3: 159-62.

Asao H, Takesita T, Ishii M, Kumaki S, Nakamura M, Sugamura K. Reconstitution of functional interleukin-2 receptor complexes on fibroblastoid cells: involvement of the cytoplasmic domain of the γ chain in two distinct signaling pathways. *Proc Natl Acad USA* 1993; 4127-31.

Aukrust P, Liabakk NB, Müller F, Lien E, Espevik T, Froland SS. Serum levels of tumor necrosis factor- α and soluble TNF receptors in human immunodeficiency virus type I infection. Correlations to clinical immunologic, and virologic parameters. *J Infect Dis* 1994; 169: 420-424.

Bagur A, Mautalen C, Findor J, Sorda J, Somoza J. Risk factors for the development of vertebral and total skeleton osteoporosis in patients with primary biliary cirrhosis. *Calcif Tissue Int* 1998; 63 (5): 385-90

Bataller R. Cirrosis hepática: Clasificación etiopatogénica, valoración funcional y criterios de evolución. *Medicine (Madrid)* 1996; 11: 421-6.

Bauer GCH. Editorial comment. *Clin Orthop* 1966; 45: 3-4.

Bauer J, Lengyel G, Thung SN, et al. Human fetal hepatocytes respond to inflammatory mediators and excrete bile. *Hepatology* 1991; 13: 1131-41.

Benhamou JP, erlinger S. *Maladies du foie et des voies biliaires*. Paris, Flammarion Médecine-Science 1995; 1-205.

Bergmeyer HU, Horder M, Rej R. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Commitee, Analytical Section: Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine

aminotransferase (L-alanine-: 2-oxoglutarate aminotransferase). *J Clin Chem Clin Biochem* 1986; 24: 481-495.

Bessey OA, Lowry OH, Brock MA. A method for rapid determination of alkaline phosphatase with five cubics millimeters of serun. *J Biol Chem* 1946; 164: 321-323.

Beutler B, Cerami A. Tumor necrosis, cachexia, shock and inflammation: a common mediator. *Annu Rev Biochem* 1988; 57: 505-18.

Binkley N, Krueger D. Osteoporosis in men. *WMJ* 2002; 101: 28-32.

Bishop TA, Dudowicz EJ. Exact analysis of variance with unequal variances: test procedures and tables. *Technometrics* 1978; 20: 419-430.

Blau N, Schoedon G, Curtius HC. Biosynthesis and significance of neopterin in the immune system. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1989; 25: 603-5.

Bonde M, Qvist P, Fledelius C, Riis BJ, Christiansen C. Applications of an enzyme immunoassay for a new marker of bone resorption (CrossLaps): follow up on hormone replacement therapy and osteoporosis risk assessment. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 864-8.

Bouillon R, Okamura WH, Norman AW. Structure-function relationships in the vitamin D endocrine system. *Endocr Rev* 1995; 16: 200-57.

Boyce BF, Hughes DE, Wright KR, Xing L, Dai A. Recent advances in bone biology provide insight into the pathogenesis of bone diseases. *Lab Invest* 1999; 79(2): 83-94.

Caballería J, Montull S, Parés A. Malnutrición en el alcoholismo crónico. Importancia en la fisiopatología y tratamiento de la hepatopatía alcohólica. *Gastroenterol Hepatol* 1991 ; 14 : 82-89.

Caballería J. Enfermedad hepática alcohólica. *Medicine (Madrid)* 1996 ; 12 : 463-470.

Campbell DP, Parker DE, Anagnostopoulos CE. Survival prediction in portocaval shunts: a computerized statistical analysis. *Am J Surg* 1973; 126: 748-51.

Catherwood BD, Marcus R, Madvig P, Cheung AK. Determinants of bone gamma-carboxyglutamic acid-containing protein in plasma of healthy aging subjects. *Bone* 1985; 6: 9-13.

Cemborain A, Castilla-Cortazar I, García M, et al. Osteopenia in rats with liver cirrhosis: beneficial effects of IGF-I treatment. *J Hepatol* 1998; 28(1): 122-31.

Cerny A, Chisari FV. Immunological aspects of HCV infection. *Intervirology* 1994; 37: 119-125.

Chappard D, Plantard B, Fraisse H, Palle S, Alexandre C, Riffat G. Bone changes in alcoholic cirrhosis of the liver. A histomorphometric study. *Pathol Res Pract* 1989; 184 (5): 480-5

Chappard D, Plantard B, Petitjean M, Alexandre C, Riffat G. Alcoholic cirrhosis and osteoporosis in men: a light and scanning electron microscopy study. *Stud Alcohol* 1991; 52 (3): 269-74

Chedid A, Mendenhall CL, Moritz TE, French SW, Chen TS, et al. Cell-mediated hepatic injury in alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 1993; 105: 254-266.

Chen CC, Wang SS, Jeng FS, Lee SD. Metabolic bone disease of liver cirrhosis: is it parallel to the clinical severity of cirrhosis?. *J Gastroenterol Hepatol* 1996; 11(5): 417-21.

Child III GC, Turkotte JG. Surgery and portal hypertension. In Child III GC *The liver and portal hypertension*. Philadelphia: WB Saunders Co 1964; 50.

Christgau S, Rosenquist C, Alexandersen P, Bjarnason NH, Ravn P, Fledelius C, et al. Clinical evaluation of the serum CrossLaps One Step ELISA, a new assay measuring the serum concentration of bone-derived

degradation products of type I collagen-C telopeptides. *Clin Chem* 1998; 44: 2290-300.

Chu CM, Liaw YF. Serum levels of soluble TAC peptide in acute and chronic hepatitis B virus infection. *Clin Immunol Immunopathol* 1989; 53: 52-58.

Chu SY, Chu AK. Intact vs C-terminal/mid-region parathyrin (PTH) assay in diagnosis of hyperparathyroidism--a clinical evaluation. *Clin Chem* 1986;32(12):2206-7

Clevers H, Alarcon B, Wileman T, Terhorst C. The T-cell receptor/CD3 complex: a dynamic protein ensemble. *Ann Rev Immunol* 1988; 6: 629-62.

Coe FL. Treated and untreated recurrent calcium nephrolithiasis in patients with idiopathic hypercalciuria, hyperuricosuria, or no metabolic disorder. *Ann Intern Med* 1977; 87(4): 404-10.

Colwell A, Russell RGG, Eastell R. Factors affecting the assay of urinary 3-hydroxy pyridinium cross-links of collagen as markers of bone resorption. *Eur J Clin Invest* 1993; 23: 341-9.

Corazza GR, Trevisani F, Di Stefano M, De Notariis S, Cecchetti L et al. Early increase of bone resorption in patients with liver cirrhosis secondary to viral hepatitis. *Dig Dis Sci* 2000; 45 (7): 1392-9

Cummings SR, Bates D, Black DM. Clinical use of bone densitometry. *JAMA* 2002; 288: 1889-97.

Cuppone R, del Vecchio S, Zanninelli G, Delle Monache M, Ulissi A, Tavanti A, Angeloni A, Ricci GL. Lymphocyte function tests in cirrhotic patients under treatment with spironolactone and potassium canrenoate. *J Inter Med Res* 1988; 16: 436-442.

D'Amico G, Morabito A, Pagliaro L, Marubini E, and the Liver Study Group of V. Cervello Hospital. Survival and prognostic indicators in compensated and decompensated cirrhosis. *Digestive Diseases and Sciences* 1986; 31: 468-75.

Daito K, Suou T, Kawasaki H. Clinical significance of serum and urinary neopterin levels in patients with various liver diseases. *Am J Gastroenterol* 1992; 87: 471-476.

Daughaday WH, Mariz IK, Blethen SL. Inhibition of access of bound somatomedin to membrane receptor and immunobinding sites: a comparison of radioreceptor and radioimmunoassay of somatomedin in native and acid-ethanol-extracted serum. *J Clin Endocrinol Metab* 1980 Oct;51(4):781-8

Day Cp, Bashir R, James O, Bassendine MF, Crabb D, Thomasson HR, Li T-K, Edenberg H. Investigation of the role of polymorphism at the alcohol and aldehyde dehydrogenase loci in genetic predisposition to alcohol related end organ damage. *Hepatology* 1991 ; 14 : 798-801.

Deacon AC, Hulme P, Hesp R, Green JR, Tellez M, Reeve J, Stimulation of whole body bone resorption rate: a comparison of urinary total hydroxyproline excretion with two radioisotopic tracer methods in osteoporosis. *Clin Chim Acta* 1997; 166:297-306.

Denz H, Orth B, Weiss G. Serum soluble tumour necrosis factor receptor 55 is increased in patients with immune activation and weight loss. *Eur J Cancer* 1993; 29 A: 2232-2235.

Devière J. Immune mechanisms in alcoholic liver disease. *Acta Gastroenterol Bel* 1992; 55: 450-456.

Diamantstein T, Osaka H, Mouzaki A, Josimovic O. Regulation of interleukin-2 receptor expression and receptor release. *Mol Immunol* 1986; 23: 1165-1172.

Díez-Ruiz A, Santos JL, López G, González-Calvín J, Gil-Extremera B, Gutierrez F. Tumor necrosis factor, interleukin-1 and interleukin-6 in alcoholic cirrhosis. *Alcohol alcohol* 1993; 28: 319-323.

Diez-Ruiz A, Tilz GP, Zangerle R, Baier-Bitterlich G, Wachter H, Dietmar F. Soluble receptors for tumour necrosis factor in clinical laboratory diagnosis. *Eur J Haematol* 1994; 0: 1-8.

Díez-Ruiz A, Tilz GP, Gutierrez-Gea F, et al. Neopterin and soluble tumor necrosis factor receptor type I in alcohol-induced cirrhosis. *Hepatology* 1995; 21: 976-8

Digel W, Porzsolt F, Schmid M, Herrman F, Lesslauer W, Brockhaus M. High levels of circulating soluble receptors for tumor necrosis factor in hairy cell leukemia and type B chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Invest* 1992; 1690-1693.

Dinarello CA, Wolf SM. The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med* 1993; 328: 106-13.

Dinarello CA. Role of interleukin-1 in infectious diseases. *Immunol Rev* 1992; 127: 119-46.

Djeu J, Matsushima K, Oppenheim J, Shiotsuki K, Blanchard K. Functional activation of human neutrophils by recombinant monocyte-derived neutrophil chemotactic factor IL-8. *Journal of Immunology* 1990; 144: 2205-10.

Domingo P, Martínez C, Barrio J, Cadafalch J. Neopterin and opportunistic infections in HIV-infections patients. *The Clinical Investigator* 1993; 71: 65.

Doumas BT. *Clin Chim Acta* 1971; 31: 87.

Duarte MP, Farias ML, Coelho HS, Mendonca LM, Stabnov LM et al. Calcium-parathyroid hormone-vitamin D axis and metabolic bone disease in chronic viral liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16 (9): 1022-7

Duke-Cohan JS, Weinberg H, Sharon R, Naor D. Immunological function in osteoporosis. *Clin Immunol Immunopathol* 1985; 35 (1): 125-9

Dunne FJ. Alcohol y sistema inmune. Un agente causal de la alteración de los mecanismos de defensa del huésped. *Br Med J Edición Española* 1989; 4: 15-24.

Eastell R, Rolland-Dikson E, Hodgson SF. Rates of vertebral bone loss before and after liver transplantation in women with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1991; 14: 296-300

Eddy D, Johnston C, Cummings SR et al. Osteoporosis: review of the evidence for prevention, diagnosis and treatment and cost-effectiveness analysis. *Osteoporos Int* 1998; 8:7-80.

Edwards SW, Watson F. The cells biology of phagocytes. *Immunol Today* 1996; 16: 508-10.

Ellis G, Goldberg DM, Spooner RJ, Ward AM. Serum enzyme tests in diseases of the liver and biliary tree. *American Journal of Clinical pathology* 1978; 70: 248-58.

Erlinger S, Benhamou JP. Cirrhosis clinical aspect. In McIntyre N, Benhamou JP, Bircher J, Rizzeto M, Rodés J, eds. *Oxford Textbook of Clinical hepatology*, Vol 1. Oxford: Oxford University Press, 1991; 380-90.

Escalante MA, Franco R, Cubas L, et al. Nutrition bone disease and alcoholic cirrhosis. *An Med Interna* 2002; 19: 503-5.

Esparza B, De las Heras B, Solano D, Martinez P, De la Villa FM. Estudio de los fenómenos inmunoregulatorios en los pacientes con cirrosis alcohólica. *An Med interna* 1991; 8: 320-324.

Espina N, Lima V, Lieber CS, Garro AJ. In vitro and in vivo inhibitory effect of ethanol and acetaldehyde on O6methylguanidine transferase. *Carcinogenesis* 1988 ; 9 : 761-766.

Eyre, DR. Collagen cross-links amino acids. *Methods Enzymol* 1987; 144: 115-39.

Fahey J, Taylor J, Detels R, et al. The prognostic value of cellular and serologic markers in infection with human immunodeficiency virus type I. *New England Journal of Medicine* 1990; 322: 166-172.

Faller J, Fox IH. Evidence for increased urate production by activation of adenine nucleotide turnover. *N Engl J Med* 1982 ; 307 : 1598-1602.

Farci AMG, Laconi R, Cabras F, Loviselli A, Cappai G, et al. Urinary neopterin in acute and chronic liver diseases. In: *Biochemical and Clinical*

aspects of Pteridines (H. Walter, HC curtius, W. Pleiderer, eds), Walter de Gruyter, Berlin, New York 1985: 453.

Farrar M, Schreiber R. The molecular cell biology of interferon- γ and its receptor. *Annu Rev Immunol* 1993; 571-611.

Fauerholdt L, Shlichting P, Christensen E. conversion of micronodular cirrhosis into macronodular cirrhosis. *Hepatology* 1983; 11: 421-6.

Feige U, Hu YL, Gasser J, Campagnuolo G, et al. Anti interleukin -1 and anti-tumor necrosis factor alpha synergistically inhibit adjuvant arthritis in Lewis rats. *Cell Mol Life Sci* 2000. 57(10): 1457-70.

Fresno M. Respuesta inmune e infección *Medicine* 1997; 7: 2281-86.

Frezza M, Di Padova C, Pozzato G, Terpin M, Baraona E, Lieber CS. High blood alcohol levels in women : Role of decreased gastric alcohol dehydrogenase activity and first pass metabolism. *N Engl J Med* 1990 ; 322 : 95-99.

Fuchs D, Hausen A, Knosp O, et al. Neopterin evaluation in patients with pulmonary tuberculosis. En: Curtius HC, Pfeider W, Wachter H eds. *Biochemical and clinical aspects of pteridines, vol II*. Berlin, New York: Walter de Gruyter 1983: 281-91.

Fuchs D, Krämer A, Reibnegger G et al. Neopterin and β 2-microglobulin as prognostic indices in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Infection* 1991; [Suppl.2]: S98-S102.

Gallego Rojo FJ, González-Calvín J, Muñoz-Torres M, Mundi JL, Fernández Pérez R, Rodrigo moreno, D. Bone mineral density, serum insulin-like growth factor I and bone turnover markers in viral cirrhosis. *Hepatology* 1998; 28 (3): 695-9

García-Sánchez A, González-Calvín JL, Díez-Ruiz A, et al. Effect of acute alcohol ingestión on mineral metabolism and osteoblastic function. *Alcohol* 1995; 30: 449-53

Garnero P, Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover: clinical usefulness in osteoporosis. *Ann Biol Clin (Paris)* 1999; 57(2): 137-48.

Gehr G, Braun T, Lesslauer W. Cytokines, receptors and inhibitors. *Clin Investig* 1992; 70: 64-9.

Gersuk GM, Beckham C, Loken MR, et al. A role for tumor necrosis factor-alpha, Fas and fas ligand in marrow failure associated with myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol* 1998; 103(1): 176-88.

Ginés A, Escorsell A, Ginés P, Saló J, Jiménez W, Inglada L, et al. Incidence, predictive factors and prognosis of the hepatorenal syndrome in cirrhosis with ascites. *Gastroenterology* 1993; 105: 229-36.

Ginés P, Quintero E, Arroyo V, Terés J, bruguera M, Rímola A, et al. Compensated cirrhosis. Natural history and prognostic factors. *Hepatology* 1987; 7: 122-28.

Girardin E, Roux P, Grau GE, et al. Imbalance between tumour necrosis factor-alpha and soluble TNF receptor concentrations in severe meningococcaemia. *Immunology* 1992; 76: 20-23.

Gish RG, Mason A. Autoimmune liver disease. Current standars, future directions. *Clin Liver Dis* 2001; 5(2): 287-314.

Gludd C, Henriksen JH, Nielssen G, and the Copenhagen Study Group for Liver Diseases. Prognosis indicators in alcoholic cirrhotic men. *Hepatology* 1988; 8: 222-27.

Glund C, Aldershvile O, Dietrichson F et al. Human leucocyte antigens in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Scandinavian Journal of gastroenterology* 1980; 15: 337-341.

Gomez B Jr, Ardakani S, Ju J, Jenkins D, Cerelli MJ, Danilof GY, Kung VT. Monoclonal antibody assay for measuring bone specific alkaline phosphatase in serum. *Clin Chem* 1995; 41: 1560-6.

Gomez F, Ruiz P, Schreiber AD. Impaired function of macrophage Fc-gamma receptors and bacterial infection in alcoholic cirrhosis. *N Eng J Med* 1994; 331: 1122-1128.

González CE, Santolaria FJ, Hernández J. Inmunoglobulinas en la cirrosis hepática. Correlación con datos clínicos y analíticos. *Rev Clin Esp* 1982; 167: 232-236.

González-Calvín JL, García-Sánchez A, Mundi JL. Effect of alcohol consumption on adult bone mineral density and bone turnover markers. *Alcohol Clin Exp Res* 2000; 24: 1416-7

González-Calvín JL, García-Sánchez A, Bellot V, et al. Mineral metabolism, osteoblastic function and bone mass in chronic alcoholism. *Alcohol alcohol* 1993; 28: 571-9.

González RP, Davis GL, Lau JY. Pathogenic mechanisms of hepatocellular damage in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1994; 21: 255-259.

Grellier LF, Dusheiko GM. The role of hepatitis C virus in alcoholic liver disease. *Alcohol Alcohol* 1997; 32: 103-111.

Gressner AM. Hepatic fibrogenesis: the puzzle of interacting cells, fibrogenic cytokines, regulatory loops and extracellular matrix molecules. *Z Gastroenterol* 1992; 30 suppl.1: 5-16.

Griffin MD, Xing N, Kumar R. Vitamin D and its analogs as regulators of immune activation and antigen presentation. *Annu Rev Nutr* 2003; 23: pp

Grimm J, Zeller W, Zander AR. Soluble interleukin-2 receptor serum levels after allogeneic bone marrow transplantations as a marker for GVHD. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21(1): 29-32.

Guidelines for preclinical evaluation and clinical trials in osteoporosis. Geneva: WHO; 1998: 59.

Gundberg CM, Wilson PS, Gallop PM, Parfitt AM. Determination of osteocalcin in human serum: results with two kits compared with those by a well-characterized assay. *Clin Chem* 1985 Oct;31(10):1720-3

Gundberg CM. Biochemical markers of bone formation. *Clin Lab Med* 2000; 20(3): 489-501.

Habber MM, West AB, Haber AD, Reuben A. Relationship of aminotransferases to liver histological status in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 1250-1257.

Hammond GL, Langley MS, Robinson PA. A liquid-phase immunoradiometric assay (IRMA) for human sex hormone binding globulin (SHBG). *J Steroid Biochem* 1985; 23(4): 451-60

Hanck C, Glatzel m, Singer MW, Rosol S. Gene expression of TNF-receptors in peripheral blood mononuclear cells of patients with alcoholic cirrhosis. *J Hepatol* 2000; 32(1): 51-7.

Hanson DA, Weis MAE, Bollen AM, Maslan SL, Singer FR, Eyre DR. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption. Quantification of type I collagen cross linked N-telopeptides in urine. *J Bone Miner Res* 1992; 7: 1251-58.

Hansson M, Asea A, Ersson U, Hermodsson S, Hellstrand H. Induction of apoptosis in NK cells by monocyte-derived reactive oxygen metabolites. *J Immunol* 1996; 156: 42-7.

Harbin WP, Robert NJ, Ferruci JT. Diagnosis of cirrhosis based on regional changes in hepatic morphology. *Radiology* 1980; 135: 173.

Harrington L, Affleck G, Urrows S, et al. Temporal covariation of soluble interleukin-2 receptor levels, daily stress, and disease activity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1993; 36: 199-203.

Hausen A, Fuchs D, Reinbnegger G et al. Neopterin as index for activity of disease in patients with rheumatoid arthritis. In: Curtius HC, Pfeider W, Wachter H eds. *Biochemical and clinical aspects of pteridines*, vol II. Berlin, New York: Walter de Gruyter. 1983: 243-54.

Hay JE. Bone disease in cholestatic liver disease. *Gastroenterology* 1995; 108:276-9.

Hayashi J, Kishihara Y, Kouzaburo Y, et al. Serum levels of soluble Interleukin-2 receptors and effects of interferon- α for patients with chronic hepatitis C virus. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 1837-1841.

Heilig B, Wermann M, Gallati H, et al. Elevated TNF receptor plasma concentration in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Invest* 1992; 70: 22-27.

Heller RA, Song K, Fan N, Chang DJ. The p70 tumor necrosis factor receptor mediates cytotoxicity. *Cell* 1992; 70: 47-56.

Henney CS. Interleukin-7 : effects on early events in lymphopoyesis. *Immunol Tod* 1989 ; 621-38.

Hillaire S, Voitot H. Cirrhose. *Pathol Biol (Paris)* 1999; 47 (9): 895-902.

Hirano. Interleukin 6. En: *The cytokine handbook 2nd de*. New York: Accademic press, 1994; 145-66.

Hirofuji H, Kakumu S, Fuji A, Ohtami Y, Murase K, Tahara H. Natural-killer and activated killer activities in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma: evidence for a decreased lymphokine-induced activity of effector cells. *Clin Exp Immunol* 1987; 68: 348-352.

Hofbauer LC, Heufelder AE. Role of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *J Mol Med* 2001; 79(5-6): 243-53.

Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, et al. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells. *Endocrinology* 1999; 140(9): 4367-70.

Hohmann HP, Remy R, Brockhaus m Van Loon APGM. Two different cell types have different major receptors for human tumor necrosis factor (TNF alfa). *J Biol Chem* 1989; 264: 14927-34.

Hönlingen M, Fuchs D, Reibnegger G, Schönitzer D, Dierich M, Wachter H. Neoptarin screening and acute cytomegalovirus infections. *The clinical Investigator* 1992; 70: 63.

Houssiau F, Renauld J, Fibbe W, Van Snick J. IL-2 dependence of IL-9 expression in human T lymphocytes. *Journal of Immunology* 1992; 148: 3147-51.

Huber C, Batchelor JR, Fuchs D, Hausen A, Lang A, et al. Immune response associated production of neopterin. *J Exp Med* 1984; 160: 310-316.

Iino S. Differentiation alcoholic liver cirrhosis from viral liver cirrhosis. *Nippon Rinsho* 1994; 52: 174-180.

Infante-Rivard C, Esnaola S, Villeneuve JP. Clinical and statistical validity of conventional prognosis factors in predicting short-term survival among cirrotics. *Hepatology* 1987; 7: 660-4.

Izzo F, Curley S, Maio P, Leonardi E, Imperato L, Giglio S, Cremona F, Castello G. Correlation of soluble interleukin-2 receptor levels with severity of chronic hepatitis C virus injury and development of hepatocellular cancer. *Surgery* 1996; 120: 100-105.

Jaeschke H. Cellular adhesion molecules: regulation and functional significance in the pathogenesis of liver diseases. *Am J Physiol* 1997; 273: 602-611.

Jensen CH, Hansen M, Brandt J Rasmussen HB, Jensen PB, Tiesner B. Quantification of the N-terminal propeptide of human procollagen type 1 (PINP): comparison of ELISA and RIA with respect to different molecular forms. *Clin Chim Acta* 1998; 269: 31-41.

Jevon M, sabokbar A, Fujikawa Y, Hirayama T, Neale SD, Wass J, Athanasou NA. Gender and age related differences in osteoclast formation from circulating precursors. *J Endocrinol* 2002; 172(3): 673-81.

Johnson R, Roos B, Hansson T. Bone mineral measurement with a continuous roentgen ray spectrum and a germanium detector. *Acta Radiol Diagn (Stockh)* 1986; 27(1): 105-9

Jorge-Hernández JA, González-Reimers CE, Torres-Ramírez A, et al. Bone changes in alcoholic liver cirrhosis. A histomorphometrical analysis of 52 cases. *Dig Dis Sci* 1998; 33: 1089-95.

Kajdaniuk D, Marek B, Swietochowska E, et al. Insulin-like growth factor-I: pathophysiologic and clinical aspects. *Plo Merkuriusz Lek* 1999; 7(41): 205-7.

Kaku I, Izumi N, Hasumura Y, Takeuchi J. Differences of liver membrane antibody frequency in alcoholic liver disease. *Dig Dis Sci* 1988; 33: 845-850.

Kallinowski B, Haseroth K, Marinos G, Hanck C, Stremmel W, Theilmann L, Singer MV, Rossol S. Induction of tumour necrosis factor (TNF) receptor type p55 and p75 in patients with chronic hepatitis C virus (HCV) infection. *Clin Exp Immunol* 1998; 111: 269-277.

Kanis JA, Melton LJ, Christiansen C, Johnston CC, khaltaev N. Perspective: the diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 1137-41.

Kawakami Y, Hayashi J, Ueno K, et al. Elevation of serum soluble interleukin 2 receptor levels in patients with hepatitis C virus infection. *Fukuoka Igaku Zasshi* 1997; 274-282.

Khosla S. Minireview: the OPG / RANKL / RANK system. *Endocrinology* 2001; 142(12): 5050-5.

Kimble RB. Alcohol, cytokines and estrogen in the control of bone remodeling. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21 (3): 385-91

Klanssen LW, Tuma D, Sorrell MF. Immune mechanisms of alcohol-induced liver disease. *Hepatology* 1995 ; 22 : 355-357.

Knapen MHJ, Nieuwenhuijzen Kruseman AC, Wouters RSME, Vermeer C. Correlation of serum osteocalcin fractions with bone mineral density in women during the first ten years after menopause. *Calcif Tissue Int* 1998; 63: 375-9.

Koren R, Ravid A, Liberman UA, et al. Responsiveness to 1,25-dihydroxyvitamin D3 is reduced in lymphocytes from osteoporotic women. *J Bone Miner Res* 1992; 7(9):1057-61.

Koskinas J, Kenna JG, Bird GL, Alexander GJM, Williams R. Immunoglobulin A antibody to a 200 kd cytosolic acetaldehyde adduct in alcoholic hepatitis. *Gastroenterology* 1992; 103: 1860-1867.

Kovacs E. Fibrogenic cytokines: the role of immune mediators in the development of scar tissue. *Immunol Tod* 1991; 12: 17-23.

Kronenberg M, Siu G, Hood L, shastri N. The molecular genetics of the T-cell antigen receptor and T-cell antigen recognition. *Ann Rev Immunol* 1986; 4: 529-91.

Kurland ES, Chan FK, Rosen CJ, Bilezikian JP. Normal growth hormone secretory reserve in mem with idiopathic osteoporosis and reduced circulating levels of insulin-like growth factor-I. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83(7): 2576-9.

Lai CKW, Chan CHS, Leung JCK, et al. Serun concentration of soluble interleukin 2 receptors in asthma: correlation with disease activity. *Chest* 1993; 103: 782-786.

Lanfrancone L, Boraschi D, Ghiara P, Falini B, Grignani F, Peri G, Mantovani A, Pelicci PG. Human peritoneal mesothelial cells produce many cytokines (granulocyte colony-stimulating factor (CSF), granulocyte-monocyte CSF, macrophage CSF, interleukin-1 (IL-1) and IL-6) and are activated and stimulated to grow by IL-1. *Blood* 1992; 80: 2835-2842.

Larsen K. Creatinine assay by a reaction-kinetic principle. *Clin Chem Acta* 1972; 41: 209-211.

Le Gars L, Grandpierre C, Chazouilleres O, Berenbaum F, Poupon R. Bone loss in primary biliary cirrhosis : absence of association with severity of liver disease. *Joint Bone Spine* 2002; 69 (2): 195-200

Ledesma F, Pons F. Hepatopatía alcohólica y nutrición. *Rev Clin Esp* 1991; 188: 387-389.

Lelbach WK. Cirrhosis in the alcoholic and its relation to the volume of the alcohol abuse. *Ann NY Acad Sci* 1975 ; 252 : 85-105.

LeRoith D, Roberts CT Jr. The insulin-like growth factor system and cancer. *Cancer Lett* 2003; 195 (2): 127-37.

Lieber CS, Seitz HK, Garro AJ, Wornor TM. Alcohol-related diseases and carcinogenesis. *Cancer Res* 1979; 39: 2863-2885.

Lieber CS. Alcohol and the liver : 1994 update. *Gastroenterology* 1994 ; 106 : 1085-1105

Lieber CS. Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism. *Clin Chim Acta* 1997; 257: 59-84.

Lieber CS. Role of oxidative stress and antioxidant therapy in alcoholic and non alcoholic liver diseases. *Adv Pharmacol* 1997; 38: 601-628.

List S, Gluud C. A meta-analysis of HLA-antigen prevalences in alcoholics and alcoholic liver disease. *Alcohol Alcohol* 1994 ; 29 ; 755-764.

Loetscher H, Grentz R, Zulauf M, Lustig A, Tabuchi H, et al. Recombinant 55 kd tumour necrosis factor (TNF) receptor. Stoichiometry of binding to TNF α and TNF β and inhibition of TNF activity. *J Biol Chem* 1991; 266: 18324-18329.

Loric S, Guechot J, Duron F, Aubert P, Giboudeau J. Determination of testosterone in serum not bound by sex-hormone-binding globulin: diagnostic value in hirsute women. *Clin Chem* 1988; 34(9):1826-9.

Luna-Casado L, Díez-Ruiz A, Gutierrez-Gea F, et al. Increased peripheral mononuclear cells expression of adhesion molecules in alcoholic cirrhosis: its relation to immune activation. *J Hepatol* 1997; 27: 477-83.

Marcinkiewicz J, Grabowska A, Chain BM. In there a role for nitric oxide in regulation of T cell secretion of IL-27. *J Immunol* 1996; 156: 4617-21.

Marie P, Debiais F, Cohen-Solal M, de Vernejoul MC. New factors controlling bone remodeling. *Joint Bone Spine* 2000; 67(3): 150-6.

Marinos G, Naoumov NV, Rossol S, Torre F, Wong N et al. Tumor necrosis factor receptors in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1995; 108: 1453-1463.

Martin JH, Edwards SW. Interferon gamma enhanced monocyte cytotoxicity via enhanced reactive oxygen intermediate production absence of an effect on macrophage cytotoxicity is due to failure to enhance reactive nitrogen intermediatic productic. *Immunol* 1994; 81: 592-7.

Massey FJ. The Kolmogorov-Smirnov test for goodness fit. *J Amer Stats Assoc* 1951; 46: 68-78.

Mathieu C, Adorini L. The coming of age of 1,25-dihydroxy vitamin D3 analogs as immunomodulatory agents. *Trends Mol Med* 2002; 8(4): 174-9.

Matkovic V, Kostial K, Simonic I, Buzinar R, Brodarec A, Nordin BEC. Bone status and fractures rates in two regions of Yugoslavia. *Am J Clin Nutr* 1979; 32: 540-9.

McCaughan GW, Feller RB. Osteoporosis in chronic liver disease: pathogenesis, risk factors, and management. *Dig Dis* 1994; 12 (4): 223-31

McConkey DJ, Orrenius S, Jondal M. Cellular signaling in programmed cell death (apoptosis). *Immunol Tod* 1990; 11: 120-1.

Melton LJ . Epidemiology of vertebral, hip and colles fracture related to age in Rigss BL, Melton LJ (eds): *Osteoporosis: etiology, diagnosis and management*. 2d ed. Rochester, MN Mayo Foundation, 1995.

Melton LJ. Who has osteoporosis? A conflict between clinical and public health perspectives. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 2309-14.

Mezquita P, Muñoz M, López F, et al. Prevalence of vitamin D deficiency in populations at risk for osteoporosis: impact on bone integrity. *Medicina Clinica* 2002; 119: 85-9.

Minami Y, Kono T, Mizayaki T, Taniguchi T. The IL-2/IL-2 receptor system: a current overview. *Cell* 1993; 73: 5-8.

Minisola S, Rosso R, Romagnoli E, D'Erasmus E, Manfredi G, Damian C, et al. Serum osteocalcin and bone mineral density at various skeletal sites: a study performed with three different assays. *J Lab Clin Med* 1997; 129: 422-9.

Mizel S, Farrat J. *Cell Immunol* 1979; 48: 433-6.

Mizuhara H, O'Neill E, Seki N, Ogawa T, Kusunoki C, et al. T cell activation-associated hepatic injury: mediation by tumor necrosis factors and protection by interleukin-6. *J Exp Med* 1994; 179: 1529-1537.

Mizuhara H, Uno M, Seki N, Yamashita M, Yamaoka M et al. Critical involvement of interferon gamma in the pathogenesis of T-cell activation-associated hepatitis and regulatory mechanisms of interleukin-6 for the manifestations of hepatitis. *Hepatology* 1996; 23: 1608-1615.

Monegal A, Navasa M, Guanabens N, Peris P, Pons F et al. Osteoporosis and bone mineral metabolism disorders in cirrhotic patients referred for orthotopic liver transplantation. *Calcif Tissue Int* 1997; 60 (2): 148-54

Moore KW, O'Garra A, Malefyt RW, Vieira P, Mosmann TR. Interleukin-10. *Ann Rev Immunol* 1993 ; 11 :165-90.

Morgan MY, Sherlock S. Sex-related differences among 100 patients with alcoholic liver disease. *Brit Med J* 1977 ; 1 : 939-941.

Mosekilde, L. Sex differences in age-related changes in vertebral body size, density and biochemical competence in normal individuals. *Bone* 1990; 11: 67-73.

Moses H, Yang E, Pietenpol J. TGF- β stimulation and inhibition of cell proliferation: new mechanistic insights. *Cell* 1990; 63: 245-7.

Mosnier JF, Scoazec JY, Marcellin P, Degott C, Benhamou JP, Feldmann G. Expression of cytokine-dependent immune adhesion molecules by hepatocytes. *Gastroenterology* 1994; 107: 1457-1468.

Moss DW. Diagnostic aspects of alkaline phosphatase and its isoenzymes. *Clin Biochem* 1987; 20: 225-30.

Mossmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136: 2348-2357.

Mossmann TR. Properties and functions of interleukin 10. *Adv Immunol* 1994; 56: 1-26.

Muller C, Knoflach P, Zielinski CC. Soluble interleukin 2 receptor in acute viral hepatitis and chronic liver disease. *Hepatology* 1989; 10: 982-932.

Müller K, Odum N, Bendtzen K. 1,25-dihydroxyvitaminD3 selectively reduces interleukin-2 levels and proliferation of human T cell lines in vitro. *Immunol Lett* 1993; 35: 177-82.

Mutchnick MG, Cohen IA, Elta GH. Persistent immune deficiency in patients with alcoholic hepatitis. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 428-434.

Mutchnick MG, Lee HH. Impaired lymphocyte proliferative response to mitogen in alcoholic patients. Absence of a relation to liver disease activity. *Alcoholism Clin Exp Res* 1988; 12: 155-161.

Nagatsu T, Sawada M, Yamaguchi T, Sugimoto T, Matsuura S, et al. Radioimmunoassay for neopterin in body fluids and tissues. *Anal Biochem* 1984; 141: 472-480

Nakajima T, Mizushima N, Kanai K. Relationship between natural killer activity and development of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis of the liver. *Jpn J Clin Oncol* 1987; 17: 327-332.

Nakajima T, Mizushima N, Nakamura J, Kanai K. Surface marker of NK cells in peripheral blood of patients with cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Immunol Lett* 1986; 13: 7-10.

Nakamura S, Takezawa Y, Sato T, Kera K, Maeda T. Alcoholic liver disease in women. *Tohoku J Exp Med* 1979 ; 129 : 351-355.

Napoli J, Bishop A, McGuinness PH, Painter DM, McCaughan GW. Progressive liver injury in chronic hepatitis C infection correlates with increased intrahepatic expression of Th1-associated cytokines. *Hepatology* 1996; 24: 759-765.

Newton J, Francis R, Prince M, James O, Bassendine M, et al. Osteoporosis in primary biliary cirrhosis revisited. *Gut* 2001; 49 (2): 282-7

Nguyen L, dewhirst FE, Hauschka PV, Stashenko P. Interleukin 1b stimulates bone resorption and inhibits bone formation in vivo. *Lymphokine Cytokine Res* 1991; 10: 15-21.

Niederwieser D, Huber C, Gratwohl A et al. Neopterin as a new biochemical marker in the clinical monitoring of bone marrow transplant recipients. *Transplantation* 1984; 38: 497-500.

Nolan JP. Intestinal endotoxins as mediator of hepatic injury: an idea whose time has come again. *Hepatology* 1989;10: 887-891.

Nomura F, Lieber CS. Binding of acetaldehyde to rat liver microsomes : enhancement after chronic alcohol consumption. *Biochem Biophys Res Commun* 1981 ; 100 : 131-137.

Nophar V, Kemper O, Brakebusch C. Soluble forms of tumor necrosis factors (TNF-RS). The cDNA for the type I TNF-R. Cloned using amino acid sequence data of its soluble form, encodes both the cell surface and soluble form of the receptor. *EMBO J* 1990; 9: 3269-72.

Nordin BE, Aaron J, Speed R, Crilly RG. Bone formation and resorption as the determinants of trabecular bone volume in postmenopausal osteoporosis. *Lancet* 1981; 2(8241): 277-9

Oelzner P, Franke S, Müller A, Hein G, Stein G. Relationship between soluble markers of immune activation and bone turnover in postmenopausal women with rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 1999; 38: 841-7

Olsson I, Gatanaga T, Gullberg U, Lantz M, Granger GA. Tumor necrosis factor (TNF) binding proteins (soluble TNF receptor forms) with possible roles in inflammation and malignancy. *Eur Cytokine Netw* 1993; 4: 169-80.

Onji M, Kondoh H, Ohta Y. Serial observation on lymphocyte subpopulations and interleukin 2 production of T cells from patients with acute viral hepatitis and chronic active hepatitis. *Hepatogastroenterology* 1988; 35: 1-46.

Osteoporosis prevention, diagnosis and therapy. NHI consensus statements 2000; 17 (1): 1-45

Pacifici R. Cytokines and osteoclast activity. *Calcif Tissue Int* 1995; 56: 27-8.

Pandita R, pocsik E, Aggarwal BB. Interferon- γ induces cell surface expression for both types of tumor necrosis factor receptors. *Fed Eur Bioch Soc* 1992; 312: 87-90.

Panel J. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 1993; 94: 646-50.

Panés J, Soler X, Parés A, Caballería J, Farrés J, Rodés J, Parés X. Influence of liver disease on hepatic alcohol and aldehyde dehydrogenases. *Gastroenterology* 1989; 97: 708-714.

Pape GR, Rieber EP, Eisenberg J, Hoffmann R, Balch CM, Paumgartner G, Riethmuller G. Involvement of the cytotoxic/suppressor T-cell subset in liver tissue injury of patients with acute and chronic liver disease. *Gastroenterology* 1983; 85: 657-662.

Parés X, Barrera JM, Caballería J, Ercilla G, Brugera M, Caballería L, Castillo R, Rodés J. Hepatitis C virus antibodies in chronic alcoholic patients: association with severity of liver injury. *Hepatology* 1990; 12: 1295-1299.

Parés X, Farrés J, Parés A, Soler X, Panés J, Ferré JL . Genetic polymorphism of the liver alcohol dehydrogenase in Spanish subjects : Significance of alcohol consumption and liver disease. *Alcohol* 1994 ; 29 : 701-705.

Parfitt AM. Correction of plasma calcium measurements. *Br Med J* 1974;1(906):520.

Paronetto F. Immunologic reactions in alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis* 1993; 13: 183-195.

Pequignot AJ, Tuyns AJ, Berta JL. Ascitic cirrhosis in relation to alcohol consumption. *Int J Epidemiol* 1978 ; 7 : 113-120.

Persijn JP, Van der Slik W. A new method for the determination of gamma-glutamyltransferase in serum. *J Clin Chem Clin Biochem* 1976;14(9):421-7

Planas R, Quer JC. Cirrosis hepática. Enfermedad de Wilson. Hemocromatosis. *Medicine (Madrid)* 1992; 6: 354-63.

Porteu F, Nathan C. Shedding of tumour necrosis factor receptors by activated human neutrophils. *J Exp Med* 1990; 172: 599-607.

Prieto A, Reyes M, Pérez A, Álvarez M. Moléculas coestimuladoras tanto solubles como de membrana implicadas en la presentación antigénica y la respuesta inmune. *Medicine* 1977; 7:2255-2262.

Prior C, Fuchs D, Hausen A et al. Potential of urinary neopterin excretion in differentiating chronic non-A, non-B hepatitis from fatty liver. *Lancet* 1987; 2: 1235-37.

Pugh RN, Murray-Lyon MI, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg* 1973; 60: 646-9.

Quiroga JA, Martín J, Pardo M, Carreño V. Serum levels of soluble immune factors and pathogenesis of chronic hepatitis C, and their relation to therapeutic response to interferon- α . *Dig Dis Sci* 1994; 39: 2485-2496.

Rabinoff M. Interferon-gamma, neopterin and host defense. *Med hypotheses* 1990; 31: 275.

Rajkovic I, Williams R. Abnormalities of neutrophil phagocytosis, intracellular activity and metabolic activity in alcoholic cirrhosis and hepatitis. *Hepatology* 1986; 6: 252-256.

Ralston SH. The Michael Mason Prize Essay 1997. Nitric oxide and bone: what a gas! *Br J Rheumatol* 1997; 36: 381-8.

Reibnegger G, Auheuber I, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, et al. Urinary neopterin levels in acute viral hepatitis. *Hepatology* 1988; 8: 771-774.

Reibnegger G, Bichler A, Dapunt O et al. Neopterin as a prognostic indicator in patients with carcinoma of the uterine cervix. *Cancer Research* 1986; 46: 950-55.

Rembold H, Buschmann L. Structure and synthesis of neopterin. *Liebigs Ann Chem* 1963; 662: 72-82.

Rico lenza H. Osteopenias y osteoporosis. *Medicine* 2002; 8 (83): 4465-74.

Rodriguez F, Martínez A, Milena A, González C. Serum neopterin levels in alcoholic liver disease. *Drug Alcohol Depend* 1993; 33: 151-156.

Roitt I, Brostoff J, Male D. *Immunology*, 4th edition. London: Mosby, 1996.

Rokos H, Rokos K. A radioimmunoassay for determination of D-erythro-neopterin. In: *Chemistry and biology of pteridines*. Walter de Gruyter, Berlin- New York 1983; 815-819.

Rolando N, Wyke R. *Infections*. *Gut Supplement* 1991: S25-S28.

Rosano TG, Peaston RT, Bone HG, Woigte HW, Francis RM, Seibel MJ. Urinary free deoxypyridinoline by chemiluminescence immunoassay: analytical and clinical evaluation. *Clin Chem* 1998; 44: 2126-32.

Rosen CJ. IGF-I and osteoporosis. Clin Lab Med 2000; 20 (3): 591-62)

Rosen CJ. Serum insulin-like growth factors and insulin-like growth factor-binding proteins: clinical implications. Clin Chem 1999; 45 (2): 1384-90

Rosman AS, Paronetto F, Galvin K, Williams RJ, Lieber CS. Hepatitis C virus antibody in alcoholic patients: Association with presence of portal and/or lobular hepatitis. Arch Intern Med 1993; 153: 965-969.

Roughneen P, Kulkarni S, Kumar C et al. The influence of hepatocellular function on NK and T cell tumoricidal activity. Surgery 1988; 104: 888-893.

Rubin L, Kurman CC, Fritz ME, Biddison WE, Boutin B, Yarchoan R, Nelson DL. Soluble interleukin 2 receptors are released from activated human lymphoid cells in vitro. J Immunol 1985; 135: 3172-77.

Rubio C, Gil V, Aparicio JM, Belda J, Pascual R, Merino J. Eficacia diagnóstica de los marcadores biológicos de consumo alcohólico en la detección de bebedores excesivos. An Med Intern 1996; 13: 274-278.

Salerno F, Merli M, Cazzaniga M, valeriano V, Rossi P, Lovaria A, et al. MELD score is better than Child-Pugh score in predicting 3-month survival of patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunt. J Hepatol 2002; 36 (4): 494-500.

Sánchez-Tapias JM, Barrera J, Costa J, Ercilla, MG, Parés A, Comarrena L, et al. Hepatitis C virus infection in patients with nonalcoholic chronic liver disease. Ann Intern Med 1990; 112: 921-4.

Sanders A, Makgoba W, Shaw S. human naive and memory T-cells: reinterpretation of helper-induced and suppressor-induced subsets. Immunol Today 1988; 9: 195-9.

Santolaria F, González-reimers E, Pérez-Manzano JL, et al. Osteopenia assessed by body composition analysis is related to malnutrition in alcoholic patients. Alcohol 2000; 22(3): 147-57.

Sanz E, Andrade W, fernández G. Bases moleculares del reconocimiento antigénico por células B. *Medicine* 1997; 7: 2200-6.

Sarin SK, Dhingra N, Bansal A, Malhotra S, Guptan RC. Dietary and nutritional abnormalities in alcoholic liver disease: a comparason with chronic alcoholics without liver disease. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 777-783.

Sasaki H, Pollard R, Shmitt D, Suzuki F. Transforming growth factor- β in the regulation of the immune response. *Clinical Immunology and Immunopathology* 1992; 65: 1-9.

Saunders JB, Wodak AD, Haines A et al. Accelerated development of alcoholic cirrhosis in patients with HLA B8. *Lancet* 1982; i: 1381-1284.

Scariano JK, Glew RH, Bou-Serhal CE, Clemens JD, Garry PJ, Baumgartner RN. Serum levels of cross-linked N-telopeptides and aminoterminal propeptides of type I collagen indicate low bone mineral density in elderly women. *Bone* 1998; 23: 471-77.

Scheven BA, Van der Veen MJ, Damen CA, et al. Effects of methotrexate on human osteoblasts in vitro: modulation by 1-25 dihydroxyvitamin D3. *J Bone Miner Res* 1995; 10: 874-80.

Schoenhaut D, Chua A, Wolitzky A. Cloning and expression of murine IL-12. *Journal of Immunology* 1992; 148: 3433-40.

Schrader JN. Panspecific hemopoietin of activated T lymphocytes (Interleukin-3). *Ann Rev Immunol* 1986; 4: 205-30.

Scudeletti M, Indiveri F, Pierri I, Piccioto A, Ferrone F. T cells from patients with chronic liver diseases; abnormalities in PHA-induced expression of HLA-class II and in autologous mixed lymphocyte reactions. *Cellular immunol* 1986; 102: 227-233.

Seibel MJ, Woitge HW. Basic principles and clinical applications of biochemical markers of bone metabolism: biochemical and technical aspects. *J Clin Densitom* 1999; 2(3): 299-321.

Sen G, Lengyel P. The interferon system. A bird's eye view of its biochemistry. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 5017-20.

Shaw S, Rubin KP, Lieber CS. Depressed hepatic glutathione and increased diene conjugates in alcoholic liver disease : evidence of lipid peroxidation. *Dig Dis Sci* 1983 ; 28 : 585-589.

Sherlock S, Scheuer PJ. The presentation and diagnosis of 100 patients with primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 1973; 289: 674-8.

Slemenda CW, Christian JC, Reed T, Reister TK, Williams CJ, Johnston CCJr. Long-term bone loss in men: effects of genetic and environmental factors. *Ann Intern Med* 1992; 117: 286-91.

Slemenda CW, Christian JC, Williams CJ, Norton JA, Johnston CC Jr. Genetic determinants of bone mass in adult women: a reevaluation of the twin model and the potential importance of gene interaction on heritability estimates. *J Bone Miner Res* 1991; 6: 561-7.

Solari R. Identification and distribution of two forms of the interleukin-1 receptor. *Cytokine* 1990; 2: 21-8.

Solomon LR. Evidence for the regeneration of transaminase inhibitors during ethanol metabolism by rat liver homogenates a potential mechanism for alcohol toxicity. *Biochem Med Metabol Biol* 1987 ; 38 : 9-18.

Spinozzi F, Agea E, Bassotti G et al. Ethanol-specific impairment of T-lymphocyte activation is caused by a transitory block in signal-transduction pathways. *Gastroenterology* 1993; 105: 1490-1501.

Spinozzi F, Gerli R, Rambotti P. Alcohol and immune defence. *JAMA* 1987; 257: 316-317.

Sprenger H, Jacobs G, Nain M et al. Enhanced release of cytokines, interleukin-2 receptors, and neopterin after long-distance running. *Clinical Immunology and Immunopathology* 1992; 63: 188-195.

Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 1990; 346:425-34.

Steward PM, Toogood AA, Tomlinson JW. Growth hormone, insulin-like growth factor and the cortisol cortisone shuttle. *Horm Res* 2001; 56(1): 1-6.

Stout R, Bottomly K. Antigen specific activation of effector macrophages by IFN γ producing (Th 1) T cell clones to activate effector function in macrophages. *Journal of Immunology* 1989; 142: 760-5.

Suda T, Takahashi N, Udagawa N, et al. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr rev* 1999; 20(3): 345-57.

Sugai E, Chernavsky A, Pedreira S, Smecuol E, Vazquez H, et al. Bone-specific antibodies in sera from patients with celiac disease: Characterization and implications on osteoporosis. *J Clin Immunol* 2002; 22(6): 353-62.

Suzuki Y, Tanihara M, Ichikawa Y, et al. Periarticular osteopenia in adjuvant induced arthritis: role of interleukin-1 in decreased osteogenic and increased resorptive potential of bone marrow cells. *Ann Rheum Dis* 1995; 54:484-90.

Szulc P, Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover in men. *Calcif Tissue Int* 2001; 69(4): 229-34.

Takatsu K. Interleukin 5. *Curr Opin Immunol* 1992; 4: 299-306.

Tanner AR, Bantock I, Hinks L, Lloyd B, Turner NR, Wrigth R. Depressed selenium and vitamin E levels in an alcoholic population : possible relationship to hepatic injury through increased lipid peroxidation. *Dig Dis Sci* 1986 ; 31 : 1307-1312.

Tartaglia LA, Weber RF, Figari IS, Reynolds C, Palladino MA, Goeddel DV. The two different receptors for tumor necrosis factor mediate distinct cellular responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 9292-9296.

Thestrup-Pedersen K, Lauberg G, Sgaard H. Natural and Chang liver cell cytotoxic studies of methotrexate treated psoriatic patients with liver cirrhosis. *Acta Derm Venerol* 1988; 68: 74-77.

Thomson AD, Bird GLA, Saunders JB. Alcoholic liver disease. Gut 1991(Supp.): S97-S103.

Tiegs G, Hentschel J, Wendel A. A T-cell-dependent experimental liver injury in mice inducible by concanavalin A. J Clin Invest 1992; 90: 196-203.

Tilg H, Trehu E, Atkins MB, Dinarello CA, Mier JW. Interleukin-6 (IL-6) as an Anti-inflammatory cytokine : Induction of circulating IL-1 receptor antagonist and soluble tumor necrosis factor receptor p55. Blood 1994 ; 83 : 113-8.

Tilg H, Vogel W, Wiedermann CJ, Shapiro L, Herold M, Judmaier G, Dinarello CA. Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor antagonists in liver disease. Hepatology 1993; 18: 1132-1138.

Tilg H, Wilmer A, Vogel W, Herold M, Nolchen B, Judmaier G, Huber C. Serum level of cytokines in chronic liver diseases. Gastroenterology 1992; 103: 264-274.

Torrado J, carrascosa c. Pharmacological characteristics of parenteral IGF-I administration. Curr Pharm Biotechnol 2003; 4 (2): 123-40.

Trinchet JC, Cirrhose alcoolique. Anatomie pathologique, diagnostique, complications et leur physiopatologie, traitement. La Revue du Practicien 1996; 46: 1379-87.

Troppmair J, Nachbaur K, Herold M, Aulitzky WE, Tigh H, et al. In vitro and in vivo studies on the induction of neopterin in biosynthesis of cytokines, alloantigens and lipopolysaccharide. Clin Exp Immunol 1988; 74: 392-397.

Tsukamoto H, French SW, Benson N, delgado G, Rao A, Larkin E, Lanrgeman C. Severe and progressive steatosis and focal necrosis in rat liver induced by continuous intragastric infusion of ethanol and low fat diet. Hepatology 1985 ; 5 : 224-232.

Tsuneoka K, Tameda Y, Takase K, Nakano T. Osteodystrophy in patients with chronic hepatitis and liver cirrhosis. *J Gastroenterol* 1996; 31(5): 669-78.

Valente AI, Almeida A, Gouveia A, Serejo F, Ramalho F, Baptista A, Saragoca A, Moura MC. Prevalencia da doenca hepatica cronica em Portugal. A propósito de uma revisao efectuada numa unidade de hepatologia. *Acta Med Port* 1996; 9: 197-202.

Van Deuren M, Van Der Ven-Jongekrug J, Demacker PNM, et al. Differential expression of proinflammatory cytokines and their inhibitors during the course of meningococcal infections. *J Infect Dis* 1994; 169: 157-161.

Vandenabeele P, Declercq W, Vercammen D, Van de Craen M, Grooten J, et al. Functional characterization of the human tumor necrosis factor receptor p75 in a transfected rat/mouse cell hybridoma. *J Exp Med* 1992; 176: 1015-1024.

Vergnaud P, Garnero P, Meunier PJ, Breart G, Kamihagi K, Delmás PD. Undercarboxylated osteocalcin measured with a specific immunoassay predicts hip fracture in elderly women: the EPIDOS study. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 719-24.

Vicente-Gutierrez MM, Díez-Ruiz A, Gil-Extremera B, Bermudez JM, Gutierrez F. Low serum levels of α -interferon, γ -interferon and interleukin-2 in alcoholic cirrhosis. *Dig Dis Sci* 1991; 36: 1209-1212.

Villanueva C, Enriquez J, Just J, Teixidó, Méndez C y Rodrigo O. Vacuna contra el virus de la hepatitis B en alcohólicos. *Med Clin* 1991; 96: 211-214

Vitamin D; from photosynthesis, metabolism and action, to clinical applications. In *Endocrinology*, 4th ed, LJ DeGroot, JL Jameson (eds). Philadelphia Saunders, 2000.

Volpes R, Van Den Oord JJ, De Vos R, Desmet VJ. Hepatic expression of type A and B receptors for tumor necrosis factor. *J Hepatol* 1992; 14: 361-369.

Wachter H, Fuchs D, Hausen a et al. Importance of pteridines for regulation of growth. En: Druitus H, Pfeider W, Wachter H eds. *Biochemical and clinical aspects of pteridines*, vol I. Berlin, New York: Walter de Gruyter 1982: 277-281.

Wachter H, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Weiss G, Werner ER, Werner-Felmayer G. Neopterin. *Walter de Gruyter Berlin. New York* 1992: 169-180.

Wahner HW, Dunn WL, Brown ML, Morin RL, Riggs BL. Comparison of dual-energy x-ray absorptiometry and dual photon absorptiometry for bone mineral measurements of the lumbar spine. *Mayo Clin Proc* 1988 Nov;63(11):1075-84

Wachter H, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Weiss ER, Werner G, Welmer-Felmayer. Neopterin: Biochemistry, methods and clinical application. *Walter de Gruyter berlin. New York* 1992.

Wachter H, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wetner ER. Neopterin as marker for activation of cellular immunity: immunologic basis and clinical application. *Adv Clin Chem* 1989; 27: 82-125.

Watts NB. Clinical utility of biochemical markers of bone remodeling. *Clin Chem* 1999; 45: 1359-68.

Webb LH, Ross L, Markham RL. Immune function in patients with extrahepatic portal venous obstruction and the effect of splenectomy. *Gastroenterology* 1980; 79: 99-103.

Werner ER, Bichler A, Daxenbichler G, Fuchs D, Fuith LC, et al. Determination of neopterin in serum and urine. *Clin Chem* 1987; 33: 62-66.

Wilmer A, Nölchen B, Tilg H, Herold M, Pechlaner Ch, Judmaier G, Dietze O, Vogel W. Serum neopterin concentrations in chronic liver disease. *Gut* 1995; 37: 108-112.

Woloszczuk W, Troppmair W, Leiter E, Flener R, Schwarz M, et al. Relationship of interferon-gamma and neopterin levels during stimulation with alloantigens in vivo and in vitro. *Transplantation* 1986; 41: 716-719.

Yakar S. The role of circulating IGF-I: lessons from human and animal models. *Endocrine* 2002; 19 (3): 239-48.

Yakar S, Rosen CJ. From mouse to man: redefining the role of insulin-like growth factor-I in the acquisition of bone mass. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003; 228 (3): 245-52.

Yakar S, Rosen CJ, Beamer WG, Ackert-Bicknell CL, Wu Y, et al. Circulating levels of IGF-I directly regulate bone growth and density. *J Clin Invest* 2002; 110 (6): 771-81

Yamaguchi S, Onji M, Ohta Y. Increased serum soluble interleukin 2 receptor levels in patients with viral liver disease. *Hepatogastroenterology* 1988; 35: 245-248.

Yun TJ, Tallquist MD, Aicher A, Rafferty KL, Marshall AJ, et al. Osteoprotegerin, a crucial regulator of bone metabolism, also regulates B cell development and function. *J Immunol* 2001; 166 (3): 1482-91

Zangerle R, Gallati H, Sarcletti M, Weiss G, Denz H, Wachter H, Fuchs D. Increased serum concentrations of soluble tumor necrosis factor in HIV-infected individuals are associated with immune activation. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1994; 7: 79-85.

Zetterman RK. Autoimmunity and alcoholic liver disease. *Am J Med* 1990; 89: 127-128.

Ziegler R. Osteoporosis. *Schweiz Rundsch Med Prax* 1994; 83 (38): 1051-5.

Zorzano A, Herrera E. In vivo ethanol elimination in man, monkey and rat: a lack of relationship between the ethanol metabolism and the hepatic activities of alcohol and aldehyde dehydrogenases. *Life Sci* 1990; 46 : 223-230.