

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

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

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



Germans Trias i Pujol
Hospital

UAB
Universitat Autònoma
de Barcelona

TESIS DOCTORAL

**COMPLICACIONES MÉDICAS DEL TRASTORNO POR USO DE
ALCOHOL. INFLAMACIÓN Y ENFERMEDAD
CARDIOVASCULAR**

Xavier García Calvo

Director de la tesis doctoral: Daniel Fuster Martí

Tutor de la tesis doctoral: Robert Muga Bustamante

Programa de Doctorado en Medicina

Departamento de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

Barcelona, 2025

AGRADECIMIENTOS

La realización de esta tesis doctoral ha ido posible gracias a muchas personas, las cuales han estado a mi lado durante estos años ayudándome y dándome apoyo constante, no ha sido un camino fácil.

En primer lugar, al Dr. Daniel Fuster, mi director de tesis, por confiar en mí des del primer momento, por darme soporte y acompañarme siempre en este largo camino a pesar de los obstáculos que han ido apareciendo durante el proceso. Y también por enseñarme todo su conocimiento en la materia y contribuir de una forma muy directa en mi formación como médico desde el inicio de la residencia hasta ahora tanto en el ámbito clínico, como en el ámbito investigador, como en el ámbito personal.

En segundo lugar, a todo el equipo de investigación de la Unidad de Adicciones de nuestro centro el Hospital Universitario Germans Trias i Pujol liderada por el Dr. Muga a su vez tutor de mi tesis doctoral, que conforman un gran grupo de trabajo tanto a nivel profesional como humano; y también a la Unidad de Adicciones del Hospital Universitario de Bellvitge liderada por el Dr. Ferran Bolao que gracias a su colaboración altruista se han podido realizar algunos de los trabajos expuestos en esta tesis doctoral.

Agradecer también a los pacientes por colaborar y participar al desarrollo de la investigación, la ciencia, y ayudar a poder llevar a cabo proyectos de futuro que puedan permitir una mejoría en la calidad asistencial y de atención de nuestros pacientes.

Y por último y no menos importante, a mi mujer Sara, por siempre ser mi soporte en todo este camino, estar siempre a mi lado en los buenos y los malos momentos siempre animándome, sacándome fuerzas y tiempo de donde no había. A mis hijas que ambas han nacido durante el desarrollo de este trabajo de la tesis doctoral, Eva e Ivette quienes sin duda han dado más felicidad y alegría a nuestras vidas. También a mis padres quienes desde que tengo uso de razón han estado apoyándome y con la mano tendida para cualquier ayuda que haya necesitado y siempre me han motivado a seguir trabajando sin perder la ilusión por mi profesión y a seguir dedicándome y esforzándome en mi camino.

“Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado, un esfuerzo total es una victoria completa” - Mahatma Gandhi

AGRADECIMIENTOS

ABREVIATURAS:

ADH: Alcohol deshidrogenasa

ALT: Alanina aminotransferasa

ARBI: *Alcohol-related brain injury*

ARLD: Alcohol-related liver disease

AST: Aspartato aminotransferasa

AUDIT: Alcohol Use Disorders Identification Test

AVAD: Años de vida ajustados por discapacidad

CAS: Centros de Atención y Seguimiento

CCL2: Citoquinas pro-inflamatorias como el ligando 2 de la quimiocina CC

CD: Células de diferenciación

CIRS-SA: *Cumulative Illness Rating Scale- Substance Abuse*

DAMPs: Patrones moleculares asociados al daño

DE: Desviación estándard

DSM: Manual Diagnóstico y Estadístico de los trastornos mentales

EHA: Enfermedad hepática asociada al consumo de alcohol

FA: Fosfatasa alcalina

GGT: Gamma-glutamil transferasa

G: Gramos

HDL: *High-density lipoprotein*

HR: Hazard ratio

HTA: Hipertensión arterial

IC: Intervalo de confianza

IL: Interleuquina

IMC: Índice masa corporal

LDL: *Low-density lipoprotein*

LBP: Proteína de unión al lipopolisacárido

LFABP: Proteína transportadora de ácidos grasos del hígado

LOEs: Lesiones ocupantes de espacio

LPS: Lipopolisacárido

MCP-1: Proteína quimiotáctica monocitaria 1

NAD: Nicotinamida adenina dinucleótido

NF-κB: Factor nuclear κB

NLR: NOD like receptor

OR: Odds ratio

O₂: Oxígeno molecular

PAMPs: Patrones moleculares asociados a patógenos

PCR: Proteína C reactiva

RIC: Rango intercuartílico

RNA: Ácido ribonucleico

ROS: Especies reactivas de oxígeno

SCD: Receptor soluble de las células de diferenciación

SNC: Sistema nervioso central

SNP: Sistema nervioso periférico

TGF-β: Factor de crecimiento transformante beta

TLR: *Toll-like receptors*

TNF: Factor de necrosis tumoral

TUA: Trastorno por uso de alcohol

UBE: Unidad de Bebida Estándar

VCM: Volumen corporcular medio

VHC: Virus de la hepatitis C

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana

VSG: Velocidad de sedimentación globular

ÍNDICE TESIS DOCTORAL

RESUMEN	9
SUMMARY	13
1. INTRODUCCIÓN	17
1.1. Situación actual consumo de alcohol	19
1.1.1. Trastorno por uso de alcohol	20
1.2. Complicaciones asociadas al consumo de alcohol	21
1.2.1. Daño hepático	24
1.2.2. Inflamación sistémica y activación monocitaria	26
1.2.3. Permeabilidad intestinal y translocación bacteriana	28
1.2.4. Enfermedad cardiovascular	30
1.3. Unidad de desintoxicación Hospital Germans Trias i Pujol	32
1.3.1. Detección de comorbilidades	35
1.3.1.1. Alteraciones ecográficas	35
1.3.1.2. Inflamación sistémica	37
2. HIPÓTESIS	39
2.1. Justificación de los estudios	41
3. OBJETIVOS	43
3.1. Objetivo principal	43
3.2. Objetivos secundarios	43
4. MATERIAL Y MÉTODOS	47
4.1. Fuentes de datos y selección de pacientes	49
4.2. Variables estudiadas	49
4.2.1. Variables sociodemográficas y de consumo de alcohol	49
4.2.2. Variables analíticas	49
4.2.3. Índice FIB-4	51
4.3. Diseño de los estudios	51
4.3.1. Análisis estadístico	51
4.3.1.1. Análisis estadístico estudio 1	52
4.3.1.2. Análisis estadístico estudio 2	52
4.3.1.3. Análisis estadístico estudio 3	52
4.3.1.4. Análisis estadístico estudio 4	53
4.4. Consideraciones éticas	53
5. RESULTADOS	55
5.1. Características basales	57
5.1.1. Características sociodemográficas y de consumo de alcohol y otras sustancias	57
5.1.1.1. Estudio 1	57
5.1.1.2. Estudio 2	58
5.1.1.3. Estudio 3	58
5.1.1.4. Estudio 4	59
5.1.2. Parámetros analíticos y marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana	59
5.1.2.1. Estudio 1	59

5.1.2.2.	Estudio 2	60
5.1.2.3.	Estudio 3	62
5.1.2.4.	Estudio 4	63
5.1.3.	Comorbilidades	64
5.1.3.1.	Estudio 4	64
5.2.	Asociaciones	65
5.2.1.	Estudio 1.	65
5.2.2.	Estudio 2.	69
5.2.3.	Estudio 3.	70
5.2.4.	Estudio 4.	72
6. DISCUSIÓN		75
6.1.	Marcadores de inflamación sistémica y activación monocitaria en el TUA	77
6.2.	Marcadores de inflamación activación monocitaria en pacientes con TUA y consumo de cannabis	79
6.3.	Marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana en pacientes con TUA y su asociación con la fibrosis hepática	81
6.4.	Trastorno por uso de alcohol en mujeres y relación de factores de riesgo cardiovascular con marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana	83
6.5.	Fortalezas y limitaciones	85
7. CONCLUSIONES		87
8. LÍNEAS DE FUTURO		91
9. BIBLIOGRAFÍA		95
10. ANEXOS		107
10.1.	Publicaciones	109
10.1.1.	Estudio 1	109
10.1.2.	Estudio 2	116
10.1.3.	Estudio 3	121

RESUMEN

RESUMEN

El consumo de alcohol es muy prevalente en nuestro medio y se asocia con daños en un gran número de órganos favoreciendo el desarrollo de enfermedades como la enfermedad hepática asociada al consumo de alcohol (EHA), la enfermedad cardiovascular, o el cáncer. El consumo excesivo de alcohol se relaciona también con alteraciones analíticas sugestivas de daño hepático. En la patogenia de la EHA, la inflamación sistémica, activación monocitaria, permeabilidad intestinal y translocación bacteriana son relevantes. Se desconoce si estos fenómenos ya están presentes en pacientes con formas menos avanzadas de la enfermedad.

El objetivo de esta tesis doctoral es analizar los valores de marcadores de inflamación sistémica, de activación monocitaria y de translocación bacteriana en pacientes con trastorno por uso de alcohol (TUA), así como su asociación con otros parámetros clínicos y analíticos, con el consumo concomitante de cocaína y/o cannabis, con la presencia de fibrosis hepática estimada por FIB-4, con el sexo o la presencia de factores de riesgo cardiovascular. Para este propósito, los estudios realizados han sido en pacientes con TUA ingresados para desintoxicación en dos Unidades de Adicciones de dos hospitales distintas del área metropolitana de Barcelona, el Hospital Universitario Germans Trias i Pujol de Badalona y el Hospital Universitario de Bellvitge de l'Hospitalet de Llobregat.

Los pacientes con TUA ingresados para desintoxicación presentan niveles más elevados de marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana. El consumo de cannabis en estos pacientes se asocia a niveles más elevados de sCD163, un marcador de activación monocitaria. Parámetros analíticos como los niveles elevados de glucosa, aspartato aminotransferasa (AST), volumen corporcular medio (VCM), proteína C reactiva (PCR) o los niveles bajos de hemoglobina también se asocian con valores más elevados de marcadores de inflamación sistémica como la IL-6 y de activación monocitaria como el sCD14 o el CD163. La presencia fibrosis hepática avanzada medida con el índice FIB-4 se asocia a valores elevados de estos marcadores de inflamación sistémica y de activación monocitaria, así como a valores más elevados de proteína de unión al lipopolisacárido (LBP) y a valores menores de lipopolisacárido (LPS). La presencia de diabetes mellitus tipo 2 o de antecedente de enfermedad cardiovascular en pacientes con TUA se asocia con una media de sCD163 más elevada, además los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 insulínizados presentan una media tanto de IL-6 como de IL-10 más elevada. Las mujeres presentan un consumo medio diario menor y una media menor de años de duración del TUA cuando ingresan para desintoxicación. Las mujeres presentaban una menor prevalencia de diabetes y de evento cardiovascular previo, así como una media menor de valores de sCD163 e IL-10 en plasma.

Los hallazgos estudiados han sido publicados en distintas revistas científicas como "Drug Alcohol and Dependence", "Journal Clinical Medicine" o "Alcoholism: Clinical and Experimental Research" y el último fue parcialmente presentado como póster en el College on problems of drug dependence (CPDD) Annual meeting en Minneapolis en el año 2022.

SUMMARY

SUMMARY

Alcohol consumption is highly prevalent in our environment and is associated with damage to a large number of organs, promoting the development of diseases such as alcohol-related liver disease (ARLD), cardiovascular disease, and cancer. Excessive alcohol consumption is also associated with laboratory abnormalities suggestive of liver damage. Systemic inflammation, intestinal permeability, bacterial translocation, and monocyte activation are relevant factors in the pathogenesis of ARLD. It is unknown whether these phenomena are already present in patients with less advanced forms of the disease.

The aim of this doctoral thesis is to analyze the values of systemic inflammation markers, monocyte activation and bacterial translocation in patients with alcohol use disorder (AUD), as well as their association with other clinical and analytical parameters, with concomitant use of cocaine and/or cannabis, with the presence of liver fibrosis estimated by FIB-4, with sex or the presence of cardiovascular risk factors. For this purpose, the studies carried out included patients with AUD admitted for detoxification in two Addiction Units of two different hospitals in the metropolitan area of Barcelona, Hospital Universitario Germans Trias i Pujol de Badalona and Hospital Universitario de Bellvitge de l'Hospitalet de Llobregat.

Patients with AUD admitted for detoxification have higher levels of markers of systemic inflammation, monocyte activation, and bacterial translocation. Cannabis use in these patients is associated with higher levels of sCD163, a marker of monocyte activation. Laboratory parameters such as elevated glucose, aspartate aminotransferase (AST), mean corpuscular volume (MCV), C-reactive protein (CRP), and low hemoglobin levels are also associated with higher levels of systemic inflammation markers such as IL-6 and monocyte activation markers such as sCD14 and CD163. The presence of advanced liver fibrosis, measured with the FIB-4 index, is associated with elevated levels of these systemic inflammation and monocyte activation markers, as well as with higher levels of lipopolysaccharide-binding protein (LBP) and lower levels of lipopolysaccharide (LPS). The presence of type 2 diabetes mellitus or a history of cardiovascular disease in patients with AUD was associated with higher mean sCD163 levels, furthermore, patients with type 2 diabetes mellitus who were treated with insulin had higher mean levels of both IL-6 and IL-10. Women had lower mean daily consumption and a shorter mean duration of AUD when they were admitted for detoxification. Women had a lower prevalence of diabetes and previous cardiovascular event, as well as lower mean plasma sCD163 and IL-10 levels.

The findings studied have been published in various scientific journals, including "Drug Alcohol and Dependence", "Journal of Clinical Medicine", and "Alcoholism: Clinical and Experimental Research", the last one was partially presented as a poster at the College on Problems of Drug Dependence (CPDD) Annual Meeting in Minneapolis in 2022.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 SITUACIÓN ACTUAL DEL CONSUMO DE ALCOHOL

El consumo alcohol está ampliamente extendido en nuestra sociedad, y se calcula que aproximadamente 2300 millones de personas consumen bebidas alcohólicas en el mundo (1).

En España es la droga legal más consumida con tasas superiores a las del tabaco y a los hipnosedantes. Se estima que aproximadamente el 76% de las personas entre 15 y 64 años han consumido alcohol en los últimos 12 meses, un 64% en los últimos 30 días y el 9% diariamente en los últimos 30 días, siendo el consumo mayor en varones que en mujeres y siendo la cerveza la bebida alcohólica más consumida, seguida del vino y los combinados (2) (Figura 1).



FUENTE: OEDA. Encuesta sobre Alcohol y Drogas en España (EDADES).

Figura 1. Evolución prevalencia consumo alcohol entre población 15-64 años. Fuente: *Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones. Informe 2023. Alcohol, tabaco y drogas ilegales en España*. Madrid: Ministerio de Sanidad. Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas; 2023. 270 p.

El consumo de alcohol es el séptimo factor de riesgo de mortalidad superando a causas de muerte como la tuberculosis, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y la diabetes (1). En 2016, se calculó a nivel mundial que 2,8 millones de muertes fueron atribuibles al consumo de alcohol y se ha demostrado claramente también su contribución a la discapacidad y a los problemas de salud, siendo la carga de enfermedad especialmente relevante en la población entre 15 y 49 años (3).

En España, el consumo de alcohol es el 4º factor de riesgo de pérdida de salud (Años de Vida Ajustados por Discapacidad-AVAD) siendo el 2º en mujeres y el 5º en hombres (3). Además, el consumo de alcohol se considera un factor de riesgo para la aparición de más de 200 enfermedades siendo la enfermedad hepática, el cáncer y la enfermedad cardiovascular las más prevalentes (4).

Los costes asociados a su consumo representan más del 1% del producto interior bruto (PIB) de países con ingresos en grado alto-medio teniendo en cuenta que los gastos sociales son a menudo más elevados que los gastos sanitarios (5).

Existen distintos patrones de consumo de alcohol que van desde la abstinencia, el consumo ocasional, el consumo de riesgo, hasta el trastorno por uso de alcohol (TUA), siendo ésta última la forma más extrema del consumo perjudicial de alcohol. Para poder evaluar de una manera precoz el consumo de riesgo de alcohol se desarrolló el AUDIT (*Alcohol Use Disorders Identification Test*), un cuestionario simple de 10 preguntas cuyo objetivo es detectar problemas relacionados con el consumo de alcohol. Una cifra superior a 8 es indicativo de un consumo de alcohol de riesgo (2).

Además, existe otro patrón de consumo llamado “*binge drinking*” o consumo de alcohol en atracción que consiste en el consumo de 5 unidades de bebida estándar, que equivalen a 10 gramos de alcohol puro en el caso del hombre) o 4 o más unidades de bebida estándar en el caso de las mujeres en un intervalo de tiempo menor de dos horas (2). Este patrón de consumo es el que lleva a la intoxicación, siendo el patrón más frecuente en varones y en edades inferiores a los 45 años (2).

1.1.1 TRASTORNO POR USO DE ALCOHOL

El trastorno por uso de alcohol (TUA) es la forma más extrema del consumo perjudicial de alcohol, y se caracteriza por la pérdida de capacidad para controlar su consumo y su uso, la priorización creciente de su uso que conlleva consecuencias en aspectos de la vida cotidiana el ámbito social, laboral y psicológico, tal y como se describe en la última versión del Manual Diagnóstico y Estadístico de los trastornos mentales (DSM-5) (1,6) (Tabla 1). Existen distintos factores como el entorno, la situación socio-económica y factores genéticos que influyen en su desarrollo.

Tabla 1. Criterios diagnósticos TUA: DSM-5

Criterios diagnósticos Trastorno por Uso de Alcohol (TUA) (*)
1- Se consume alcohol con frecuencia en cantidades superiores o durante un tiempo más prolongado de lo previsto
2- Existe un deseo persistente o esfuerzos fracasados de abandonar o controlar el consumo de alcohol
3- Se invierte mucho tiempo en las actividades necesarias para conseguir alcohol, consumirlo o recuperarse de sus efectos
4- Ansias o un poderoso deseo o necesidad de consumir alcohol
5- Consumo recurrente de alcohol que lleva al incumplimiento de los deberes fundamentales en el trabajo, la escuela o el hogar
6- Consumo continuado de alcohol a pesar de sufrir problemas sociales o interpersonales persistentes o recurrentes, provocados o exacerbados por los efectos del alcohol

7- El consumo de alcohol provoca el abandono o la reducción de importantes actividades sociales, profesionales o de ocio
8- Consumo recurrente de alcohol en situaciones en las que provoca un riesgo físico
9- Se continua con el consumo de alcohol a pesar de saber que sufre un problema físico o psicológico, persistente o recurrente probablemente causado o exacerbado por el alcohol.
10- Tolerancia definida por algunos de los siguientes hechos: <ul style="list-style-type: none"> a) Una necesidad de consumir cantidades cada vez mayores de alcohol para conseguir la intoxicación o el efecto deseado b) Un efecto notablemente reducido tras el consumo continuado de la misma cantidad de alcohol
11- Abstinencia manifiesta por alguno de los siguientes hechos: <ul style="list-style-type: none"> a) Presencia del síndrome de abstinencia característico del alcohol b) Se consume alcohol (o alguna sustancia muy similar, como una benzodiacepina) para aliviar o evitar los síntomas de abstinencia

*La presencia de al menos dos criterios indica TUA. De 2 a 3 criterios se clasifica como leve, de 4 a 5 como moderado, y 6 criterios o superior se considera un TUA severo

El TUA es el trastorno mental más prevalente de forma global, se estima que aproximadamente 283 millones de personas presentan TUA mayores de 15 años (representa el 5.1% de los adultos) y la prevalencia es más elevada en hombres que en mujeres (8.6% vs 1.7%) (1,6). En Europa la prevalencia es más elevada en comparación con el resto del mundo con aproximadamente 66.2 millones de personas afectadas (1). Si analizamos los datos de España observamos que el 5.2% de la población entre 15 y 64 años presentan un patrón de consumo de alcohol de riesgo con una puntuación en el Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT) >8 (3).

1.2 **COMPLICACIONES ASOCIADAS AL CONSUMO DE ALCOHOL**

El TUA representa un problema de salud pública con una prevalencia en aumento en los últimos años, no solo por su contribución en el incremento de la morbilidad y mortalidad de las personas que lo sufren, sino también en el impacto negativo que genera a nivel económico y social (7).

Las complicaciones relacionadas con el TUA a nivel hepático son bien conocidas en cuanto al riesgo de desarrollo de esteatosis, fibrosis, cirrosis hepática y en último lugar desarrollo de cáncer de hígado o hepatocarcinoma (8), pero no solo aumenta el riesgo de desarrollar enfermedades hepáticas sino que también aumenta el riesgo de desarrollar complicaciones a nivel extrahepático, como es el desarrollo de otro tipo de neoplasias como el cáncer orofaríngeo, esofágico, estomacal, pancreático y cáncer colorrectal entre otros (8).

Las manifestaciones extra-hepáticas que afectan a los distintos órganos pueden ser variables, siendo el tracto gastrointestinal (Figura 2) uno de los más afectados con alteraciones desde la oro-faringe con lesiones en la mucosa o deficiencias nutricionales, malabsorción (asociado a la alteración en el intestino delgado) hasta el intestino grueso

en forma diarrea o aumento de la permeabilidad intestinal, pasando por la afectación gástrica y esofágica con trastornos en la mucosa de ambos órganos (7).

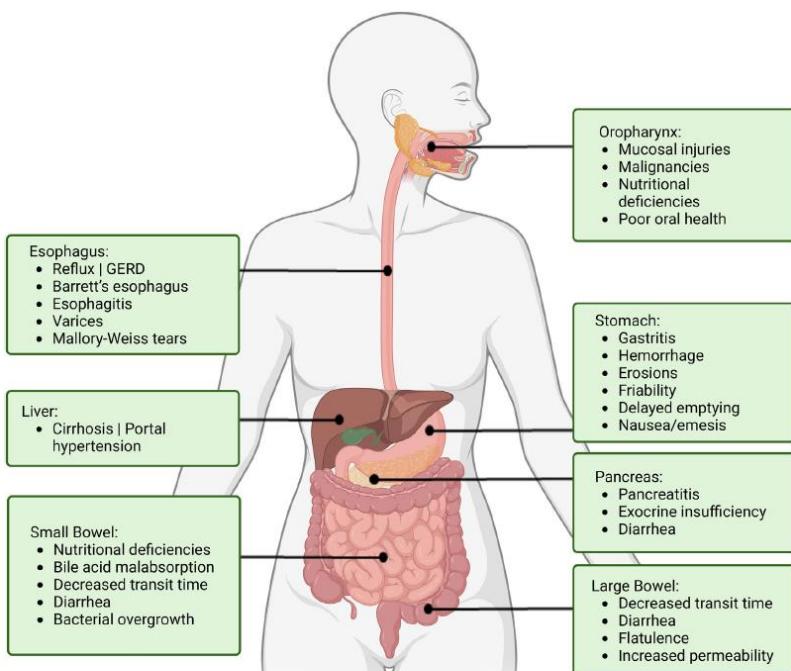


Figura 2. Manifestaciones del TUA gastrointestinal. Fuente: Abbas D, Cricillo JA, Elom HA, Moon AM. Extrahepatic Health Effects of Alcohol Use and Alcohol-associated Liver Disease. *Clin Ther.* 2023 Dec;45(12):1201-1211.

El TUA y el consumo crónico de alcohol además se ha relacionado directamente con una gran variedad de enfermedades cardiovasculares como la hipertensión, la miocardiopatía asociada al consumo de alcohol, las arritmias cardíacas como la fibrilación auricular o los accidentes vasculares cerebrales (9,10,11).

Las complicaciones neurológicas derivadas del consumo de alcohol son muy variables en función del patrón de consumo (agudo o crónico) y la afectación del sistema nervioso central (SNC) y/o del sistema nervioso periférico (SNP) pudiendo dar lugar a enfermedades como el síndrome de Wernicke-Korsakoff, la demencia alcohólica (caracterizada por la dificultad para la resolución de problemas, alteración de la memoria anterógrada y capacidad de nuevo aprendizaje) y la neuropatía periférica entre otras, siendo algunas de ellas de carácter irreversible (7).

El daño cerebral asociado al alcohol [*Alcohol-related brain injury (ARBI)*] es un término que engloba diferentes complicaciones neurodegenerativas causadas por el TUA, siendo una consecuencia poco reconocida, sin unos claros criterios diagnósticos estandarizados por lo que es difícil saber cuántos pacientes con TUA lo padecen (12).

Las características del ARBI incluyen cambios en la función ejecutiva y en el comportamiento que a menudo requieren ingresos hospitalarios y generan una situación de estrés en el paciente y su entorno (13,14). La falta de reconocimiento de ARBI puede derivar a que el paciente sea etiquetado de “problemático” debido a su capacidad disminuida para comprender, recordar y por tanto cumplir los consejos y tratamientos clínicos (12).

Las alteraciones hematológicas como la anemia megaloblástica por déficit de vitamina B12 o de ácido fólico, la alteración del metabolismo óseo con una disminución de la densidad de masa ósea, un aumento de la grasa en la médula ósea y una menor proliferación de los osteoblastos, los trastornos endocrinológicos o los déficits carenciales nutricionales producidas por el TUA también pueden favorecer la aparición de enfermedades crónicas (7).

Como se observa en la figura 3 no solo el consumo de alcohol crónico puede favorecer a la aparición de complicaciones hepáticas y extrahepáticas, también el consumo agudo puede provocar aparición de síntomas variables sobretodo, neurológicos.

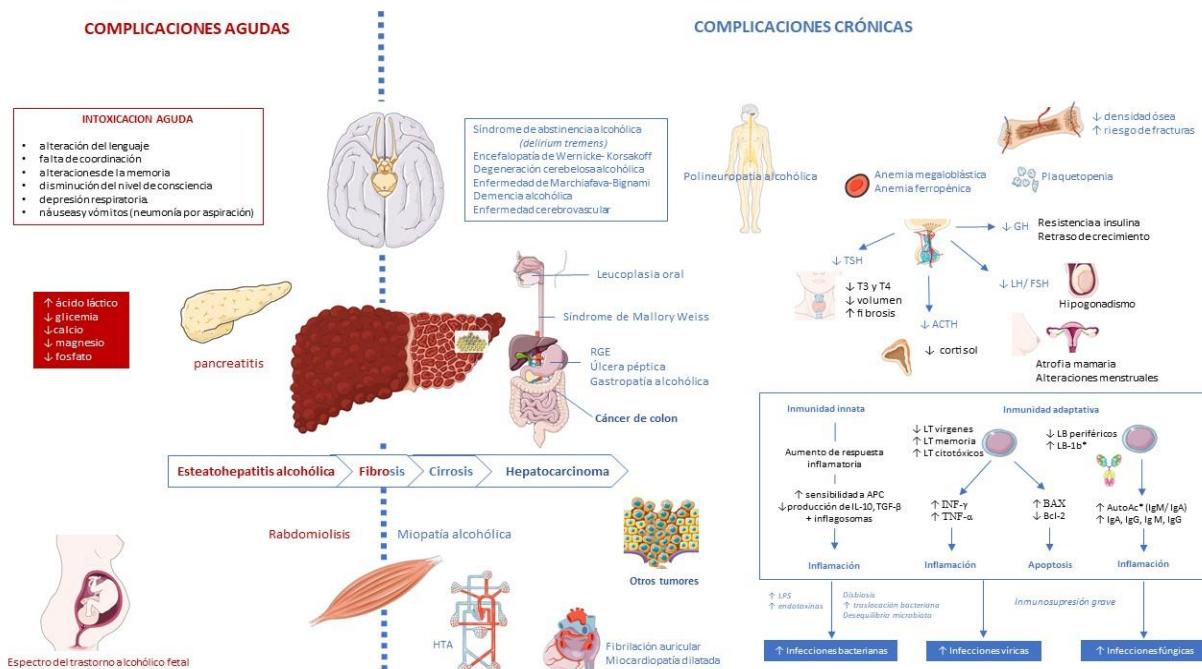


Figura 3. Complicaciones médicas derivadas del consumo excesivo de alcohol. Fuente: Fuster D, Zuluaga P, Muga R. Complicaciones médicas del consumo excesivo de alcohol. Drogodependencias. Capítulo 11. Editorial Médica Panamericana. 2023. P. 140-140.

Un aspecto importante sobre el impacto del consumo de alcohol crónico, es su afectación al sistema inmunitario. Éste se clasifica de forma habitual en la inmunidad adaptativa y la inmunidad innata, y el TUA tiene influencia sobre ambas (15). Por ejemplo, el efecto del etanol sobre la inmunidad adaptativa incrementa el número de linfocitos B y T en el consumo moderado mientras que en el consumo de alcohol perjudicial y en el TUA hay una disminución del recuento celular tanto linfocitos B y de Linfocitos T (tanto CD4 como CD8) y un aumento de los linfocitos T de memoria que aumentan la incidencia de enfermedades asociadas a la inflamación sistémica como la enfermedad cardiovascular o el cáncer (16). En la inmunidad innata el alcohol modifica la función de los monocitos y estos expresan Toll-like receptors (TLR) que a su vez reconoce una endotoxina llamada lipopolisacárido (LPS) derivada de la pared de las bacterias Gram-negativas, lo que provoca la activación de los monocitos, su maduración hacia macrófagos y en último término la secreción de diferentes citoquinas y quimioquinas (16).

Los mecanismos fisiopatológicos implicados en las complicaciones derivadas del consumo de alcohol son muy variables y algunos de ellos son desconocidos. Entre los mecanismos implicados conocidos en la lesión de órganos diana, destacan sobre todo

el daño hepático, la inflamación sistémica, la activación monocitaria, la permeabilidad intestinal y la translocación bacteriana. Uno de los principales mecanismos potenciales es la metabolización del alcohol en acetaldehído, generando especies reactivas de oxígeno (ROS), y el daño en el ácido desoxirribonucleico (DNA) (17).

1.2.1 DAÑO HEPÁTICO

El consumo de alcohol crónico produce una alteración en la función hepática y puede provocar distintas formas de daños estructurales en el parénquima hepático, lo que se conoce como enfermedad hepática asociada al alcohol. El hígado es el principal órgano donde se metaboliza el alcohol debido a que presenta gran cantidad de enzimas para catalizar las distintas reacciones oxidativas necesarias para poder realizar su metabolización (18).

La absorción del alcohol se produce básicamente en el tracto gastro-intestinal, aunque aproximadamente el 80% del etanol es metabolizado en el hígado, principalmente en los hepatocitos (19).

La enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) es la principal catalizadora en la oxidación del etanol a acetaldehído, un metabolito tóxico, en el citoplasma de los hepatocitos (18,20). En la misma reacción, en la mitocondria se reduce el cofactor nicotinamida adenina dinucleótido oxidado (NAD⁺) formando coenzima NAD recudio (NADH) (Figura 4) que participa como cofactor en la formación de síntesis de ácidos grasos mediante cambios en el metabolismo de los hepatocitos que inducen a la formación de triglicéridos (debido a la esterificación del glicerol). La exposición continua al alcohol y la continua reducción de NAD⁺ a NADH contribuye a cambios en el metabolismo de los hepatocitos, su balonización crónica y el acúmulo de los triglicéridos provocando entre otros fenómenos el desarrollo de esteatosis hepática (20).

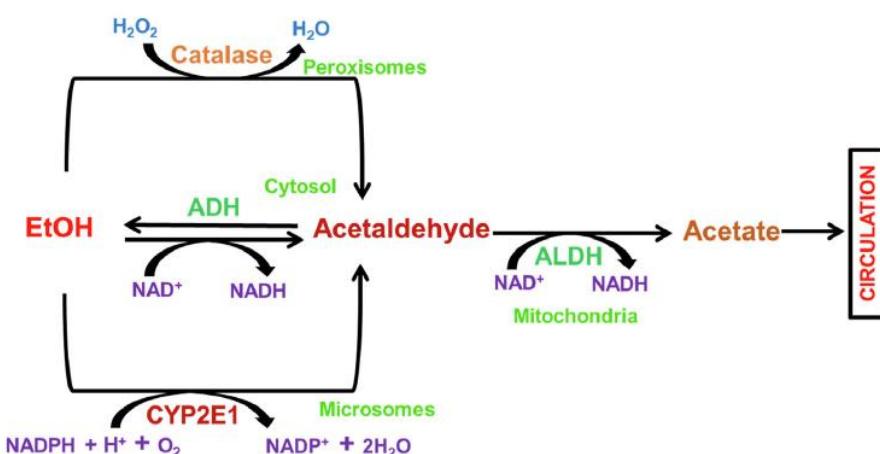


Figura 4. Vías de metabolización del alcohol en el hígado. Fuente: Osna NA, Rasineni K, Ganesan M, Donohue TM Jr, Kharbanda KK. Pathogenesis of Alcohol-Associated Liver Disease. *J Clin Exp Hepatol.* 2022 Nov-Dec;12(6):1492-1513. doi: 10.1016/j.jceh.2022.05.004. Epub 2022 May 31.

Existen otras vías de metabolización del alcohol como la del CYP2E1, enzima del citocromo P450 del hígado, localizado en el retículo endoplasmático. Esta vía de oxidación del alcohol aparece en pacientes con consumo crónico. En esta ocasión se

oxida el etanol, en presencia de oxígeno molecular (O_2), a acetaldehído y convierte el fosfato de NAD reducido (NADPH) a su forma oxidada, generando agua (20). Esta activación y el aumento de CYP2E1 conduce a su vez a mayor formación de ROS, implicadas en el estrés oxidativo (21). Además, todavía existe otra vía de metabolización que reside en los peroxisomas donde hay una desoxidación de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) mediante el enzima catalasa generando acetaldehído y H_2O (20,22).

El acetaldehído durante la catálisis, es a su vez oxidado en la mitocondria mediante la aldehído-deshidrogenasa favoreciendo la formación de acetato que entra en la circulación sanguínea (19,23).

En el tracto gastro-intestinal, aunque la metabolización del alcohol es menor respecto al hígado, también se produce un daño local en la mucosa sobretodo gástrica debido a la toxicidad del acetaldehído (19).

La enfermedad hepática asociada al consumo de alcohol presenta amplio espectro de variantes en cuanto al grado de daño hepático provocado, que incluye: la esteatosis, la esteatohepatitis, la fibrosis, la cirrosis y el hepatocarcinoma (Figura 5), siendo la esteatosis hepática el estadio inicial, que ocurre en la mayoría de pacientes con un consumo elevado de alcohol (20). Cuando la esteatosis progresiona, ésta se debe al desarrollo de fenómenos como la inflamación, el consecuente daño en los hepatocitos con infiltración neutrofílica y el fenómeno llamado balonización (degeneración del hepatocito) (21,24). Ésta progresión hacia esteatohepatitis ocurre en aproximadamente el 20-40% de los pacientes con consumo crónico de alcohol (20,21,25).

Entre un 10-20% los pacientes con esteatosis hepática asociada al consumo de alcohol desarrollan cirrosis hepática en respuesta a una inflamación sistémica mantenida y el estado de la inmunidad innata y adaptativa donde se encuentran implicados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) y patrones moleculares asociados al daño (DAMPs) (20,26).

Existen otros factores modificadores que pueden exacerbar o desacelerar la progresión de la enfermedad hepática asociada al alcohol como la edad, el sexo (el sexo femenino tiene más susceptibilidad), la raza, factores genéticos, el tipo de consumo y el consumo acumulado, así como factores nutricionales, el consumo de otras drogas, la obesidad o la presencia de otras infecciones virales como el virus de la hepatitis C (VHC) o el VIH (20).

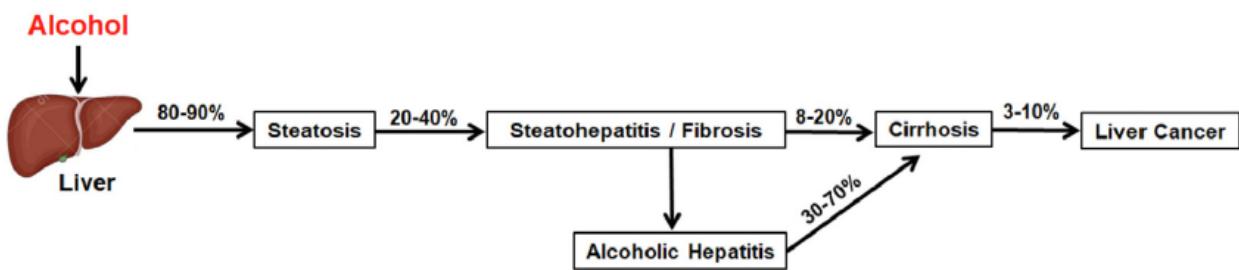


Figura 5. Fases del daño hepático inducido por el alcohol. Fuente: Osna NA, Rasineni K, Ganesan M, Donohue TM Jr, Kharbanda KK. Pathogenesis of Alcohol-Associated Liver Disease. J Clin Exp Hepatol. 2022 Nov-Dec;12 (6):1492-1513.. Epub 2022 May 31.

1.2.2 INFLAMACIÓN SISTÉMICA Y ACTIVACIÓN MONOCITARIA

La inflamación hepática asociada al consumo de alcohol se genera por muchos mecanismos, siendo uno de los más importantes el mediado por PAMPs derivados del intestino, junto con la liberación de citoquinas y quimioquinas de las células de Kupffer y DAMPs liberado por los hepatocitos muertos. Además, un aumento de la respuesta inmune adaptativa inducida por neoantígenos y agregados de proteínas a través de ROS, puede contribuir aún más a la inflamación sistémica hepática (27). (Figura 6)

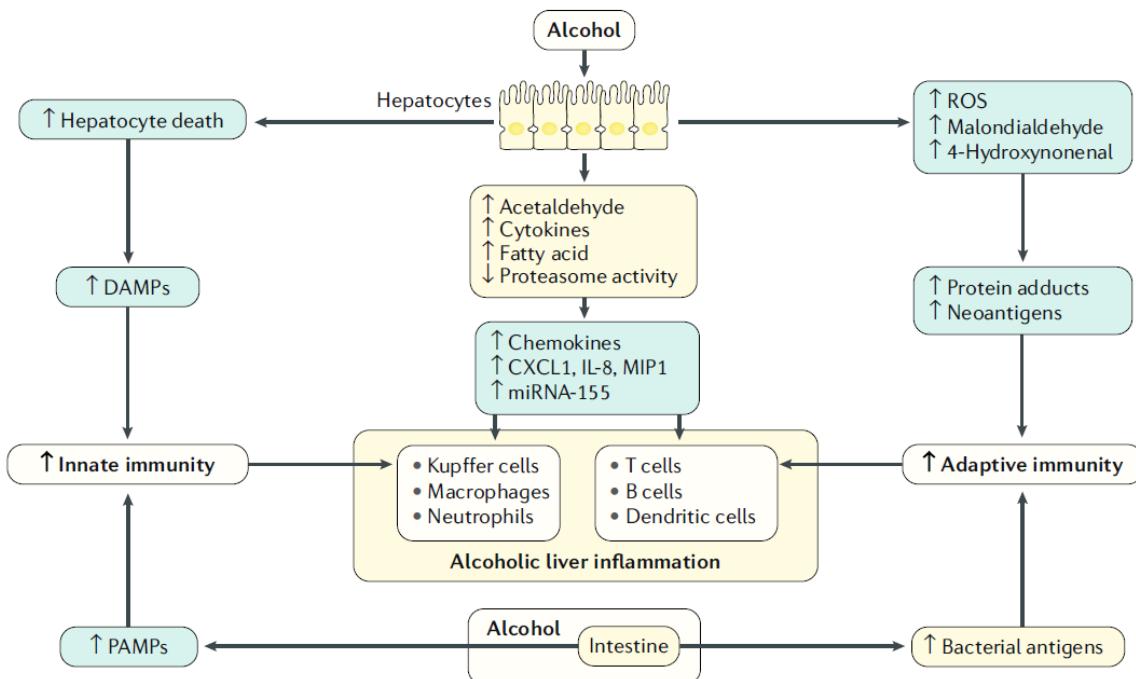


Figura 6. Mecanismos implicados en el hígado graso por consumo de alcohol. Fuente: Seitz HK, Bataller R, Cortez-Pinto H, Gao B, Gual A, Lackner C, Mathurin P, Mueller S, Szabo G, Tsukamoto H. Alcoholic liver disease. *Nat Rev Dis Primers.* 2018 Aug 16;4 (1):16.. Erratum in: *Nat Rev Dis Primers.* 2018 Aug 28;4(1):18.

Los PAMPs derivados de la microbiota intestinal y los DAMPs liberados por células estresadas o dañadas son reconocidos por diferentes receptores Toll-like (TLR) y NOD-like receptor (NLR) que se expresan en las células inmunitarias y en las células parenquimatosas del hígado.

Los TLR activados provocan a su vez la activación de mediadores pro-inflamatorios como las citoquinas, las quimioquinas y moléculas de adhesión mediante transcripción, y éstas posteriormente provocan inflamación en las células hepáticas (28).

Una PAMP derivado del intestino como el lipopolisacárido (LPS) siendo uno de los mayores estimuladores de los TLR, es detectado por el TLR4, lo que provoca la activación del factor nuclear κ B (NF- κ B) y la producción de quimioquinas y citoquinas pro-inflamatorias como el ligando 2 de la quimiocina CC (CCL2) y la interleuquina (IL) 8 reclutando macrófagos y neutrófilos al hígado, respectivamente. Además, la activación de NF- κ B mediada por TLR4 induce la producción y liberación de las citoquinas pro-inflamatorias como el factor de necrosis tumoral (TNF) e IL-6 (citoquina secretada entre otras células por los macrófagos y que aumenta en distintas situaciones como el consumo crónico de alcohol y en pacientes con hepatitis aguda alcohólica) entre otras. (27, 29).

Las citoquinas e interferón-γ (IFN-γ) inician una respuesta pro-inflamatoria en los macrófagos, lo que resulta en la liberación del factor de necrosis tumoral (TNF), IL-1β, IL-6, IL-12 y ROS (30,31). Mediante la liberación de citoquinas y quimioquinas pro-inflamatorias, los macrófagos interactúan con otras células inmunitarias, como los linfocitos T, los linfocitos B, los linfocitos T-citotóxicos y los neutrófilos (32, 33). Por otro lado, la liberación de citoquinas moduladoras como la IL-10, el factor de crecimiento transformante beta (TGF-β), la IL-4 y la IL-13, inducida por señales adaptativas e innatas, es fundamental para atenuar la inflamación y promover la cicatrización (34). Este TGF-β estimula potenteamente la diferenciación de las células estrelladas hepáticas en miofibroblastos (35), responsables de la fibrogénesis durante los episodios de inflamación hepática y éstos experimentan una proliferación persistente que contribuye a la progresión de la enfermedad mediante la síntesis de componentes de la matriz extracelular y la potenciación de la inflamación junto con la liberación de quimioquinas, citoquinas y mediadores de fibrosis (36,37).

Los macrófagos desempeñan un papel crucial tanto en la fibrogénesis hepática como en la resolución de la fibrosis, y varias moléculas liberadas por ellos participan en estos procesos, por lo que las concentraciones plasmáticas de dichas moléculas pueden reflejar el grado de fibrosis en las enfermedades hepáticas. Los receptores scavenger son expresados por los macrófagos como parte de un amplio panel de receptores responsables de la regulación de la endocitosis, la fagocitosis, la adhesión y la señalización siendo algunos de ellos indicadores de la respuesta inflamatoria en las enfermedades hepáticas. (38). Las proteínas más estudiadas son el grupo de células de diferenciación 163 (CD163) y el receptor de manosa (MR/CD206) (Figura 7). El CD163, un receptor scavenger es expresado exclusivamente por monocitos y macrófagos (39,40) ejerciendo su principal función biológica mediante la eliminación de complejos hemoglobina-haptoglobina durante la hemólisis (34). Una forma soluble (sCD163) está presente en el plasma, y la escisión enzimática del receptor CD163 por el sistema TACE/ADAM17 está altamente regulada al alza en respuesta a estímulos inflamatorios, incluyendo la respuesta al LPS (41,42).

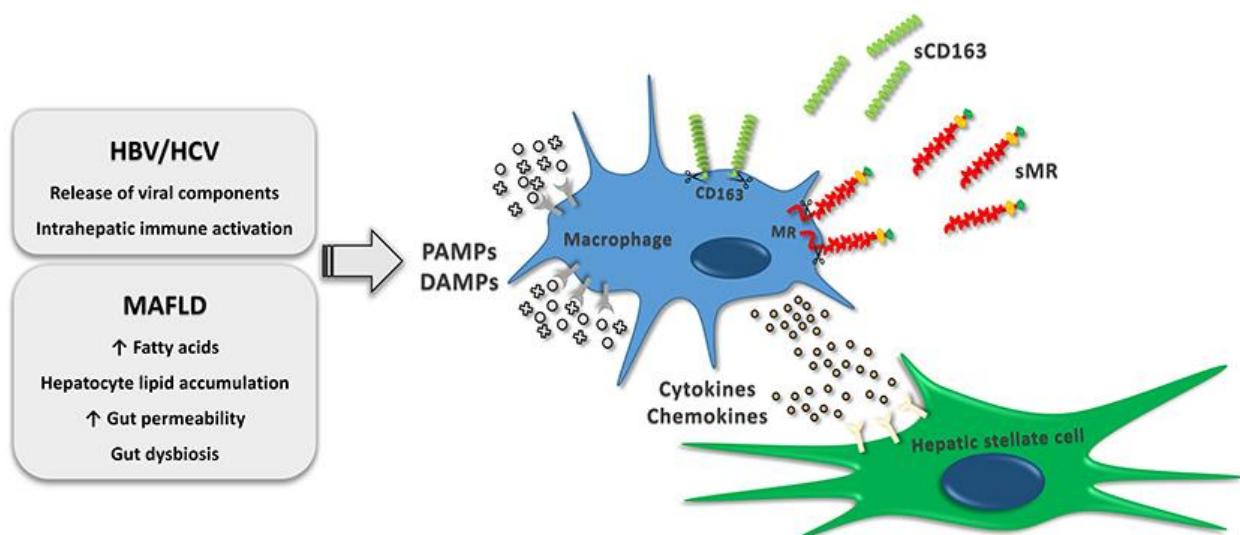


Figura 7. Activación de los macrófagos en respuesta a la immunomodulación. Fuente: Gantzel R. H., Kjaer M. B., Laursen T. L., Kazankov K., George J., Moller H. J., and Grønbæk H., Macrophage activation markers, soluble CD163 and mannose receptor, in liver fibrosis, *Frontiers in Medicine*. (2021)

Existen otras citoquinas pro-inflamatorias como IL-1 β (también inducida por la vía TLR4-NF- κ B y a través del inflamasoma), TNF α , IL-12, IL-18 que a su vez también promueven la inflamación sistémica hepática. Por contra, también se activan otras citoquinas como la IL-10 que promueven la supresión de la inflamación e inducen a la reparación del tejido dañado (28,43).

En pacientes con infección crónica por VIH o VHC este aumento de las citoquinas pro-inflamatorias (incluyendo entre otras IL-6) y el aumento de la activación monocitaria (medida por el receptor soluble del CD14 [sCD14], un marcador de LPS a las respuestas inmunes) se han asociado a peores resultados en relación a la salud, sobretodo en cuanto a un aumento de la morbilidad (44).

En el TUA y la exposición continua al alcohol mantiene de forma permanente todas estas vías de activación y por tanto se perpetua la inflamación sistémica. Además, el TUA se asocia con un desequilibrio la respuesta inmunitaria entre el tipo Th-1 y el tipo Th-2, con mayor activación inmunitaria y mayor inflamación (45,46).

La inflamación sistémica y aumento de la activación monocitaria han sido ampliamente estudiados en modelos animales, también en pacientes con cirrosis hepática asociada al alcohol y otras enfermedades hepáticas, pero no tanto en pacientes con TUA sin evidencia de enfermedad hepática (46,34).

Las elevaciones más significativas de sCD163 plasmático se han observado en procesos de lesión hepática aguda como la hepatitis alcohólica (47), la insuficiencia hepática aguda (48) y la insuficiencia hepática aguda sobre crónica (ACLF de sus siglas en inglés), donde muestra un gran potencial como predictor independiente de mortalidad a corto plazo (49).

1.2.3 PERMEABILIDAD INTESTINAL Y TRANSLOCACIÓN BACTERIANA

La barrera intestinal regula el paso de materiales, nutrientes, microorganismos y otras sustancias del tracto gastrointestinal a la circulación sanguínea y a su vez previene el paso de sustancias tóxicas (50). El epitelio intestinal puede volverse más permeable si se producen cambios en su estructura permitiendo así el paso de patógenos y sustancias deletéreas a la sangre (50).

El consumo alcohol induce cambios en dicha barrera, en concreto en las células epiteliales y en el espacio intercelular que alteran tanto la permeabilidad transepitelial como la permeabilidad paracelular (50) (Figura 8). Los cambios producidos a nivel de la permeabilidad transepitelial son debidos a la muerte celular provocada por el alcohol y a los cambios en la mucosa del intestino como ulceraciones y erosiones (51). En esta muerte celular están implicados los “DNA adducts” derivados del acetaldehído y las ROS que resultan del estrés oxidativo (52). Todos estos cambios dan como resultado el aumento de la permeabilidad intestinal.

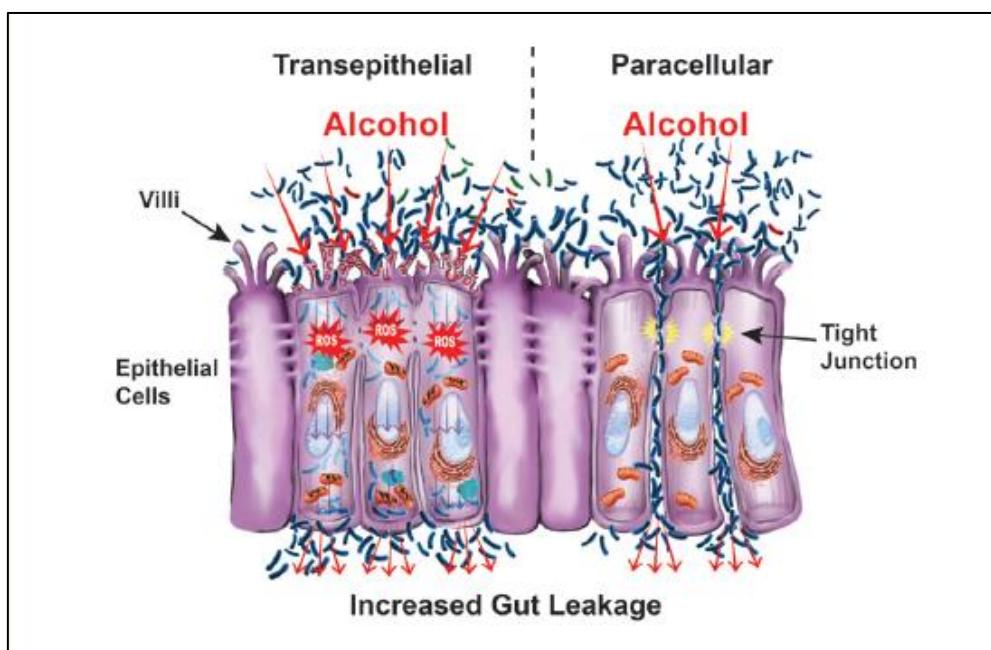


Figura 8. Alteración de la barrera intestinal inducida por el alcohol. Fuente: Bishehsari F, Magno E, Swanson G, Desai V, Voigt RM, Forsyth CB, Keshavarzian A. Alcohol and Gut-Derived Inflammation. *Alcohol Res.* 2017;38(2):163-171

El consumo crónico de alcohol como se ha descrito anteriormente tiene efectos sobre la mucosa intestinal y estos cambios producidos en las células epiteliales producen un aumento de la permeabilidad y a su vez cambios en la microbiota intestinal (disbiosis).

Estos cambios favorecen la translocación del LPS y otras endotoxinas a la circulación sanguínea y éste fenómeno de aumento de LPS en sangre periférica se denomina endotoxemia metabólica (53).

El LPS se une a la proteína de unión al LPS (LBP) y este complejo LBP-LPS es presentado al CD14 en la superficie celular, que se expresa principalmente en los macrófagos, neutrófilos y células dendríticas. Este mecanismo permite activar TLR4 (54).

En las células de Kupffer a través de TLR4, se produce la activación del factor nuclear κB (NF-κB) y como consecuencia la liberación de citoquinas, quimoquinas y ROS (Figura 9) (54,55).

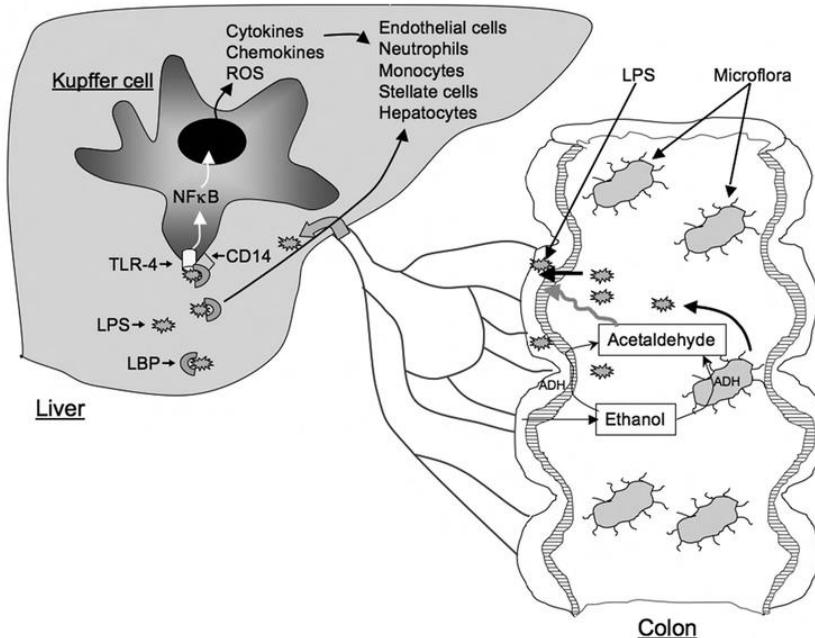


Figura 9. Permeabilidad intestinal y endotoxemia inducida por el alcohol. Fuente: Rao R. Endotoxemia and gut barrier dysfunction in alcoholic liver disease. Hepatology. 2009 Aug;50(2):638-44.

La microbiota intestinal se define como el conjunto de microorganismos (bacterias, virus y otros) presentes en el tracto gastrointestinal (56) y ésta se ve alterada en pacientes con consumo crónico de alcohol con cambios en su composición provocando incremento de algunas especies como los bacilos Gram negativos o los *Lactobacillus* y una disminución de *Bacterioides* o anaerobios (57). Ensayos clínicos como el de K. Litwinowicz y colaboradores donde comparan la composición de la microbiota humana en sujetos sanos y en pacientes con TUA reafirman estos cambios (58).

1.2.4 ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

La relación entre el consumo de alcohol y la enfermedad cardiovascular ha sido objeto de debate a lo largo de los años.

Algunos estudios observacionales mediante afirman de forma repetida que un consumo leve-moderado de alcohol reduce el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular en comparación con la abstinencia o el consumo excesivo (59,60,61). Si bien es cierto, hay que decir que en muchos de estos estudios existen sesgos de selección y no se han tenido en cuenta factores de confusión como el estilo de vida (se ha relacionado que el hecho de consumir 1 ó 2 Unidades de Bebida Estándar (UBEs) al día puede ser un rasgo de personas con hábitos de vida saludable), el estatus socioeconómico, las comorbilidades, los factores genéticos etc..., que no permiten establecer una causalidad directa exclusivamente derivada del consumo de alcohol (62,63).

La enfermedad coronaria, la hipertensión arterial (HTA), el accidente vascular cerebral isquémico, incluso la diabetes mellitus son algunas de las enfermedades cardiovasculares descritas en los estudios que presentan menor riesgo de desarrollo

ante un consumo leve-moderado de alcohol, sobretodo relacionado con el consumo de vino (61,64).

Cuando existe un consumo elevado o perjudicial de alcohol, el riesgo de desarrollo de distintas enfermedades cardiovasculares (hipertensión arterial, cardiopatía isquémica, vasculopatía periférica, enfermedad cerebrovascular, diabetes mellitus etc...) y la mortalidad asociada a las mismas está claramente aumentada como se ha descrito en múltiples estudios observacionales y ensayos clínicos (59,64).

Los mecanismos moleculares y posibles mediadores responsables del daño tisular en las arterias son distintos. La producción de mediadores inflamatorios y antioxidantes derivados de la metabolización del etanol por sus distintas vías como se han descrito anteriormente generan ROS, que a su vez oxidan DNA celular, ácido ribonucleico (RNA) y proteínas iniciando una peroxidación de la membrana lipídica que induce la producción de mediadores inflamatorios causando estrés oxidativo a nivel celular (65). ROS y especies nitrogenadas, así como las citoquinas y quimioquinas inflamatorias como el TNF α o la proteína quimiotáctica monocitaria 1 (MCP-1) pueden ser uno de los factores contribuyentes del deterioro de la homeostasis de las células endoteliales de la pared de los vasos sanguíneos y el tono vascular lo que provocaría a largo plazo la hipertensión inducida por alcohol (65,66). Además, un desbalance entre vasoconstrictores endógenos como la angiotensina II que a su vez estimula la superóxido dismutasa a través de la activación de NADPH pueden contribuir también al daño tisular/vascular inducido por alcohol, como se ha demostrado en modelos con ratas (65,67,68).

Además de estos mecanismos anteriormente descritos, los efectos del alcohol sobre el sistema nervioso autónomo, el eje renina-angiotensina, el aumento de la sensibilidad de los barorreceptores y el aumento de influjo de calcio en las células de músculo liso, provocan un aumento de las resistencias vasculares lo que conlleva a desarrollo de hipertensión (69).

El consumo elevado de alcohol se asocia a un aumento de los niveles plasmáticos de colesterol HDL (*high-density lipoprotein*) (HDL-c) y triglicéridos y disminución de los niveles de LDL (*low-density lipoprotein*) colesterol (LDL-c) (70,71). Existen múltiples hipótesis en relación a la disminución del LDLc asociada al consumo de alcohol. Se ha sugerido que el alcohol puede estimular la síntesis de los receptores de LDL y por tanto su disminución de la concentración plasmática (72). El consumo de alcohol aumenta el aclaramiento fraccional de partículas de LDL, producidos por sus metabolitos como el acetaldehído que reduce la unión de LDL a su receptor específico y estas LDL modificadas son eliminadas de la circulación (72,73).

La arterioesclerosis es otro de los mecanismos que se ha relacionado con el aumento del riesgo cardiovascular (74). El daño en el endotelio y la respuesta inflamatoria endotelial incluye la coordinación entre el sistema inmunitario a través de la inmunidad innata (con los macrófagos) y la inmunidad adaptativa (linfocitos B y T y las células dendríticas) siendo ambos sistemas capaces de generar sustancias inflamatorias como por ejemplo el TNF α (implicado en el desarrollo de la progresión de arterioesclerosis); interleucinas como la IL-6 o la IL-12 y también sustancias antiinflamatorias como la IL-

10. Este balance entre sustancias inflamatorias y antiinflamatorias determinan la progresión de la arterioesclerosis (74) (Figura 10).

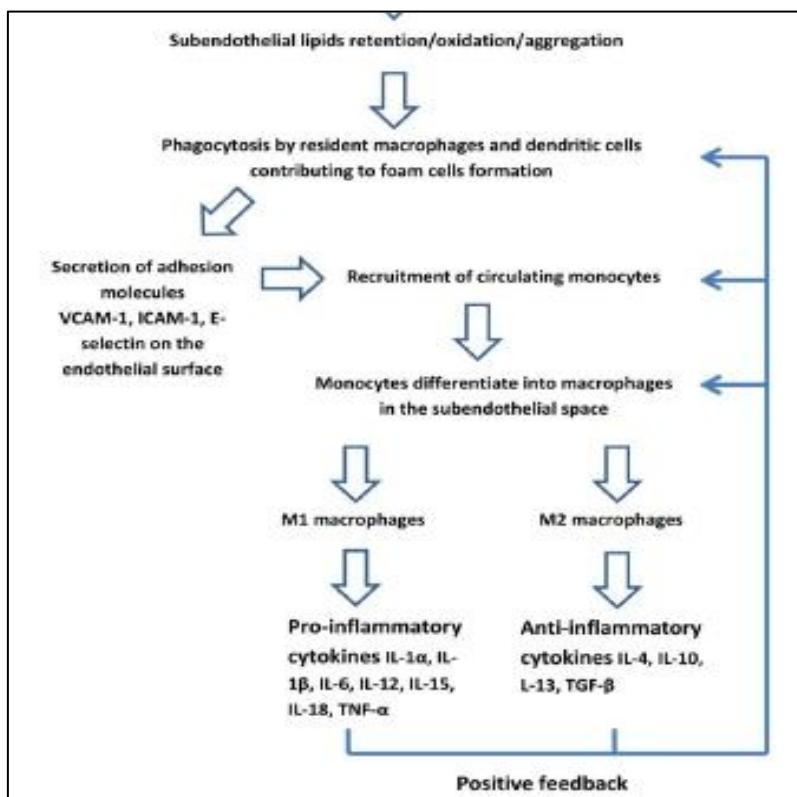


Figura 10. Fase temprana de lesiones arterioescleróticas. Fuente: Henein MY, Vancheri S, Longo G, Vancheri F. The Role of Inflammation in Cardiovascular Disease. *Int J Mol Sci.* 2022 Oct 26;23(21):12906

1.3 UNIDAD DE DESINTOXICACIÓN HOSPITAL GERMANS TRIAS I PUJOL

La Unidad de Desintoxicación del Hospital Germans Trias i Pujol se creó en el año 1986. Se trata de una unidad integrada dentro del Servicio de Medicina Interna donde la gestión de los pacientes que ingresan es exclusivamente realizada por médicos especialistas en Medicina Interna.

Los pacientes seleccionados para ingreso hospitalario para desintoxicación tanto de alcohol como otras drogas (cocaína, opioides, cannabis...) provienen de distintos puntos de atención sanitaria del área Metropolitana-Nord, des de atención primaria, consultas externas de la Unidad de Adicciones o centros para el trastorno por uso de sustancias (Centros de Atención y Seguimiento [CAS]).

Todos los ingresos se realizan de forma programada. Los pacientes con descompensación aguda de alguna de sus enfermedades previas (si las tienen), relacionadas o no con el consumo de alcohol u otras drogas son excluidos del ingreso hospitalario en la Unidad de Desintoxicación.

Previo al ingreso hospitalario se les realiza a todos los pacientes una entrevista detallada conjunta entre un/a doctor/a de la Unidad de Desintoxicación y un/a enfermero/a especializado/a en adicciones. En dicha entrevista se recogen datos epidemiológicos, sobre el entorno social, datos sobre el consumo de drogas y en especial sobre aquella droga causante de la necesidad del ingreso hospitalario, datos sobre sus comorbilidades previa al ingreso y se explica en qué consistirá el ingreso y las normas a seguir durante el proceso de hospitalización.

Durante el ingreso, se les realiza a todos los pacientes una historia clínica completa, una exploración física y una analítica completa donde se evalúan distintos parámetros analíticos como se describirán más adelante.

El objetivo principal del ingreso en la Unidad de Desintoxicación consiste en un primer abordaje integral del trastorno por el uso de la sustancia consumida, planificando el inicio de su deshabituación en aquellos casos que no la habían iniciado o continuando de forma más intensa en aquellos casos donde había fracasado el tratamiento ambulatorio.

Las unidades de desintoxicación pueden tener un papel muy importante en los pacientes con TUA porque además de tener un riesgo aumentado de desarrollo de comorbilidades tal y como se ha detallado anteriormente, también en algunos estudios observacionales se ha evidenciado que aquellos pacientes con TUA grave no tratado tienen mayores tasas de mortalidad comparado con la población general (75).

Inmaculada Rivas y colaboradores publicaron un estudio en 2011 (76) donde se incluyeron un total de 686 pacientes con una edad media de 43.8 años que ingresaron en la Unidad de Desintoxicación del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol y en la Unidad de Desintoxicación del Hospital Universitari de Bellvitge a los que se les realizó un seguimiento durante 3.1 años de mediana. Se observó un total de 78 defunciones lo que supone una tasa de mortalidad de 3.28 por cada 100 pacientes/año, casi 20 veces mayor que la tasa de mortalidad ajustada por edad en la población general. Las estimaciones de supervivencia para aquellos pacientes que presentaban mayor comorbilidad médica calculada a través del “*Cumulative Illness Rating Scale- Substance Abuse*” (CIRS-SA) y éste era superior a 2 fueron significativamente menores que las observadas para pacientes con comorbilidad leve o moderada (Figura 11). Las principales causas de mortalidad fueron relacionadas con la enfermedad hepática (29%), enfermedad neoplásica (18.7%) y enfermedad cardiovascular (16%).

MORBIDITY AND MORTALITY OF ALCOHOLISM

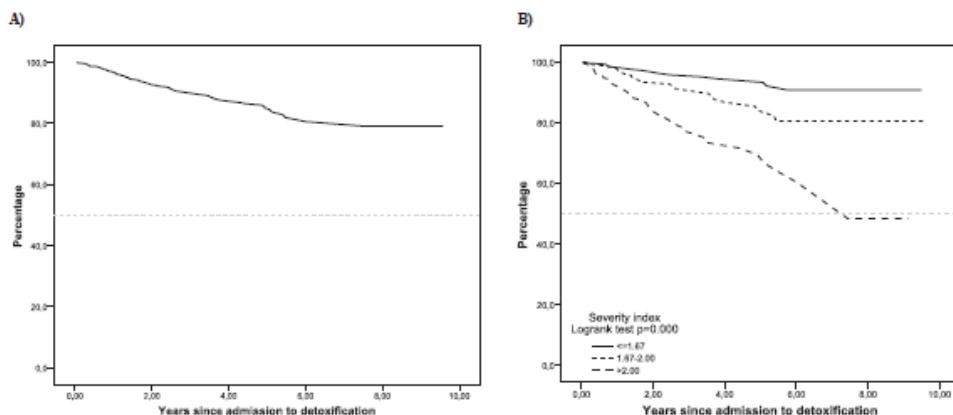


Figura 11. Rivas I, Sanvisens A, Bolao F, Fuster D, Tor J, Pujol R, Torrens M, Rey-Joly C, Muga R. Impact of medical comorbidity and risk of death in 680 patients with alcohol use disorders. *Alcohol Clin Exp Res*. 2013 Jan

A lo largo de los últimos 40 años el perfil y las características basales de los pacientes y la sustancia principal consumida han cambiado de forma sustancial como se puede observar en los datos extraídos del estudio en 3 unidades de desintoxicación (Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Hospital Universitari Bellvitge y Hospital del Mar) del área metropolitana de Barcelona de A. Sanvisens et al publicado el año 2014 (77) (Figura 11). En los años 80 y 90 predominaba ampliamente el consumo de heroína por encima de cocaína y del alcohol, siendo ésta última la sustancia menos consumida en los pacientes que ingresaban en la unidad de desintoxicación en esa época. A partir del año 2000, se evidencia una inversión de las frecuencias y el porcentaje en cuanto a la droga consumida que motiva el ingreso hospitalario siendo el alcohol la sustancia consumida principal, aunque no de forma destacada. En la actualidad la principal sustancia que motiva el ingreso hospitalario para desintoxicación es el alcohol con amplia diferencia.

Además, cabe destacar que en cuanto a comorbilidades una de las más llamativas es el porcentaje de pacientes ingresados con infección por el VHC y VIH, que en los años 80 y 90 eran muy superiores a las actuales como también observaremos más adelante (Figura 12).

	Heroin (N=3388) n (%)	Cocaine (N=945) n (%)	Alcohol (N=690) n (%)
Men	2695(79.5)	694(73.4)	541(78.4)
Median age (IQR), years	27(24-31)	32(27-37)	41(35-48)
Period of admission			
1985-1991	1336(39.4)	85(9.0)	28(4.1)
1992-1996	1130(33.3)	189(20.0)	131(19.0)
1997-2001	666(19.7)	268(28.4)	95(13.8)
2002-2006	256(7.6)	403(42.6)	436(63.2)
Past or current injection drug use	3015(89.6)	613(65.8)	113(16.5)
History of imprisonment	1272(39.3)	342(38.0)	125(19.6)
HIV-positive (n = 4828)	1620(49.9)	326(35.4)	62(9.3)
HCV-positive (n = 4830)	2595(80.1)	595(64.8)	138(21.3)
HBsAg-positive (n = 4250)	170(6.1)	44(5.1)	17(2.8)

Figura 12. Sanvisens A, Vallecillo G, Bolao F, Rivas I, Fonseca F, Fuster D, Torrens M, Pérez-Hoyos S, Pujol R, Tor J, Muga R. Temporal trends in the survival of drug and alcohol abusers according to the primary drug of admission to treatment in Spain. *Drug Alcohol Depend*. 2014 Mar

1.3.1 DETECCIÓN DE COMORBILIDADES

En la Unidad de Desintoxicación del Hospital Germans Trias i Pujol, teniendo en cuenta que los principales responsables de la atención al paciente son médicos internistas otro de los objetivos del ingreso hospitalario es detectar e identificar aquellos pacientes con posibles comorbilidades médicas no conocidas previamente tanto a corto como a largo plazo para su abordaje e iniciar terapias no farmacológicas y farmacológicas si lo requiere de forma precoz. A su vez es una oportunidad para optimizar el tratamiento de las comorbilidades ya conocidas e incidir si lo requiere en las medidas higienico-dietéticas de las mismas.

1.3.1.1 Alteraciones ecográficas

Un ejemplo de ello en cuanto a la detección de comorbilidades no conocidas es el estudio publicado por el Dr. Fuster y colaboradores en 2018 (79) donde se realizó a todos los pacientes con TUA ingresados en el Hospital Germans Trias i Pujol entre enero 2013 y diciembre 2015 para desintoxicación sin enfermedad hepática conocida, una ecografía abdominal realizada por el servicio de Radiología, en ayunas y siguiendo las directrices del Colegio Americano de Radiología (86) dentro de los 3 primeros días de ingreso. El objetivo de la ecografía abdominal era identificar alteraciones ecográficas como esteatosis hepática, hepatomegalia, hígado heterogéneo, e hipertensión portal. En el estudio se incluyeron 301 pacientes con una mediana de edad de 46 años, siendo en su mayoría varones (80%), con un consumo de alcohol de mediana de 180gramos/día previo al ingreso y una duración del TUA de 10 años (121 meses). Además, el 20.5% consumían cocaína, el 1% cannabis y 1.7% opioides.

El 76,9% (n=220) de los casos presentaban alguna alteración ecográfica y un 44.8% 2 o más alteraciones. En cuanto a los hallazgos ecográficos el 57,3% presentaban algún grado de esteatosis hepática, leve un 22.7%, moderada un 25% y grave un 9.7%. Además, el 49,5% de la población estudiada presentó hepatomegalia, el 16,6% presentaba un hígado heterogéneo y un 16,4% tenía signos ecográficos compatibles con hipertensión portal. Cabe destacar también que 15 pacientes presentaban lesiones ocupantes de espacio (LOEs) siendo 2 de ellas LOEs sugestivas de carcinoma hepatocelular. En la figura 13 se puede visualizar las características de los pacientes y los hallazgos ecográficos.

	N = 301 n (%)
Men	241 (80.1)
Age (years), median (IQR)	46 (39–51)
BMI, median (IQR) (n = 281)	24.7 (21.8–28.0)
<i>Alcohol and substance use</i>	
Alcohol consumption (g/day), median (IQR) (n = 286)	180 (120–201)
Duration of AUD (months), median (IQR)	121 (60–240)
Prior intravenous drug use (n = 295)	46 (15.6)
Use of other substances at admission	
● Cocaine	54 (20.5)
● Benzodiazepines	5 (1.7)
● Cannabis	3 (1.0)
<i>Laboratory and liver-related parameters</i>	
AST (U/L), median (IQR) (n = 265)	42 (23–78)
ALT (U/L), median (IQR) (n = 295)	35 (19–60)
Platelets ($10^9/L$), median (IQR)	203 (147–257)
Total cholesterol (mg/mL), median (IQR) (n = 299)	194 (166–228)
HCV infection (n = 292)	62 (21.2)
ALI (n = 260)	41 (15.8)
ALF (n = 263)	64 (24.3)
<i>Ultrasound findings</i>	
No abnormalities (n = 286)	66 (23.1)
Liver steatosis (n = 300)	
● No	128 (42.7)
● Mild	68 (22.7)
● Moderate	75 (25)
● Severe	29 (9.7)
Hepatomegaly (n = 299)	148 (49.5)
Heterogeneous liver (n = 289)	48 (16.6)
Portal hypertension ^a (n = 293)	48 (16.4)
Space-occupying lesions (n = 299)	15 (4.9)
≥2 abnormalities (n = 286)	128 (44.8)

IQR: Interquartile Range; BMI: Body Mass Index; ALI: Analytical Liver Injury; AST: Aspartate Aminotransferase; ALT: Alanine Aminotransferase; ALF: Advanced Liver Fibrosis, AUD: Alcohol Use Disorder, HCV: Hepatitis C Virus.

^a Presence of any of the following ultrasound features: splenomegaly, enlarged portal vein, ascites and/ or abnormal portal vein flow.

Figura 13. Fuster D, Garcia-Calvo X, Zuluaga P, Rivas I, Sanvisens A, Tor J, Muga R. Ultrasound findings of liver damage in a series of patients consecutively admitted for treatment of alcohol use disorder. *Drug Alcohol Depend.* 2018 Sep 1;190:195-199.

Además, como se muestra en la figura 14 se analizaron las asociaciones entre los hallazgos ecográficos y:

- La infección por VHC.
- Las alteraciones graves analíticas del perfil hepático definidas como la presencia de al menos dos de los siguientes criterios aspartato aminotransferasa (AST) $\geq 74 \text{ U/L} \leq 300 \text{ U/L}$, ratio AST/ alanina aminotransferasa (ALT) > 2 y bilirrubina total $> 1.2 \text{ mg/dL}$.
- Presencia de fibrosis hepática avanzada medida a través del FIB-4 siendo éste igual o superior a 3.25.

Los pacientes con infección por VHC presentaron una mayor prevalencia de hígado heterogéneo (25,4 % frente a 14,5 %, $p = 0,04$) e hipertensión portal (27,1 % vs 13,8 %, $p < 0,01$) que aquellos sin infección por VHC. La presencia de alteraciones graves del perfil hepático se asoció con esteatosis hepática en alguno de sus grados (80,5 % frente a 55,5 %, $p < 0,01$), hepatomegalia (75,6 % vs 46,5 %, $p < 0,01$) e hipertensión portal (25 % vs 14,6 %, $p = 0,08$) en comparación con los sujetos sin criterios analíticos. Mientras que la presencia de fibrosis hepática avanzada mediante $\text{FIB-4} > 3.25$ se asoció con esteatosis hepática (81,3 % vs 52 %, $p < 0,01$), hepatomegalia (67,2 % vs 45,7 %, $p < 0,01$) e hígado heterogéneo (29,3 % vs 11,4 %, $p < 0,01$).

Ultrasound findings and associations with HCV infection, Analytical liver injury and Advanced liver fibrosis.

	HCV infection			Analytical liver injury			Advanced liver fibrosis		
	HCV (-) n = 230 n (%)	HCV (+) n = 62 n (%)	<i>p</i> value	Absence n = 219 n (%)	Presence n = 41 n (%)	<i>p</i> value	FIB-4 < 3.25 n = 199 n (%)	FIB-4 ≥ 3.25 n = 64 n (%)	<i>p</i> value
	No abnormalities (n = 286)	50 (22.8)	12 (20.7)	0.44	53 (25.4)	2 (5.5)	< 0.01	54 (28.4)	2 (3.4)
Liver steatosis (n = 300)									
● No	93 (40.6)	29 (46.8)	0.18	97 (44.5)	8 (19.5)	< 0.01	95 (48.0)	12 (18.8)	< 0.01
● Mild	50 (21.8)	17 (27.4)		51 (23.4)	11 (26.8)		45 (22.7)	17 (26.6)	
● Moderate	59 (25.8)	14 (22.6)		52 (23.9)	13 (31.7)		45 (22.7)	21 (32.8)	
● Severe	27 (11.8)	2 (3.2)		18 (8.3)	9 (22.0)		13 (6.6)	14 (21.9)	
Hepatomegaly (n = 299)	113 (49.3)	32 (52.4)	0.66	101 (46.5)	31 (75.6)	< 0.01	90 (45.7)	43 (67.2)	< 0.01
Heterogeneous liver (n = 289)	32 (14.5)	15 (25.4)	0.04	30 (14.2)	9 (24.3)	0.11	22 (11.4)	17 (29.3)	< 0.01
Portal hypertension (n = 293)	31 (13.8)	16 (27.1)	0.01	31 (14.6)	10 (25)	0.08	27 (13.9)	14 (22.9)	0.07
≥ 2 abnormalities (n = 286)	96 (43.8)	29 (50)	0.25	85 (40.9)	29 (78)	< 0.01	71 (37.3)	43 (74.1)	< 0.01

Figura 14. Fuster D, Garcia-Calvo X, Zuluaga P, Rivas I, Sanvisens A, Tor J, Muga R. Ultrasound findings of liver damage in a series of patients consecutively admitted for treatment of alcohol use disorder. Drug Alcohol Depend. 2018 Sep 1;190:195-199.

1.3.1.2 Inflamación sistémica

Ya en 2015 el Dr. Fuster y sus colaboradores se interesaron por la posible asociación de la inflamación sistémica y el consumo de alcohol en pacientes con TUA (80). En este estudio el objetivo fue evaluar el impacto de tres marcadores indirectos de inflamación como la anemia, y los niveles de fibrinógeno y ferritina, y su impacto en la mortalidad a medio plazo de pacientes con TUA. Este estudio longitudinal incluyó pacientes con TUA ingresados para desintoxicación hospitalaria entre 2000 y 2010, donde se analizaron las asociaciones entre los marcadores indirectos de inflamación descritos anteriormente y la mortalidad por cualquier causa mediante las tasas de mortalidad y los modelos de regresión de riesgos proporcionales de Cox. En este estudio se incluyeron 909 pacientes con TUA siendo la mayoría de los pacientes eran varones (80,3%), con una mediana de edad de 44 años (rango intercuartílico [RIC]: 38-50) y, al ingreso su consumo medio de alcohol era de 192 g/día (RIC: 120-265). Cuando se analizaron las variables analíticas al ingreso, 182 pacientes (20,5%) presentaban anemia; 210 (25,9%) tenían niveles de fibrinógeno >4,5 mg/dL; y 365 (49,5%) tenían niveles de ferritina >200 ng/mL. Al final del seguimiento que duró de mediana 3,8 años [RIC: 1,8-6,5]. 118 pacientes habían fallecido lo que corresponde a un 12,9% de la población del estudio. Los modelos de regresión de Cox mostraron que la presencia de anemia al inicio del estudio se asoció con la mortalidad (*hazard ratio* [HR]: 1,67, IC del 95 %: 1,11-2,52, $p < 0,01$); pero no hubo relación estadísticamente significativa entre la mortalidad y los niveles elevados de fibrinógeno o ferritina (Figura 15).

Variable	Univariate Analysis		Multivariate Analysis	
	Hazard Ratio (95% CI)	P	Hazard Ratio (95% CI)	P
Male sex	0.70 (0.43–1.15)	0.16		
Age at admission	1.03 (1.01–1.05)	<0.01	1.04 (1.02–1.06)	<0.01
HIV infection	2.56 (1.61–4.07)	<0.01	1.79 (0.98–3.28)	0.06
HCV infection	2.20 (1.51–3.21)	<0.01	1.89 (1.18–3.04)	<0.01
HBsAg-positive	0.86 (0.29–4.73)	0.83		
Presence of ARLD	1.96 (1.25–3.06)	<0.01	1.61 (1.01–2.58)	0.05
Anemia	2.33 (1.59–3.41)	<0.01	1.67 (1.11–2.52)	<0.01
Fibrinogen >4.5 mg/dL	1.27 (0.82–1.97)	0.28		
Ferritin >200 ng/mL	1.32 (0.87–2.00)	0.19		

ARLD = alcohol-related liver disease, AUD = alcohol use disorder, HBsAg = hepatitis B surface antigen, HCV = hepatitis C virus, HIV = human immunodeficiency virus.

Figura 15. Fuster D, Sanvisens A, Bolao F, Zuluaga P, Rivas I, Tor J, Muga R. Markers of inflammation and mortality in a cohort of patients with alcohol dependence. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Mar;94(10):e607.

Siguiendo esta línea de investigación promovida en los últimos años y con el objetivo de profundizar más en la relación entre el TUA y la inflamación sistémica se han planteado algunas de las hipótesis de esta tesis doctoral. Además, debido al avance científico que ha permitido la posibilidad de determinar un amplio abanico de marcadores no solo de inflamación sistémica sino también en otros ámbitos como la activación monocitaria, la permeabilidad intestinal y translocación bacteriana han permitido generar nuevas hipótesis en cuanto al TUA y sus distintas asociaciones.

Algunos de los marcadores que posteriormente analizaremos no se utilizan de forma rutinaria en nuestro día a día, pero el hecho de investigar en ellos, pueden tener un impacto futuro para valorar incluir su uso frecuente en este tipo de pacientes.

La Unidad de Desintoxicación del Hospital Germans Trias y Pujol permite y ofrece debido a su larga trayectoria y reconocimiento científico en el ámbito de las adicciones y en concreto en la adicción derivado del consumo de alcohol, una gran oportunidad para desarrollar proyectos de investigación presentes y futuros.

2. HIPÓTESIS

2. HIPÓTESIS

2.1. JUSTIFICACIÓN DE LOS ESTUDIOS

Debido a las distintas vías de metabolización del alcohol y su afectación multiorgánica y multisistémica, los pacientes con trastorno por uso de alcohol (TUA) tienen una mayor inflamación sistémica, un aumento de activación monocitaria y un aumento de la translocación bacteriana lo que puede provocar un mayor riesgo de desarrollo de diversas enfermedades.

En base a esto nos planteamos las siguientes hipótesis:

- El TUA se asocia a un aumento de los niveles de marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana.
- El consumo concomitante de cannabis y/o cocaína se asocia a unos mayores niveles de marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana.
- La fibrosis hepática en pacientes con TUA se asocia a un aumento de los niveles de marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana.
- Los pacientes con TUA y factores de riesgo cardiovascular presentan niveles más elevados de marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana.
- Las mujeres con TUA que ingresan para desintoxicación hospitalaria presentan niveles más elevados de los marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana, así como una diferente prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular.

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO PRINCIPAL

El objetivo principal es analizar distintos marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana y su asociación con la enfermedad hepática y el riesgo cardiovascular en pacientes con TUA ingresados para desintoxicación.

3.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS

1- Estudiar la asociación entre diferentes características clínicas y analíticas de los pacientes con TUA y los marcadores de inflamación sistémica y activación monocitaria (Estudio 1).

2- Estudiar la asociación entre el consumo concomitante de otras drogas como el cannabis y la cocaína en pacientes con TUA y los marcadores de inflamación sistémica y activación monocitaria (Estudio 2).

3- Estudiar la asociación entre la fibrosis hepática y los marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana (Estudio 3).

4- Estudiar los marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana y su asociación con el sexo y la presencia de factores de riesgo cardiovascular (Estudio 4).

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 FUENTE DE DATOS Y SELECCIÓN DE PACIENTES

Los pacientes incluidos en los estudios que conforman esta tesis doctoral presentaban TUA y fueron ingresados entre 2003 y 2021 para desintoxicación del alcohol en dos hospitales españoles, el Hospital Universitari Germans Trias i Pujol de Badalona y el Hospital Universitari de Bellvitge de Barcelona. El diagnóstico de TUA se estableció mediante los criterios del DSM-IV y posteriormente el DSM-5 en función del año en el que el paciente fue ingresado.

Los pacientes debían tener una edad mayor a 18 años y eran derivados para ingreso hospitalario de desintoxicación de alcohol desde atención primaria, desde centros para el trastorno por uso de sustancias (Centros de Atención y Seguimiento [CAS] o desde la consulta externa de la Unidad de Adicciones. Los criterios principales para el ingreso hospitalario fueron: alto riesgo de abstinencia alcohólica grave, incapacidad para tomar tratamiento vía oral, múltiples intentos de desintoxicación previa o fracaso del tratamiento de desintoxicación ambulatoria.

Fueron excluidos los pacientes con TUA que presentaba enfermedades autoinmunes, infecciones agudas o enfermedad hepática descompensada y o aquellos que presentaban enfermedad psiquiátrica grave.

4.2 VARIABLES ESTUDIADAS

Se recogieron múltiples variables, incluidas variables sociodemográficas, datos sobre el consumo de alcohol y otras sustancias, comorbilidades médicas entre ellas los factores de riesgo cardiovascular, variables analíticas, análisis de orina, índices como el FIB-4.

4.2.1 VARIABLES SOCIODEMOGRÁFICAS Y DE CONSUMO DE ALCOHOL

Se recogieron variables como la edad, sexo, así como datos sobre el consumo de alcohol y otras sustancias, tipo de consumo, cantidad y frecuencia del mismo, edad de inicio y años acumulados de consumo. El consumo de alcohol fue medido en forma de gramos (g) de alcohol al día. Cabe señalar que una unidad de bebida estándar (UBE) equivale a 10 gramos de alcohol puro.

4.2.2 VARIABLES ANALÍTICAS

A todos los pacientes ingresados para deshabituación se les extrajo una analítica sanguínea donde se incluían:

- a) Parámetros del hemograma como la hemoglobina, el VCM, las plaquetas, los leucocitos y el recuento de linfocitos y neutrófilos.
- b) Parámetros bioquímicos: glucosa, función renal, ionograma (sodio, potasio, cloro, magnesio y calcio), albúmina, proteínas totales, perfil hepático (bilirrubina, AST, ALT, gamma-glutamil transferasa (GGT), fosfatasa alcalina (FA), perfil lipídico con colesterol total, LDL, HDL y triglicéridos.
- c) Marcadores de inflamación no específicos como la PCR y la velocidad de sedimentación globular (VSG).
- d) Serologías de VHC y VIH.
- e) Marcadores plasmáticos de:
 - Inflamación sistémica: IL-6 e IL-10.
 - Activación monocitaria: CD163, sCD163 y sCD14.
 - Translocación bacteriana: Lipopolisacárido (LPS) y la proteína de unión al LPS (LPS binding protein (LBP)).

Los marcadores de inflamación sistémica y activación monocitaria fueron cuantificados mediante un test immunoabsorbente ligado a enzimas (Bio-technne, Abingdon, UK) de acuerdo con las especificaciones de manufactura. Para sCD163, se usó una dilución 1:10 y para sCD14, se utilizó una dilución 1:200. Se trazó una curva de calibración para CD163 y sCD14.

Los niveles de IL-6 se analizaron utilizando un Cytometric Bead Array (Beckton Dickinson, Laagstraat, Bélgica) en un citómetro de flujo (BD LSRII Fortessa). Las muestras de plasma no se diluyeron y se trazó una curva estándar para calcular las concentraciones de IL-6, siendo el límite inferior de detección de 0,03 pg/ml. En aquellos ensayos en los valores de IL-6 estaban por debajo del umbral de detección, se estableció un valor de 0,03 pg/mL para el análisis estadístico.

Los niveles de IL-10 se determinaron con el mismo método que IL-6. El límite inferior de detección fue de 0,02 pg/mL. En aquellos ensayos donde la concentración de IL-10 era inferior al umbral de detección, se estableció un valor de 0,02 pg/mL para el análisis estadístico.

Cuando se detectaban niveles de sCD163 superiores a 1000 ng/mL, se estableció el valor de 1000 ng/mL para el análisis estadístico.

Las concentraciones plasmáticas de LPS y LPB se midieron mediante un test de immunoabsorción ligado a enzimas LPS ELISA kit (abx517692, Cambridge, UK) y LBP ELISA kit (abx575210, Abbexa, Cambridge, UK) respectivamente, y se utilizó una dilución 1:10.

Por otro lado, se realizó un análisis de orina a todos los pacientes durante las primeras horas de ingreso para detectar la presencia de cocaína o cannabis mediante un análisis cualitativo de cromatografía de masas (THC Flex Dimensión; Siemens Healthcare Diagnostics, Surrey, UK).

4.2.3 ÍNDICE FIB-4

El índice FIB-4 es un índice no invasivo que incluye variables sociodemográficas y analíticas para estimar el riesgo de fibrosis hepática. Inicialmente descrito en una cohorte de pacientes con infección por el VIH y el VHC (63), su uso se ha generalizado a otros tipos de pacientes con riesgo de enfermedad hepática. El cálculo del FIB-4 se realiza con la siguiente fórmula.

$$\text{FIB-4} = \frac{\text{Age (years)} \times \text{AST level (U/L)}}{\text{Platelet count (10}^9/\text{L}) \times \sqrt{\text{ALT level (U/L)}}}$$

Se define como fibrosis hepática avanzada si el valor del índice FIB-4 es superior a 3.25.

4.3 DISEÑO DE LOS ESTUDIOS

Diseñamos cuatro estudios transversales para responder a los distintos objetivos planteados anteriormente.

4.3.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En los distintos estudios se realizó un análisis estadístico analítico donde se utilizaron distintos tipos de test como por ejemplo el test chi-cuadrado para evaluar diferencias significativas entre variables cualitativas y el test T-student para evaluar diferencias significativas entre variables cuantitativas.

Además, se realizaron análisis de regresión logística multivariados que incluyó por ejemplo edad, sexo y consumo de alcohol y la presencia de infección y todas las covariables que fueron significativas en el análisis bivariado. Entre las covariables, se incluyeron parámetros de laboratorio habituales como la hemoglobina, el VCM; las plaquetas, las transaminasas y la bilirrubina entre otras que se prueban rutinariamente en pacientes con TUA ingresados para desintoxicación hospitalaria.

Cuando se realizaron análisis de los distintos marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria o translocación bacteriana, se desarrolló un modelo diferente para cada marcador donde el resultado primario comprendió el cuartil más alto/bajo de cada marcador y la categoría de referencia incluyó todos los demás valores del marcador específico.

En todos los estudios se utilizó un software SPSS (versión 15.0.1, Chicago, Illinois) para el análisis estadístico de los datos y se consideró estadísticamente significativo un p-valor <0.05. Los intervalos de confianza establecidos fueron del 95% alrededor del punto real estimado.

4.3.1.1 Análisis estadístico estudio 1

Para responder a dicho objetivo secundario las variables cuantitativas fueron expresadas mediante la mediana, rango intercuartílico (RIC), media y desviación estándar. Para las variables cualitativas se expresaron mediante porcentajes y frecuencias absolutas.

Utilizamos el test chi-cuadrado para evaluar asociaciones entre variables cualitativas y el test T-student para evaluar diferencias de medias en variables cuantitativas entre pacientes que presentaron marcadores en el cuartil más alto versus pacientes que no presentan esos marcadores.

Se realizaron análisis de regresión logística multivariados ajustados por ejemplo edad, sexo y consumo de alcohol y la presencia de infección por el virus de la hepatitis C, así como las otras variables que se asociaban de forma significativa en el análisis bivariado.

Entre las co-variables, incluimos parámetros de laboratorio habituales como la hemoglobina, el VCM; las plaquetas, las transaminasas y la bilirrubina entre otras determinaciones que se realizan de forma rutinaria en pacientes con TUA ingresados para desintoxicación hospitalaria.

4.3.1.2 Análisis estadístico estudio 2

Realizamos un análisis de regresión logística para determinar si existía asociación entre el consumo de cocaína y cannabis y tener los niveles de sCD163, sCD14 e IL-6 en el cuartil más elevado. Los análisis se ajustaron por sexo, edad y niveles de AST. En esta ocasión las características de los pacientes incluidos son las mismas del estudio 1.

4.3.1.3 Análisis estadístico estudio 3

En el tercer estudio utilizamos el test chi-cuadrado para las diferentes asociaciones entre variables cualitativas y la presencia de fibrosis hepática avanzada estimada con FIB-4. Asimismo, utilizamos el test T-student para evaluar las diferencias entre las medias en variables cuantitativas entre los pacientes con fibrosis hepática avanzada y aquellos que no la presentaban.

Por otro lado, realizamos un análisis de correlación no ajustado entre los niveles de los diferentes marcadores plasmáticos y los valores de FIB-4 tratada como una variable continua. Además, realizamos un análisis de correlación ajustada por sexo, consumo de alcohol y presencia de infección por VHC.

También realizamos un análisis de regresión logística para detectar la asociación entre los niveles de marcadores plasmáticos en el cuartil más elevado y la presencia de fibrosis hepática avanzada medida con FIB-4.

Finalmente, realizamos un análisis de regresión logística para detectar la asociación entre los niveles de LPS en el cuartil más bajo y la presencia de fibrosis hepática avanzada.

Todos los análisis de regresión logística se ajustaron por sexo, consumo de alcohol y presencia de infección por VHC.

4.3.1.4 Análisis estadístico estudio 4

Realizamos un análisis para evaluar si el sexo femenino se asociaba con el patrón de consumo de alcohol y otras drogas, la presencia de comorbilidades, y los parámetros de laboratorio de rutina y marcadores de activación inflamación sistémica (IL-6 e IL-10), activación monocitaria (sCD163 y sCD14) y translocación bacteriana (LPS) y LBP.

Paralelamente se compararon las medias de los marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana según la presencia o no de factores de riesgo cardiovascular como: hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo 2 con y sin insulinoterapia, dislipemia o antecedente de evento cardiovascular previo al ingreso.

4.4 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Todos los estudios realizados fueron aprobados por el Comité de Ética del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol de Badalona y el Hospital Universitari de Bellvitge. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado. Los métodos utilizados para la realización de los estudios cumplían los estándares éticos para la investigación médica y los principios de buena práctica clínica de acuerdo con la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial.

5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

Para responder los distintos objetivos planteados anteriormente se han realizado diferentes estudios en una serie de pacientes con diagnóstico de TUA que fueron ingresados entre 2003 y 2021 para deshabituación alcohólica en dos hospitales (Hospital Universitari Germans Trias i Pujol de Badalona y el Hospital Universitario de Bellvitge de l'Hospitalet de Llobregat).

En el anexo de la tesis doctoral se pueden encontrar los artículos originales.

5.1 CARACTERÍSTICAS BASALES

El perfil de los pacientes, sus características basales socio-demográficas, las características del consumo de alcohol y otras sustancias, las comorbilidades previas, así como los parámetros analíticos incluyendo la mediana de los niveles de marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana fueron muy similares entre ellas en los estudios realizados para responder el objetivo principal y los objetivos secundarios presentados.

El número de pacientes incluidos para responder los dos primeros objetivos fueron 289, para el 3r objetivo fue de 353 pacientes y de 469 pacientes para el cuarto objetivo.

5.1.1 CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS Y DE CONSUMO DE ALCOHOL Y OTRAS SUSTANCIAS

5.1.1.1 Estudio 1

Se incluyeron 289 pacientes con una edad mediana de 50 años, siendo en su mayoría varones (77%), >80% nacidos en España, con una mediana de consumo de alcohol de 142 gramos/día, una duración del TUA de 20 años. Además, el 76% eran también fumadores, el 23% consumían cocaína, el 22% cannabis y el 11% consumían ambas sustancias (Tabla 1).

Tabla 1. Características sociodemográficas y de consumo de alcohol y otras sustancias.

Características de los pacientes (n=289)	
Edad [mediana (RIC)]	50 (43.5-57)
Sexo masculino (%)	77
Consumo de alcohol gramos/día [mediana (RIC)]	142 (100-220)
Duración del TUA (años) [mediana (RIC)]	20 (10-28)
Consumo tabaco (%)	76
Consumo de cocaína (%)	23

Consumo de cannabis (%)	22
Consumo de cocaína y cannabis (%)	11

5.1.1.2 Estudio 2

En este estudio se incluyeron los mismos 289 pacientes reclutados en el estudio 1 con las mismas características basales (Tabla 2).

Tabla 2. Características sociodemográficas y de consumo de alcohol y otras sustancias.

Características de los pacientes (n=289)	
Edad [mediana (RIC)]	50 (43.5-57)
Sexo masculino (%)	77
Consumo de alcohol gramos/día [mediana (RIC)]	142 (100-220)
Duración del TUA (años) [mediana (RIC)]	20 (10-28)
Consumo tabaco (%)	76
Consumo de cocaína (%)	23
Consumo de cannabis (%)	22
Consumo de cocaína y cannabis (%)	11

5.1.1.3 Estudio 3

Se incluyeron 353 pacientes con una mediana de edad de 50 años, siendo en su mayoría varones (77%), con una mediana de consumo de alcohol de 140 gramos/día y una mediana de duración del TUA de 20 años (Tabla 3).

Tabla 3. Características sociodemográficas y de consumo de alcohol.

Características de los pacientes (n=353)	
Edad [mediana (RIC)]	50 (43.5-57)
Sexo masculino (%)	77
Consumo de alcohol (gramos/día) [mediana (RIC)]	140
Duración del TUA (años), mediana (RIC)	20 (10-28)

5.1.1.4 Estudio 4

En este estudio incluyeron 469 pacientes con una mediana de edad de 50 años, siendo en su mayoría varones (77%), con una mediana de consumo de alcohol de 150 gramos/día y una mediana de duración del TUA de 20 años. Además, el 78.3% eran fumadores, el 29% consumían cocaína, el 25.4% cannabis y el 18% opioides (Tabla 4).

Tabla 4. Características sociodemográficas y de consumo de alcohol y otras sustancias.

Características de los pacientes (n=469)	
Edad [mediana (RIC)]	50 (43-57)
Sexo masculino (%)	77
Consumo de alcohol gramos/día [mediana (RIC)]	150 (100-223)
Duración del TUA (años) [mediana (RIC)]	20 (10-28)
Consumo tabaco (%)	78.3
Consumo de cocaína (%)	29
Consumo de cannabis (%)	25.4
Consumo de opioides (%)	18

5.1.2 PARÁMETROS ANALÍTICOS Y MARCADORES DE INFLAMACIÓN SISTÉMICA, ACTIVACIÓN MONOCITARIA Y TRANSLOCACIÓN BACTERIANA

En las siguientes tablas (5 y 6) se resume las características analíticas de los pacientes incluidos en los estudios, incluyendo la mediana de los niveles de marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana.

5.1.2.1 Estudio 1

En las siguientes tablas (5 y 6) se describen las características analíticas, así como las características de los marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana de los pacientes incluidos en el estudio (N=289).

Tabla 5. Características analíticas.

Parámetros analíticos	Mediana (RIC)
Hemoglobina (g/dL)	14.1 (12.8–15.2)
Leucocitos ($10^9/L$)	6.4 (5.0–7.6)
VCM (fl) [mediana]	94.8 (91–99)

Plaquetas ($10^9/L$)	189 (136–239)
Glucosa (mg/dL)	92 (82.9–103)
Creatinina (mg/dL)	0.77 (0.65–0.89)
Albumina (g/L)	40 (37–42.8)
Ferritina (ng/mL)	177 (79–377)
Bilirrubina (mg/dL)	0.69 (0.47–1.11)
AST (U/L)	41 (24.5–77.5)
ALT (U/L)	29 (18–49.2)
GGT (U/L)	92.5 (38–279.5)
FA (U/L)	76 (59–105)
Colesterol (mg/dL)	187 (156–221)
Triglicéridos (mg/dL)	109 (77–178.6)
Fibrinógeno (mg/dL)	341 (276–392)

Además, un 36% presentaban una VSG >20mm y un 32.5% una PCR >5mg/L.

Tabla 6. Características de los marcadores de inflamación sistémica y activación monocitaria.

<u>Marcador</u>	<u>Mediana (RIC)</u>
CD163 (ng/mL)	759 (494–1000)
sCD14 (10^6 pg/mL)	1.68 (1.33–2.08)
IL-6 (pg/mL)	4.37 (1.3–9.71)

5.1.2.2 Estudio 2

En las siguientes tablas (7 y 8) se describen las características analíticas y de los marcadores inflamación sistémica y activación monocitaria de los pacientes incluidos en el estudio (N=289).

En la tabla 9 se describe los niveles de los distintos marcadores de inflamación sistémica y activación monocitaria en función del consumo del TUA asociado o no a consumo de otras sustancias.

Tablas 7. Características analíticas.

<u>Parámetros analíticos</u>	<u>Mediana (RIC)</u>
Hemoglobina (g/dL)	14.1 (12.8–15.2)
Leucocitos (10^9 /L)	6.4 (5.0–7.6)
VCM (fl)	94.8 (91–99)
Plaquetas (10^9 /L)	189 (136–239)
Glucosa (mg/dL)	92 (82.9–103)
Creatinina (mg/dL)	0.77 (0.65–0.89)
Albumina (g/L)	40 (37–42.8)
Ferritina (ng/mL)	177 (79–377)
Bilirrubina (mg/dL)	0.69 (0.47–1.11)
AST (U/L)	41 (24.5-77.5)
ALT (U/L)	29 (18-49.2)
GGT (U/L)	92.5 (38-279.5)
FA (U/L)	76 (59–105)
Colesterol (mg/dL)	187 (156-221)
Triglicéridos (mg/dL)	109 (77-178.6)
Fibrinógeno (mg/dL)	341 (276-392)

Además, un 36% presentaban una VSG >20mm y un 32.5% una PCR >5mg/L.

Tabla 8. Características de los marcadores de inflamación crónica y activación monocitaria.

<u>Marcador</u>	<u>Mediana (RIC)</u>
sCD163 (ng/mL)	759 (494–1000)
sCD14 (10^6 pg/mL)	1.68 (1.33-2.08)
IL-6 (pg/mL)	4.37 (1.3-9.71)

Tabla 9. Niveles de marcadores de inflamación sistémica y activación monocitaria en función del consumo de alcohol asociado o no a otras drogas.

	IL-6 (pg/mL) [media (DE)]	sCD163 (ng/mL) [media (DE)]	sCD14 (x 10 ⁶ pg/mL) [media (DE)]
TUA	9.57 (16.5)	741 (245)	1.76 (0.57)
TUA y consumo cocaína	6.67 (11.75)	622 (281)	1.64 (0.45)
TUA y consumo de cannabis	16.1 (5.8)	726 (299)	1.71 (0.54)
TUA y consumo de cocaína y cannabis	8.2 (15.9)	646 (313)	1.66 (0.46)

5.1.2.3 Estudio 3

En las siguientes tablas (10 y 11) se describen las características analíticas, así como las características de los marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana de los pacientes incluidos en el estudio (N=353).

Tabla 10. Características analíticas

<u>Parámetros analíticos</u>	<u>Mediana (RIC)</u>
Hemoglobina (g/dL)	14 (12.7–15.2)
Leucocitos (10 ⁹ /L)	6.4 (5.0–7.6)
VCM (fl)	94.7 (90.9–99)
Plaquetas (10 ⁹ /L)	191 (137–242)
Glucosa (mg/dL)	92 (84.3–102.8)
Creatinina (mg/dL)	0.77 (0.65–0.89)
Ferritina (ng/mL)	185.75 (81.25–386.83)
Bilirrubina (mg/dL)	0.67 (0.47–1.11)
AST (U/L)	39 (23–75)
ALT (U/L)	29 (18–50)
GGT (U/L)	93 (37–288.5)
FA (U/L)	79 (59–106.5)

PCR (mg/L)	2.5 (0.9-5.9)
VSG (mm)	12 (5-27)
Fibrinógeno (mg/dL)	329 (269-388)
FIB-4	1.92 (1.07-3.69)

Los pacientes tenían de mediana de FIB-4 de 1.92 (RIC (1.07-3.69)) y 94 de ellos (27.4%) presentaban una fibrosis hepática avanzada con un índice FIB-4 >3.25.

Tabla 11. Características de los marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana.

<u>Marcador</u>	<u>Mediana (RIC)</u>
sCD163 (ng/mL)	763 (475.9–1000)
sCD14 (10 ⁶ pg/mL)	1.65 (1.29-1.97)
IL-6 (pg/mL)	3.31 (0.87-8.16)
IL-10 pg/mL)	0.63 (0.02-2.30)
LPS (pg/mL)	1075 (410-2282)
LPB (pg/mL)	20 (10.5-44.8)

5.1.2.4 Estudio 4

En las siguientes tablas (12 y 13) se describen las características analíticas, así como las características de los marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana de los pacientes incluidos en el estudio (N=469).

Tabla 12. Características analíticas.

<u>Parámetros analíticos</u>	<u>Mediana (RIC)</u>
Glucosa (mg/dL)	92 (82.9-101.8)
Creatinina (mg/dL)	0.76 (0.67-0.89)
Colesterol (mg/dL)	189 (158-221)

Tabla 13. Características de los marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana.

<u>Marcador</u>	<u>Mediana (RIC)</u>
sCD163 (ng/mL)	734 (464–1000)
sCD14 (10 ⁶ pg/mL)	1.73 (1.36-2.24)
IL-6 (pg/mL)	3.31 (1.07-7.76)
IL-10 pg/mL)	0.57 (0.02-2.01)
LPS (pg/mL)	846 (336-1858)
LPB (pg/mL)	26 (12.1-58.8)

5.1.3. COMORBILIDADES

En nuestras distintas cohortes un 5% aproximadamente de los pacientes tenían infección por VIH y un entre 11-12.5% una infección por VHC. Paralelamente presentaban un índice de masa corporal (IMC) de mediana de 25.6 (RIC (22.3-29.3)).

5.1.3.1 Estudio 4

En este estudio 4 donde se incluyeron 469 pacientes se analizaron algunas comorbilidades relacionadas con el riesgo cardiovascular como la hipertensión arterial, la diabetes mellitus y la dislipemia tal y como se muestra en la tabla 14.

Tabla 14. Comorbilidades.

<u>Comorbilidad</u>	<u>N (%)</u>
Hipertensión arterial	170 (36.6%)
Diabetes mellitus (tipo 1 y 2)	58 (12.5%)
• Diabetes mellitus tipo 2	• 57 (12.2%)
• Diabetes tipo 2 insulinizados	• 26 (5.6%)
Dislipemia	232 (50.2%)
Antecedente de evento cardiovascular previo	48 (10.4%)

5.2 ASOCIACIONES

5.2.1 ESTUDIO 1

Se analizaron un total de 289 pacientes y la asociación entre distintos valores analíticos y los marcadores de inflamación sistémica (IL-6) y activación monocitaria (CD163 y sCD14).

Las siguientes tablas (15, 16 y 17) muestran las asociaciones bivariadas entre las características clínicas y analíticas con los distintos marcadores nombrados anteriormente. Los niveles de los marcadores de inflamación sistémica y activación monocitaria se dividieron por cuartiles, y se contrastaron los valores en el cuartil más elevado contra todos los demás valores.

Tabla 15. Análisis bivariado CD163.

<u>Variable</u>	<u>Cuartil más elevado de CD163</u>	<u>Todos los demás cuartiles</u>	<u>p-valor</u>
Sexo masculino [n (%)]	85 (86.7)	139 (72.9)	<0.01
Edad [media (DE)]	52.3 (9.4)	49.7 (10.5)	0.04
Índice masa corporal [media (DE)]	25.7 (4.9)	26.7 (6.1)	0.13
Consumo de alcohol (g/día), [media (DE)]	174 (124)	166 (107)	0.54
Duración del TUA (años), [media (DE)]	21.4 (11.4)	18.7 (11.2)	0.06
Consumo de tabaco [n (%)]	74 (75.5)	146 (77.7)	0.19
Glucosa (mg/dL), [media (DE)]	104 (34.6)	95.7 (37.8)	0.05
Albúmina (g/dL), [media (DE)]	38.5 (5.2)	40.4 (3.8)	<0.01
Creatinina (mg/dL), [media (DE)]	0.95 (1.07)	0.81 (0.23)	0.23
AST (U/L), [media (DE)]	85 (48)	41 (38)	<0.01
ALT (U/L), [media (DE)]	51 (36)	33 (27)	<0.01
GGT (U/L), [media (DE)]	478 (566)	161 (382)	<0.01
FA (U/L), [media (DE)]	148 (247)	86 (85)	<0.01
Bilirrubina (mg/dL), [media (DE)]	1.2 (0.73)	0.7 (0.46)	0.02
Colesterol total (mg/dL), [media (DE)]	179 (60)	195 (49)	0.01
Triglicéridos (mg/dL), [media (DE)]	121 (99)	154 (109)	0.02
Hemoglobina (g/dL), [media (DE)]	13.4 (1.9)	14.1 (1.8)	<0.01
VCM (fL), [media (DE)]	97.1 (9.5)	93.8 (7.4)	<0.01

Plaquetas ($10^9/L$) [media (DE)]	171 (208)	212 (62)	0.06
Fibrinógeno (mg/dL), [mediana (RIC)]	332 (108)	349 (105)	0.21
Ferritina (ng/mL), [mediana (RIC)]	503 (627)	249 (333)	<0.01
Infección por el VHC [n (%)]	20 (20.6)	11 (5.8)	<0.01
Infección por el VIH [n (%)]	8 (8.2)	6 (3.2)	0.06
VSG > 20 mm [n (%)]	50 (51.0)	56 (35.0)	<0.01
PCR > 5 mg/L [n (%)]	35 (35.7)	59 (31.1)	0.42

Los valores de CD163 en el cuartil más elevado se asociaron con el sexo masculino (86,7%, cuartil más alto vs. 72,9%, todos otros cuartiles, $p < 0,01$); edad avanzada (52,5 años vs 49,7 años, $p = 0,04$), infección por VHC (20,6% vs 5,8%, $p < 0,01$); niveles medios más altos de AST (85 vs. 41 U/L, $p < 0,01$), ALT (51 vs 33 U/L, $p < 0,01$), GGT (478 vs 161 U/L, $p < 0,01$), FA (148 vs 86 U/L, $p < 0,01$) bilirrubina (1,2 vs. 0,7 mg/dL, $p < 0,01$) y VCM (97,1 vs. 93,8 fL, $p < 0,01$) y VSG >20mm (51% vs. 35%, $p < 0,01$). Por otro lado, niveles medios más bajos de hemoglobina (13,4 vs. 14,1 g/dL, $p < 0,01$), albúmina (38.5 vs 40.4 g/dL $p < 0,01$), triglicéridos (121 vs 154mg/dL, $p = 0,02$), y colesterol (179 vs. 195 mg/dL, $p = 0,01$) se relacionaron con el cuartil más elevado.

Tabla 16. Análisis bivariado sCD14.

<u>Variable</u>	<u>Cuartil más elevado de sCD14</u>	<u>Todos los demás cuartiles</u>	<u>p-valor</u>
Sexo masculino [n (%)]	55 (75.3)	169 (78.2)	0.61
Edad [media (DE)]	51.9 (8.7)	50.1 (10.7)	0.17
Índice masa corporal [media (DE)]	25.3 (6.5)	26.6 (5.4)	0.12
Consumo de alcohol (g/día), [media (DE)]	167 (83)	169 (121)	0.92
Duración del TUA (años), [media (DE)]	19.9 (11.0)	19.6 (11.5)	0.88
Consumo de tabaco [n (%)]	56 (76.7)	164 (76.9)	0.99
Glucosa (mg/dL), [media (DE)]	107 (48)	95 (20.0)	0.04
Albúmina (g/dL), [media (DE)]	39.0 (5.3)	40.0 (4.0)	0.15
Creatinina (mg/dL), [media (DE)]	1.01 (1.91)	0.81 (0.26)	0.16
AST (U/L), [media (DE)]	72 (48)	51 (45)	<0.01
ALT (U/L), [media (DE)]	43 (32)	37 (31)	0.15
GGT (U/L), [media (DE)]	404 (607)	223 (445)	0.02
ALP (U/L), [media (DE)]	116 (140)	104 (168)	0.54

Bilirrubina (mg/dL), [media (DE)]	0.98 (0.67)	0.87 (0.59)	0.18
Colesterol total (mg/dL), [media (DE)]	191 (67)	189 (49)	0.78
Triglicéridos (mg/dL), [media (DE))]	158 (137)	137 (93)	0.17
Hemoglobina (g/dL), [media (DE)]	13.6 (1.9)	13.0 (1.8)	0.11
VCM (fL), [media (DE)]	97 (8)	94 (8)	<0.01
Plaquetas (10 ⁹ /L) [media (DE)]	180 (71)	205 (147)	0.17
Fibrinógeno (mg/dL), [mediana (RIC)]	365 (115)	336 (102)	0.04
Ferritina (ng/mL), [mediana (RIC)]	536 (655)	267 (363)	<0.01
Infección por el VHC [n (%)]	10 (13.8)	21 (9.9)	0.35
Infección por el VIH [n (%)]	5 (6.9)	9 (4.2)	0.35
VSG > 20 mm [n (%)]	36 (49.3)	60 (32.6)	0.01
PCR > 5 mg/L [n (%)]	40 (54.8)	54 (25.1)	<0.01

Los valores de sCD14 en el cuartil más elevado se asociaron con niveles medios más altos de glucosa (107 vs. 95 mg/dL), AST (72 vs. 51 U/L, $p < 0.01$), GGT (404 vs 223 U/L $p = 0.02$), VCM (97 vs. 94 fL, $p < 0.01$), fibrinógeno (355 vs. 336 mg/dL, $p = 0.04$), y ferritina (536 vs. 267 ng/mL, $p < 0.01$), así como una VSG >20mm (49,3 vs. 32,6%, $p < 0.01$) y un nivel de PCR >5mg/L (54,8 vs. 25,1%, $p < 0.01$).

Tabla 17. Análisis bivariado IL-6

<u>Variable</u>	<u>Cuartil más elevado de IL-6</u>	<u>Todos los demás cuartiles</u>	<u>p-valor</u>
Sexo masculino [n (%)]	52 (76.4)	160 (78.0)	0.61
Edad [media (DE)]	52.5 (9.4)	49.7 (10.3)	0.04
Índice masa corporal [media (DE)]	26.4 (6.4)	26.2 (5.7)	0.86
Consumo de alcohol (g/día), [media (DE)]	148 (72)	174 (110)	0.02
Duración del TUA (años), [media (DE)]	21.0 (11.5)	19.9 (11.5)	0.47
Consumo de tabaco [n (%)]	52 (76.4)	157 (76.4)	0.63
Glucosa (mg/dL), [media (DE)]	95 (24)	100 (33)	0.31
Albúmina (g/dL), [media (DE)]	37.9 (4.8)	40.2 (4.2)	<0.01
Creatinina (mg/dL), [media (DE)]	0.78 (0.37)	0.88 (0.73)	0.26
AST (U/L), [media (DE)]	75 (45)	53 (48)	0.01
ALT (U/L), [media (DE)]	41 (29)	37 (30)	0.37

GGT (U/L), [media (DE)]	419 (572)	234 (446)	0.02
ALP (U/L), [media (DE)]	145 (267)	88 (80)	0.09
Bilirrubina (mg/dL), [media(DE)]	1.2 (0.78)	0.81 (0.52)	<0.01
Colesterol total (mg/dL), [media (DE)]	172 (51)	196 (54)	<0.01
Triglicéridos (mg/dL), [media (DE))]	110 (80)	155 (114)	<0.01
Hemoglobina (g/dL), [media (DE)]	13.3 (2.1)	14.1 (1.7)	<0.01
VCM (fL), [media (DE)]	98 (11)	94 (7)	<0.01
Plaquetas (10 ⁹ /L) [media (DE)]	195 (246)	199 (67)	0.89
Fibrinógeno (mg/dL), [mediana (RIC)]	349 (130)	343 (99)	0.70
Ferritina (ng/mL), [mediana (RIC)]	506 (652)	289 (407)	<0.01
Infección por el VHC [n (%)]	10 (14.9)	19 (9.4)	0.21
Infección por el VIH [n (%)]	11 (5.4)	3 (4.4)	0.74
VSG > 20 mm [n (%)]	39 (57.4)	61 (29.9)	<0.01
PCR > 5 mg/L [n (%)]	34 (50.0)	57 (27.9)	<0.01

Los valores de IL-6 en el cuartil más alto se asociaron con edad avanzada (52,5 años vs 49,7 años, todos los demás cuartiles, $p = 0,04$); mayor AST (75 vs. 53 U/l, $p < 0,01$), GGT (419 vs. 234 U/L, $p < 0,01$), VCM (98 vs. 94 fL, $p < 0,01$), bilirrubina (1.2 vs 0.8mg/dL, $p < 0,01$), ferritina (506 vs. 289 ng/mL, $p < 0,01$); VSG > 20mm (57,4 vs. 29,9%, $p < 0,01$) y PCR > 5mg/L (50 vs. 27,9%, $p < 0,01$); y paralelamente con un menor consumo de alcohol (148 vs. 174 g/d, $p = 0,02$), albúmina (37,9 vs. 40,2 g/dL, $p < 0,01$), hemoglobina (13,3 vs. 14,1 g/dL, $p < 0,01$), colesterol total (172 vs. 196 mg/dL, $p < 0,01$) y triglicéridos (110 vs. 155 mg/dL, $p < 0,01$).

Además, los pacientes en el cuartil más alto para cada marcador se asociaron con los cuartiles más altos para los otros 2 marcadores, como se muestra en la Tabla 18.

Tabla 18. Asociación bivariada de pacientes en los cuartiles más altos en cuanto a la expresión de CD163, sCD14 e IL-6.

	<u>Cuartil más elevado</u>	<u>Todos los demás valores</u>	<u>p-valor</u>
<u>Cuartil más elevado</u>	<u>CD163</u>		
sCD14 [n (%)]	38 (38.9)	35 (18.3)	<0.01
IL-6 [n (%)]	37 (39.4)	31 (17.3)	<0.01

sCD14			
CD163 [n (%)]	38 (38.9)	35 (18.3)	<0.01
IL-6 [n (%)]	26 (38.2)	42 (25.8)	<0.01
IL-6			
sCD163 [n (%)]	37 (39.4)	31 (17.3)	<0.01
sCD14 [n (%)]	26 (38.2)	42 (25.8)	<0.01

5.2.2 ESTUDIO 2

En el análisis univariado, la cocaína se asoció con una menor probabilidad de tener niveles plasmáticos de sCD163 en el cuartil más alto (odds ratio [OR] = 0,48, intervalo de confianza [IC] del 95 % = 0,26–0,91, $p = 0,02$), pero no con tener niveles de IL-6 o sCD14 en el cuartil más alto [OR (95 % IC=0,57 (0,28–1,16), $p=0,12$ y 0,73 (0,38–1,41), $p=0,73$; respectivamente].

Además, en el análisis univariado no se detectó asociación con el consumo de cannabis y tener niveles de IL-6, sCD163 o sCD14 en el cuartil más alto [OR (IC 95 % = 0,89 (0,46–1,76), $p = 0,75$; 1,45 (0,81-2,57), $p=0,20$; y 0,88 (0,46-1,69), $p=0,70$; respectivamente]. Tampoco se encontró una asociación entre el cannabis y consumo de cocaína y tener cualquiera de los marcadores plasmáticos en el cuartil más alto [OR (IC 95 % = 0,70 (0,27–1,78), $p = 0,45$; 0,87 (0,39–1,92), $p = 0,74$; y 0,51 (0,91–1,39), $p = 0,19$; respectivamente].

En el análisis de regresión logística multivariado (Figura 16) que se ajustó por género, edad y niveles de AST; no se detectaron asociaciones entre consumo de cocaína y niveles de marcadores de inflamación sistémica o activación monocitaria en el cuartil más alto. En el análisis ajustado, el consumo de cannabis fue asociado con una mayor probabilidad de tener niveles de sCD163 (es decir, un marcador de activación monocitaria) en el cuartil más alto (OR = 2,34, IC del 95 % = 1,07–5,15, $p = 0,03$). Sin embargo, el consumo de cannabis no se asoció con niveles de IL-6 o sCD14 en el cuartil más alto. No se encontró asociación entre el consumo concomitante de cocaína y tener niveles de marcadores de inflamación o activación monocitaria en el cuartil más alto.

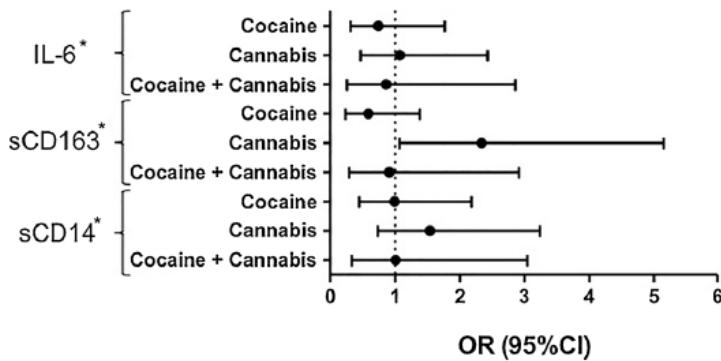


Figura 16. Resultados del análisis de regresión logística multivariado presenta los resultados del análisis de regresión multivariado.

5.2.3 ESTUDIO 3

Los participantes con fibrosis hepática avanzada tuvieron una mayor ingesta de alcohol al momento del ingreso (186 frente a 161 g/día, $p < 0,05$), una mayor duración del TUA (22,8 vs. 17,5 años, $p < 0,01$) y una mayor prevalencia de infección por VHC (23,6 vs. 9,3%, $p < 0,01$).

Como se observa en la Tabla 19, los pacientes con fibrosis hepática avanzada tenían niveles más elevados de sCD163 (944 vs. 638 ng/mL, $p < 0,01$), sCD14 ($1,9 \times 10^6$ vs. $1,7 \times 10^6$ pg/mL $p < 0,01$), LPB (55 frente a 35,4 pg/mL, $p = 0,04$), IL-6 (16,9 frente a 5,9 pg/mL, $p = 0,04$) e IL-10 (2,5 vs. 1,4 pg/mL, $p < 0,01$), pero valores medios de LPS más bajos (1272 vs. 1975 pg/mL, $p = 0,02$).

Tabla 19. Valores medios de los marcadores plasmáticos estratificados según la presencia de fibrosis hepática avanzada.

	<u>No fibrosis hepática avanzada</u>	<u>Fibrosis hepática avanzada</u>	<u>p-valor</u>
sCD163 (ng/mL)	638 (256)	944 (130)	<0.01
sCD14 ($\times 10^6$ pg/mL)	1.7 (0.5)	1.9 (0.5)	<0.01
IL-6 (pg/mL)	5.9 (13.9)	16.9 (48.0)	0.04
IL-10 (pg/mL)	1.4 (3.2)	2.5 (3.3)	<0.01
LPS (pg/mL)	1975 (2217)	1272 (2071)	0.02
LBP (pg/mL)	35.4 (46.0)	55 (71.3)	<0.01

En la tabla 20 se incluyen los resultados de los análisis de correlación ajustados por sexo, consumo de alcohol antes del ingreso y la presencia de infección por VHC. Como se puede observar los niveles de sCD163, sCD14, IL-6, IL-10 y LBP se correlacionaron directamente con los valores de FIB-4 (correlación ajustada coeficientes 0,214, 0,452, 0,317, 0,204 y 0,171, respectivamente) mientras que los niveles de LPS fueron asociados de forma inversa con los valores de FIB-4.

Tabla 20. Correlaciones ajustadas según niveles de FIB-4 y marcadores plasmáticos.

	<u>Coeficiente de correlación ajustado</u>	<u>p-valor</u>
sCD163	0.214	<0.01
sCD14	0.452	<0.01
IL-6	0.317	<0.01
IL-10	0.204	<0.01
LPS	-0.283	<0.01
LBP	0.171	<0.01

También se realizó un análisis de regresión logística ajustados para evaluar la asociación entre los niveles de marcadores plasmáticos en el cuartil más alto y la presencia de fibrosis hepática avanzada. Todos los análisis se ajustaron por sexo, consumo de alcohol y presencia de infección por VHC. Como se puede ver en la tabla 21, los niveles plasmáticos de todos los marcadores, excepto LPS, en el cuartil más alto se asociaron de forma significativa a la presencia de fibrosis hepática avanzada con un odds ratio ajustado que oscila entre 1,84 para IL-10 y 11,49 para sCD163. Por el contrario, los niveles de LPS en el cuartil más bajo se asociaron de forma significativa con la presencia de fibrosis hepática avanzada (odds ratio ajustado 2,58 (IC 95% 1,48–4,58), p < 0,01).

Tabla 21. Regresión logística para asociación de marcadores plasmáticos y fibrosis hepática avanzada

	<u>Odds Ratio ajustado (95%, intervalo de confianza)</u>	<u>p-valor</u>
sCD163	11.49 (6.42-20.56)	<0.01
sCD14	1.87 (1.11-3.16)	0.02
IL-6	2.99 (1.79-5.01)	<0.01
IL-10	1.84 (1.11-3.16)	0.02
LPS	1.09 (0.66-1.79)	0.74
LBP	2.13 (1.30-3.50)	<0.01

5.2.4 ESTUDIO 4

En el análisis estadístico, las mujeres tuvieron menores niveles de consumo de alcohol (150 vs. 184 g/día, $p<0,01$), menor duración del TUA (15 vs. 21 años, $p<0,01$), menor prevalencia de diabetes (6% vs. 14.5%, $p=0,01$) y de eventos cardiovasculares previos (4,8% vs. 12,1%, $p=0,03$), así como menor prevalencia de niveles plasmáticos de sCD163 e IL-10 en el cuartil más alto (16% vs. 17%, $p=0,02$ y 17% vs 26% $p=0,04$ respectivamente). No se encontraron otras diferencias asociadas al sexo.

En la tabla 22 se incluyen los resultados.

Tabla 22. Análisis descriptivo de las características clínicas y parámetros de laboratorio y marcadores estratificado por sexo.

<u>Variable</u>	<u>Hombres</u>	<u>Mujeres</u>	<u>p-valor</u>
Edad [media (DE)]	50.0 (9.8)	48.9 (10.5)	0.31
Consumo de alcohol y otras drogas			
Consumo de alcohol (g/día), [media (DE)]	184 (117)	150 (94)	<0.01
Duración del TUA (años), [media (DE)]	21.1 (11.4)	15.1 (10)	<0.01
Consumo de cocaína [n (%)]	6 (24.2)	30 (22)	0.79
Cannabis [n (%)]	62 (25)	21 (16.4)	0.12
Cocaína y Cannabis [n (%)]	58 (16.1)	13 (12.1)	0.32
Opiáceos [n (%)]	17 (6.9)	2 (1.4)	0.07
Factores de riesgo cardiovascular			
Hipertensión arterial [n (%)]	137 (38.3)	33 (31.1)	0.18
Índice masa corporal [media (DE)]	26.4 (5.1)	26.2 (5)	0.86
Diabetes Mellitus [n (%)]	52 (14.5)	6 (5.7)	0.02
Dislipemia [n (%)]	176 (49.9)	33 (31.1)	0.68
Antecedente de evento cardiovascular [n (%)]	43 (12.1)	5 (4.8)	0.03
Parámetros de laboratorio			
Colesterol total (mg/dL), [media (DE)]	243 (9.9)	201 (50)	0.66
Creatinina (mg/dL), [media (DE)]	0.84 (0.55)	0.73 (0.61)	0.18
Glucosa (mg/dL), [media (DE)]	95 (36)	92 (32)	0.46
Marcadores de activación monocitaria, inflamación crónica y translocación bacteriana en su cuartil más elevado			
sCD163	125 (35)	25 (32.2)	0.02

sCD14	83 (23.2)	33 (30.6)	0.12
IL-6	87 (25.2)	25 (24)	0.81
IL-10	95 (27.5)	18 (17.3)	0.04
LPS	80 (26.7)	18 (19.1)	0.14
LBP	79 (26.4)	18 (19.1)	0.22

Paralelamente en las tablas 23a y 23b se comparan las medias de los marcadores según la presencia o no de factores de riesgo cardiovascular y evento cardiovascular previo al ingreso observando que, las medias de los niveles de sCD163 eran más elevados en pacientes con hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo 2 tanto insulinizados como no insulinizados y con evento cardiovascular previo en comparación de los que no presentaban esa condición. Paralelamente la media de los niveles de IL-6 e IL-10 se mostraron más elevados en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 insulinizados. Por el contra los pacientes sin hipertensión arterial presentaban niveles más elevados de sCD14.

Tabla 23a.

	HTA			DM tipo 2			DM tipo 2 con insulina		
	No	Si	p-valor	No	Si	p-valor	No	Si	p-valor
sCD163	727,77	793,34	0,02	734,21	862,33	<0,01	742,52	871,11	0,02
sCD14	1,87	1,76	0,02	1,83	1,80	0,33	1,83	1,90	0,29
IL-6	8,90	6,99	0,21	8,13	8,68	0,44	7,04	26,84	<0,01
IL-10	1,43	1,59	0,30	1,45	1,77	0,23	1,41	2,56	0,02
LPS	1505,51	1409,96	0,32	1466,36	1486,28	0,47	1466,78	1507,49	0,46
LPB	42,64	43,46	0,44	43,55	38,65	0,26	42,56	50,65	0,24

Tabla 23b.

	Dislipemia			Antecedente evento cardiovascular		
	No	Si	p-valor	No	Si	p-valor
sCD163	754,53	750,80	0,46	753,63	718,40	<0,01
sCD14	1,87	1,80	0,11	1,85	1,71	0,06
IL-6	9,99	6,47	0,07	6,99	7,60	0,77
IL-10	1,59	1,40	0,24	1,51	1,36	0,88
LPS	1316,51	1618,44	0,06	1467,79	1487,77	0,87
LPB	42,16	44,20	0,34	42,31	40,22	0,88

6. DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

Los pacientes con TUA ingresados para desintoxicación presentan niveles más elevados de marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana y en ocasiones cuando se asocian a otras sustancias como el cannabis algunos marcadores como el sCD163 también presentan dicha asociación. Parámetros analíticos como los niveles altos de glucosa, AST, GGT, VCM, PCR o los niveles bajos de hemoglobina también se asocian con los distintos marcadores de inflamación sistémica como la IL-6 y activación monocitaria como el sCD14 o el CD163.

La presencia de estos marcadores elevados de inflamación sistémica y activación monocitaria sumados a los niveles elevados de LBP y disminuido de LPS siendo éstos marcadores de translocación bacteriana, se asocian a fibrosis hepática avanzada medida a través del FIB-4.

Las mujeres presentan una menor prevalencia de diabetes mellitus y evento cardiovascular previo con niveles más bajos de sCD163 e IL-10, todo ello con un menor consumo de alcohol y una duración más corta del TUA.

6.1. MARCADORES DE INFLAMACIÓN SISTÉMICA Y ACTIVACIÓN MONOCITARIA EN EL TUA

En el estudio 1 descrito previamente una proporción de pacientes con TUA ingresados para desintoxicación hospitalaria presentó en su cuartil más elevado marcadores de inflamación sistémica y activación monocitaria. El análisis de regresión multivariante reveló que los niveles de glucosa, AST y bilirrubina, así como la infección por VHC, se asociaron de forma positiva con los niveles elevados de CD163 en el cuartil superior, marcador relacionado con la activación monocitaria. Paralelamente, los niveles de hemoglobina se asociaron de manera inversa con los niveles de CD163 en el cuartil superior.

Además, el consumo de alcohol antes del ingreso, un VCM más alto, niveles de colesterol más bajos y una PCR >5 mg/l se asociaron con la expresión de IL-6 en el cuartil superior, lo cual pone de manifiesto una inflamación sistémica.

La asociación entre niveles más bajos de hemoglobina y niveles más altos de CD163, así como la asociación entre niveles más altos de VCM y niveles más altos de IL-6, merece una mención especial, ya que en un estudio previo realizado en pacientes con TUA ingresados para deshabituación hospitalaria en nuestra Unidad de desintoxicación, aquellos en las que se detectaba la presencia de un VCM elevado y anemia se asociaron con un aumento de la mortalidad (80).

Los niveles elevados de glucosa, AST y GGT los niveles de triglicéridos y una PCR >5 mg/L se asociaron positivamente con la producción de sCD14 en el cuartil superior.

Por lo tanto, las anomalías metabólicas y los niveles elevados de AST (parámetros sugestivos de hepatopatía alcohólica subclínica), se asociaron con la activación

monocitaria. A pesar de que la población del estudio no presentaba hepatopatía terminal manifiesta o conocida, los resultados de laboratorio en relación a los niveles elevados de AST, GGT y ALT, pueden sugerir la presencia de daño hepático en una etapa temprana. En estudios previos de nuestra cohorte de pacientes con TUA ingresados para tratamiento de desintoxicación hospitalaria, las complicaciones hepáticas fueron una causa importante de mortalidad (81), y además los pacientes presentaron anomalías ecográficas sugestivas de daño hepático (78) sin que presentaran manifestaciones clínicas de hepatopatía crónica.

La asociación entre los niveles de CD163 en el cuartil más alto y la infección por VHC es de interés, al igual que otras asociaciones bien caracterizadas entre la infección por VHC y el consumo de alcohol (como el aumento de la citotoxicidad, deterioro de la respuesta inmunitaria, aumento del estrés oxidativo, aumento de los depósitos de hierro y progresión de la lesión hepática) (82). Estas asociaciones patológicas explicar en parte la menor supervivencia de los pacientes con TUA con infección por VHC concomitante (83). Por lo tanto, el tratamiento del VHC y el cese por completo del consumo de alcohol debería ser una prioridad en estos pacientes. A pesar de ello cabe destacar que el consumo de alcohol sigue siendo una de las principales razones subyacentes a la no prescripción del tratamiento del VHC (84); aunque se ha visto que el consumo de alcohol no afecta negativamente al objetivo de conseguir una respuesta viral sostenida (85).

Por otro lado, los niveles elevados de glucosa sugieren una posible resistencia a la insulina, y la mediana del IMC en la población del estudio fue de 25,6; por lo que más de la mitad de los pacientes incluidos en este estudio presentaban sobrepeso. Estos datos junto con la asociación entre niveles elevados de triglicéridos y niveles de sCD14 en el cuartil superior sugiere la presencia de síndrome metabólico. En este contexto es conocida la asociación entre el síndrome metabólico y la esteatosis hepática no alcohólica, que comparten algunas vías patogénicas con la hepatopatía alcohólica (86), con el consecuente impacto doble de la hepatopatía en pacientes con elevado consumo de alcohol y la presencia de obesidad o sobrepeso (87,88). Por lo tanto, las anomalías metabólicas deben abordarse y tratarse de forma prioritaria junto con el TUA en estos grupos de pacientes para disminuir el riesgo de progresión a enfermedad hepática (86).

Hay estudios donde se han evidenciado niveles de sCD14 más elevados en aquellos que presentaban esteatohepatitis no alcohólica en comparación a los que presentaban hígado graso no asociada al consumo de alcohol lo que puede sugerir los niveles de sCD14 elevados puedan tener relación con mayor inflamación hepática y estadios más avanzados de hepatopatía. (89,90).

Nuestros resultados (ver tabla 18) indican que los pacientes con un marcador en el cuartil más elevado (CD163, sCD14 o IL-6) tenían una mayor probabilidad de tener los otros dos marcadores también en el cuartil más elevado. En un estudio que incluyó a 97 con consumo muy elevado de alcohol y 51 sujetos de control, se observaron asociaciones positivas entre los niveles de CD163, sCD14 e IL-6 y la cantidad de alcohol consumido (91). Otros estudios han reportado niveles más altos de sCD14 e IL-6 en pacientes con TUA, en comparación con controles sanos (92,93,94) y niveles reducidos de marcadores de inflamación y permeabilidad intestinal después de 2 a 3 semanas de abstinencia alcohólica (95,96).

Este estudio no reporta una asociación entre la cantidad de consumo de alcohol y los niveles de CD163 y sCD14, probablemente porque nuestra cohorte representa los casos más extremos de pacientes con TUA que requieren desintoxicación hospitalaria, con altas tasas de consumo de alcohol al ingreso (mediana de 142 g/día; RIC de 100 a 220g/día) y con un largo período de TUA y además no se incluyó una cohorte de sujetos de control sanos, ni de personas con un consumo de alcohol leve o moderado.

Además, el análisis multivariante reveló una asociación entre una menor ingesta de alcohol y la probabilidad que los niveles de IL-6 se encontraban en el cuartil más alto ($p = 0,04$). Este hallazgo, si bien algo contradictorio, podría explicarse por una causalidad inversa, según la cual los pacientes con TUA con niveles más altos de IL-6, compatibles con inflamación sistémica, podrían consumir “menos” alcohol debido a que su salud física general probablemente sea peor.

En un meta-análisis de 2022 Moura y sus colaboradores (97) analizaron 23 estudios donde comparaban los niveles de 14 citoquinas en pacientes con TUA versus pacientes sanos. Se incluyeron un total de 627 de pacientes con TUA y 686 de pacientes sanos se incluyeron, excluyendo a aquellos pacientes con enfermedades autoinmunitarias, comorbilidad elevada, tratamiento inmunosupresor/immunomodulador o diagnóstico incierto de TUA. Los resultados mostraron de forma estadísticamente significativa que únicamente los niveles de IL-6 eran más elevados en los pacientes con TUA que en los controles sanos, sin haber diferencias en las otras citoquinas.

6.2. MARCADORES DE ACTIVACIÓN MONOCITARIA EN PACIENTES CON TUA Y CONSUMO DE CANNABIS

En el estudio 2 los pacientes con TUA ingresados para desintoxicación, el consumo concomitante de cannabis se asoció con niveles de sCD163 en el cuartil superior, lo cual es consistente con el aumento de la activación monocítica. La asociación entre el consumo de cannabis y los marcadores de activación monocitaria ha sido poco estudiada. En un estudio con pacientes consumidores de metanfetamina infectados por VIH, Vidot y sus colaboradores los consumidores de cannabis tenían niveles más altos de sCD14 respecto a los no consumidores, pero no encontraron una asociación entre el consumo de cannabis y sCD163 (98). Por el contrario, en nuestro estudio encontramos una asociación entre el consumo de cannabis y los niveles de sCD163 en el cuartil superior, pero no entre el consumo de cannabis y los niveles de sCD14 en el cuartil superior. Los niveles más altos de sCD163 en este tipo de pacientes podrían reflejar una activación monocitaria que no solo pone de manifiesto la respuesta mediada por LPS, sino también el daño tisular causado por el alcohol y sus metabolitos, mecanismo importante en la patogénesis de la hepatopatía alcohólica.

Los niveles elevados de sCD163 reflejan la activación de los macrófagos, monocitos y de las células de Kupffer en respuesta a estímulos inflamatorios y se han encontrado asociaciones con fibrosis hepática en pacientes con hepatitis viral (99), infección por VIH (100) y enfermedad del hígado graso no alcohólico (101). Además, los niveles elevados de sCD163 se han asociado también con una mayor mortalidad en pacientes con VIH (102) y pacientes con hepatitis alcohólica (47).

Un estudio brasileño en 2019 con pacientes con VIH reveló que el consumo de cannabis se asociaba a un perfil antiinflamatorio, mientras que el consumo de cocaína se asociaba con un aumento de los niveles del factor de necrosis tumoral α . Los pacientes que consumían tanto cannabis como cocaína presentaban un perfil mixto con predominio de citoquinas inflamatorias (103). Estos resultados dispares entre estos dos estudios y nuestra serie de pacientes con TUA ingresados para desintoxicación podrían atribuirse a las características basales de las poblaciones estudiadas sobretodo en cuando a comorbilidades como la presencia de VIH y el tipo y el patrón de consumo de las sustancias. Por ejemplo, todos los participantes en los estudios de Vidot y Castro tenían infección por VIH, la cual es conocida su asociación con la activación inmunitaria (102,104). Además, el patrón de consumo de sustancias también fue diferente entre los participantes del estudio. En el estudio Vidot, todos los participantes eran hombres consumidores de metanfetamina (98), mientras que en el estudio Castro, 21 de los 62 participantes consumían cannabis; 8 consumían cocaína y 13 consumían cannabis y cocaína (103). Respecto al consumo de alcohol, que fue universal en esta serie de casos, no se reportó en el estudio Castro (103) mientras que la medida del consumo de alcohol en el estudio Vidot fue la puntuación de índice de severidad de adicción en relación al alcohol (98), que no se asocia con los niveles de sCD14 o sCD163.

Respecto otros marcadores, pese a que los niveles medios de IL-6 fueron mayores en quienes consumían cannabis y alcohol en comparación con quienes solo consumían alcohol, el cannabis no se asoció con niveles de IL-6 o sCD14 en el cuartil superior en el análisis de regresión ajustado.

El cannabis es la tercera droga más consumida en el mundo, después del alcohol y el tabaco (105) y la 4^a en España tras el alcohol, el tabaco y los hipnosedantes (2) (Figura 17). La prevalencia del consumo de cannabis está aumentando en los últimos años (106) y además el consumo es legal en varios países, incluido Estados Unidos (107) y es probable que siga aumentando en el futuro próximo. Aunque cabe decir los problemas médicos relacionados con el cannabis no son tan comunes como los relacionados con el consumo de cocaína o heroína (108).

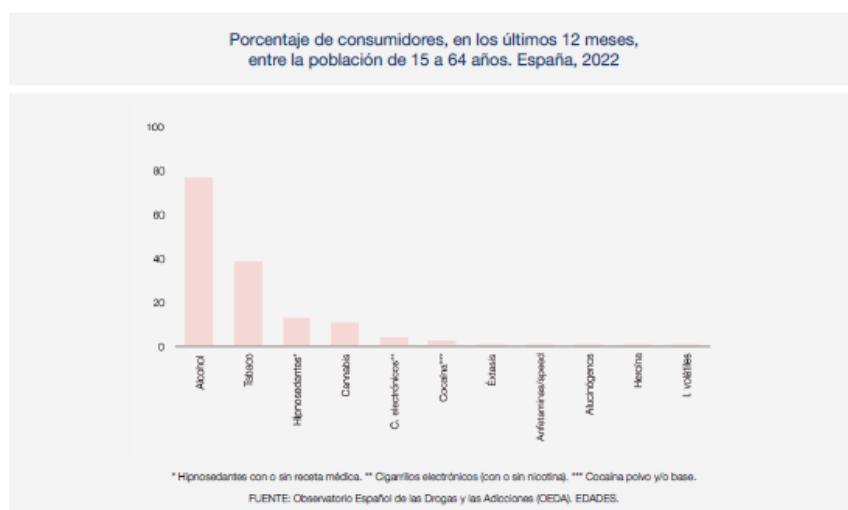


Figura 17. Porcentaje de consumo de drogas en España en los últimos 12 meses de población entre 15-64 años. Fuente: Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones. Informe 2023. Alcohol, tabaco y drogas ilegales en España. Madrid: Ministerio de Sanidad. Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas; 2023. 270 p.

A día de hoy hasta donde sabemos, ningún estudio previo a la publicación ha investigado el impacto adicional del consumo de cannabis en la activación inmunitaria y la inflamación sistémica en pacientes con un consumo perjudicial de alcohol. Los hallazgos actuales podrían sugerir que el consumo concomitante de cannabis en pacientes con TUA, junto con la presencia de niveles elevados de marcadores de activación monocitaria como el sCD163, puede conllevar un mayor riesgo de mortalidad y otros problemas relacionados con la salud, por lo que estos pacientes podrían requerir un seguimiento más intensivo e iniciar medidas precoces para fomentar la abstinencia tanto del consumo de cannabis como del alcohol. Abordar el consumo de cannabis en pacientes con otros trastornos por uso de sustancias puede ser difícil, ya que no existen tratamientos farmacológicos dirigidos y las terapias no farmacológicas utilizadas han mostrado resultados dispares en cuanto a la disminución del consumo de cannabis (109).

En este estudio no se detectó una asociación entre el consumo de cocaína y los otros marcadores de activación monocitaria o inflamación sistémica en esta serie de pacientes. De hecho, en el análisis univariante, el consumo de cocaína se asoció con una menor probabilidad de presentar niveles de sCD163 en el cuartil superior, asociación que no se produjo en el análisis de regresión logística ajustado. En este estudio, nuestro objetivo fue evaluar el efecto adicional del consumo de cocaína y/o cannabis sobre IL-6, sCD163 y sCD14 en pacientes con TUA grave. Conocemos que el TUA se asocia con un aumento marcadores de inflamación sistémica y activación monocitaria, a los que se le añaden ciertos factores de riesgos de que también provocan mayor inflamación y activación monocitaria, como un IMC relativamente alto, niveles elevados de enzimas hepáticas y una proporción considerable de infección por VHC como se describe en el estudio 1. Por lo tanto, determinar el efecto aislado del consumo concomitante de cocaína sobre la inflamación y la activación de monocitos puede ser difícil. Por lo tanto, el efecto perjudicial del consumo de cocaína en pacientes con TUA podría atribuirse a otros mecanismos además de los implicados en la patogénesis de la hepatopatía alcohólica (110).

6.3. MARCADORES DE INFLAMACIÓN SISTÉMICA, ACTIVACIÓN MONOCITARIA Y TRANSLOCACIÓN BACTERIANA EN PACIENTES CON TUA Y SU ASOCIACIÓN CON FIBROSIS HEPÁTICA

En esta serie de pacientes con TUA sin enfermedad hepática conocida ingresados para tratamiento hospitalario de desintoxicación, los niveles de marcadores plasmáticos compatibles con un aumento de la inflamación sistémica, un aumento de la activación monocitaria y un aumento de LBP se asociaron con la presencia de fibrosis hepática avanzada.

En particular, los niveles de IL-6, IL-10, sCD14, sCD163 y LBP en el cuartil superior y los niveles de LPS en el cuartil inferior se asociaron con la fibrosis hepática avanzada medida con FIB-4.

Se observaron las mismas asociaciones cuando los niveles de marcadores se correlacionaron con FIB-4 como variable continua. Los niveles de IL-10, sCD14, sCD163 y LBP se correlacionaron directamente con los valores de FIB-4, mientras que los niveles de LPS se correlacionaron negativamente con FIB-4. Todos los análisis que detectaron estas asociaciones se ajustaron por sexo, consumo de alcohol antes del ingreso y presencia de infección por VHC. Cabe destacar que, en esta población de estudio, los pacientes con fibrosis hepática avanzada presentaban un mayor consumo de alcohol antes del ingreso y una mayor prevalencia de infección por VHC.

Como se mencionó anteriormente, los niveles de LPS se correlacionaron negativamente con los valores de FIB-4, y los niveles de LPS en el cuartil inferior se asociaron con una mayor probabilidad de fibrosis hepática avanzada. Estos hallazgos sugieren que niveles más altos de LPS podrían indicar que la translocación bacteriana ocurre principalmente en una fase temprana de la patogenia de la enfermedad hepática asociada al alcohol, cuando los pacientes aún no han desarrollado fibrosis hepática significativa. La activación monocitaria, la inflamación sistémica y los niveles más altos de LBP no se producen tanto en las primeras etapas de la enfermedad hepática asociada al alcohol, sino en etapas posteriores, razón por la cual todos estos marcadores se asociaron con valores más altos de FIB-4 y con una mayor probabilidad de valores de FIB-4 sugestivos de la presencia de fibrosis hepática avanzada.

La asociación entre los niveles de IL-6 y la fibrosis hepática se ha descrito previamente en una cohorte de pacientes con VIH con consumo perjudicial de alcohol (111) y en otras cohortes de pacientes con VIH o VHC (112). Sin embargo, estudios previos no detectaron una asociación entre los niveles de IL-10 y los marcadores no invasivos de fibrosis hepática (111). La asociación entre los marcadores inflamatorios y la fibrosis hepática es de interés, ya que tanto los niveles elevados de IL-6 como los valores de FIB-4 compatibles con fibrosis hepática avanzada se han asociado con una mayor mortalidad y otros problemas de salud en diferentes entornos (113,114,115).

Otros autores han demostrado que los marcadores de activación monocitaria, especialmente el sCD14, también se han asociado con la mortalidad y otras complicaciones asociadas en pacientes con VIH (116,117). En un estudio realizado en pacientes con infección crónica por VHB o VHC, Sandler y sus colaboradores vieron que, los niveles elevados de sCD14 se correlacionaban con los niveles de AST y ferritina, lo que, según los autores, indicaba inflamación hepática (118). En ese mismo estudio, los niveles elevados de sCD4 se correlacionaron con la GGT, la FA y la alfa-fetoproteína, lo que, según los autores, indicaba cierto grado de fibrosis hepática (118). Desconocemos otro estudio que haya estudiado la asociación entre marcadores plasmáticos de activación monocitaria, translocación bacteriana y fibrosis hepática en pacientes con TUA.

Sí que se han estudiado los niveles de LPS en pacientes con TUA y parecen disminuir con la abstinencia alcohólica (119,93). Los niveles elevados de LBP se asocian con la mortalidad en pacientes con cirrosis descompensada o hepatitis aguda alcohólica (120) y parecen disminuir con el uso de betabloqueantes en pacientes con hipertensión portal (121). Sin embargo, los niveles en pacientes con TUA sin enfermedad hepática manifiesta no han recibido mucha atención en la literatura. Nuestros hallazgos respaldan el uso del LBP como marcador indirecto de translocación bacteriana en pacientes con

TUA. Además, ningún otro estudio ha evaluado la asociación entre los niveles de LPS y LBP y la fibrosis hepática avanzada.

Es importante destacar que nuestros hallazgos, además, subrayan que la activación monocitaria, la inflamación sistémica y la translocación bacteriana están presentes en pacientes con TUA ingresados para tratamiento hospitalario, pero sin enfermedad hepática terminal o descompensada conocida, y que estos niveles se asocian con los valores de FIB-4 y la presencia de fibrosis hepática avanzada evaluada con medidas no invasivas. Estos hallazgos pueden sugerir que los pacientes con valores de FIB-4 sugestivos de fibrosis deben recibir de forma prioritaria un tratamiento y un seguimiento más intensivo para asegurar la abstinencia alcohólica, ya que conseguir esta abstinencia se asocia con una mayor supervivencia incluso en aquellos sujetos que ya presentan formas avanzadas de enfermedad hepática relacionada con el alcohol (122).

6.4 TRASTORNO POR USO DE ALCOHOL EN MUJERES Y RELACIÓN DE FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR CON MARCADORES DE INFLAMACIÓN SISTEMICA, ACTIVACIÓN MONOCITARIA Y TRANSLOCACIÓN BACTERIANA

En este estudio, donde la mayoría de los pacientes con TUA ingresados para deshabituación son de sexo masculino, las mujeres presentaron un menor consumo de alcohol, una duración más corta del TUA, una menor prevalencia de diabetes y de evento cardiovascular previo, así como niveles más bajos de sCD163 e IL-10.

El consumo de alcohol entre hombres y mujeres ha sido ampliamente estudiado desde distintos puntos de vista respecto a sus diferencias, tanto a nivel epidemiológico como a nivel complicaciones asociadas. En España la prevalencia y el patrón de consumo en sujetos de 15 a 64 años son distintos, siendo todavía el sexo masculino el sexo con mayor prevalencia en cuanto al consumo en alguna ocasión en los últimos 12 meses (82.1% varones vs 70.8% mujeres), los últimos 30 días (73.1% en varones vs 55.7% mujeres), y en las intoxicaciones etílicas agudas en los últimos 12 meses (21.5% varones vs 11.9% mujeres), aunque entre los 15 y 24 años las diferencias son mucho menos marcadas en el consumo los últimos 12 meses (77.3% vs 75.1%) y los últimos 30 días (65.2% vs 60%) (Figura 18) (2).

En nuestra experiencia en la Unidad de Adicciones destaca que el porcentaje de pacientes ingresadas para deshabituación es proporcionalmente mucho menor que los hombres (alrededor de un 25%), con un consumo de alcohol menor total y una duración del TUA menor. Esto puede sugerir que las mujeres presentan un mayor impacto derivado del consumo perjudicial de alcohol con una menor cantidad consumida y un menor tiempo total consumido en comparación con los hombres. Estos datos concuerdan con los descritos por otros autores incidiendo además en que el tiempo transcurrido entre el inicio del consumo problemático y la aparición de complicaciones derivadas es más corto en las mujeres que en los hombres (123, 124).

Se han descrito diferentes hipótesis para explicar estas diferencias, como pueden ser una menor educación, disponer de menores ingresos, un mayor desempleo, la presencia de más hijos viviendo en casa o un mayor estrés parental. (125). Además, las mujeres experimentan barreras tanto internas como externas para el tratamiento del TUA como podría ser la baja percepción de la necesidad de tratamiento, la culpabilidad y la vergüenza derivadas del consumo de alcohol o la visión social de las mujeres con TUA (126). Otro aspecto diferencial es que las mujeres presentan mayor prevalencia de trastornos mentales como la depresión o la ansiedad (126).

15-64 años			15-24 años			25-34 años			35-44 años			45-54 años			55-64 años			
T	H	M	T	H	M	T	H	M	T	H	M	T	H	M	T	H	M	
Alguna vez en la vida	93,2	94,9	91,4	85,3	85,7	84,9	94,7	96,5	92,8	94,2	95,9	92,6	94,9	96,7	93,2	94,5	97,5	91,6
Últimos 12 meses	76,4	82,1	70,8	76,2	77,3	75,1	81,1	86,4	75,8	77,0	84,0	70,1	76,5	82,5	70,4	72,0	79,5	64,7
Últimos 30 días	64,5	73,1	55,7	62,7	65,2	60,0	68,2	75,8	60,5	65,1	75,6	54,7	64,8	74,3	55,2	61,6	72,8	50,7
Diariamente en los últimos 30 días	9,0	14,6	3,5	1,3	1,9	0,7	4,7	7,4	1,9	8,1	12,8	3,5	11,1	18,1	4,0	16,8	27,6	6,1
Nunca	6,8	5,1	8,6	14,7	14,3	15,1	5,3	3,5	7,2	5,8	4,1	7,4	5,1	3,3	6,8	5,5	2,5	8,4

T = Total; H = Hombres; M = Mujeres.

Figura 18. Prevalencia del consumo de bebidas alcohólicas entre la población de 15-64 años según sexo y Edad (%), España 2022. Fuente: Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones. Informe 2023. Alcohol, tabaco y drogas ilegales en España. Madrid: Ministerio de Sanidad. Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas; 2023. 270 p.

La asociación de marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana en pacientes con TUA sin enfermedad hepática según el sexo ha muy sido poco estudiada en la literatura. En 2018 Irina A y su grupo de trabajo de Kentucky (127) estudiaron en una cohorte de 48 pacientes (34 varones y 14 mujeres) con TUA sin enfermedad hepática conocida admitidos para un programa de desintoxicación la asociación de distintos marcadores de daño hepático (ALT, AST, CK18 M65, CK18 M30 y la proteína transportadora de ácidos grasos del hígado (LFABP)), inflamación sistémica (TNF α) y translocación bacteriana (LPS, LPB y flagelina) al momento del ingreso, en el octavo día y al quinceavo día del ingreso observando que el 69% del total tenían marcadores de daño hepático elevado, presentando las mujeres niveles más elevados de los mismos con un consumo menor de alcohol y de menor tiempo de TUA. Este fenómeno de la susceptibilidad aumentada de las mujeres a presentar lesión hepática inducida por alcohol, ha sido descrita previamente (128), observándose que en las mujeres consumidoras de alcohol presentan una actividad menor de la ADH en la mucosa gástrica comparativamente con los hombres (129), añadiendo probablemente un efecto hormonal de los estrógenos (130).

Además, en el estudio de Irina A y su grupo también observaron una correlación entre aquellos pacientes varones con aumento de marcadores de daño hepático (especialmente ALT) con niveles más elevados LPS y que éste último disminuía de forma progresiva con la abstinencia.

En nuestro estudio en el análisis no ajustado, la media de sCD163 era significativamente mayor tanto en pacientes con hipertensión, diabetes mellitus tipo 2 y/o antecedente de evento cardiovascular. Este biomarcador de activación monocitaria se ha relacionado con la fisiopatología de la diabetes mellitus por sus asociaciones positivas en el riesgo de desarrollo de dicha enfermedad (131), su implicación en la resistencia insulínica (132,133) y la obesidad (133). En cohortes de pacientes con VIH los niveles elevados plasmáticos elevados de sCD163 se han asociado con diversos factores de riesgo cardiovascular (edad, colesterol HDL, IMC) y con un aumento en la puntuación del riesgo cardiovascular en la escala de Framingham y la formación de arterioesclerosis (134).

La media valores de IL-6 fue significativamente mayor en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 insulinizados. El uso de insulina sugiere un peor control metabólico de la diabetes mellitus. Los niveles elevados de IL-6 se han asociado también a la obesidad, a la resistencia insulínica (135) y en dos grandes cohortes poblacionales sin enfermedad cardiovascular conocida se asociaron con una mayor incidencia de enfermedad coronaria durante el seguimiento a largo plazo (136). En un estudio de 2014 de Gordon Lowe y su equipo proporcionó la primera evidencia donde los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y niveles elevados de IL-6 presentaron asociaciones significativas en cuanto a complicaciones macrovasculares y mortalidad (137).

La combinación de la presencia de TUA, diabetes mellitus y elevación de sCD163 y/o IL-6 podría sugerir que este paciente podría tener un riesgo aumentado de desarrollo de complicaciones cardiometabólicas en un futuro.

6.5. FORTALEZAS Y LIMITACIONES

Las fortalezas de los estudios realizados incluyen el amplio tamaño de la cohorte y una recogida de datos extensa en cuanto a comorbilidades, parámetros clínicos y analíticos del paciente que permiten la detección de la asociación entre las características clínicas y de laboratorio, así como los marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana.

Los estudios transversales como los descritos anteriormente suelen tener habitualmente menor valor para poder establecer causalidad en comparación con los retrospectivos, sin embargo, tienen especial utilidad para definir necesidades de salud de una población en un tiempo concreto, siendo así en muchas ocasiones el primer paso para poder realizar futuras investigaciones más detalladas.

Los estudios realizados presentan algunas limitaciones.

En primer lugar, una limitación es la ausencia de grupo control de sujetos sanos para su comparación, por lo que se consideró que los valores del cuartil más alto de los biomarcadores caracterizaban mejor a los pacientes con anomalías de laboratorio más evidentes. Además, la mayoría de pacientes incluidos en nuestros estudios son varones con una representación del 77% (tasa similar a lo descrito en la literatura en otras series) por lo que algunos de los resultados obtenidos podrían estar influidos por estas diferencias de sexo y aplicarían a pacientes con TUA grave mayoritariamente de sexo masculino.

Cabe destacar que el análisis de los biomarcadores se realizó una única vez el segundo día del ingreso, y éstos podrían disminuir tras periodos de abstinencia alcohólica más prolongados.

En relación a los biomarcadores seleccionados únicamente se analizó un biomarcador anti-inflamatorio (IL-10). Existen otros biomarcadores de inflamación sistémica, por lo que el panel de biomarcadores se podría ampliar en investigaciones futuras para profundizar en el estudio de la respuesta inflamatoria y su comportamiento en este tipo de pacientes.

En los estudios se incluyeron pacientes con VHC y VIH, dos infecciones que se sabe que se asocian tanto con la inflamación como con la activación monocitaria, aunque en ninguno de ellos la prevalencia fuera superior al 13%. La prevalencia observada en nuestra muestra es similar a la de otras cohortes de pacientes con TUA en países industrializados, donde no es extraño el consumo de opiáceos previo al desarrollo del consumo de alcohol perjudicial.

Otro aspecto a tener en cuenta es que para estimar la fibrosis hepática avanzada se utilizó el índice FIB-4. Esta herramienta no se ha validado frente al estándar de oro como es la biopsia hepática para la hepatopatía alcohólica (138). Cabe señalar que la elastografía hepática no estaba disponible en nuestra institución en el momento de realización de estos estudios y que el FIB-4 ha sido ampliamente utilizado en cohortes de pacientes con trastorno por uso de sustancias en las que la realización de una biopsia hepática es poco plausible.

Cabe destacar que los pacientes incluidos en los estudios son pacientes con las formas más graves del consumo de alcohol, con una mediana de consumo de alcohol de 140-142 g/día previo al ingreso; por lo tanto, los hallazgos encontrados no serían de entrada extrapolables a aquellos pacientes con consumo de alcohol leve-moderado.

Por último, aunque se realizaron análisis multivariados ajustados por diversos factores, pueden existir confusores residuales. Así, se requerirá de más estudios de investigación para entender toda la complejidad de las asociaciones de los diferentes marcadores plasmáticos de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana en pacientes con TUA grave que requieren desintoxicación hospitalaria.

7. CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones derivadas de esta tesis doctoral son las siguientes:

1-Los niveles de marcadores de inflamación sistémica (IL-6) y de activación monocitaria (CD163 y sCD14) en el cuartil más elevado se asocian con niveles más elevados de glucosa, enzimas hepáticas y lípidos, a la infección por VHC y a niveles de PCR >5 mg/L, lo que permite identificar potencialmente a los pacientes con TUA con alto riesgo de peor pronóstico a medio plazo.

2-En nuestra serie de casos de pacientes con TUA, el consumo concomitante de cannabis se asoció con la presencia de niveles de sCD163 en el cuartil más elevado, lo que es compatible con mayor activación monocitaria.

3-En los pacientes ingresados con TUA ingresados para desintoxicación, los niveles más altos de marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana y los niveles más bajos de LPS, se asocian con valores más elevados de FIB-4. Asimismo, la presencia de fibrosis hepática avanzada según el FIB-4, se asoció a valores de marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria y translocación bacteriana en su cuartil más elevado.

4-Los pacientes con TUA ingresados para desintoxicación hospitalaria presentan un menor consumo de alcohol, una duración más corta del TUA, una menor prevalencia de diabetes mellitus y de evento cardiovascular previo, así como niveles más bajos de sCD163 e IL-10. La presencia de diabetes mellitus tipo 2 o de antecedente de evento cardiovascular en pacientes con TUA se asocia con una media de sCD163 más elevada, además, los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 insulinizados presentan una media tanto de IL-6 como de IL-10 más elevada.

CONCLUSIONES

8. LÍNEAS DE FUTURO

8. LÍNEAS DE FUTURO

La realización de esta tesis doctoral puede permitir en base a los resultados obtenidos, la posibilidad de generar nuevas hipótesis, líneas de investigación y profundizar más sobre los temas tratados.

En términos generales, los marcadores de inflamación sistémica, activación monocitaria, translocación bacteriana y permeabilidad intestinal son áreas de investigación en auge, con un gran número de estudios publicados en los últimos años y no solo en el ámbito del consumo de alcohol, sino en otras áreas como las enfermedades hepáticas no relacionadas con el consumo de alcohol, la diabetes mellitus, la obesidad, la insuficiencia cardíaca y las enfermedades sistémicas.

A pesar de ello, se desconocen todavía algunos aspectos de la fisiopatología y el impacto que tienen estos marcadores en cuanto al riesgo de desarrollo o de progresión de las enfermedades, en especial en los pacientes con TUA.

El conocer mejor estos mecanismos fisiopatológicos y la implicación que puede tener la presencia elevada de estos marcadores en los pacientes con TUA sin enfermedad hepática conocida puede ser importante para poder predecir un posible impacto futuro en cuanto a mayor riesgo otras enfermedades como las cardiovasculares o incluso como factor pronóstico de mortalidad. Es conocido que, por ejemplo, las enfermedades sistémica inflamatorias o autoinmunes se asocian a un mayor riesgo cardiovascular y existen estrategias de prevención para ello.

Los pacientes con TUA de nuestros estudios, son en sí una población especial, con características distintas a la población general con abstinencia para el consumo de alcohol o con un consumo leve-moderado o incluso aquellos con enfermedad hepática conocida ya establecida asociada al consumo de alcohol.

A día de hoy en los pacientes con TUA no existe una estrategia definida de prevención, ni de tratamiento precoz del desarrollo de las posibles comorbilidades más allá de las recomendaciones aplicadas a la población general, ni tampoco de seguimiento. A nivel farmacológico la aplicación de terapias antiinflamatorias como el uso de corticoides en ciertos pacientes con hepatitis aguda asociada al consumo de alcohol es habitual en nuestra práctica diaria. A pesar de ello, se desconoce si en pacientes con TUA sin enfermedad hepática conocida con marcadores de inflamación sistémica y/o activación monocitaria y/o translocación bacteriana elevados, el disponer de un fármaco “antiinflamatorio” podría disminuir el riesgo de desarrollo de complicaciones en un futuro.

En esta línea, aunque no son propiamente fármacos considerados antiinflamatorios, existe interés en el papel que puedan jugar los análogos del GLP1 inicialmente utilizados como fármacos antidiabéticos y que con los años se han utilizado también para la obesidad. En los últimos años se ha comenzado a evaluar en pacientes con insuficiencia cardíaca, enfermedad hepática no asociada al alcohol, en la demencia tipo Alzheimer, debido a su mecanismo de acción y su efecto en distintos

órganos y tejidos. Estudios preliminares en pacientes con TUA indican que estos fármacos disminuyen la necesidad de consumo de alcohol.

El hecho de tener la posibilidad identificar precozmente pacientes ingresados con TUA y riesgo de desarrollo complicaciones médicas en los próximos años ya sea por la detección marcadores específicos o por la presencia comorbilidades o una combinación de ambas, puede permitir realizar una intervención precoz y más agresiva en cuanto a la abstinencia alcohólica e implementar un tratamiento precoz de las comorbilidades.

Por otro lado, en los resultados obtenidos hemos observado que en pacientes con TUA se producen cambios en los marcadores de translocación bacteriana, y aunque en esta tesis no se ha hecho hincapié ni se ha analizado los cambios que produce el alcohol en el microbiota intestinal, hay interés por su estudio. De hecho, se están recogiendo muestras de heces en pacientes con TUA ingresados en la Unidad de Desintoxicación del Hospital Germans Trias i Pujol en los últimos años para evaluar la presencia de cambios en el microbiota intestinal.

El poder analizar el impacto que puede tener estos cambios en la microbiota intestinal en cuanto al riesgo de desarrollo de comorbilidades e incluso como factor pronóstico de mortalidad puede ser de gran interés. En pacientes con cirrosis hepática es conocido el uso de ciertos antibióticos como la rifaximina en el caso de encefalopatía hepática o el norfloxacino como profilaxis en pacientes que han presentado un episodio de peritonitis bacteriana espontánea. Asimismo, el trasplante fecal es una terapia utilizada en los últimos años en algunos pacientes con hepatitis aguda asociada al consumo de alcohol refractaria al tratamiento convencional.

En esta línea sería de especial interés saber si el uso de prebióticos o probióticos, que ya conocemos que pueden producir cambios en la microbiota intestinal, pueden tener utilidad en pacientes con trastorno por uso de alcohol sin enfermedad hepática conocida.

9. BIBLIOGRAFÍA

9. BIBLIOGRAFÍA

- 1- Global status report on alcohol and health 2018. Geneva: World Health Organization; 2018.
- 2- Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones. Informe 2023. Alcohol, tabaco y drogas ilegales en España. Madrid: Ministerio de Sanidad. Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas; 2023.
- 3- GBD-Alcohol-Collaborators. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet* 2018;392 (10152):1015-35.
- 4- O'Keefe JH, Bhatti SK, Bajwa A, DiNicolantonio JJ, Lavie CJ. Alcohol and cardiovascular health: the dose makes the poison...or the remedy. *Mayo Clin Proc*. 2014 Mar; 89 (3):382-93.
- 5- Rehm J, Mathers C, Popova S, Thavorncharoensap M, Teerawattananon Y, Patra J. Global burden of disease and injury and economic cost attributable to alcohol use and alcohol-use disorders. *Lancet* 2009 Jun 27; 373 (9682): 2223-33.
- 6- Carvalho AF, Heilig M, Perez A, Probst C, Rehm J. Alcohol use disorders. *Lancet*. 2019 Aug 31;394 (10200): 781-792.
- 7- Abbas D, Ciricillo JA, Elom HA, Moon AM. Extrahepatic Health Effects of Alcohol Use and Alcohol-associated Liver Disease. *Clin Ther*. 2023 Dec;45(12):1201-1211.
- 8- Scherübl H. Alcohol Use and Gastrointestinal Cancer Risk. *Visc Med*. 2020 Jun;36(3):175-181.
- 9- Day E, Rudd JHF. Alcohol use disorders and the heart. *Addiction*. 2019 Sept; 114 (9): 1670–1678.
- 10- Aladin AI, Chevli PA, Ahmad MI, Rasool SH, Herrington DM. Alcohol Consumption and Systemic Hypertension (from the Third National Health and Nutrition Examination Survey). *Am J Cardiol*. 2021 Dec 1;160:60-66.
- 11- Kodama S, Saito K, Tanaka S, Horikawa C, Saito A, Heianza Y, Anasako Y, Nishigaki Y, Yachi Y, Iida KT, Ohashi Y, Yamada N, Sone H. Alcohol consumption and risk of atrial fibrillation: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Jan 25;57(4):427-36.
- 12- Thompson A, Richardson P, Pirmohamed M, Owens L. Alcohol-related brain injury: An unrecognized problem in acute medicine. *Alcohol*. 2020 Nov;88: 49-53.
- 13- Saxton, J., Munro, C. A., Butters, M. A., Schramke, C., & McNeil, M. A. Alcohol, dementia, and Alzheimer's disease: comparison of neuropsychological profiles. *Journal of geriatric psychiatry and neurology*. (2000).13(3): 141-149.
- 14- Wilson, K., Halsey, A., Macpherson, H., Billington, J., Hill, S., Johnson, G., et al. The psychosocial rehabilitation of patients with alcohol-related brain damage in the community. *Alcohol and Alcoholism*, 2012 May-Jun; 47(3): 304-311.
- 15- Le Daré B, Lagente V, Gicquel T. Ethanol and its metabolites: update on toxicity, benefits, and focus on immunomodulatory effects. *Drug Metab Rev*. 2019 Nov;51(4): 545-561.

- 16- Barr T, Helms C, Grant K, Messaoudi I. Opposing effects of alcohol on the immune system. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2016 Feb 4;65: 242-51.
- 17- Harpaz T, Abumock H, Beery E, Edel Y, Lahav M, Rozovski U, Uziel O. The Effect of Ethanol on Telomere Dynamics and Regulation in Human Cells. *Cells*. 2018 Oct 15;7(10):169.
- 18- Zakhari S, Li TK. Determinants of alcohol use and abuse: impact of quantity and frequency patterns on liver disease. *Hepatology*. 2007;46: 2032–2039.
- 19- Lieber CS. Metabolic effects of acetaldehyde. *Biochem Soc Trans*. 1988 Jun;16(3):241-7.
- 20- Osna NA, Rasineni K, Ganesan M, Donohue TM Jr, Kharbanda KK. Pathogenesis of Alcohol-Associated Liver Disease. *J Clin Exp Hepatol*. 2022 Nov-Dec;12(6):1492-1513.
- 21- Dukić M, Radonjić T, Jovanović I, Zdravković M, Todorović Z, Krašnik N, Aranđelović B, Mandić O, Popadić V, Nikolić N, Klašnja S, Manojlović A, Divac A, Gačić J, Brajković M, Oprić S, Popović M, Branković M. Alcohol, Inflammation, and Microbiota in Alcoholic Liver Disease. *Int J Mol Sci*. 2023 Feb 13;24(4): 3735.
- 22- Aragon CM, Rogan F, Amit Z. Ethanol metabolism in rat brain homogenates by a catalase-H₂O₂ system. *Biochem Pharmacol*. 1992 Jul 7;44(1):93-8.
- 23- Lieber CS, Rubin E, DeCarli LM. Hepatic microsomal ethanol oxidizing system (MEOS): differentiation from alcohol dehydrogenase and NADPH oxidase. *Biochem Biophys Res Commun*. 1970 Aug 24;40(4): 858-65.
- 24- Teschke R. Alcoholic steatohepatitis (ASH) and alcoholic hepatitis (AH): cascade of events, clinical aspects, and pharmacotherapy options. *Expert Opin Pharmacother*. 2018 Jun;19(8):779-793.
- 25- Teli MR, James OF, Burt AD, Bennett MK, Day CP. The natural history of nonalcoholic fatty liver: a follow-up study. *Hepatology*. 1995 Dec;22(6):1714-9.
- 26- Li S, Tan HY, Wang N, Feng Y, Wang X, Feng Y. Recent Insights Into the Role of Immune Cells in Alcoholic Liver Disease. *Front Immunol*. 2019 Jun 12;10:1328.
- 27- Seitz HK, Bataller R, Cortez-Pinto H, Gao B, Gual A, Lackner C, Mathurin P, Mueller S, Szabo G, Tsukamoto H. Alcoholic liver disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2018 Aug 16;4(1):16.
- 28- Gao B, Ahmad MF, Nagy LE, Tsukamoto H. Inflammatory pathways in alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*. 2019. Feb;70(2): 249-259.
- 29- Pone, E. J. Toll-like receptors. *Signal. Pathways Liver Diseases*. 2016. 1390, 149–159.
- 30- Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol*. 2008 Dec;8(12):958-69.
- 31- Porcheray F, Viaud S, Rimaniol AC, Léone C, Samah B, Dereuddre-Bosquet N, Dormont D, Gras G. Macrophage activation switching: an asset for the resolution of inflammation. *Clin Exp Immunol*. 2005 Dec;142(3):481-9.
- 32- Tacke F, Zimmermann HW. Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis. *J Hepatol*. 2014 May;60(5):1090-6.
- 33- Wynn TA, Barron L. Macrophages: master regulators of inflammation and fibrosis. *Semin Liver Dis*. 2010 Aug;30(3):245-57.

- 34- Gantzel RH, Kjær MB, Laursen TL, Kazankov K, George J, Møller HJ, Grønbæk H. Macrophage Activation Markers, Soluble CD163 and Mannose Receptor, in Liver Fibrosis. *Front Med (Lausanne)*. 2021 Jan 8;7: 615599.
- 35- Pradere JP, Kluwe J, De Minicis S, Jiao JJ, Gwak GY, Dapito DH, Jang MK, Guenther ND, Mederacke I, Friedman R, Dragomir AC, Aloman C, Schwabe RF. Hepatic macrophages but not dendritic cells contribute to liver fibrosis by promoting the survival of activated hepatic stellate cells in mice. *Hepatology*. 2013 Oct;58(4):1461-73.
- 36- Novo E, Bocca C, Foglia B, Protopapa F, Maggiora M, Parola M, Cannito S. Liver fibrogenesis: un update on established and emerging basic concepts. *Arch Biochem Biophys*. 2020 Aug 15;689:108445.
- 37- Seki E, Schwabe RF. Hepatic inflammation and fibrosis: functional links and key pathways. *Hepatology*. 2015 Mar;61(3):1066-79.
- 38- Nielsen MC, Hvidbjerg Gantzel R, Clària J, Trebicka J, Møller HJ, Grønbæk H. Macrophage Activation Markers, CD163 and CD206, in Acute-on-Chronic Liver Failure. *Cells*. 2020 May 9;9(5):1175.
- 39- Pulford K, Micklem K, McCarthy S, Cordell J, Jones M, Mason DY. A monocyte/macrophage antigen recognized by the four antibodies GHI/61, Ber-MAC3, Ki-M8 and SM4. *Immunology*. 1992 Apr;75(4):588-95.
- 40- Backé E, Schwarting R, Gerdes J, Ernst M, Stein H. Ber-MAC3: new monoclonal antibody that defines human monocyte/macrophage differentiation antigen. *J Clin Pathol*. 1991 Nov;44(11):936-45.
- 41- Weaver LK, Hintz-Goldstein KA, Pioli PA, Wardwell K, Qureshi N, Vogel SN, Guyre PM. Pivotal advance: activation of cell surface Toll-like receptors causes shedding of the hemoglobin scavenger receptor CD163. *J Leukoc Biol*. 2006 Jul;80(1):26-35.
- 42- Svart M, Rittig N, Møller N, Møller HJ, Gronbaek H. Soluble CD163 correlates with lipid metabolic adaptations in type 1 diabetes patients during ketoacidosis. *J Diabetes Investig*. 2019 Jan;10(1):67-72.
- 43- Xu J, Chi F, Guo T, et al. NOTCH reprograms mitochondrial metabolism for proinflammatory macrophage activation. *J Clin Invest*. 2015;125:1579–90.
- 44- Lien E, Aukrust P, Sundan A, Müller F, Frøland SS, Espevik T. Elevated levels of serum-soluble CD14 in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection: correlation to disease progression and clinical events. *Blood*. 1988 Sep 15; 92 (6):2084–2092.
- 45- Szabo G. Consequences of alcohol consumption on host defence. *Alcohol Alcohol*. 1999. Dec; 34 (6):830–841.
- 46- Szabo G. Gut-liver axis in alcoholic liver disease. *Gastroenterology*. 2015 Jan; 148 (1):30–36.
- 47- Sandahl TD, Grønbæk H, Møller HJ, Støy S, Thomsen KL, Dige AK, Agnholt J, Hamilton-Dutoit S, Thiel S, Vilstrup H. Hepatic macrophage activation and the LPS pathway in patients with alcoholic hepatitis: a prospective cohort study. *Am J Gastroenterol*. 2014 Nov;109(11):1749-56.
- 48- Hiraoka A, Horiike N, Akbar SM, Michitaka K, Matsuyama T, Onji M. Soluble CD163 in patients with liver diseases: very high levels of soluble CD163 in patients with fulminant hepatic failure. *J Gastroenterol*. 2005 Jan;40(1):52-6.
- 49- Grønbæk H, Rødgaard-Hansen S, Aagaard NK, Arroyo V, Moestrup SK, Garcia E, Solà E, Domenicali M, Piano S, Vilstrup H, Møller HJ; CANONIC study

- investigators of the EASL-CLIF Consortium. Macrophage activation markers predict mortality in patients with liver cirrhosis without or with acute-on-chronic liver failure (ACLF). *J Hepatol.* 2016 Apr;64(4):813-22.
- 50- Bishehsari F, Magno E, Swanson G, Desai V, Voigt RM, Forsyth CB, Keshavarzian A. Alcohol and Gut-Derived Inflammation. *Alcohol Res.* 2017;38(2):163-171.
- 51- Rocco A, Compare D, Angrisani D, Sanduzzi Zamparelli M, Nardone G. Alcoholic disease: liver and beyond. *World J Gastroenterol.* 2014 Oct 28;20(40):14652-9.
- 52- Malaguarnera G, Giordano M, Nunnari G, Bertino G, Malaguarnera M. Gut microbiota in alcoholic liver disease: pathogenetic role and therapeutic perspectives. *World J Gastroenterol.* 2014 Nov 28;20(44):16639-48.
- 53- Mohammad S, Thiemermann C. Role of Metabolic Endotoxemia in Systemic Inflammation and Potential Interventions. *Front Immunol.* 2021 Jan 11;11:594150.
- 54- Moludi J, Maleki V, Jafari-Vayghyan H, Vaghef-Mehrabany E, Alizadeh M. Metabolic endotoxemia and cardiovascular disease: A systematic review about potential roles of prebiotics and probiotics. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2020 Jun;47(6):927-939.
- 55- Rao R. Endotoxemia and gut barrier dysfunction in alcoholic liver disease. *Hepatology.* 2009 Aug;50(2):638-44.
- 56- Engen PA, Green SJ, Voigt RM, Forsyth CB, Keshavarzian A. The Gastrointestinal Microbiome: Alcohol Effects on the Composition of Intestinal Microbiota. *Alcohol Res.* 2015;37(2):223-36.
- 57- Philips CA, Schnabl B, Bajaj JS. Gut Microbiome and Alcohol-associated Liver Disease. *J Clin Exp Hepatol.* 2022 Sep-Oct;12 (5): 1349-1359.
- 58- Litwinowicz K, Choroszy M, Waszczuk E. Changes in the composition of the human intestinal microbiome in alcohol use disorder: a systematic review. *Am J Drug Alcohol Abuse.* 2020; 46(1): 4-12.
- 59- Di Castelnuovo A, Costanzo S, Bagnardi V, Donati MB, Iacoviello L, de Gaetano G. Alcohol dosing and total mortality in men and women: an updated meta-analysis of 34 prospective studies. *Arch Intern Med.* 2006 Dec 11-25;166(22):2437-4.
- 60- O'Keefe JH, Bhatti SK, Bajwa A, DiNicolantonio JJ, Lavie CJ. Alcohol and cardiovascular health: the dose makes the poison...or the remedy. *Mayo Clin Proc.* 2014 Mar;89(3):382-93.
- 61- Bell S, Daskalopoulou M, Rapsomaniki E, George J, Britton A, Bobak M, Casas JP, Dale CE, Denaxas S, Shah AD, Hemingway H. Association between clinically recorded alcohol consumption and initial presentation of 12 cardiovascular diseases: population based cohort study using linked health records. *BMJ.* 2017 Mar 22;356:j909.
- 62- Krittawong C, Isath A, Rosenson RS, Khawaja M, Wang Z, Fogg SE, Virani SS, Qi L, Cao Y, Long MT, Tangney CC, Lavie CJ. Alcohol Consumption and Cardiovascular Health. *Am J Med.* 2022 Oct;135(10):1213-1230.
- 63- Biddinger KJ, Emdin CA, Haas ME, Wang M, Hindy G, Ellinor PT, Kathiresan S, Khera AV, Aragam KG. Association of Habitual Alcohol Intake With Risk of Cardiovascular Disease. *JAMA Netw Open.* 2022 Mar 1;5(3):e223849.

- 64- Cui M, Li F, Gang X, Gao Y, Xiao X, Wang G, Liu Y, Wang G. Association of alcohol consumption with all-cause mortality, new-onset stroke, and coronary heart disease in patients with abnormal glucose metabolism-Findings from a 10-year follow-up of the REACTION study. *J Diabetes*. 2023 Apr;15(4):289-298.
- 65- Husain K, Ferder L, Ansari RA, Lalla J. Chronic ethanol ingestion induces aortic inflammation/oxidative endothelial injury and hypertension in rats. *Hum Exp Toxicol*. 2011 Aug;30(8):930-9.
- 66- Mandrekar P, Bala S, Catalano D, Kodys K, Szabo G. The opposite effects of acute and chronic alcohol on lipopolysaccharide-induced inflammation are linked to IRAK-M in human monocytes. *J Immunol*. 2009 Jul 15;183(2):1320-7.
- 67- Fukui T, Ishizaka N, Rajagopalan S, Laursen JB, Capers Q 4th, Taylor WR, Harrison DG, de Leon H, Wilcox JN, Griendl KK. p22phox mRNA expression and NADPH oxidase activity are increased in aortas from hypertensive rats. *Circ Res*. 1997 Jan;80(1):45-51.
- 68- Zafari AM, Ushio-Fukai M, Akers M, Yin Q, Shah A, Harrison DG, Taylor WR, Griendl KK. Role of NADH/NADPH oxidase-derived H₂O₂ in angiotensin II-induced vascular hypertrophy. *Hypertension*. 1998 Sep;32(3):488-95.
- 69- Puddey IB, Mori TA, Barden AE, Beilin LJ. Alcohol and Hypertension-New Insights and Lingering Controversies. *Curr Hypertens Rep*. 2019 Sep 7;21(10):79.
- 70- Alkerwi A, Boutsen M, Vaillant M, Barre J, Lair ML, Albert A, Guillaume M, Dramaix M. Alcohol consumption and the prevalence of metabolic syndrome: a meta-analysis of observational studies. *Atherosclerosis*. 2009 Jun;204(2):624-35.
- 71- R. Estruch, E. Sacanella. Alcohol: ¿tónico o tóxico cardiovascular? *Clin Invest Arterioscl*. 2005;17(4):183-95.
- 72- Cluette-Brown J, Mulligan J, Igoe F, Doyle K, Hojnacki J. Ethanol induced alterations in low and high density lipoproteins. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1985 Mar;178(3):495-9.
- 73- Nasiff-Hadad Alfredo, Gira Phillippe, Bruckert Erick. Efectos del alcohol sobre las lipoproteínas. *Revista cubana medicina* 1997 Abril; 36(1): 51-60.
- 74- Henein MY, Vancheri S, Longo G, Vancheri F. The Role of Inflammation in Cardiovascular Disease. *Int J Mol Sci*. 2022 Oct 26;23(21):12906.
- 75- Fudalej S, Bohnert A, Austin K, Barry K, Blow F, Ilgen M. Predictors of injury-related and non-injury-related mortality among veterans with alcohol use disorders. *Addiction*. 2010 Oct;105(10):1759-66.
- 76- Rivas I, Sanvisens A, Bolao F, Fuster D, Tor J, Pujol R, Torrens M, Rey-Joly C, Muga R. Impact of medical comorbidity and risk of death in 680 patients with alcohol use disorders. *Alcohol Clin Exp Res*. 2013 Jan;37 Suppl 1:E221-7.
- 77- Sanvisens A, Vallecillo G, Bolao F, Rivas I, Fonseca F, Fuster D, Torrens M, Pérez-Hoyos S, Pujol R, Tor J, Muga R. Temporal trends in the survival of drug and alcohol abusers according to the primary drug of admission to treatment in Spain. *Drug Alcohol Depend*. 2014 Mar 1;136:115-20.
- 78- Fuster D, Garcia-Calvo X, Zuluaga P, Rivas I, Sanvisens A, Tor J, Muga R. Ultrasound findings of liver damage in a series of patients consecutively admitted for treatment of alcohol use disorder. *Drug Alcohol Depend*. 2018 Sep 1;190:195-199.

- 79- American College of Radiology, 2012. ACR–AIUM–SPR–SRU Practice Parameter for the Performance of an Ultrasound Examination of the Abdomen and/or Retroperitoneum. Available at. Accessed on February 14, 2017.
- 80- Fuster D, Sanvisens A, Bolao F, Zuluaga P, Rivas I, Tor J, Muga R. Markers of inflammation and mortality in a cohort of patients with alcohol dependence. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Mar;94(10): e607.
- 81- Fuster D, Sanvisens A, Bolao F, Serra I, Rivas I, Tor J, Muga R. Impact of hepatitis C virus infection on the risk of death of alcohol-dependent patients. *J Viral Hepat.* 2015 Jan;22(1):18-24.
- 82- Fuster D, Tor J, Rey-Joly C, Muga R. Interacciones patogénicas entre alcohol y hepatitis C [Pathogenic interactions between alcohol and hepatitis C]. *Med Clin (Barc)*. 2012 May 19;138(14):627-32.
- 83- Muga R, Sanvisens A, Jarrin I, Fuster D, Bolao F, Tor J, Muñoz A. Hepatitis C infection substantially reduces survival of alcohol-dependent patients. *Clin Epidemiol.* 2018 Aug 1;10:897-905.
- 84- Barua S, Greenwald R, Grebely J, Dore GJ, Swan T, Taylor LE. Restrictions for Medicaid Reimbursement of Sofosbuvir for the Treatment of Hepatitis C Virus Infection in the United States. *Ann Intern Med.* 2015 Aug 4;163(3):215-23.
- 85- Tsui JI, Williams EC, Green PK, Berry K, Su F, Ioannou GN. Alcohol use and hepatitis C virus treatment outcomes among patients receiving direct antiviral agents. *Drug Alcohol Depend.* 2016 Dec 1;169:101-109.
- 86- Diehl AM, Day C. Cause, Pathogenesis, and Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. *N Engl J Med.* 2017 Nov 23;377(21):2063-2072.
- 87- Ajmera VH, Terrault NA, Harrison SA. Is moderate alcohol use in nonalcoholic fatty liver disease good or bad? A critical review. *Hepatology.* 2017 Jun;65(6):2090-2099.
- 88- Bellentani S, Saccoccio G, Masutti F, Crocè LS, Brandi G, Sasso F, Cristanini G, Tiribelli C. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Ann Intern Med.* 2000 Jan 18;132(2):112-7.
- 89- Xie J, Gao H, Liu C, Pan Y, Xu C, Xu L. Causal association of nonalcoholic fatty liver disease with 22 extrahepatic cancers: A Mendelian randomization study. *Hepatol Res.* 2024 Mar;54(3):261-271.
- 90- Ogawa Y, Imajo K, Yoneda M, Kessoku T, Tomeno W, Shinohara Y, Kato S, Mawatari H, Nozaki Y, Fujita K, Kirikoshi H, Maeda S, Saito S, Wada K, Nakajima A. Soluble CD14 levels reflect liver inflammation in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *PLoS One.* 2013 Jun 7;8(6): e65211.
- 91- Liangpunsakul S, Toh E, Ross RA, Heathers LE, Chandler K, Oshodi A, McGee B, Modlik E, Linton T, Mangiacarne D, Jimenez C, Dong XC, Wang L, Tu W, Nelson DE. Quantity of alcohol drinking positively correlates with serum levels of endotoxin and markers of monocyte activation. *Sci Rep.* 2017 Jun 30;7(1):4462.
- 92- Donnadieu-Rigole H, Mura T, Portales P, Duroux-Richard I, Bouthier M, Eliaou JF, Perney P, Apparailly F. Effects of alcohol withdrawal on monocyte subset defects in chronic alcohol users. *J Leukoc Biol.* 2016 Nov;100(5):1191-1199.
- 93- Donnadieu-Rigole H, Pansu N, Mura T, Pelletier S, Alarcon R, Gamon L, Perney P, Apparailly F, Lavigne JP, Dunyach-Remy C. Beneficial Effect of Alcohol Withdrawal on Gut Permeability and Microbial Translocation in Patients with Alcohol Use Disorder. *Alcohol Clin Exp Res.* 2018 Jan;42(1):32-40.

- 94- Urbaschek R, McCuskey RS, Rudi V, Becker KP, Stickel F, Urbaschek B, Seitz HK. Endotoxin, endotoxin-neutralizing-capacity, sCD14, sICAM-1, and cytokines in patients with various degrees of alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res.* 2001 Feb;25(2):261-8.
- 95- Kirpich IA, McClain CJ, Vatsalya V, Schwandt M, Phillips M, Falkner KC, Zhang L, Harwell C, George DT, Umhau JC. Liver Injury and Endotoxemia in Male and Female Alcohol-Dependent Individuals Admitted to an Alcohol Treatment Program. *Alcohol Clin Exp Res.* 2017 Apr;41(4):747-757.
- 96- Leclercq S, Matamoros S, Cani PD, Neyrinck AM, Jamar F, Stärkel P, Windey K, Tremaroli V, Bäckhed F, Verbeke K, de Timary P, Delzenne NM. Intestinal permeability, gut-bacterial dysbiosis, and behavioral markers of alcohol-dependence severity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 Oct 21;111(42): E4485-93.
- 97- Moura HF, Hansen F, Galland F, Silvelo D, Rebelatto FP, Ornell F, Massuda R, Scherer JN, Schuch F, Kessler FH, von Diemen L. Inflammatory cytokines and alcohol use disorder: systematic review and meta-analysis. *Braz J Psychiatry.* 2022 Nov 5;44(5):548-556.
- 98- Vidot DC, Manuzak JA, Klatt NR, Pallikkuth S, Roach M, Dilworth SE, Pahwa S, Carrico AW. Brief Report: Hazardous Cannabis Use and Monocyte Activation Among Methamphetamine Users With Treated HIV Infection. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2019 Jul 1;81(3):361-364.
- 99- Kazankov K, Barrera F, Møller HJ, Bibby BM, Vilstrup H, George J, Grønbaek H. Soluble CD163, a macrophage activation marker, is independently associated with fibrosis in patients with chronic viral hepatitis B and C. *Hepatology.* 2014 Aug;60(2):521-30.
- 100- Lidofsky A, Holmes JA, Feeney ER, Kruger AJ, Salloum S, Zheng H, Seguin IS, Altinbas A, Masia R, Corey KE, Gustafson JL, Schaefer EA, Hunt PW, Deeks S, Somsouk M, Chew KW, Chung RT, Alatrakchi N. Macrophage Activation Marker Soluble CD163 Is a Dynamic Marker of Liver Fibrogenesis in Human Immunodeficiency Virus/Hepatitis C Virus Coinfection. *J Infect Dis.* 2018 Sep 22;218(9):1394-1403.
- 101- Kazankov K, Barrera F, Møller HJ, Rosso C, Bugianesi E, David E, Younes R, Esmaili S, Eslam M, McLeod D, Bibby BM, Vilstrup H, George J, Grønbaek H. The macrophage activation marker sCD163 is associated with morphological disease stages in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* 2016 Oct;36(10):1549-57.
- 102- So-Armah KA, Cheng DM, Freiberg MS, Gnatienko N, Patts G, Ma Y, White L, Blokhina E, Lioznov D, Doyle MF, Tracy RP, Chichetto N, Bridden C, Bryant K, Krupitsky E, Samet JH. Association between alcohol use and inflammatory biomarkers over time among younger adults with HIV-The Russia ARCH Observational Study. *PLoS One.* 2019 Aug 22;14(8): e0219710.
- 103- Castro FOF, Silva JM, Dorneles GP, Barros JBS, Ribeiro CB, Noronha I, Barbosa GR, Souza LCS, Guilarde AO, Pereira AJCS, Guimarães RF, Oliveira TF, Oliveira SEF, Peres A, Romão PRT, Pfrimer IAH, Fonseca SGD. Distinct inflammatory profiles in HIV-infected individuals under antiretroviral therapy using cannabis, cocaine or cannabis plus cocaine. *AIDS.* 2019 Oct 1;33(12):1831-1842.

- 104- Hunt PW, Sinclair E, Rodriguez B, Shive C, Clagett B, Funderburg N, Robinson J, Huang Y, Epling L, Martin JN, Deeks SG, Meinert CL, Van Natta ML, Jabs DA, Lederman MM. Gut epithelial barrier dysfunction and innate immune activation predict mortality in treated HIV infection. *J Infect Dis.* 2014 Oct 15;210(8):1228-38.
- 105- Degenhardt L, Ferrari AJ, Calabria B, Hall WD, Norman RE, McGrath J, Flaxman AD, Engell RE, Freedman GD, Whiteford HA, Vos T. The global epidemiology and contribution of cannabis use and dependence to the global burden of disease: results from the GBD 2010 study. *PLoS One.* 2013 Oct 24;8(10):e7663.
- 106- Hasin DS, Saha TD, Kerridge BT, Goldstein RB, Chou SP, Zhang H, Jung J, Pickering RP, Ruan WJ, Smith SM, Huang B, Grant BF. Prevalence of Marijuana Use Disorders in the United States Between 2001-2002 and 2012-2013. *JAMA Psychiatry.* 2015 Dec;72(12):1235-42.
- 107- Wilkinson ST, Yarnell S, Radhakrishnan R, Ball SA, D'Souza DC. Marijuana Legalization: Impact on Physicians and Public Health. *Annu Rev Med.* 2016;67:453-66.
- 108- Volkow ND, Baler RD, Compton WM, Weiss SR. Adverse health effects of marijuana use. *N Engl J Med.* 2014 Jun 5;370(23):2219-27.
- 109- Sherman BJ, McRae-Clark AL. Treatment of Cannabis Use Disorder: Current Science and Future Outlook. *Pharmacotherapy.* 2016 May;36(5):511-35.
- 110- Pennings EJ, Leccese AP, Wolff FA. Effects of concurrent use of alcohol and cocaine. *Addiction.* 2002 Jul;97(7):773-83.
- 111- Fuster D, Tsui JI, Cheng DM, Quinn EK, Armah KA, Nunes D, Freiberg MS, Samet JH. Interleukin-6 is associated with noninvasive markers of liver fibrosis in HIV-infected patients with alcohol problems. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2013 Aug;29(8):1110-6.
- 112- Shah S, Ma Y, Scherzer R, Huhn G, French AL, Plankey M, Peters MG, Grunfeld C, Tien PC. Association of HIV, hepatitis C virus and liver fibrosis severity with interleukin-6 and C-reactive protein levels. *AIDS.* 2015 Jul 17;29(11):1325-33.
- 113- Kuller LH, Tracy R, Belloso W, De Wit S, Drummond F, Lane HC, Ledergerber B, Lundgren J, Neuhaus J, Nixon D, Paton NI, Neaton JD; INSIGHT SMART Study Group. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med.* 2008 Oct 21;5(10):e203.
- 114- So-Armah KA, Tate JP, Chang CH, Butt AA, Gershenson M, Gibert CL, Leaf D, Rimland D, Rodriguez-Barradas MC, Budoff MJ, Samet JH, Kuller LH, Deeks SG, Crothers K, Tracy RP, Crane HM, Sajadi MM, Tindle HA, Justice AC, Freiberg MS; VACS Project Team. Do Biomarkers of Inflammation, Monocyte Activation, and Altered Coagulation Explain Excess Mortality Between HIV Infected and Uninfected People? *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2016 Jun 1;72(2):206-213.
- 115- Nunes D, Fleming C, Offner G, Craven D, Fix O, Heeren T, Koziel MJ, Graham C, Tumilty S, Skolnik P, Stuver S, Horsburgh CR Jr, Cotton D. Noninvasive markers of liver fibrosis are highly predictive of liver-related death in a cohort of HCV-infected individuals with and without HIV infection. *Am J Gastroenterol.* 2010 Jun;105(6):1346-53.

- 116- Lien E, Aukrust P, Sundan A, Müller F, Frøland SS, Espevik T. Elevated levels of serum-soluble CD14 in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection: correlation to disease progression and clinical events. *Blood*. 1998 Sep 15;92(6):2084-92.
- 117- Sandler NG, Wand H, Roque A, Law M, Nason MC, Nixon DE, Pedersen C, Ruxrungtham K, Lewin SR, Emery S, Neaton JD, Brenchley JM, Deeks SG, Sereti I, Douek DC; INSIGHT SMART Study Group. Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in HIV infection. *J Infect Dis*. 2011 Mar 15;203(6):780-90.
- 118- Sandler NG, Koh C, Roque A, Eccleston JL, Siegel RB, Demino M, Kleiner DE, Deeks SG, Liang TJ, Heller T, Douek DC. Host response to translocated microbial products predicts outcomes of patients with HBV or HCV infection. *Gastroenterology*. 2011 Oct;141(4):1220-30, 1230.e1-3.
- 119- Leclercq S, Cani PD, Neyrinck AM, Stärkel P, Jamar F, Mikolajczak M, Delzenne NM, de Timaray P. Role of intestinal permeability and inflammation in the biological and behavioral control of alcohol-dependent subjects. *Brain Behav Immun*. 2012 Aug;26(6):911-8.
- 120- Agiasotelli D, Alexopoulou A, Vasilieva L, Hadziyannis E, Goukos D, Daikos GL, Dourakis SP. High serum lipopolysaccharide binding protein is associated with increased mortality in patients with decompensated cirrhosis. *Liver Int*. 2017 Apr;37(4):576-582.
- 121- Reiberger T, Ferlitsch A, Payer BA, Mandorfer M, Heinisch BB, Hayden H, Lammert F, Trauner M, Peck-Radosavljevic M, Vogelsang H; Vienna Hepatic Hemodynamic Lab. Non-selective betablocker therapy decreases intestinal permeability and serum levels of LBP and IL-6 in patients with cirrhosis. *J Hepatol*. 2013 May;58(5):911-21.
- 122- Fuster D, Samet JH. Alcohol Use in Patients with Chronic Liver Disease. *N Engl J Med*. 2018 Dec 27;379(26):2579.
- 123- Greenfield SF. Women and alcohol use disorders. *Harv Rev Psychiatry*. 2002 Mar-Apr;10(2):76-85.
- 124- McCrady BS, Epstein EE, Fokas KF. Treatment Interventions for Women With Alcohol Use Disorder. *Alcohol Res*. 2020 Jul 30;40(2):08.
- 125- Epstein EE, Menges D. Women and addiction. In: McCrady BS, Epstein EE, eds. *Addictions: A Comprehensive Guidebook*. New York, NY: Oxford University Press; 2013:788-818.
- 126- Khan S, Okuda M, Hasin DS, Secades-Villa R, Keyes K, Lin KH, Grant B, Blanco C. Gender differences in lifetime alcohol dependence: results from the national epidemiologic survey on alcohol and related conditions. *Alcohol Clin Exp Res*. 2013 Oct;37(10):1696-705.
- 127- Kirpich IA, McClain CJ, Vatsalya V, Schwandt M, Phillips M, Falkner KC, Zhang L, Harwell C, George DT, Umhau JC. Liver Injury and Endotoxemia in Male and Female Alcohol-Dependent Individuals Admitted to an Alcohol Treatment Program. *Alcohol Clin Exp Res*. 2017 Apr;41(4):747-757.
- 128- Becker U, Deis A, Sørensen TI, Grønbaek M, Borch-Johnsen K, Müller CF, Schnohr P, Jensen G. Prediction of risk of liver disease by alcohol intake, sex, and age: a prospective population study. *Hepatology*. 1996 May;23(5):1025-9.
- 129- Frezza M, di Padova C, Pozzato G, Terpin M, Baraona E, Lieber CS. High blood alcohol levels in women. The role of decreased gastric alcohol

- dehydrogenase activity and first-pass metabolism. *N Engl J Med.* 1990 Jan 11;322(2):95-9.
- 130- Eagon PK. Alcoholic liver injury: influence of gender and hormones. *World J Gastroenterol.* 2010 Mar 21;16(11):1377-84.
- 131- Møller HJ, Frikke-Schmidt R, Moestrup SK, Nordestgaard BG, Tybjærg-Hansen A. Serum soluble CD163 predicts risk of type 2 diabetes in the general population. *Clin Chem.* 2011 Feb;57(2):291-7.
- 132- Parkner T, Sørensen LP, Nielsen AR, Fischer CP, Bibby BM, Nielsen S, Pedersen BK, Møller HJ. Soluble CD163: a biomarker linking macrophages and insulin resistance. *Diabetologia.* 2012 Jun;55(6):1856-62.
- 133- Fjeldborg K, Christiansen T, Bennetzen M, J Møller H, Pedersen SB, Richelsen B. The macrophage-specific serum marker, soluble CD163, is increased in obesity and reduced after dietary-induced weight loss. *Obesity (Silver Spring).* 2013 Dec;21(12):2437-43.
- 134- Castley A, Williams L, James I, Guelfi G, Berry C, Nolan D. Plasma CXCL10, sCD163 and sCD14 Levels Have Distinct Associations with Antiretroviral Treatment and Cardiovascular Disease Risk Factors. *PLoS One.* 2016 Jun 29;11(6):e0158169.
- 135- Allen TL, Febbraio MA. IL6 as a mediator of insulin resistance: fat or fiction? *Diabetologia.* 2010 Mar;53(3):399-402.
- 136- Danesh J, Kaptoge S, Mann AG, Sarwar N, Wood A, Angleman SB, Wensley F, Higgins JP, Lennon L, Eiriksdottir G, Rumley A, Whincup PH, Lowe GD, Gudnason V. Long-term interleukin-6 levels and subsequent risk of coronary heart disease: two new prospective studies and a systematic review. *PLoS Med.* 2008 Apr 8;5(4):e78.
- 137- Lowe G, Woodward M, Hillis G, Rumley A, Li Q, Harrap S, Marre M, Hamet P, Patel A, Poulter N, Chalmers J. Circulating inflammatory markers and the risk of vascular complications and mortality in people with type 2 diabetes and cardiovascular disease or risk factors: the ADVANCE study. *Diabetes.* 2014 Mar;63(3):1115-23.
- 138- Fuster D, Tsui JI, Cheng DM, Quinn EK, Bridden C, Nunes D, Libman H, Saitz R, Samet JH. Impact of lifetime alcohol use on liver fibrosis in a population of HIV-infected patients with and without hepatitis C coinfection. *Alcohol Clin Exp Res.* 2013 Sep;37(9):1527-35.

Sherman, B.J., McRae-Clark, A.L., 2016. Treatment of Cannabis use disorder: current science and future outlook. *Pharmacotherapy* 36, 511–535

10. ANEXOS

10. ANEXOS

10.1 PUBLICACIONES

10.1.1 ESTUDIO 1

García-Calvo X, Bolao F, Sanvisens A, Zuluaga P, Tor J, Muga R, Fuster D. Significance of Markers of Monocyte Activation (CD163 and sCD14) and Inflammation (IL-6) in Patients Admitted for Alcohol Use Disorder Treatment. *Alcohol Clin Exp Res*. 2020 Jan;44(1):152-158. doi: 10.1111/acer.14228. Epub 2019 Dec 3. PMID: 31797394.



ALCOHOLISM: CLINICAL AND EXPERIMENTAL RESEARCH

Vol. 44, No. 1
January 2020

Significance of Markers of Monocyte Activation (CD163 and sCD14) and Inflammation (IL-6) in Patients Admitted for Alcohol Use Disorder Treatment

Xavier García-Calvo, Ferran Bolao, Arantza Sanvisens, Pau Zuluaga, Jordi Tor, Robert Muga, and Daniel Fuster

Background: Monocyte activation and inflammation are prominent features of alcohol-related liver disease; however, they have not been thoroughly assessed in patients with alcohol use disorder (AUD) without overt liver disease. This study aimed to analyze associations among clinical and laboratory variables and markers of monocyte activation (CD163 and sCD14), and inflammation (interleukin [IL]-6) among AUD patients.

Methods: We analyzed the aforementioned associations in the highest quartile in 289 patients (77.5% male; median age, 50 years) consecutively admitted for alcohol detoxification in 2 tertiary hospitals in the Barcelona metropolitan area, Spain.

Results: Median alcohol intake was 142 g/d; median glucose, albumin, creatinine, and bilirubin levels (mg/dl), 92, 40, 0.78, and 0.69, respectively; median AST, 41 U/l; median hemoglobin, median corpuscular volume, and platelet count, 14.1 g/dl, 94.8 fL, and $189 \times 10^9/l$, respectively; median cholesterol, triglyceride, fibrinogen, and ferritin levels, 187 mg/dl, 109.3 mg/dl, 341 mg/dl, and 177 ng/ml, respectively. In addition, 36.7% patients had an erythrocyte sedimentation rate >20 mm, 32.5% had a C-reactive protein (CRP) level of >5 mg/l, and 10.9% were hepatitis C virus (HCV)-positive. Median CD163, sCD14, and IL-6 levels were $759, 1.68 \times 10^6$, and 4.37 pg/ml, respectively. On logistic regression analyses, glucose, AST, bilirubin, hemoglobin levels, and HCV infection (adjusted odds ratio [aORs]: 1.01, 1.02, 3.04, and 9.73, respectively) were associated with CD163. Glucose, AST, triglyceride, and CRP >5 mg/l (aORs: 1.02, 1.01, 1.00, and 3.49, respectively) were associated with sCD14. Alcohol consumption upon admission, MCV, total cholesterol levels, and CRP >5 mg/l (aORs 0.99, 1.05, 0.99, and 2.56, respectively) were associated with IL-6.

Conclusions: Monocyte activation and systemic inflammation are associated with higher glucose, liver enzyme, and lipid levels, HCV infections, and CRP of >5 mg/l, thus potentially identifying patients with AUD at high risk of midterm poor outcomes.

Key Words: Alcohol Use Disorder, Monocyte Activation, Systemic Inflammation.

ALCOHOL USE IS one of the leading causes of morbidity and mortality, with an especially large impact on young adults (GBD 2016 Alcohol Collaborators, 2016). Alcohol-related liver disease is the most common alcohol-related chronic medical illness, and alcohol intake is responsible for the recent increase in liver-related deaths worldwide

(Rehm et al., 2013). The association between alcohol use and liver disease is well established; nonetheless, only a small proportion of heavy drinkers develop liver cirrhosis (Fuster and Samet, 2018; Seitz et al., 2018).

Systemic inflammation and increased intestinal permeability are prominent features in the pathogenesis of alcohol-related liver disease (Louvet and Mathurin, 2015). Indeed, alcohol use is associated with changes in the microbiome composition with increased levels of intestinal gram-negative bacteria and fungi (Szabo, 2015). Alcohol consumption is also associated with increased intestinal permeability and translocation of bacterial products (such as lipopolysaccharide [LPS] or endotoxin and other pathogen-associated, molecular pattern molecules) that activate Kupffer cells via the CD14 receptor and toll-like receptor 4 (Purohit et al., 2008), resulting in the release of inflammatory cytokines that lead to liver inflammation and fibrosis progression (Lackner and Tiniakos, 2019). Besides, chronic alcohol exposure promotes a proinflammatory phenotype in macrophages and monocytes, thus augmenting endotoxin-induced inflammatory responses (Mandrekar et al., 2009). In addition to

From the Department of Internal Medicine (XG-C, AS, PZ, JT, RM, DF), Addiction Unit, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Fundació Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol (IGTP), Badalona, Spain; Department of Medicine (XG-C, AS, PZ, JT, RM, DF), Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain; and Department of Internal Medicine (FB), Hospital Universitari de Bellvitge-Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), Universitat de Barcelona, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain.

Received for publication April 10, 2019; accepted October 30, 2019.

Reprint requests: Daniel Fuster, MD, PhD, Department of Internal Medicine, Addiction Unit, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain; Department of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Spain; Tel.: +3493498914; Fax: +34934978424;

E-mail: dfuster.germanstrias@gencat.cat, 32333dfm@comb.cat

Copyright © 2019 by the Research Society on Alcoholism.

DOI: 10.1111/acer.14228

152

Alcohol Clin Exp Res, Vol 44, No 1, 2020; pp 152-158

increased intestinal permeability, damage-associated molecular patterns (DAMPs) play important roles in monocyte activation in alcohol-related liver disease (Louvet and Mathurin, 2015). DAMPs are derived from alcohol-induced oxidative stress, lipid peroxidation, increased iron deposits, and hepatocyte damage and death (Fuster and Samet, 2018; Gao et al., 2019), and further trigger inflammation via toll-like receptors and the inflammasome (a multiprotein oligomer that promotes interleukin-1 β [IL-1 β] release) (Gao et al., 2019). Moreover, alcohol use disorder (AUD) is associated with an imbalance between Th-1-type and Th-2-type immune responses, which are associated with increased immune activation and inflammation (Szabo, 1999).

Systemic inflammation and increased monocyte activation have been extensively studied in animal models and in patients with alcoholic cirrhosis (Szabo, 2015). In other conditions, including HIV and hepatitis C virus (HCV) infections, increased levels of inflammatory cytokines (including IL-6) and increased monocyte activation (measured based on soluble CD14 [sCD14] levels, a marker of LPS-driven immune responses) have been associated with poorer outcomes and increased mortality (Capeau, 2011; Hunt et al., 2014; Lien et al., 1998; Sandler et al., 2011). Other studies have previously investigated sCD14 levels in patients with AUD (Donnadieu-Rigole et al., 2018; Liangpunsakul et al., 2017). However, few studies have reported the presence of inflammation or monocyte activation quantified on the basis of CD163 levels (a monocyte-scavenger receptor for the hemoglobin–haptoglobin complex) and among patients with AUD without overt liver disease (Kirpich et al., 2017; Leclercq et al., 2014; Liangpunsakul et al., 2017).

In addition, the significance of monocyte activation and systemic inflammation in these patients is unclear.

AUD patients hospitalized for detoxification have substantial comorbidity (Rivas et al., 2013). It remains unclear whether monocyte activation and systemic inflammation are associated with alcohol use and medical comorbidity. In this study, we analyzed the markers of monocyte activation and systemic inflammation in a series of patients consecutively admitted for hospital detoxification at 2 different teaching hospitals in Barcelona, Spain.

MATERIALS AND METHODS

Participants

Between June 2013 and November 2018, patients were diagnosed with AUD in accordance with the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM)-IV (American Psychiatric Association, 2000) and admitted for alcohol detoxification in the hospital at 2 different teaching institutions (Hospital Universitari Germans Trias i Pujol and Hospital Universitari de Bellvitge) in the Barcelona metropolitan area of Spain.

Addiction specialists at the primary-care and hospital level referred patients for hospital detoxification if they were deemed ineligible for ambulatory detoxification. The criteria for referring patients for hospital detoxification included the following: high risk for severe alcohol withdrawal (i.e., previous episodes of severe alcohol withdrawal and/or prior history of seizures or delirium tremens),

presence of comorbidities (i.e., decompensated diabetes and previous cardiovascular events), and low adherence to pharmacotherapy and/or unsuccessful outpatient detoxification.

Exclusion criteria included the presence of autoimmune diseases, acute comorbidities (i.e., acute infection, sepsis, and decompensated liver disease), or severe mental health comorbidities (i.e., acute psychosis and decompensated bipolar disorder).

The study was approved by the Ethics Committee at the Hospital Universitari Germans Trias i Pujol and at the Hospital Bellvitge, and all patients provided written consent before participating in the study. The methods used to conduct this study complied with the ethical standards for medical research and the principles of good clinical practice in accordance with the World Medical Association's Declaration of Helsinki (World Medical Association General Assembly, 2001).

Measurements

Upon admission, patients underwent a thorough physical examination and an interview regarding their history of alcohol consumption (i.e., type of alcohol, age at first alcohol intake, age at onset of regular alcohol consumption, pattern of alcohol consumption, and years of AUD) and tobacco use. In addition, we used a Timeline Followback 30-day alcohol use calendar to measure the alcohol intake before admission (Sobell and Sobell, 1992). On the second day after admission, blood was drawn from patients to assess hematologic and biochemical parameters including, among others, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and bilirubin levels and other nonspecific markers of inflammation such as C-reactive protein (CRP) and erythrocyte sedimentation rate (ESR). Blood samples were also analyzed for HCV and HIV infections. HCV infections were diagnosed on the basis of an enzyme-linked immunosorbent assay, and positive tests were confirmed by detecting HCV RNA through real-time polymerase chain reactions (limit of detection: 50 copies/ml) (Abbot HCVTM, Abbot Laboratories, North Chicago, IL, USA, in Hospital Universitari de Bellvitge and Ortho HCVTM, Ortho Diagnostics, Raritan, NJ, USA, in Hospital Universitari Germans Trias i Pujol).

Markers of monocyte activation (CD163 and sCD14) and systemic inflammation (IL-6) were quantified in frozen plasma samples.

CD163 and sCD14 were quantified using Quantikine® enzyme-linked immunosorbent assays (Bio-Techne, Ltd., Abingdon, UK) in accordance with the manufacturer's specifications. For CD163, a 1:10 dilution was used; sCD14, 1:200. For both markers, a calibration curve was plotted.

IL-6 levels were analyzed using the Cytometric Bead Array (Becton Dickinson, Ltd., Laagstraat, Belgium) in a flow cytometer (BD LSRFortessa). Plasma samples were undiluted, and a top standard curve was plotted to calculate IL-6 concentrations. The lower limit of detection was 0.03 pg/ml. For assays in which IL-6 concentration was below the detection threshold, a value of 0.03 pg/ml was set for the analysis.

The interassay and intraassay coefficients of variation were <10% for all analyses.

Additional information describing the admission protocol was published previously (Rivas et al., 2013).

Statistical Analysis

Descriptive statistics were expressed as the median, interquartile range (IQR), mean, and standard deviation (SD) for quantitative variables, or as absolute frequencies and percentages for qualitative variables. We performed the chi-square test to explore significant differences in qualitative variables and the *t*-test for mean differences in quantitative variables between patients that presented markers in the highest quartile versus patients not presenting those markers.

We then developed multivariate logistic regression models that included age, sex, and alcohol consumption and all covariates that were significant on bivariate analysis. Among covariates, we included laboratory parameters that are routinely tested in AUD patients admitted for hospital detoxification in the 2 participating institutions. We developed a different model for each marker (CD163, sCD14, and IL-6), wherein the primary outcome comprised the highest quartile of each marker, and the reference category included all the other values of the specific marker. Test results were considered statistically significant if the resulting 1-tailed *p*-value was <0.05 . Statistical analysis was performed using SPSS software, version 15.0.1 (SPSS, Chicago, IL).

RESULTS

Characteristics of the Study Population

In total, 289 patients (77.5% male) were included in this study, with a median age of 50 years. The median alcohol intake upon admission was 142 g/d, the median duration of AUD was 20 years, and 76% of the patients were active smokers.

The median glucose, albumin, and creatinine levels were 92, 40, and 0.78 mg/dl, respectively, while the median AST, ALT, gamma-glutamyl transferase (GGT), and bilirubin levels were 41 U/l, 29 U/l, 92.5 U/l, and 0.69 mg/dl, respectively. The median hemoglobin level was 14.1 g/dl, the median mean corpuscular volume (MCV) was 94.8 fL, and the median platelet count was $189 \times 10^9/l$. The median cholesterol and triglyceride levels were 187 and 109.3 mg/dl, respectively, while the median fibrinogen and ferritin levels were 341 mg/dl and 177 ng/ml, respectively. In addition, 36.7% of patients had an erythrocyte sedimentation rate of >20 mm, and 32.5% had a C-reactive protein (CRP) level of >5 mg/l. The median levels of CD163, sCD14, and IL-6 were 759 ng/ml, 1.68×10^6 pg/ml, and 4.37 pg/ml, respectively. Table 1 shows the clinical characteristics and laboratory parameters of the study population.

When marker levels were divided into quartiles, 98 patients had CD163 values in the highest quartile, 73 had sCD14 values in the highest quartile, and 68 had IL-6 values in the highest quartile.

Bivariate Associations Between Clinical and Laboratory Characteristics and the 3 Markers of Interest

Table 2 shows the bivariate associations between clinical and laboratory characteristics and markers of monocyte activation (CD163 and sCD14), and inflammation (IL-6) in the highest quartile.

Briefly, CD163 values in the highest quartile were associated with the male sex (86.7%, highest quartile vs. 72.9%, all other quartiles, *p* < 0.01); HCV infection (20.6% vs. 5.8%, *p* < 0.01); higher mean levels of AST (85 vs. 41 U/l, *p* < 0.01), ALT (51 vs. 33 U/l, *p* < 0.01), GGT (478 vs. 161 U/l, *p* < 0.01), bilirubin (1.2 vs. 0.7 mg/dl, *p* < 0.01), and MCV (97.1 vs. 93.8 fL, *p* < 0.01); lower mean levels of

Table 1. Characteristics of the Study Population and Levels of Markers of Monocyte Activation and Inflammation in 289 Patients With Alcohol Use Disorder Admitted for Treatment

Variable	<i>N</i> = 289 (%)
Male sex	224 (77.5)
Age (years), median (IQR)	50 (43.5 to 57)
BMI, median (IQR)	25.6 (22.3 to 29.3)
Alcohol and substance use	
Alcohol consumption (g/d), median (IQR)	142 (100 to 220)
Duration of AUD (years), median (IQR)	20 (10 to 28)
Active smokers	220 (76.1)
Laboratory parameters	
Glucose (mg/dl), median (IQR)	92.0 (82.9 to 103.0)
Albumin (mg/dl), median (IQR)	40 (37 to 42.8)
Creatinine (mg/dl), median (IQR)	0.78 (0.67 to 0.90)
AST (U/l), median (IQR)	41 (24.5 to 77.5)
ALT (U/l), median (IQR)	29 (18 to 49.2)
GGT (U/l), median (IQR)	92.5 (38 to 279.5)
ALP (U/l), median (IQR)	76 (59 to 105)
Bilirubin (mg/dl), median (IQR)	0.69 (0.47 to 1.11)
Total cholesterol (mg/dl), median (IQR)	187 (156 to 221)
Triglycerides (mg/dl), median (IQR)	109.3 (77 to 178.6)
Hemoglobin (g/dl), median (IQR)	14.1 (12.8 to 15.2)
MCV (fL), median (IQR)	94.8 (91.0 to 99.0)
White blood cells ($10^9/l$), median (IQR)	6.4 (5.0 to 7.6)
Platelets ($10^9/l$), median (IQR)	189 (136 to 239)
Fibrinogen (mg/dl), median (IQR)	341 (276 to 392)
Ferritin (ng/ml), median (IQR)	177 (79 to 377)
HCV infection	31 (10.9)
HIV infection	14 (4.9)
ESR > 20 mm	106 (36.7)
CRP > 5 mg/l	94 (32.5)
Markers of monocyte activation and inflammation	
CD163 (ng/ml), median (IQR)	759 (494 to 1,000)
sCD14 ($\times 10^6$ pg/ml), median (IQR)	1.68 (1.33 to 2.08)
IL-6 (pg/ml), median (IQR) (<i>n</i> = 273)	4.37 (1.3 to 9.71)

ALP, alkaline phosphatase; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; AUD, alcohol use disorder; BMI, body mass index; CRP, C-reactive protein; ESR, erythrocyte sedimentation rate; GGT, gamma-glutamyl transferase; HCV, hepatitis C virus; IQR, interquartile range.

hemoglobin (13.4 vs. 14.1 g/dl, *p* < 0.01) and cholesterol (179 vs. 195 mg/dl, *p* = 0.01); and an erythrocyte sedimentation rate (ESR) of >20 (51% vs. 35%, *p* < 0.01).

sCD14 values in the highest quartile were associated with higher mean levels of glucose (107, highest quartile vs. 95 mg/dl, all other quartiles, *p* = 0.04), AST (72 vs. 51 U/l, *p* < 0.01), MCV (97 vs. 94 fL, *p* < 0.01), fibrinogen (355 vs. 336 mg/dl, *p* = 0.04), and ferritin (536 vs. 267 ng/ml, *p* < 0.01), as well as an ESR of >20 (49.3 vs. 32.6%, *p* < 0.01) and a CRP level of >5 (54.8 vs. 25.1%, *p* < 0.01).

IL-6 values in the highest quartile were associated with older age (52.5 years highest quartile vs. 49.7 years, all other quartiles, *p* = 0.04); higher AST (75 vs. 53 U/l, *p* < 0.01), GGT (419 vs. 234 U/l, *p* < 0.01), MCV (98 vs. 94 fL, *p* < 0.01), and ferritin (506 vs. 289 ng/ml, *p* < 0.01);

Table 2. Bivariate Associations of Clinical and Laboratory Characteristics and Markers of Monocyte Activation (CD163 and sCD14), and Inflammation (IL-6) in the Highest Quartile

Variable	CD163			sCD14			IL-6		
	Highest quartile	All other quartiles	P-Value	Highest quartile	All other quartiles	P-Value	Highest quartile	All other quartiles	P-Value
Male sex [n (%)]	85 (86.7)	139 (72.9)	<0.01	55 (75.3)	169 (78.2)	0.61	52 (76.4)	160 (78.0)	0.61
Age [mean (SD)]	52.3 (9.4)	49.7 (10.5)	0.04	51.9 (8.7)	50.1 (10.7)	0.17	52.5 (9.4)	49.7 (10.3)	0.04
BMI [mean (SD)]	25.7 (4.9)	26.7 (6.1)	0.13	25.3 (6.5)	26.6 (5.4)	0.12	26.4 (6.4)	26.2 (5.7)	0.86
Alcohol consumption (g/d), [mean (SD)]	174 (124)	166 (107)	0.54	167 (83)	169 (121)	0.92	148 (72)	174 (110)	0.02
Duration of AUD (years), [mean (SD)]	21.4 (11.4)	18.7 (11.2)	0.06	19.9 (11.0)	19.6 (11.5)	0.88	21.0 (11.5)	19.9 (11.5)	0.47
Tobacco use [n (%)]	74 (75.5)	146 (77.7)	0.19	56 (76.7)	164 (76.9)	0.99	52 (76.4)	157 (76.4)	0.63
Glucose (mg/dl), [mean (SD)]	104 (34.6)	95.7 (37.8)	0.05	107 (48)	95 (20.0)	0.04	95 (24)	100 (33)	0.31
Albumin (mg/dl), [mean (SD)]	38.5 (5.2)	40.4 (3.8)	<0.01	39.0 (5.3)	40.0 (4.0)	0.15	37.9 (4.8)	40.2 (4.2)	<0.01
Creatinine (mg/dl), [mean (SD)]	0.95 (1.07)	0.81 (0.23)	0.23	1.01 (1.91)	0.81 (0.26)	0.16	0.78 (0.37)	0.88 (0.73)	0.26
AST (U/l), [mean (SD)]	85 (48)	41 (38)	<0.01	72 (48)	51 (45)	<0.01	75 (45)	53 (48)	0.01
ALT (U/l), [mean (SD)]	51 (36)	33 (27)	<0.01	43 (32)	37 (31)	0.15	41 (29)	37 (30)	0.37
GGT (U/l), [mean (SD)]	478 (566)	161 (382)	<0.01	404 (607)	223 (445)	0.02	419 (572)	234 (446)	0.02
ALP (U/l), [mean (SD)]	148 (247)	86 (85)	<0.01	116 (140)	104 (168)	0.54	145 (267)	88 (80)	0.09
Bilirubin (mg/dl), [mean (SD)]	1.2 (0.73)	0.7 (0.46)	0.02	0.98 (0.67)	0.87 (0.59)	0.18	1.2 (0.78)	0.81 (0.52)	<0.01
Total cholesterol (mg/dl), [mean (SD)]	179 (60)	195 (49)	0.01	191 (67)	189 (49)	0.78	172 (51)	196 (54)	<0.01
Triglycerides (mg/dl), [mean (SD)]	121 (99)	154 (109)	0.02	158 (137)	137 (93)	0.17	110 (80)	155 (114)	<0.01
Hemoglobin (g/dl), [mean (SD)]	13.4 (1.9)	14.1 (1.8)	<0.01	13.6 (1.9)	13.0 (1.8)	0.11	13.3 (2.1)	14.1 (1.7)	<0.01
MCV (fl), [mean (SD)]	97.1 (9.5)	93.8 (7.4)	<0.01	97 (8)	94 (8)	<0.01	98 (11)	94 (7)	<0.01
Platelets ($10^9/l$), [mean (SD)]	171 (208)	212 (62)	0.06	180 (71)	205 (147)	0.17	195 (246)	199 (67)	0.89
Fibrinogen (mg/dl), median (IQR)	332 (108)	349 (105)	0.21	365 (115)	336 (102)	0.04	349 (130)	343 (99)	0.70
Ferritin (ng/ml), median (IQR)	503 (627)	249 (333)	<0.01	536 (655)	267 (363)	<0.01	506 (652)	289 (407)	<0.01
HCV infection [n (%)]	20 (20.6)	11 (5.8)	<0.01	10 (13.8)	21 (9.9)	0.35	10 (14.9)	19 (9.4)	0.21
HIV infection [n (%)]	8 (8.2)	6 (3.2)	0.06	5 (6.9)	9 (4.2)	0.35	11 (5.4)	3 (4.4)	0.74
ESR > 20 mm [n (%)]	50 (51.0)	56 (35.0)	<0.01	36 (49.3)	60 (32.6)	0.01	39 (57.4)	61 (29.9)	<0.01
CRP > 5 mg/l [n (%)]	35 (35.7)	59 (31.1)	0.42	40 (54.8)	54 (25.1)	<0.01	34 (50.0)	57 (27.9)	<0.01

ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; AUD, alcohol use disorder; BMI, body mass index; ESR, erythrocyte sedimentation rate; GGT, gamma-glutamyl transferase; HCV, hepatitis C virus; IQR, interquartile range.

*Bold: p-value < 0.05.

ESR > 20 (57.4 vs. 29.9%, $p < 0.01$) and a CRP > 5 (50 vs. 27.9%, $p < 0.01$); and lower alcohol consumption (148 vs. 174 g/d, $p = 0.02$), albumin (37.9 vs. 40.2 mg/dl, $p < 0.01$), hemoglobin (13.3 vs. 14.1 g/dl, $p < 0.01$), total cholesterol (172 vs. 196 mg/dl, $p < 0.01$), and triglycerides (110 vs. 155 mg/dl, $p < 0.01$).

In addition, patients in the highest quartile for each marker were associated with the highest quartiles for the other 2 markers, as shown in Table 3.

Multivariate Logistic Regression of Markers in the Highest Quartile

Figure 1 shows the multivariate logistic regression analyses of predictors for having markers in the highest quartile.

Glucose, AST, and bilirubin levels [adjusted odds ratio (aORs) (95% confidence interval [CI]) of 1.01 (1.01 to 1.02), $p = 0.04$; 1.02 (1.00 to 1.04), $p = 0.04$ and 3.04 (1.18 to 7.83), $p = 0.02$; respectively] and HCV infection [aOR (95% CI) of 9.73 (2.34 to 40.49), $p < 0.01$] were positively associated with CD163 levels in the highest quartile. However, hemoglobin levels [aOR 0.70 (0.53 to

Table 3. Bivariate Association of Patients in the Highest Quartiles in Terms of CD163, sCD14, and IL-6 Expression

Highest quartile	Highest quartile	All other quartiles	p-Value
	CD163		
sCD14			
sCD14 [n (%)]	38 (38.9)	35 (18.3)	<0.01
IL-6 [n (%)]	37 (39.4)	31 (17.3)	<0.01
IL-6			
sCD163 [n (%)]	37 (39.4)	31 (17.3)	<0.01
sCD14 [n (%)]	26 (38.2)	42 (25.8)	<0.01

*Bold: p-value < 0.05.

0.94), $p = 0.02$] were negatively associated with CD163 levels in the highest quartile.

Glucose, AST, and triglyceride levels and a CRP of >5 mg/l [aORs (95% CI) of 1.02 (1.00 to 1.02) $p = 0.02$; 1.01 (1.00 to 1.02), $p < 0.01$; 1.00 (1.00 to 1.01), $p < 0.01$; and

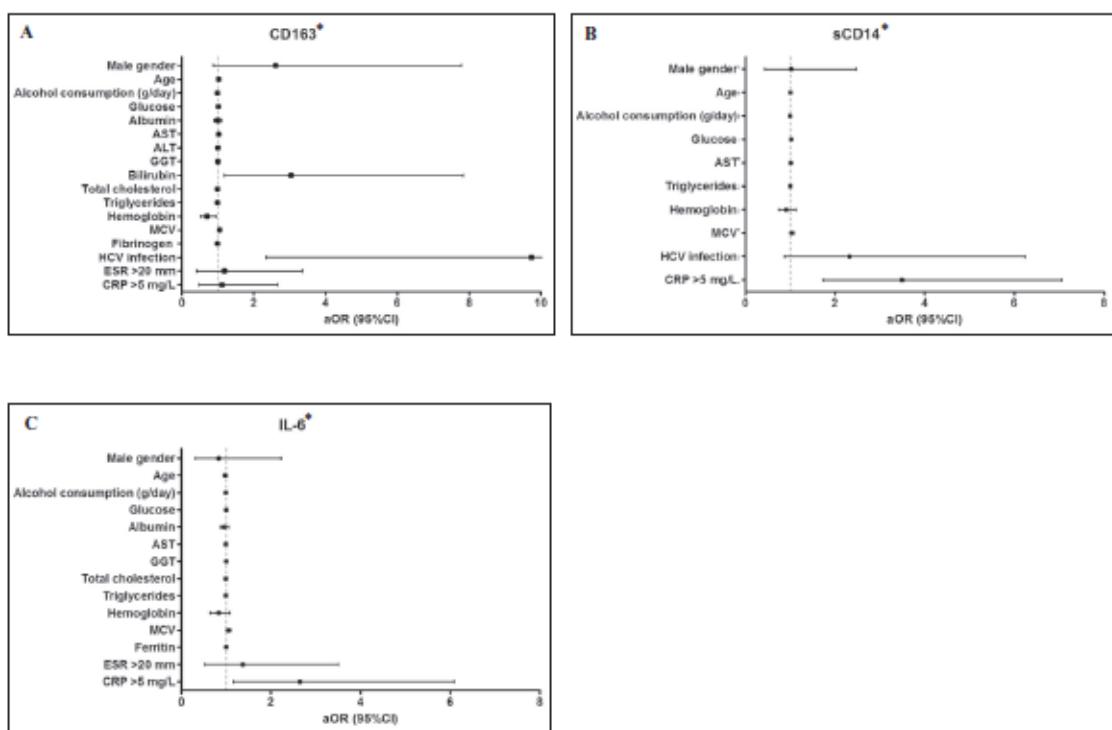


Fig. 1. Multivariate logistic regression analysis of clinical and laboratory characteristics and markers of monocyte activation (CD163) [A], (sCD14) [B], and inflammation (IL-6) [C] in the highest quartile. *Highest quartile versus all other values. CI, confidence interval.

3.49 (1.73 to 7.06), $p < 0.01$; respectively] were positively associated with sCD14 levels in the highest quartile.

MCV and a CRP of >5 mg/l [aORs (95% CI) of 1.05 (1.00 to 1.11), $p = 0.04$ and 2.56 (1.16 to 6.08), $p = 0.02$; respectively] were positively associated with IL-6 levels in the highest quartile. Alcohol consumption and total cholesterol [aORs (95% CI) of 0.99 (0.99 to 1.00), $p = 0.04$ and 0.99 (0.98 to 0.99), $p = 0.03$; respectively] were negatively associated with IL-6 levels in the highest quartile.

All other predictors assessed herein were not significantly associated with marker levels in the highest quartile.

DISCUSSION

In this study, a proportion of AUD patients who were admitted for hospital detoxification presented distinct markers of monocyte activation and inflammation in the highest quartile. Multivariate regression analysis revealed that glucose, AST, and bilirubin levels and HCV infection were positively associated with CD163 levels in the highest quartile, consistent with monocyte activation. In addition, levels of hemoglobin were negatively associated with CD163 levels in the highest quartile. Higher glucose and AST levels, triglycerides levels, and CRP of >5 mg/l were positively associated with sCD14 production in the highest quartile.

Besides, alcohol consumption before admission, higher MCV, lower cholesterol levels, and a CRP of >5 mg/l were associated with IL-6 expression in the highest quartile, consistent with systemic inflammation.

Therefore, metabolic abnormalities and higher AST levels, suggesting subclinical alcohol-related liver disease, are associated with immune activation. CRP (an acute phase reactant) levels of >5 mg/l are associated with higher levels of sCD14 and systemic inflammation. Despite that the study population not having overt end-stage liver disease, their laboratory results, that is, elevated AST, GGT, and ALP levels, suggest the presence of early-stage liver damage. Moreover, in previous studies of our cohort of patients with AUD admitted for hospital treatment, liver-related complications were a prominent cause of mortality (Fuster et al., 2015a), and patients exhibited ultrasound abnormalities, suggesting subclinical liver damage (Fuster et al., 2018).

The association between lower hemoglobin levels and higher CD163 levels, and the association between higher MCVs and higher IL-6 levels merit discussion, as we previously reported that a higher MCV and the presence of anemia are associated with mortality in AUD patients admitted for hospital detoxification (Fuster et al., 2015b).

The association between CD163 levels in the highest quartile and HCV infection is of interest, as are other well-characterized pathogenic interactions between HCV infection and

alcohol use (i.e., increased cytotoxicity, impaired immune response, increased oxidative stress, increased iron deposits, and progressive liver injury) (Fuster et al., 2012). Those pathogenic interactions may partially explain the reduced survival of patients with AUD who also harbor an HCV infection (Muga et al., 2018). Therefore, HCV treatment and alcohol cessation should be a priority among patients with AUD. Alcohol use remains a primary reason underlying the nonprescription of HCV treatment (Barua et al., 2015); however, it does not negatively impact the achievement of a sustained viral response (Tsui et al., 2016).

Higher glucose levels are suggestive of insulin resistance, and the median body mass index (BMI) in the study population was 25.6; hence, over half of the patients included herein were overweight. In addition, the association between higher levels of triglycerides and sCD14 levels in the highest quartile also suggests the presence of metabolic syndrome. These findings relate to the known association between the metabolic syndrome and nonalcoholic liver steatosis, which shares some pathogenic pathways with alcohol-related liver disease (Diehl and Day, 2017) and the double-hit model of liver disease in heavy drinkers who are obese or overweight (Ajmera et al., 2017; Bellentani et al., 2000). Therefore, metabolic abnormalities should be targeted and treated alongside AUD in these groups of patients to diminish the risk of progression to end-stage liver disease (Diehl and Day, 2017).

The association between lower levels of cholesterol and IL-6 levels in the highest quartile also merits discussion. Despite lower cholesterol levels indicating better cardiovascular health, they also potentially represent markers of early-stage liver disease.

As shown in Table 3, our results show that patients positive for 1 marker (CD163, sCD14, or IL-6) in the highest quartile had a higher probability of being positive for the other 2 markers in the highest quartile. In a study including 97 heavy drinkers and 51 control subjects, positive associations were observed between the levels of CD163, sCD14, and IL-6 and the quantity of alcohol consumption (Liang-punsakul et al., 2017).

Other studies have reported higher levels of sCD14 and IL-6 in patients with AUD, in comparison with healthy controls (Donnadieu-Rigole et al., 2016; Donnadieu-Rigole et al., 2018; Urbaschek et al., 2001) and reduced biomarker levels of inflammation and intestinal permeability after 2 to 3 weeks of alcohol withdrawal (Kirpich et al., 2017; Leclercq et al., 2014).

This study does not report an association between the amounts of alcohol consumption and CD163 and sCD14 levels, probably because our study population represents the more extreme cases of AUD patients warranting hospital detoxification, with high alcohol consumption rates upon admission (median of 142 g/d; interquartile range of 100 to 220), and we did not include a cohort of healthy control subjects or light-to-moderate drinkers as controls.

Moreover, multivariate analysis revealed an association between lower amounts of alcohol intake and the odds of IL-

6 levels being present in the highest quartile ($p = 0.04$). This somewhat counterintuitive finding might be explained through reverse causation, wherein AUD patients with higher IL-6 levels consistent with systemic inflammation might drink lower amounts of alcohol because their overall physical health is probably worse.

One limitation of this study is the absence of healthy control subjects for comparison, which is why the highest quartile values of the 3 biomarkers were considered to better characterize those patients with more prominent laboratory abnormalities. In addition, the biomarkers were also measured once at 2 d after admission, and their levels may have decreased upon alcohol abstinence. Furthermore, we included patients with the most severe forms of AUD, with a median alcohol intake of 142 g/d before admission; hence, our findings might not be extrapolated to those with milder forms of unhealthy alcohol use, as observed in primary-care clinics.

The strengths of this study include a large cohort size and a sizable amount of patient-level data that facilitated the detection of association between clinical and laboratory characteristics and markers of immune activation and systemic inflammation.

In conclusion, this study describes the significance of monocyte activation and systemic inflammation in AUD patients admitted for hospital detoxification. Based on the associations described in this study, we detected a subgroup of patients with AUD at high risk of midterm poor outcomes, even without overt liver disease. This subgroup of patients would include those with higher glucose and liver enzyme levels, lower lipid levels, HCV infection, lower hemoglobin, higher MCV, and higher CRP values.

Future studies are required to focus on longitudinal changes occurring in these and other biomarkers and in their prognostic value, that is, whether they are applicable in the early identification of AUD patients at an increased mortality risk.

FUNDING

This study was supported by the Ministry of Economy and Competitiveness, Institute of Health Carlos III [RETICS RD16/0017/0003, grant number PI17/00174, and Rio Hortega Program CM17/022], European Fund for Regional Development (FEDER); the Ministry of Health, Social Services and Equality, National Plan on Drugs [grant numbers 2015/027 and 2018/020], Spain; the Gilead Fellowship Program [Gilead Sciences, GLD17/00187]; the Health Department Intensification Program [SLT006/17/00107] and Consolidated Research Group [2017-SGR-316], Autonomous Government of Catalonia, Spain.

CONTRIBUTIONS

XGC, JT, RM, and DF were responsible for the study concept and design. XGC, FB, PZ, RM, and DF were

responsible for participant selection and inclusion, and data collection. XGC, AS, and DF performed data analysis. All authors assisted with interpreting the findings. XGC and DF drafted the manuscript. All authors critically reviewed and edited the manuscript and approved the final version for publication.

CONFLICT OF INTEREST

No conflict declared.

REFERENCES

- Ajmera VH, Terrault NA, Harrison SA (2017) Is moderate alcohol use in nonalcoholic fatty liver disease good or bad? A critical review. *Hepatology* 65:2090–2099.
- American Psychiatric Association (2000) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th ed. (DSM IV-TR). Government Printing Office, Washington, DC.
- Barua S, Greenwald R, Grebely J, Dore GJ, Swan T, Taylor LE (2015) Restrictions for medicaid reimbursement of sofosbuvir for the treatment of hepatitis C virus infection in the United States. *Ann Intern Med* 163:215–223.
- Bellentani S, Saccoccia G, Masutti F, Crocè LS, Brandi G, Sasso F, Cristanini G, Tiribelli C (2000) Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Ann Intern Med* 132:112–117.
- Capeau J (2011) Premature aging and premature age-related comorbidities in HIV-infected patients: facts and hypotheses. *Clin Infect Dis* 53:1127–1129.
- Diehl AM, Day C (2017) Cause, pathogenesis, and treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 377:2063–2072.
- Donnadieu-Rigole H, Mura T, Portales P, Duroux-Richard I, Bouthier M, Eliou J-F, Perney P, Apparailly F (2016) Effects of alcohol withdrawal on monocyte subset defects in chronic alcohol users. *J Leukoc Biol* 100:1191–1199.
- Donnadieu-Rigole H, Pansu N, Mura T, Pelletier S, Alarcon R, Gamon L, Pemey P, Apparailly F, Lavigne J-P, Duniach-Remy C (2018) Beneficial effect of alcohol withdrawal on gut permeability and microbial translocation in patients with alcohol use disorder. *Alcohol Clin Exp Res* 42:32–40.
- Fuster D, Garcia-Calvo X, Zuluaga P, Rivas I, Sanvisens A, Tor J, Muga R (2018) Ultrasound findings of liver damage in a series of patients consecutively admitted for treatment of alcohol use disorder. *Drug Alcohol Depend* 190:195–199.
- Fuster D, Samet JH (2018) Alcohol use in patients with chronic liver disease. *N Engl J Med* 379:2577–2579.
- Fuster D, Sanvisens A, Bolao F, Serra I, Rivas I, Tor J, Muga R (2015a) Impact of hepatitis C virus infection on the risk of death of alcohol-dependent patients. *J Viral Hepat* 22:18–24.
- Fuster D, Sanvisens A, Bolao F, Zuluaga P, Rivas I, Tor J, Muga R (2015b) Markers of inflammation and mortality in a cohort of patients with alcohol dependence. *Medicine (Baltimore)* 94:e607.
- Fuster D, Tor J, Rey-Joly C, Muga R (2012) Pathogenic interactions between alcohol and hepatitis C. *C. Med Clin (Barc)* 138:627–632.
- Gao B, Ahmad MF, Nagy LE, Tsukamoto H (2019) Inflammatory pathways in alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 70:249–259.
- GBD 2016 Alcohol Collaborators (2016) Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet* 392:1015–1035.
- Hunt PW, Sinclair E, Rodriguez B, Shive C, Clagett B, Funderburg N, Robinson J, Huang Y, Epling L, Martin JN, Deeks SG, Meinert CL, Van Natta ML, Jabs DA, Lederman MM (2014) Gut epithelial barrier dysfunction and innate immune activation predict mortality in treated HIV infection. *J Infect Dis* 210:1228–1238.
- Kirpich IA, McClain CJ, Vatsalya V, Schwandt M, Phillips M, Falkner KC, Zhang L, Harwell C, George DT, Umhau JC (2017) Liver injury and endotoxemia in male and female alcohol-dependent individuals admitted to an alcohol treatment program. *Alcohol Clin Exp Res* 41:747–757.
- Lackner C, Tiniakos D (2019) Fibrosis and alcohol-related liver disease. *J Hepatol* 70:294–304.
- Leclercq S, Matamoros S, Cani PD, Neyrinck AM, Jamar F, Stärkel P, Windey K, Tremaroli V, Bäckhed F, Verbeke K, de Timaray P, Delzenne NM (2014) Intestinal permeability, gut-bacterial dysbiosis, and behavioral markers of alcohol-dependence severity. *Proc Natl Acad Sci USA* 111: E4485–E4493.
- Liangpunsakul S, Toh E, Ross RA, Heathers LE, Chandler K, Oshodi A, McGee B, Modlik E, Linton T, Mangiacarne D, Jimenez C, Dong XC, Wang L, Tu W, Nelson DE (2017) Quantity of alcohol drinking positively correlates with serum levels of endotoxin and markers of monocyte activation. *Sci Rep* 7:4462.
- Lien E, Aukrust P, Sundan A, Müller F, Frøland SS, Espevik T (1998) Elevated levels of serum-soluble CD14 in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection: correlation to disease progression and clinical events. *Blood* 92:2084–2092.
- Louvet A, Mathurin P (2015) Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 12:231–242.
- Mandrekar P, Bala S, Catalano D, Kodys K, Szabo G (2009) The opposite effects of acute and chronic alcohol on lipopolysaccharide-induced inflammation are linked to IRAK-M in human monocytes. *J Immunol (Baltimore, Md 1950)* 183:1320–1327.
- Muga R, Sanvisens A, Jarrin I, Fuster D, Bolao F, Tor J, Muñoz A (2018) Hepatitis C infection substantially reduces survival of alcohol-dependent patients. *Clin Epidemiol* 10:897–905.
- Purohit V, Bode JC, Bode C, Brenner DA, Choudhry MA, Hamilton F, Kang YJ, Keshavarzian A, Rao R, Sartor RB, Swanson C, Turner JR (2008) Alcohol, intestinal bacterial growth, intestinal permeability to endotoxin, and medical consequences: summary of a symposium. *Alcohol* 42:349–361.
- Rehm J, Samokhvalov AV, Shield KD (2013) Global burden of alcoholic liver diseases. *J Hepatol* 59:160–168.
- Rivas I, Sanvisens A, Bolao F, Fuster D, Tor J, Pujol R, Torrens M, Rey-Joly C, Muga R (2013) Impact of medical comorbidity and risk of death in 680 patients with alcohol use disorders. *Alcohol Clin Exp Res* 37:E221–E227.
- Sandler NG, Koh C, Roque A, Eccleston JL, Siegel RB, Demino M, Kleiner DE, Deeks SG, Liang TJ, Heller T, Douek DC (2011) Host response to translocated microbial products predicts outcomes of patients with HBV or HCV infection. *Gastroenterology* 141:1220–1230.e3.
- Seitz HK, Bataller R, Cortez-Pinto H, Gao B, Gual A, Lackner C, Mathurin P, Mueller S, Szabo G, Tsukamoto H (2018) Alcoholic liver disease. *Nat Rev Dis Prim* 4:16.
- Sobell LC, Sobell M (1992) Timeline Follow-back: a technique for assessing self-reported ethanol consumption, in *Measuring Alcohol Consumption: Psychosocial and Biological Methods*. (Allen J, Litten R eds), pp. 41–72. Humana Press, Totowa, NJ.
- Szabo G (1999) Consequences of alcohol consumption on host defence. *Alcohol Alcohol* 34:830–841.
- Szabo G (2015) Gut-liver axis in alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 148:30–36.
- Tsui JI, Williams EC, Green PK, Berry K, Su F, Ioannou GN (2016) Alcohol use and hepatitis C virus treatment outcomes among patients receiving direct antiviral agents. *Drug Alcohol Depend* 169:101–109.
- Urbaschek R, McCuskey RS, Rudi V, Becker KP, Stickel F, Urbaschek B, Seitz HK (2001) Endotoxin, endotoxin-neutralizing-capacity, sCD14, sICAM-1, and cytokines in patients with various degrees of alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res* 25:261–268.
- World Medical Association General Assembly (2001) World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects revised October 7, 2000. *HIV Clin Trials* 2:92–95.

10.1.2 ESTUDIO 2

Fuster D, García-Calvo X, Bolao F, Zuluaga P, Rocamora G, Hernández-Rubio A, Sanvisens A, Tor J, Muga R. Cannabis use is associated with monocyte activation (sCD163) in patients admitted for alcohol use disorder treatment. *Drug Alcohol Depend.* 2020 Nov 1;216:108231. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2020.108231. Epub 2020 Aug 11. PMID: 32818911.

Drug and Alcohol Dependence 216 (2020) 108231



Cannabis use is associated with monocyte activation (sCD163) in patients admitted for alcohol use disorder treatment



Daniel Fuster^{a,b,*}, Xavier García-Calvo^{a,b}, Ferran Bolao^c, Paola Zuluaga^{a,b}, Gemma Rocamora^{a,b}, Anna Hernández-Rubio^{a,b}, Arantza Sanvisens^{a,b}, Jordi Tor^{a,b}, Robert Muga^{a,b}

^aDepartment of Internal Medicine, Addiction Unit Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, 08916, Spain

^bDepartment of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Badalona, 08916, Spain

^cDepartment of Internal Medicine, Hospital Universitari Bellvitge, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), L'Hospitalet de Llobregat, 08907, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:

Alcohol use disorder
Cocaine
Cannabis
Monocyte activation
Inflammation

ABSTRACT

Background: The effect of concomitant cocaine and cannabis use on monocyte activation and inflammation in patients with alcohol use disorder (AUD) is unknown.

Methods: To analyze the impact of cocaine and cannabis use on levels of markers of monocyte activation (sCD163 and sCD14) and systemic inflammation (interleukin-6 (IL-6)) in AUD patients admitted for hospital treatment between 2013 and 2018. Clinical and laboratory parameters were obtained upon admission. IL-6, sCD163, and sCD14 were measured in frozen plasma samples. We performed logistic regression to detect associations between cocaine and cannabis use and markers of monocyte activation and inflammation in the highest quartile.

Results: A total of 289 patients (77.5 % male) were included (median age = 50 years). The median alcohol intake upon admission was 142 g/day. The median duration of AUD was 20 years. Of the 289 patients with AUD, 76 % were active smokers, 23.1 % and 22.1 % concomitantly used cocaine and cannabis, respectively. The median levels of IL-6, sCD163, and sCD14 were 4.37 pg/mL, 759 ng/mL, and 1.68 × 10⁶ pg/mL, respectively. We did not detect associations between cocaine use and inflammation or monocyte activation. Cannabis use was associated with a higher odds of having sCD163 levels in the highest quartile (adjusted odds ratio = 2.34, 95 % confidence interval = 1.07–5.15, *p* = 0.03). Cannabis use was not associated with inflammation.

Conclusion: In this series of AUD patients the concomitant use of cannabis use was associated with sCD163 levels that were in the highest quartile, consistent with monocyte activation.

1. Introduction

Patients with alcohol use disorder (AUD) frequently concomitantly use tobacco and other drugs and have unhealthy lifestyles (Friedmann, 2013). Cannabis and cocaine use is common among urban young adults with AUD who are admitted for hospital treatment of the disorder (Fuster et al., 2017).

In animal models, cannabinoid CB₁ and CB₂ receptors appear to play a role in the pathogenesis of various liver diseases (e.g., hepatitis C virus [HCV] infection, non-alcoholic steatohepatitis [NASH], and alcohol-related liver disease), (Mallat et al., 2008; Parfeniuk and Flisiak, 2008). Cannabidiol is one of the constituents of cannabis. It was shown to attenuate alcohol-induced liver steatosis, and inflammation in a mouse model of liver disease (Wang et al., 2017). It was also shown to

promote activated stellate cell death (Lim et al., 2011). Stellate cells are responsible for the progression of liver fibrosis (Bataller and Gao, 2015). Human studies have evaluated the impact of cannabis on liver disease but have reported mixed results (Hézode et al., 2005; Ishida et al., 2008; Liu et al., 2014; Wijarnpreecha et al., 2018; Adejumo et al., 2017, 2018; Goyal et al., 2018). Previous cross-sectional studies showed that cannabis use was associated with biopsy-proven liver steatosis and liver fibrosis in HCV-infected patients (Hézode et al., 2005; Ishida et al., 2008), but more recent longitudinal studies of cohorts of HCV-infected patients with and without human immunodeficiency virus (HIV) infection did not find an association between cannabis use and non-invasive markers of liver fibrosis (Liu et al., 2014; Wijarnpreecha et al., 2018; Adejumo et al., 2017, 2018; Goyal et al., 2018). A recent meta-analysis also failed to find an association between cannabis use and

* Corresponding author at: Department of Internal Medicine, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Universitat Autònoma de Barcelona, Ctra Canyet s/n, 08916, Badalona (Barcelona), Spain.

E-mail address: dfuster.germanstrias@gencat.cat (D. Fuster).

<https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2020.108231>

Received 12 March 2020; Received in revised form 20 July 2020; Accepted 6 August 2020

Available online 11 August 2020

0376-8716/ © 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

liver fibrosis (Wijarnpreecha et al., 2018). Nonetheless, these populations with many competing risk factors may not be suitable cohorts for isolating the impact of cannabis use on liver-related outcomes. Additionally, epidemiological studies of United States hospital discharge records reported protective effects of cannabis use against chronic HCV infection and alcohol-related liver disease (Adejumo et al., 2017, 2018). However, the generalizability of these findings has been debated (Goyal et al., 2018).

In animal models, cannabis has been regarded as anti-inflammatory and immunomodulatory (Croxford and Yamamura, 2005). The impact of cannabis use on inflammatory markers has been studied in different cohorts with mixed results; cannabis use was associated with lower C-reactive protein (CRP) levels in the National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES) cohort (Alshaarawy and Anthony, 2015), but not in the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study cohort (Alshaarawy et al., 2019). In addition, in the CARDIA study cannabis use was not associated with IL-6 levels (Alshaarawy et al., 2019). In a study in lipopolysaccharide (LPS)-activated primary human monocytes, cannabis proteins reprogrammed monocytes toward M2 polarization types, what could promote regenerative processes and improve chronic inflammatory states (Rodriguez-Martin et al., 2020). The effect of cannabis use on markers of monocyte activation in settings other than HIV infection has not received much attention in the literature (Vidot et al., 2019; de O.F. Castro et al., 2019d). Cocaine use is associated with oxidative stress and inflammation that can lead to heart, liver, and kidney damage (Dominguez-Rodriguez et al., 2010; Valente et al., 2012). Cocaine use has also been associated with higher mortality in patients who are admitted for detoxification (de la Fuente et al., 2014) but the concomitant use of cannabis does not appear to confer a higher risk of death (Fuster et al., 2017).

Alcohol-related liver disease is the most important alcohol-related medical illness (Fuster and Samet, 2018). Alcohol use is associated with changes in microbiome composition and higher levels of Gram-negative bacteria and fungi in the intestines (Szabo, 2015). Alcohol consumption is also associated with an increase in intestinal permeability and the translocation of bacterial products (e.g., LPS, endotoxins, and other pathogen-associated molecular-pattern molecules) that activate Kupffer cells via CD14 receptors and trigger inflammatory responses (Louvet and Mathurin, 2015). Systemic inflammation and monocyte activation are important pathogenic features of the development of alcohol-associated organ damage, which have been thoroughly studied in patients with alcohol-related liver cirrhosis (Seitz et al., 2018; Gao et al., 2019). Monocyte activation, measured based on soluble CD14 (sCD14) levels (i.e., a marker of the LPS-driven immune response) and levels of sCD163 (i.e., a monocyte-scavenger receptor for the hemoglobin-haptoglobin complex), has been less extensively studied in patients with unhealthy alcohol use without overt end-stage liver disease (Donnadieu-Rigole et al., 2018; Garcia-Calvo et al., 2020).

The concomitant use of alcohol and other drugs, such as cocaine and cannabis, may negatively impact alcohol-related medical problems. However, information about the effect of cannabis and cocaine use on systemic inflammation and monocyte activation in otherwise healthy AUD patients who are admitted for hospital treatment is scarce. The present study analyzed the impact of cocaine and cannabis use on the levels of markers of systemic inflammation (i.e., IL-6) and monocyte activation (i.e., sCD163 and sCD14) in AUD patients who were admitted for hospital detoxification.

2. Participants and methods

2.1. Objective

We wanted to analyze the impact of cocaine and cannabis use on markers of monocyte activation (i.e., sCD163 and sCD14) and systemic inflammation (i.e., IL-6) in AUD patients who were consecutively

admitted for hospital detoxification between 2013 and 2018.

2.2. Participants

Between June 2013 and November 2018, patients who were diagnosed with AUD according to the *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4th edition (American Psychiatry Association, 2000) and consecutively admitted for hospital detoxification at two different teaching hospitals (Hospital Universitari Germans Trias i Pujol and Hospital Universitari de Bellvitge) in the metropolitan area of Barcelona, Spain, were included in the study.

Addiction specialists at the primary care and hospital levels referred patients for detoxification if they were deemed ineligible for ambulatory detoxification. The primary criteria for referring patients for hospital detoxification included a high risk of severe alcohol withdrawal, comorbid medical complications (including prior episodes of severe alcohol withdrawal or seizure history), an inability to take medications orally, and unsuccessful outpatient detoxification.

Exclusion criteria included the presence of autoimmune diseases, acute comorbidities (i.e., acute infection, sepsis, and decompensated liver disease), or severe mental health comorbidities (i.e., acute psychosis and decompensated bipolar disorder).

The study was approved by the Ethics Committee of the Hospital Universitari Germans Trias i Pujol and Hospital Bellvitge ("Effect of alcohol intake on intestinal permeability, systemic inflammation and oxidative stress. Longitudinal study of patients with alcohol use disorder with or without co-occurring use of cannabis and/ or cocaine", file numbers PNSD2015-027 and PR154/16, respectively). All of the patients provided written consent before entering the study. The methods that were used to conduct the study complied with the ethical standards for medical research and principles of good clinical practice in accordance with the World Medical Association's Declaration of Helsinki (World Medical Association General Assembly, 2001).

2.3. Measurements

Upon hospital admission, the AUD patients underwent a thorough physical exam and interview about their history of alcohol consumption (i.e., type of alcohol, age at first alcohol intake, age of onset of regular alcohol consumption, daily alcohol consumption before admission, years of AUD), and use of tobacco and other drugs. The concomitant use of cocaine and cannabis was assessed by urinalysis with qualitative mass chromatography (THC Flex Dimension; Siemens Healthcare Diagnostics, Surrey, UK) performed during the first hours of hospital admission (Fuster et al., 2017).

On the second day of admission, blood was drawn from the patients to assess hematologic and biochemical parameters, including aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT). Markers of monocyte activation (i.e., sCD163 and sCD14) and systemic inflammation (i.e., IL-6) were quantified in frozen plasma samples. CD163 and sCD14 were quantified using Quantikine enzyme-linked immunosorbent assays (Bio-technne, Abingdon, UK) in accordance with the manufacturer's specifications. For sCD163, a 1:10 dilution was used. For sCD14, a 1:200 dilution was used. A calibration curve was plotted for both CD163 and sCD14. IL-6 levels were analyzed using a Cytometric Bead Array (Beckton Dickinson, Laagstraat, Belgium) in a flow cytometer (BD LSRFortessa). Plasma samples were undiluted, and a top standard curve was plotted to calculate IL-6 concentrations. The lower limit of detection was 0.03 pg/mL. For assays in which IL-6 concentrations were below the detection threshold, a value of 0.03 pg/mL was set for the analysis. The interassay and intraassay coefficients of variation were < 10 % for all of the analyses. Additional information about the admission protocol can be found elsewhere (Garcia-Calvo et al., 2020).

2.4. Statistical analysis

Descriptive statistics are expressed as the median and interquartile range (IQR) for quantitative variables and absolute frequencies and percentages for qualitative variables. We performed logistic regression to analyze cocaine and cannabis use as potential predictors of having sCD163, sCD14, and IL-6 levels in the highest quartile. We then performed multivariate logistic regression analyses that were adjusted for sex, age, and AST levels.

We employed a different model for each marker (sCD163, sCD14, and IL-6). The main outcome was the highest quartile of each marker. The reference category was all other values of the specific marker. We also performed an additional analysis that also adjusted for alcohol intake before admission in grams per day. One-tailed values of $p < 0.05$ were considered statistically significant. The statistical analyses were performed using SPSS 15.0.1 software (SPSS, Chicago, IL, USA).

3. Results

A total of 289 patients (77.5 % male) were included in the study (median age = 50 years). Median alcohol intake upon admission was 142 g/day. The median duration of AUD was 20 years. Two hundred twenty participants (76 %) were active smokers upon admission. Sixty-seven participants (23.1 %) concomitantly used cocaine, and 64 participants (22.1 %) concomitantly used cannabis. Thirty-two participants (11.1 %) concomitantly used both cocaine and cannabis. Fourteen participants (4.9 %) concomitantly used opioids.

Median levels of glucose, albumin, creatinine, AST, and ALT were 92 mg/dL, 40 mg/dL, 0.78 mg/dL, 41 IU/L, and 29 U/L, respectively. Median levels of hemoglobin, and mean corpuscular volume (MCV), fibrinogen, and ferritin were 14.1 g/dL, 94.8 fL, 341 mg/dL, and 177 ng/mL, respectively. Median levels of markers of inflammation (IL-6) were 4.37 pg/mL. Median levels of markers of monocyte activation (sCD163 and sCD14) were 759 ng/mL and 1.68×10^6 pg/mL, respectively. When marker levels were divided into quartiles, 98 patients had sCD163 values in the highest quartile, 73 patients had sCD14 values in the highest quartile, and 68 patients had IL-6 values in the highest quartile. Table 1 summarizes the main clinical and laboratory characteristics of the study population.

Table 2 summarizes the mean values of the three markers stratifying this case series of patients with AUD according to the concomitant use of cocaine and/or cannabis.

In the univariate analysis, cocaine was associated with a lower odds of having sCD163 plasma levels in the highest quartile [odds ratio [OR] = 0.48, 95 % confidence interval [CI] = 0.26–0.91, $p = 0.02$], but not with having IL-6 or sCD14 levels in the highest quartile [OR (95 % CI = 0.57 (0.28–1.16), $p = 0.12$ and 0.73 (0.38–1.41), $p = 0.73$; respectively]. In addition, in the univariate analysis, we did not detect any association with cannabis use and having levels of IL-6, sCD163 or sCD14 in the highest quartile [OR (95 % CI = 0.89 (0.46–1.76), $p = 0.75$; 1.45 (0.81–2.57), $p = 0.20$; and 0.88 (0.46–1.69), $p = 0.70$; respectively]. Furthermore, we did not find an association between cannabis and cocaine use and having any of the plasma markers in the highest quartile [OR (95 % CI = 0.70 (0.27–1.78), $p = 0.45$; 0.87 (0.39–1.92), $p = 0.74$; and 0.51 (0.91–1.39), $p = 0.19$; respectively].

In the multivariate logistic regression analysis that was adjusted for gender, age, and AST levels; we did not detect associations between cocaine use and levels of markers of inflammation or monocyte activation in the highest quartile. In the adjusted analysis, cannabis use was associated with a higher odds of having sCD163 levels (i.e., a marker of monocyte activation) in the highest quartile (OR = 2.34, 95 % CI = 1.07–5.15, $p = 0.03$). However, cannabis use was not associated with IL-6 or sCD14 levels in the highest quartile.

No association was found between the concomitant use of cocaine and having levels of markers of inflammation or monocyte activation in the highest quartile. Fig. 1 presents the results of the multivariate

Table 1
Characteristics of the study population of 289 patients with alcohol use disorder who were admitted for detoxification.

	N = 289 n (%)
Men	224 (77.5)
Age (years), median (IQR)	50 (43.5–57)
BMI, median (IQR)	25.6 (22.3–29.3)
Alcohol and substance use	
Alcohol consumption (g/day), median (IQR)	142 (100–220)
Duration of AUD (years), median (IQR)	20 (10–28)
Active smokers	220 (76.1)
Use of other substances at admission	
• Cocaine	67 (23.1)
• Cannabis	64 (22.1)
• Cocaine and cannabis	32 (11.1)
• Opiates	14 (4.9)
Laboratory parameters	
Glucose (mg/dL), median (IQR)	92.0 (82.9–103.0)
Albumin (mg/dL), median (IQR)	40 (37–42.8)
Creatinine (mg/dL), median (IQR)	0.78 (0.67–0.90)
AST (U/L), median (IQR)	41 (24.5–77.5)
ALT (U/L), median (IQR)	29 (18–49.2)
Hemoglobin (g/dL), median (IQR)	14.1 (12.8–15.2)
MCV (fL), median (IQR)	94.8 (91.0–99.0)
Fibrinogen (mg/dL), median (IQR)	341 (276–392)
Ferritin (ng/mL), median (IQR)	177 (79–377)
HCV infection	31 (10.9)
HIV infection	14 (4.9)
Markers of inflammation and monocyte activation	
IL-6 (pg/mL), median (IQR) (n = 273)	4.37 (1.3–9.71)
sCD163 (ng/mL), median (IQR)	759 (494–1000)
sCD14 ($\times 10^6$ pg/mL), median (IQR)	1.68 (1.33–2.08)

IQR, interquartile range; BMI, body mass index; ALI, analytical liver injury; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase.

Table 2
Levels of markers of inflammation and monocyte activation according to the concomitant use of cocaine and/or cannabis among patients with alcohol use disorder (AUD).

	IL-6 (pg/mL)*	sCD163 (ng/mL)*	sCD14 ($\times 10^6$ pg/mL)*
AUD	9.57 (16.5)	741 (245)	1.76 (0.57)
AUD and cocaine use	6.67 (11.75)	622 (281)	1.64 (0.45)
AUD and cannabis use	16.1 (5.8)	726 (299)	1.71 (0.54)
AUD and cocaine and cannabis use	8.2 (15.9)	646 (313)	1.66 (0.46)

* Mean (Standard Deviation).

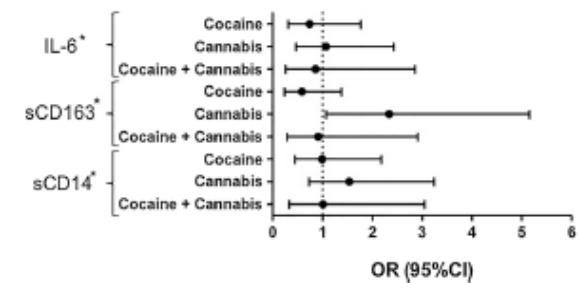


Fig. 1. Adjusted logistic regression analysis of the association between cocaine and cannabis use and markers of systemic inflammation and monocyte activation. Adjusted for sex, age, and AST levels. Each row represents a different model. *Highest quartile vs. all other values.

regression analyses.

An additional analysis that was also adjusted for alcohol

consumption in grams per day yielded similar results.

4. Discussion

In this case-series of AUD patients who were admitted for detoxification, concomitant cannabis use was associated with having sCD163 levels in the highest quartile, which is consistent with the increase in monocyte activation. Despite that the mean IL-6 levels were higher in those with cannabis and alcohol use compared to those who only used alcohol, cannabis was not associated with IL-6 or sCD14 levels in the highest quartile in the adjusted regression analysis. The association between cannabis use and markers of monocyte activation has been seldom studied. In a recent study of HIV-infected methamphetamine users, Vidot and colleagues reported that cannabis users had higher levels of sCD14 than non-users (Vidot et al., 2019). These authors failed to find an association between cannabis use and CD163 (Vidot et al., 2019). Interestingly, in the present study, we found an association between cannabis use and sCD163 levels in the highest quartile but not an association between cannabis use and sCD14 levels in the highest quartile. Higher sCD163 levels in this case-series may reflect monocyte activation that is not only a reflection of LPS-mediated response, but also a reflection of tissue damage due to alcohol and its metabolites and of increased iron deposits, two features of importance in the pathogenesis of alcohol-related liver disease (Seitz et al., 2018).

A recent Brazilian study of HIV-infected patients found that cannabis use promoted an anti-inflammatory profile, whereas cocaine use was associated with an increase in tumor necrosis factor α levels, and patients who used both cannabis and cocaine presented a mixed profile with a predominance of inflammatory cytokines (de O.F. Castro et al., 2019d). These disparate results between these two studies and our present series of AUD patients who were admitted for detoxification may be attributable to the characteristics of the study populations. For example, all of the participants in the studies by Vidot and Castro had HIV infection, which is known to be associated with immune activation (Hunt et al., 2014), (So-Armah et al., 2019). In addition, the substance use pattern was also different between the study participants; in the Vidot study all participants were male methamphetamine users (Vidot et al., 2019), while in the Castro study 21 out of the 62 participants used cannabis, 8 used cocaine and 13 used cannabis and cocaine (de O.F. Castro et al., 2019d). Regarding the use of alcohol, which was universal in this case series, it was not reported in the Castro study (de O.F. Castro et al., 2019d), while the measure of alcohol use in the Vidot study was ASI alcohol severity score (Vidot et al., 2019), which was not associated with sCD14 or sCD163 levels.

Cannabis is the third most commonly consumed drug in the world, after alcohol and tobacco (Degenhardt et al., 2013). The prevalence of cannabis consumption is increasing (Hasin et al., 2015). Cannabis use is currently legal in several countries and states within the United States (Wilkinson et al., 2015), and its consumption will likely further increase in the near future. Although cannabis-related medical problems are not as extensive as those that are associated with cocaine or heroin use (Volkow et al., 2014), the findings of the present study suggest that cannabis use can be detrimental among patients who are admitted for alcohol detoxification. Addressing cannabis use in patients with other substance use disorders can be challenging because no pharmacological treatments exist, and non-pharmacological therapies have shown mixed results in terms of decreasing cannabis use (Sherman and McRae-Clark, 2016).

To our knowledge, no previous studies have investigated the additional impact of cannabis use on immune activation and inflammation in patients with unhealthy alcohol use. The present findings are important and may suggest that the concomitant use of cannabis in patients with AUD may confer a higher risk of mortality and other health-related outcomes. High sCD163 levels reflect monocyte and Kupffer cell activation and have been associated with liver fibrosis in patients with viral hepatitis (Kazankov et al., 2014), HIV infection (Lidofsky

et al., 2018), and non-alcoholic fatty liver disease (Kazankov et al., 2016). Additionally, high sCD163 levels have been associated with greater mortality in HIV-infected patients (Hunt et al., 2014) and in patients with alcoholic hepatitis (Sandahl et al., 2014). Patients with AUD and high monocyte activation may require more intensive follow-up, and abstinence from cannabis use should be encouraged.

We did not detect an association between cocaine use and markers of monocyte activation or inflammation in this series of patients. In fact, in the univariate analysis, cocaine use was associated with lower odds of having sCD163 levels in the highest quartile, an association that was lost in the adjusted regression analysis. In fact, in this study we aimed to assess the additional effect of cocaine and/or cannabis use on IL-6, sCD163 and sCD14 in a case series of patients with severe AUD. It is well established that AUD is associated with increased inflammation and monocyte activation, so participants in this case-series already show competing risks for increased inflammation and monocyte activation, such as a relatively high BMI, elevated liver enzyme levels, and a sizable proportion of HCV infection (García-Calvo et al., 2020). Hence, isolating the effect of concomitant cocaine use on inflammation and monocyte activation can be challenging. Therefore, the deleterious effect of cocaine use in patients with unhealthy alcohol use may be attributable to other mechanisms apart from those that are implicated in the pathogenesis of alcohol-related liver disease (Pennings et al., 2002).

The present study has several limitations. First, the biomarkers were measured at a single time point on the day after admission. Second, the sample size was relatively modest, and we included patients with HCV and HIV, two infections that are known to be associated with both inflammation and monocyte activation. Third, we included only patients with the most severe forms of AUD (i.e., median alcohol intake of 142 g/day before admission). Therefore, our findings might not be generalizable to individuals with milder forms of unhealthy alcohol use.

The present study also has several strengths. First, we were able to obtain a substantial amount of patient-level data. Second, we were able to study a population of AUD patients who frequently concomitantly used cannabis and cocaine. Third, cannabis and cocaine use was assessed by urinalysis and medical interview upon admission. Therefore, we are confident that we were able to accurately identify AUD patients who were exposed to cannabis and cocaine.

In conclusion, we found that cannabis use in patients with AUD was associated with an increase in one marker of monocyte activation (sCD163), thus underscoring the risk that is conferred by other substances in patients who are admitted for alcohol detoxification.

Author contributions

DF, XG-C, AS, JT and RM designed the study.

DF, XG-C, FB, PZ, GR, AH-R, and RM obtained clinical data.

DF and XC-C performed the analysis.

DF drafted the initial version of the manuscript.

All authors revised the manuscript, provided feed-back and accepted the final version.

Role of funding sources

The funding sources had no role in the design and conduct of the study; collection, management, analysis, and interpretation of the data; preparation, review, or approval of the manuscript; and decision to submit the manuscript for publication.

Declaration of Competing Interest

The authors report no declarations of interest.

Acknowledgements

We would like to thank Judith I. Tsui MD MPH for her critical review of an earlier version of the manuscript.

This research was partially funded by the Ministry of Economy and Competitiveness, Institute of Health Carlos III (RETICS RD16/0017/0003, grant no. PI17/00174, Rio Hortega Program CM17/022, and Physician Intensification Program INT19/00026), European fund for regional development (FEDER), Ministry of Health, Social Services and Equality, National Plan on Drugs, Spain (grant no. 2015/027 and 2018/020), Gilead Fellowship Program, Gilead Sciences (GLD17/00187), Health Department Intensification Program (SLT006/17/00107) and Consolidated Research Group (2017-SGR-316), Autonomous Government of Catalonia, Spain.

References

- Adejumo, A.C., Alliu, S., Ajayi, T.O., Adejumo, K.I., Adeghala, O.M., Onyeakusi, N.E., Akinjero, A.M., Durojaiye, M., Bokong, T.N., 2017. Cannabis use is associated with reduced prevalence of non-alcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study. *PLoS One* 12, e0176416. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176416>.
- Adejumo, A.C., Ajayi, T.O., Adeghala, O.M., Adejumo, K.I., Alliu, S., Akinjero, A.M., Onyeakusi, N.E., Ojelabi, O., Bokong, T.N., 2018. Cannabis use is associated with reduced prevalence of progressive stages of alcoholic liver disease. *Liver Int.* 38, 1475–1486. <https://doi.org/10.1111/liv.13696>.
- Alshaarawy, O., Anthony, J.C., 2015. Cannabis smoking and serum C-reactive protein: a quantile regressions approach based on NHANES 2005–2010. *Drug Alcohol Depend.* 147, 203–207. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2014.11.017>.
- Alshaarawy, O., Sidney, S., Auer, R., Green, D., Sollman, E.Z., Goff, D.C., Anthony, J.C., 2019. Cannabis use and markers of systemic inflammation: the coronary artery risk development in young adults study. *Am. J. Med.* 132; <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2019.04.045>. 1327–1334.e1.
- American Psychiatry Association, 2000. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 4th Ed. (DSM-IV-TR). Government Printing Office, Washington DC.
- Battar, R., Gao, B., 2015. Liver fibrosis in alcoholic liver disease. *Semin. Liver Dis.* 35, 146–156. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1550054>.
- Croxford, J.L., Yamamura, T., 2005. Cannabinoids and the immune system: potential for the treatment of inflammatory diseases? *J. Neuroimmunol.* 166, 3–18. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2005.04.023>.
- de O.F. Castro, F., Silva, J.M., Dorneles, G.P., de S. Barros, J.B., Ribeiro, C.B., Noronha, I., Barbosa, G.R., Sozzi, L.C.S., Guilarte, A., Pereira, A.I.C.S., Guimaraes, R.F., de Oliveira, T.F., de Oliveira, S.E.F., Peres, A., Romao, P.R.T., Pfrimer, I.A.H., da Fonseca, S.G., 2019d. Distinct inflammatory profiles in HIV-infected individuals under ART using cannabis, cocaine or cannabis plus cocaine. *AIDS* 33, 1831–1842. <https://doi.org/10.1097/QAD.00000000000002296>.
- Degenhardt, L., Ferron, A.J., Calabria, B., Hall, W.D., Norman, R.E., McGrath, J., Flaxman, A.D., Engel, R.E., Freedman, G.D., Whiteford, H.A., Vos, T., 2013. The global epidemiology and contribution of cannabis use and dependence to the global burden of disease: results from the GBD 2010 study. *PLoS One* 8, e76635. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076635>.
- Domínguez-Rodríguez, A., Abreu-González, P., Enjuanes-Grau, C., Blanoc-Palacios, G., de los Ángeles Pérez-Garrido, M., Burillo-Putze, G., 2010. Estres oxidativo y marcadores de inflamación en pacientes con síndrome coronario agudo consumidores de cocaína. *Med. Clinica* 134, 152–155. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2009.07.021>.
- Donnadié-Rigole, H., Pansu, N., Mura, T., Pellerier, S., Alarcon, R., Gamon, L., Perney, P., Apparailly, F., Lavigne, J.-P., Duruyach-Remy, C., 2018. Beneficial effect of alcohol withdrawal on gut permeability and microbial translocation in patients with alcohol use disorder. *Alcoholol. Clin. Exp. Res.* 42, 32–40. <https://doi.org/10.1111/acer.13527>.
- Friedmann, P.D., 2013. Clinical practice. Alcohol use in adults. *N. Engl. J. Med.* 368, 365–373. <https://doi.org/10.1056/NEJMcp1204714>.
- Fuster, D., Samet, J.H., 2018. Alcohol use in patients with chronic liver disease. *N. Engl. J. Med.* 379, 1251–1261. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1715733>.
- Fuster, D., Sanvisens, A., Bolao, F., Zuluaga, P., Rivas, I., Farré, M., Tor, J., Muga, R., 2017. Cannabis as secondary drug is not associated with a greater risk of death in patients with opiate, cocaine, or alcohol dependence. *J. Addict. Med.* 11, 34–39. <https://doi.org/10.1097/ADM.0000000000000266>.
- Gao, B., Ahmad, M.F., Nagy, I.E., Tsukamoto, H., 2019. Inflammatory pathways in alcoholic steatohepatitis. *J. Hepatol.* 70, 249–259. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.10.023>.
- García-Calvo, X., Bolao, F., Sanvisens, A., Zuluaga, P., Tor, J., Muga, R., Fuster, D., 2020. Significance of markers of monocyte activation (CD163 and sCD14) and inflammation (IL-6) in patients admitted for alcohol use disorder treatment. *Alcoholol. Clin. Exp. Res.* 44, 152–158. <https://doi.org/10.1111/acer.14228>.
- Goyal, H., Rahman, M.R., Persett, A., Shah, N., Chhabra, R., 2018. Cannabis in liver disorders: a friend or a foe? *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 30, 1283–1290. <https://doi.org/10.1097/MGB.0000000000001256>.
- Hasin, D.S., Saha, T.D., Kerridge, B.T., Goldstein, R.B., Chou, S.P., Zhang, H., Jung, J., Pickering, R.P., Ruan, W.J., Smith, S.M., Huang, B., Grant, B.F., 2015. Prevalence of marijuana use disorders in the United States between 2001–2002 and 2012–2013. *JAMA Psychiatry* 72, 1235–1242. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2015.1858>.
- Hézode, C., Roudot-Thoraval, F., Nguyen, S., Grenard, P., Julien, B., Zafrani, E.-S., Pawlosky, J.-M., Dhumeaux, D., Lotersztajn, S., Mallat, A., Mallat, A., 2005. Daily cannabis smoking as a risk factor for progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 42, 63–71. <https://doi.org/10.1002/hep.20733>.
- Hunt, P.W., Sinclair, E., Rodriguez, R., Shive, C., Clagett, B., Funderburg, N., Robinson, J., Huang, Y., Epling, L., Martin, J.N., Deeks, S.G., Meier, C.L., Van Natta, M.L., Jabs, D.A., Lederman, M.M., 2014. Gut epithelial barrier dysfunction and innate immune activation predict mortality in treated HIV infection. *J. Infect. Dis.* 210, 1228–1238. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu238>.
- Ishida, J.H., Peters, M.G., Jin, C., Louie, K., Tan, V., Bacchetti, P., Terrault, N.A., 2008. Influence of cannabis use on severity of hepatitis C disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 6, 69–75. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2007.10.021>.
- Kazankov, K., Barrera, F., Moller, H.J., Bibby, B.M., Vilstrup, H., George, J., Gronbaek, H., 2014. Soluble CD163, a macrophage activation marker, is independently associated with fibrosis in patients with chronic viral hepatitis B and C. *Hepatology* 60, 521–530. <https://doi.org/10.1002/hep.27129>.
- Kazankov, K., Barrera, F., Moller, H.J., Rossi, C., Bugianesi, E., David, E., Ibrahim Kamal Jones, R., Esmaili, S., Eslam, M., McLeod, D., Bibby, B.M., Vilstrup, H., George, J., Gronbaek, H., 2016. The macrophage activation marker sCD163 is associated with morphological disease stages in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* 36, 1549–1557. <https://doi.org/10.1111/liv.13150>.
- Lidofsky, A., Holmes, J.A., Feeney, E.R., Kruger, A.J., Salloum, S., Zheng, H., Seguin, I.S., Altinbas, A., Masti, R., Corey, K.E., Gusmanoff, J.L., Schaefer, E.A., Hunt, P.W., Deeks, S., Somsouk, M., Chew, K.W., Chung, R.T., Alstrach, N., 2018. Macrophage activation marker soluble CD163 is a dynamic marker of liver fibrogenesis in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus coinfection. *J. Infect. Dis.* 218, 1394–1403. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy331>.
- Lim, M.P., Devi, L.A., Rosenfeld, R., 2011. Cannabidiol causes activated hepatic stellate cell death through a mechanism of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *Cell Death Dis.* 2, e170. <https://doi.org/10.1038/cddis.2011.52>.
- Liu, T., Howell, G.T., Turner, L., Corace, K., Garber, G., Cooper, C., 2014. Marijuana use in hepatitis C infection does not affect liver biopsy histology or treatment outcomes. *Can. J. Gastroenterol. Hepatol.* 28, 381–384.
- Louvet, A., Mathurin, P., 2015. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 12, 231–242. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.35>.
- Mallat, A., Henrige, C., Lotersztajn, S., 2008. Environmental factors as disease accelerators during chronic hepatitis C. *J. Hepatol.* 48, 657–665. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2008.01.004>.
- Parfientiuk, A., Flisiak, R., 2008. Role of cannabinoids in chronic liver diseases. *World J. Gastroenterol.* 14, 6109–6114.
- Pennings, E.J.M., Lecesne, A.P., de Wolff, F.A., 2002. Effects of concurrent use of alcohol and cocaine. *Addiction* 97, 773–783.
- Rodríguez-Martín, N.M., Montserrat-de la Paz, S., Toscano, R., Grao-Cruces, E., Villanueva, A., Pedroche, J., Millan, F., Millan-Linares, M.C., 2020. Hemp (*Cannabis sativa* L.) product hydrolylates promote anti-inflammatory response in primary human monocytes. *Bioolecules* 10, 830. <https://doi.org/10.3390/biom10050830>.
- Sandahl, T.D., Gronbaek, H., Moller, H.J., Stay, S., Thomsen, K.L., Dige, A.K., Agnholt, J., Hamilton-Dutoit, S., Thiel, S., Vilstrup, H., 2014. Hepatic macrophage activation and the LPS pathway in patients with alcoholic hepatitis: a prospective cohort study. *Am. J. Gastroenterol.* 109, 1749–1756. <https://doi.org/10.1038/ajg.2014.262>.
- Seitz, H.K., Battar, R., Cortes-Pinto, H., Gao, B., Guat, A., Lackner, C., Mathurin, P., Mueller, S., Szabo, G., Tsukamoto, H., 2018. Alcoholic liver disease. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 4, 16. <https://doi.org/10.1038/41572-018-0014-7>.
- Sherman, B.J., McRae-Clark, A.L., 2016. Treatment of Cannabis use disorder: current science and future outlook. *Pharmacotherapy* 36, 511–535. <https://doi.org/10.1002/phar.1747>.
- So-Armah, K.A., Cheng, D.M., Freiberg, M.S., Gnatienko, N., Patis, G., Ma, Y., White, L., Blokhina, E., Liozov, D., Doyle, M.F., Tracy, R.P., Chichetto, N., Bidden, C., Bryant, K., Krupitza, E., Samet, J.H., 2019. Association between alcohol use and inflammatory biomarkers over time among younger adults with HIV: The Russia ARCH Observational Study. *PLoS One* 14, e0219710. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219710>.
- Szabo, G., 2015. Gut-liver axis in alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 148, 30–36. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.10.042>.
- Valente, M.L., Carvalho, F., Bastos, Md L., de Pinho, P.G., Carvalho, M., 2012. Contribution of oxidative metabolism to cocaine-induced liver and kidney damage. *Curr. Med. Chem.* 19, 5601–5606.
- Vidot, D.C., Manuzak, J.A., Klatt, N.R., Pallikkuth, S., Roach, M., Dilworth, S.E., Pahwa, S., Garro, A.W., 2019. Hazardous Cannabis use and monocyte activation among methamphetamine users with treated HIV infection. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 81, 361–364. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000002046>.
- Volkow, N.D., Baler, R.D., Compton, W.M., Weiss, S.R.B., 2014. Adverse health effects of marijuana use. *Engl. J. Med.* 370, 2219–2227. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1402309>.
- Wang, Y., Mukhopadhyay, P., Cao, Z., Wang, H., Feng, D., Hasko, G., Mechoulam, R., Gao, B., Pacher, P., 2017. Cannabidiol attenuates alcohol-induced liver steatosis, metabolic dysregulation, inflammation and neutrophil-mediated injury. *Sci. Rep.* 7, 12064. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10924-4>.
- Wijampreeda, K., Panjawatana, P., Ungrasret, P., 2018. Use of cannabis and risk of advanced liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C virus infection: a systematic review and meta-analysis. *J. Evid. Med.* 11, 272–277. <https://doi.org/10.1111/ebm.12317>.
- Wildin, S.T., Yarnell, S., Radhakrishnan, R., Ball, S.A., D'Souza, D.C., 2015. Marijuana legalization: impact on physicians and public health. *Annu. Rev. Med.* 67, 453–466. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-05214-013454>.
- World Medical Association General Assembly, 2001. World medical association declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects revised October 7, 2000. *HIV Clin. Trials* 2, 92–95. <https://doi.org/10.1310/GTFR-2DRX-M6YE-ELXR>.

10.1.3 ESTUDIO 3

Fuster D, Garcia-Calvo X, Farré O, Zuluaga P, Bolao F, Leis A, Hernández-Rubio A, Rivas I, Muga R. Markers of Monocyte Activation, Inflammation, and Microbial Translocation Are Associated with Liver Fibrosis in Alcohol Use Disorder. *J Clin Med.* 2021 Aug 8;10(16):3496. doi: 10.3390/jcm10163496. PMID: 34441792; PMCID: PMC8396829.



Journal of
Clinical Medicine



Article

Markers of Monocyte Activation, Inflammation, and Microbial Translocation Are Associated with Liver Fibrosis in Alcohol Use Disorder

Daniel Fuster ^{1,2,*}, Xavier Garcia-Calvo ^{1,2}, Oriol Farré ¹, Paola Zuluaga ^{1,2}, Ferran Bolao ³, Alba Leis ⁴, Anna Hernández-Rubio ^{1,2}, Inmaculada Rivas ⁵ and Robert Muga ^{1,2}

¹ Addiction Unit, Department of Internal Medicine, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, 08916 Badalona, Barcelona, Spain; xavi_gc@msn.com (X.G.-C.); oriolfame@gmail.com (O.F.); ypzuluaga.germanstrias@gencat.cat (P.Z.); anna.hr92@gmail.com (A.H.-R.); rmuga.germanstrias@gencat.cat (R.M.)

² Departament of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, 08916 Badalona, Barcelona, Spain

³ Department of Internal Medicine, Hospital Universitari de Bellvitge, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), 08907 L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain; fbolao@bellvitgehospital.cat

⁴ Department of Biochemistry, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol de Badalona, 08916 Badalona, Barcelona, Spain; aleis.germanstrias@gencat.cat

⁵ Mental Health and Addiction Service, Badalona Serveis Assistencials-BSA, 08911 Badalona, Barcelona, Spain; irivas@bsa.cat

* Correspondence: dfuster.germanstrias@gencat.cat; Tel.: +34-9498914; Fax: +34-934978424



Citation: Fuster, D.; Garcia-Calvo, X.; Farré, O.; Zuluaga, P.; Bolao, F.; Leis, A.; Hernández-Rubio, A.; Rivas, I.; Muga, R. Markers of Monocyte Activation, Inflammation, and Microbial Translocation Are Associated with Liver Fibrosis in Alcohol Use Disorder. *J. Clin. Med.* **2021**, *10*, 3496. <https://doi.org/10.3390/jcm10163496>

Academic Editor: Ana Adan

Received: 19 June 2021

Accepted: 5 August 2021

Published: 8 August 2021

Abstract: Background: The association between markers of inflammation (interleukin (IL)-6 and IL-10), monocyte activation (sCD163 and sCD14), and microbial translocation (lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein) and liver fibrosis in patients with alcohol use disorder (AUD) and no overt liver disease is not well established. Methods: We studied patients admitted for treatment of AUD at two hospitals in Barcelona. Advanced liver fibrosis (ALF) was defined as FIB-4 > 3.25. Results: A total of 353 participants (76.3% male) were included and 94 (26.5%) had ALF. In adjusted correlation analyses, sCD163, sCD14, IL-6, IL-10, and LPS binding protein levels directly correlated with FIB-4 values (adjusted correlation coefficients 0.214, 0.452, 0.317, 0.204, and 0.171, respectively). However, LPS levels were inversely associated with FIB-4 (-0.283). All plasma marker levels in the highest quartile, except LPS, were associated with ALF (sCD163, sCD14, IL-6, IL-10, and LPS binding protein: adjusted odds ratio (aOR) 11.49 (95% confidence interval 6.42–20.56), 1.87 (1.11–3.16), 2.99 (1.79–5.01), 1.84 (1.11–3.16), and 2.13 (1.30–3.50), respectively). Conversely, LPS levels in the lowest quartile were associated with ALF (aOR 2.58 (1.48–4.58), $p < 0.01$). Conclusion: In AUD patients, plasma levels of the markers of inflammation, monocyte activation, and microbial translocation are associated with ALF.

Keywords: alcohol use disorder; monocyte activation; inflammation; microbial translocation; liver fibrosis

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Alcohol-related liver disease is the most frequent alcohol-related chronic medical problem and alcohol use is a major culprit of the global increase in liver-related deaths [1]. Alcohol use promotes microbial translocation due to changes in the microbiome and increased intestinal permeability, leading to systemic inflammation, monocyte activation, and progression of liver disease [2]. However, only a few of those who drink heavily eventually develop end-stage liver disease [3]. The early diagnosis of subjacent liver disease in otherwise healthy patients with AUD is intriguing [4] and there is an interest in obtaining markers to better stratify the risk of progressive liver injury among patients with unhealthy alcohol use [5].

All of the aforementioned pathological features (intestinal permeability, microbial translocation, systemic inflammation, and monocyte activation) have been thoroughly

studied in patients with overt end-stage liver disease or severe alcoholic hepatitis [6–9], but they have been far less frequently assessed in patients with AUD without end-stage liver disease admitted for hospital treatment of the disorder [10,11].

Systemic inflammation can be measured via the plasma levels of interleukin (IL)-6 and IL-10. In addition, sCD14 and sCD163 are markers of monocyte activation [2], with sCD14 levels representing monocyte activation dependent on lipopolysaccharide (LPS). The binding of LPS to LPS binding protein (LBP) is a facilitator of the union of that complex to sCD14 and further activation of toll-like receptor 4 [2]. Increased levels of sCD163 are consistent with monocyte activation derived not only from the presence of LPS in peripheral blood but also from the presence of other damage-associated molecular patterns (DAMPs) that are produced by alcohol metabolism and increased iron deposition [11]. DAMPs trigger sterile inflammation and the activation of monocyte toll-like receptors, which subsequently activate quiescent stellate cells, leading to progressive liver fibrosis [12]. LPS and LBP levels are markers of microbial translocation that have been thoroughly studied in patients with cirrhosis of the liver [13] and in those with HIV infection with or without HCV co-infection [14,15]. However, they have been less frequently measured in patients admitted for the treatment of AUD [9,16].

Liver fibrosis is the main predictor of the progression to cirrhosis of the liver in patients with unhealthy alcohol use [17]. Despite liver biopsy being considered the gold standard for the evaluation of liver fibrosis, it is an invasive and costly procedure [18] and its performance is unlikely in patients with active alcohol or other drug use [19]. FIB-4 is a non-invasive index for estimating liver fibrosis that includes laboratory parameters that are usually monitored in everyday clinical practice [20]. It is a useful index for estimating liver fibrosis in patients with an alcohol or substance use disorder who rarely undergo a liver biopsy [19]. In addition to estimating the presence of liver fibrosis, FIB-4 also accurately predicts mortality and other poor health outcomes in other subsets of patients, such as incident heart failure [21].

The association between markers of inflammation and non-invasive measures of liver fibrosis has been previously studied [22], and markers of inflammation (e.g., IL-6) can predict the presence of advanced liver fibrosis (ALF) in HIV-infected patients [23]. However, whether markers of monocyte activation, intestinal permeability, and microbial translocation are associated with FIB-4 values consistent with ALF in patients with an AUD and no apparent end-stage liver disease remains to be elucidated.

We hypothesized that plasma levels of markers of monocyte activation (sCD163 and sCD14), inflammation (IL-6 and IL-10), and microbial translocation (lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein (LBP)) are associated with FIB-4 levels in patients with AUD without overt end-stage liver disease admitted to hospital for the treatment of the disorder.

2. Materials and Methods

2.1. Participants

We included patients admitted for hospital alcohol detoxification at two tertiary teaching hospitals in Barcelona, Spain (Hospital Universitari Germans Trias i Pujol and Hospital Universitari de Bellvitge) between 2013 and 2019.

Patients were referred for hospital detoxification if they were deemed ineligible for ambulatory detoxification by addiction physicians. The main reasons for referring patients included a high risk of severe alcohol withdrawal, the presence of severe medical co-morbidities, and poor adherence to outpatient treatment and/or unsuccessful outpatient detoxification. Patients were excluded from the present study if they harbored autoimmune diseases, acute and decompensated medical co-morbidities, or severe mental health problems.

This study was approved by the Ethics Committee of both participant hospitals. Written consent was provided by all patients before study entry and participation. This study was conducted with compliance with ethical standards as well as the principles of good clinical practice defined by the World Medical Association's Declaration of Helsinki [24].

2.2. Measurements

On the day of admission, all participants underwent a thorough physical examination and an interview regarding their history of alcohol consumption as well as their use of tobacco and other drugs. On the following day, blood was drawn to assess hematological and biochemical parameters and HCV infection. Additional information regarding the admission protocol and the methods for the detection of HCV infection as well as the measure of sCD163, sCD14, and IL-6 has been previously published [11,19,25].

Of note, the upper limit of detection for sCD163 was 1000 ng/mL and, for all assays above that threshold, a value of 1000 ng/mL was set for the statistical analysis. IL-10 was determined by the same method as IL-6 [11] and the lower limit of detection was 0.02 pg/mL. For assays with an IL-10 concentration below the detection threshold, a value of 0.02 pg/mL was set for the analysis.

Plasma concentrations of LPS and LBP were determined by enzyme-linked immunosorbent assays. Each sample was diluted 10×. Plasma concentrations of LPS and LBP were measured in duplicate using the LPS ELISA kit (abx517692, Cambridge, UK) and the LBP ELISA kit (abx575210, Abbexa, Cambridge, UK), respectively. All assays were performed according to the manufacturer's instructions. The inter-assay and intra-assay coefficients of variation were <10% for all analyses.

Liver fibrosis was assessed by the FIB-4 index [20]: age × AST (U/L)/platelet count ($10^9/L$) × ALT (U/L) $^{1/2}$. ALF was defined as FIB-4 > 3.25.

2.3. Statistical Analysis

Descriptive statistics were expressed as the median and interquartile range (IQR) for quantitative variables, or as absolute frequencies and percentages for qualitative variables. We performed the chi-squared test to explore significant differences in qualitative variables and the *t*-test for the mean differences in quantitative variables between participants that had ALF measured with FIB-4 and those who did not.

We performed an unadjusted correlation analysis between plasma marker levels and FIB-4 values as a continuous variable. In addition, we performed an adjusted correlation analysis where all correlations were adjusted for sex, alcohol intake, and the presence of HCV infection. We also performed logistic regression analyses to detect the association between plasma marker levels in the highest quartile and the presence of ALF measured with FIB-4. Finally, we performed a logistic regression analysis to detect the association between LPS levels in the lowest quartile and the presence of ALF. All logistic regression analyses were adjusted for sex, alcohol intake, and the presence HCV infection. The test results were considered significant if the resulting one-tailed *p*-value was < 0.05. Statistical analyses were performed using SPSS software version 15.0.1 (SPSS, Chicago, IL, USA).

3. Results

A total of 353 participants were included in the present study. Table 1 includes the baseline clinical characteristics and the median values for several laboratory parameters as well as for markers of monocyte activation (sCD163, sCD14), inflammation (IL-6 and IL-10), and microbial translocation (LPS and LBP).

Participants with ALF had a higher alcohol intake at admission (186 vs. 161 g/day, *p* < 0.05), a higher duration of AUD (22.8 vs. 17.5 years, *p* < 0.01), and a higher prevalence of HCV infection (23.6 vs. 9.3%, *p* < 0.01). As seen in Table 2, patients with ALF had higher mean sCD163 (944 vs. 638 ng/mL, *p* < 0.01), sCD14 (1.9×10^6 vs. 1.7×10^6 pg/mL, *p* < 0.01), LBP (55 vs. 35.4 pg/mL, *p* = 0.04), IL-6 (16.9 vs. 5.9 pg/mL, *p* = 0.04), and IL-10 (2.5 vs. 1.4 pg/mL, *p* < 0.01) levels and lower mean LPS values (1272 vs. 1975 pg/mL, *p* = 0.02).

Table 1. Characteristics of the patients with alcohol use disorder admitted for hospital treatment.

Characteristic	<i>n</i> = 353
Men	271 (76.7)
Age (years)	50 (43–57)
BMI (kg/m ²)	25.6 (22.6–29.2)
Alcohol consumption (g/day)	140 (100–224)
Duration of AUD (years)	20 (10–25)
HCV infection	44 (12.5)
Glucose (mg/dL)	92 (84.3–102.8)
Bilirubin (mg/dL)	0.67 (0.47–1.11)
AST (U/L)	39 (23–75)
ALT (U/L)	29 (18–50)
GGT (U/L)	93 (37–288.5)
Alkaline phosphatase (U/L)	79 (59–106.5)
Creatinine (mg/dL)	0.77 (0.65–0.89)
C-reactive protein (mg/L)	2.5 (0.9–5.9)
Leukocyte count (10 ⁹ /L)	6.4 (5.0–7.6)
Monocyte count (10 ⁹ /L)	0.60 (4.85–7.75)
Hemoglobin (g/dL)	14 (12.7–15.2)
Median corpuscular volume (fl)	94.7 (90.9–99)
Platelet count (10 ⁹ /L)	191 (137–242)
Fibrinogen (mg/dL)	329 (269–388)
Erythrocyte sedimentation rate (mm)	12 (5–27)
Ferritin (ng/mL)	185.75 (81.25–386.83)
FIB-4	1.92 (1.07–3.69)
Advanced liver fibrosis (FIB-4 > 3.25)	94 (27.4)
sCD163 (ng/mL)	763 (476–1000)
sCD14 ($\times 10^6$ pg/mL)	1.65 (1.29–1.97)
IL-6 (pg/mL)	3.31 (0.87–8.16)
IL-10 (pg/mL)	0.63 (0.02–2.30)
LPS (pg/mL)	1075 (410–2282)
LBP (pg/mL)	20 (10.5–44.8)

Values are given as *n* (%) or median (IQR). HCV: hepatitis C virus; LPS: lipopolysaccharide; LBP: lipopolysaccharide binding protein.

Table 2. Mean plasma marker values stratified by the presence of advanced liver fibrosis.

	No ALF	ALF	<i>p</i> -Value
sCD163 (ng/mL)	638 (256)	944 (130)	<0.01
sCD14 ($\times 10^6$ pg/mL)	1.7 (0.5)	1.9 (0.5)	<0.01
IL-6 (pg/mL)	5.9 (13.9)	16.9 (48.0)	0.04
IL-10 (pg/mL)	1.4 (3.2)	2.5 (3.3)	<0.01
LPS (pg/mL)	1975 (2217)	1272 (2071)	0.02
LBP (pg/mL)	35.4 (46.0)	55 (71.3)	<0.01

LPS: lipopolysaccharide; LBP: lipopolysaccharide binding protein; ALF: advanced liver fibrosis.

In addition, we performed correlation analyses between the different marker levels and FIB-4 levels as a continuous variable. The unadjusted correlation plots are seen in Figure 1.

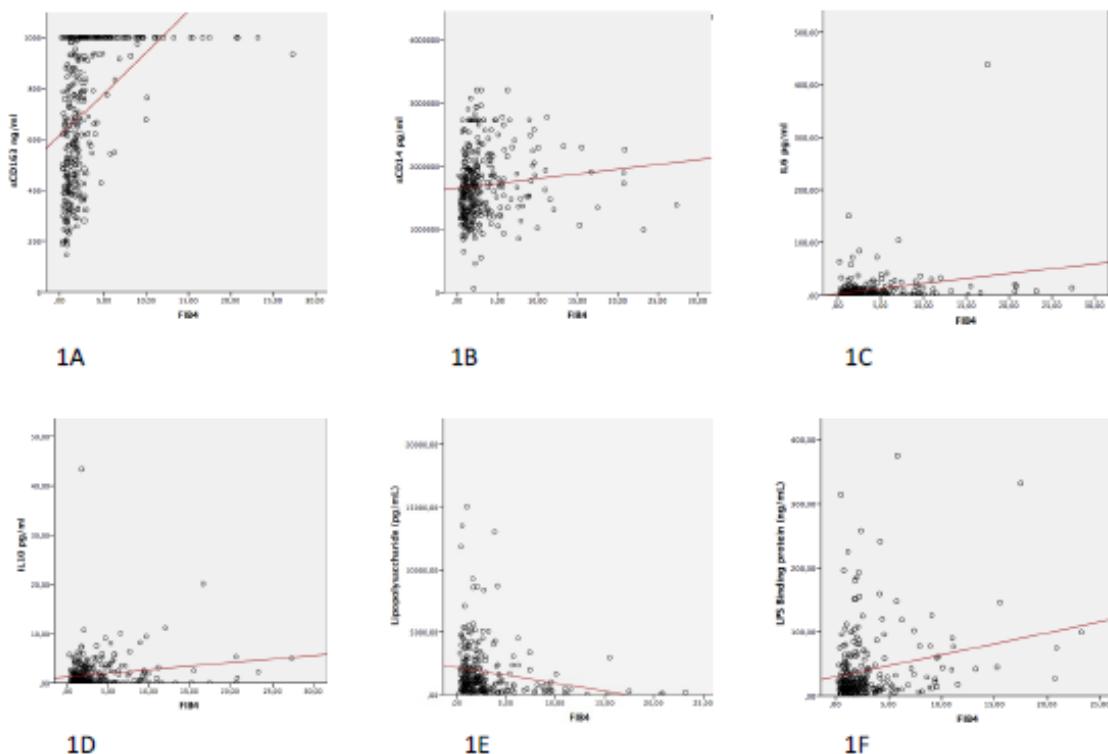


Figure 1. Unadjusted correlation plots between the different markers and FIB-4 levels: (1A) sCD163; (1B) sCD14; (1C) IL-6; (1D) IL-10; (1E) LPS; and (1F) LBP.

Table 3 includes the results of the correlation analyses adjusted by sex, alcohol intake before admission, and the presence of HCV infection. As seen in Table 3, the levels of sCD163, sCD14, IL-6, IL-10, and LBP directly correlated with FIB-4 values (adjusted correlation coefficients 0.214, 0.452, 0.317, 0.204, and 0.171, respectively) whereas LPS levels were inversely associated with FIB-4 values (adjusted correlation coefficient -0.283).

Table 3. Adjusted correlations between plasma marker levels and FIB-4 values.

	Adjusted Correlation Coefficient ^a	p-Value
sCD163	0.214	<0.01
sCD14	0.452	<0.01
IL-6	0.317	<0.01
IL-10	0.204	<0.01
LPS	-0.283	<0.01
LBP	0.171	<0.01

^a Adjusted for sex, alcohol intake (g/day), and HCV infection. LBP: lipopolysaccharide binding protein. Each row represents a different model.

Finally, we performed adjusted logistic regression analyses to assess the association between plasma marker levels in the highest quartile and the presence of ALF. All analyses were adjusted by sex, alcohol consumption, and the presence of HCV infection. As seen in Table 4, plasma levels of all markers, except LPS, in the highest quartile were significantly associated with the presence of ALF with an adjusted odds ratio ranging from 1.84 for IL-10 to 11.49 for sCD163. Conversely, LPS levels in the lowest quartile were significantly

associated with the presence of ALF (adjusted odds ratio 2.58 (95% confidence interval: 1.48–4.58), $p < 0.01$).

Table 4. Logistic regression for the association between marker levels in the highest quartile and advanced liver fibrosis.

	Adjusted Odds Ratio (95% Confidence Interval) ^a	p-Value
sCD163	11.49 (6.42–20.56)	<0.01
sCD14	1.87 (1.11–3.16)	0.02
IL-6	2.99 (1.79–5.01)	<0.01
IL-10	1.84 (1.11–3.16)	0.02
LPS	1.09 (0.66–1.79)	0.74
LBP	2.13 (1.30–3.50)	<0.01

The highest quartile was compared with all other values. Each row represents a different model. ^a Adjusted for sex, alcohol intake, and HCV infection.

4. Discussion

In this series of AUD patients with no decompensated liver disease admitted for hospital treatment of the disorder, plasma marker levels consistent with increased monocyte activation and increased systemic inflammation were associated with the presence of ALF, as were higher LBP levels.

In particular, levels of IL-6, IL-10, sCD14, sCD163, and LBP in the highest quartile and levels of LPS in the lowest quartile were associated with ALF measured with FIB-4. The same associations were found when marker levels were correlated with FIB-4 as a continuous variable; IL-10, sCD14, sCD163, and LBP levels directly correlated with FIB-4 values whereas the LPS levels negatively correlated with FIB-4. All analyses that detected these associations were adjusted by sex, amount of alcohol consumption before admission, and the presence of HCV infection. Notably, in this study population, patients with ALF had a greater alcohol consumption before admission and a higher prevalence of HCV infection.

As mentioned previously, LPS levels negatively correlated with FIB-4 values and LPS levels in the lowest quartile were associated with higher odds of ALF. These findings suggest that higher levels of LPS may be indicative of microbial translocation occurring in an earlier phase of the pathogenesis of alcohol-related liver disease when patients have not yet developed significant liver fibrosis. Monocyte activation, inflammation, and higher levels of LBP would be more prominent pathological features in later stages of the disease, which is why all those markers were associated with higher FIB-4 values and with higher odds of FIB-4 values suggestive of the presence of ALF.

The association between IL-6 levels and ALF has been previously described in a cohort of HIV-infected patients with unhealthy alcohol use [23] and in other cohorts of HIV-infected patients [26]. However, prior studies failed to detect an association between IL-10 levels and non-invasive markers of liver fibrosis [23]. The association between inflammatory markers and liver fibrosis is of interest as both higher IL-6 levels and FIB-4 values consistent with ALF have been associated with higher mortality and other health outcomes in different settings [27–29].

Other authors have shown that markers of monocyte activation, especially sCD14, have also been associated with mortality and other health complications [30,31]. In a study performed on HIV-infected patients, Sandler and colleagues showed that sCD14 levels correlated with AST and ferritin levels, which the authors found to be suggestive of liver inflammation [32]. In that same study, sCD4 levels correlated with gamma-glutamyl transpeptidase, alkaline phosphatase, and alpha-fetoprotein, which the authors found to be suggestive of liver fibrosis [32]. In a prior study by our group, sCD14 levels in the higher quartile were associated with AST levels whereas sCD163 values in the highest quartile

were associated with AST and bilirubin levels and the presence of HCV infection, which suggests the presence of underlying a liver injury [11]. We are not aware of another study that has studied the association of plasma markers of monocyte activation and intestinal permeability and ALF in patients with AUD.

LPS levels have been studied in patients with AUD and seem to decrease with alcohol abstinence [9,33]. LBP levels are associated with mortality in patients with decompensated cirrhosis [34] and appear to decrease with the use of beta-blockers in patients with portal hypertension [13] but the levels in patients with AUD without overt liver disease have not received much attention in the literature. Our findings support the use of LBP as a surrogate marker of microbial translocation in patients with AUD. In addition, no other studies have evaluated the association between LPS and LBP levels and ALF.

Importantly, our findings underscore that monocyte activation, systemic inflammation, and microbial translocation are present in patients with AUD but without end-stage liver disease and admitted for hospital treatment, and that these levels are associated with FIB-4 values and the presence of ALF assessed with non-invasive measures. Patients with FIB-4 values suggestive of ALF should be prioritized to receive more intensive forms of follow-up treatment to secure alcohol abstinence. Abstinence from alcohol is associated with increased survival even in patients who already present with advanced forms of alcohol-related liver disease [3].

This study has a few limitations to be noted. First, plasma markers were assessed on the second day of hospital admission and their levels may be modified by alcohol abstinence. A sequential measurement of these markers during hospital alcohol detoxification is a potential future line of inquiry. Second, we included patients with the most severe forms of AUD (i.e., a 20-year history of the disorder and a median daily alcohol intake upon admission of 140 g/day) and our findings may not be extrapolated to patients with milder forms of unhealthy alcohol use as seen in primary care or hepatology clinics. Third, we estimated liver fibrosis with FIB-4, which has not been validated against the gold standard of liver biopsy for alcohol-related liver disease [35]. Despite that few authors have expressed concerns about the accuracy of FIB-4 [36], the European Association for the Study of the Liver has recently published an updated version of their guideline for the non-invasive diagnosis of a liver injury and recommends the use of FIB-4 as a first-line method for detecting patients with high probability of presenting significant liver disease [37]. The present study adds to the literature that categorizes FIB-4 as a reliable tool for estimating liver fibrosis in patients in whom the performance of a liver biopsy is unlikely [38]. In addition, FIB-4 includes variables that are routinely assessed in the everyday care of subjects with liver disease and is an ideal method of estimating liver fibrosis in resource-limited settings where the use of transient elastography is prohibitive. In addition to being a reliable predictor of mortality [29], FIB-4 values are associated with important disease correlates in this case series of patients with an AUD admitted for hospital treatment for the disorder.

In summary, the present study shows that higher levels of markers of inflammation, monocyte activation, and LBP and lower levels of LPS are associated with FIB-4 values as well as with ALF in patients admitted for the treatment of AUD.

Author Contributions: Conceptualization, D.F., X.G.-C. and R.M.; methodology, D.F., X.G.-C., O.F. and A.L.; formal analysis, D.F., X.G.-C. and O.F.; investigation, D.F., X.G.-C., P.Z., F.B., A.H.-R., I.R. and R.M.; data curation, D.F., X.G.-C. and O.F.; writing—original draft preparation, D.F.; writing—review and editing, D.F., X.G.-C., O.F. and R.M.; funding acquisition, D.F. and R.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was partially funded by the Ministry of Economy and Competitiveness, Institute of Health Carlos III (RETICS RD16/0017/0003, Programa Juan Rodes JR20/00016, Programa Sara Borrell CD19/00019, grant nos. PI17/00174 and PI20/00883, and Physician Intensification Program INT19/00026), European Fund for Regional Development (FEDER), Ministry of Health, Social Services and Equality, National Plan on Drugs, Spain (grant nos. 2018/020 and 2020/024), and Consolidated Research Group (2017-SGR-316), Autonomous Government of Catalonia, Spain.

Institutional Review Board Statement The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Institutional Review Board of Hospital Universitari Germans Trias i Pujol and Hospital Universitari de Bellvitge (protocol code PNSD2015-027, 15 March 2013).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The raw data presented in this study are available to any scientist wishing to use them for non-commercial purposes on request from the corresponding author without breaching participant confidentiality. The data are not publicly available due to privacy.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Rehm, J.; Samokhvalov, A.V.; Shield, K. Global burden of alcoholic liver diseases. *J. Hepatol.* **2013**, *59*, 160–168. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Louvet, A.; Mathurin, P. Alcoholic liver disease: Mechanisms of injury and targeted treatment. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **2015**, *12*, 231–242. [\[CrossRef\]](#)
- Fuster, D.; Samet, J.H. Alcohol Use in Patients with Chronic Liver Disease. *N. Engl. J. Med.* **2018**, *379*, 1251–1261. [\[CrossRef\]](#)
- Moreno, C.; Mueller, S.; Szabo, G. Non-invasive diagnosis and biomarkers in alcohol-related liver disease. *J. Hepatol.* **2019**, *70*, 273–283. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Altamirano, J.; Qi, Q.; Choudhry, S. Non-invasive diagnosis: Non-alcoholic fatty liver disease and alcoholic liver disease. *Transl. Gastroenterol. Hepatol.* **2020**, *5*, 31. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Michelena, J.; Altamirano, J.; Abraldes, J.G. Systemic inflammatory response and serum lipopolysaccharide levels predict multiple organ failure and death in alcoholic hepatitis. *Hepatology* **2015**, *62*, 762–772. [\[CrossRef\]](#)
- Szabo, G. Gut–Liver Axis in Alcoholic Liver Disease. *Gastroenterology* **2015**, *148*, 30–36. [\[CrossRef\]](#)
- Saha, B.; Tornai, D.; Kodys, K. Biomarkers of Macrophage Activation and Immune Danger Signals Predict Clinical Outcomes in Alcoholic Hepatitis. *Hepatology* **2019**, *70*, 1134–1149. [\[CrossRef\]](#)
- Donnadieu-Rigole, H.; Pansu, N.; Mura, T. Beneficial Effect of Alcohol Withdrawal on Gut Permeability and Microbial Translocation in Patients with Alcohol Use Disorder. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **2018**, *42*, 32–40. [\[CrossRef\]](#)
- Donnadieu-Rigole, H.; Mura, T.; Portales, F. Effects of alcohol withdrawal on monocyte subset defects in chronic alcohol users. *J. Leukoc. Biol.* **2016**, *100*, 1191–1199. [\[CrossRef\]](#)
- Garcia-Calvo, X.; Bolao, F.; Sanvisens, A. Significance of Markers of Monocyte Activation (CD163 and sCD14) and Inflammation (IL-6) in Patients Admitted for Alcohol Use Disorder Treatment. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **2019**, *44*, 152–158. [\[CrossRef\]](#)
- Lackner, C.; Tiniakos, D. Fibrosis and alcohol-related liver disease. *J. Hepatol.* **2019**, *70*, 294–304. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Reiberger, T.; Ferlitsch, A.; Payer, B.A. Non-selective betablocker therapy decreases intestinal permeability and serum levels of LBP and IL-6 in patients with cirrhosis. *J. Hepatol.* **2013**, *58*, 911–921. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Monnig, M.A.; Cohen, R.; Ramratnam, B.; McAdams, M.; Tashima, K.; Monti, P.M. HIV Infection, HCV Coinfection, and Alcohol Use: Associations with Microbial Translocation and Immune Activation. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **2019**, *43*, 1126–1134. [\[CrossRef\]](#)
- French, A.L.; Evans, C.T.; Agniel, D.M. Microbial Translocation and Liver Disease Progression in Women Coinfected With HIV and Hepatitis C Virus. *J. Infect. Dis.* **2013**, *208*, 679–689. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Leclercq, S.; Matamoros, S.; Cani, P.D. Intestinal permeability, gut-bacterial dysbiosis, and behavioral markers of alcohol-dependence severity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, E4485–E4493. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Bataller, R.; Brenner, D. Liver fibrosis. *J. Clin. Investig.* **2005**, *115*, 209–218. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Gebo, K.A.; Herlong, H.E.; Torbenson, M.S. Role of liver biopsy in management of chronic hepatitis C: A systematic review. *Hepatology* **2002**, *36*, s161–s172. [\[CrossRef\]](#)
- Sanvisens, A.; Muñoz, A.; Bolao, F. Do serum markers of liver fibrosis vary by HCV infection in patients with alcohol use disorder? *Drug Alcohol Depend.* **2018**, *188*, 180–186. [\[CrossRef\]](#)
- Sterling, R.K.; Lissen, E.; Clumeck, N. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology* **2006**, *43*, 1317–1325. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- So-Armah, K.A.; Lim, J.K.; Re, V.I. FIB-4 stage of liver fibrosis predicts incident heart failure among HIV-infected and uninfected patients. *Hepatology* **2017**, *66*, 1286–1295. [\[CrossRef\]](#)
- Armah, K.A.; Quinn, E.K.; Cheng, D.M. Human immunodeficiency virus, hepatitis C, and inflammatory biomarkers in individuals with alcohol problems: A cross-sectional study. *BMC Infect. Dis.* **2013**, *13*, 399. [\[CrossRef\]](#)
- Fuster, D.; Tsui, J.; Cheng, D. Interleukin-6 Is Associated with Noninvasive Markers of Liver Fibrosis in HIV-Infected Patients with Alcohol Problems. *AIDS Res. Hum. Retrovir.* **2013**, *29*, 1110–1116. [\[CrossRef\]](#)
- World Medical Association General Assembly World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects Revised October 7, 2000. *HIV Clin. Trials* **2001**, *2*, 92–95. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Rivas, I.; Sanvisens, A.; Bolao, F. Impact of Medical Comorbidity and Risk of Death in 680 Patients with Alcohol Use Disorders. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **2013**, *37*, E221–E227. [\[CrossRef\]](#)

26. Shah, S.; Ma, Y.; Scherzer, R. Association of HIV, hepatitis C virus and liver fibrosis severity with interleukin-6 and C-reactive protein levels. *AIDS* **2015**, *29*, 1325–1333. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Kuller, L.H.; Tracy, R.; Belloso, W. Inflammatory and Coagulation Biomarkers and Mortality in Patients with HIV Infection. *PLoS Med.* **2008**, *5*, e203. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
28. So-Armah, K.A.; Tate, J.P.; Chang, C.-C.H. Do Biomarkers of Inflammation, Monocyte Activation, and Altered Coagulation Explain Excess Mortality Between HIV Infected and Uninfected People? *J AIDS. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **2016**, *72*, 206–213. [\[CrossRef\]](#)
29. Nunes, D.; Fleming, C.; Offner, G. Noninvasive Markers of Liver Fibrosis Are Highly Predictive of Liver-Related Death in a Cohort of HCV-Infected Individuals With and Without HIV Infection. *Am. J. Gastroenterol.* **2010**, *105*, 1346–1353. [\[CrossRef\]](#)
30. Lien, E.; Aukrust, P.; Sundan, A.; Müller, E.; Frøland, S.S.; Espenvik, T. Elevated levels of serum-soluble CD14 in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection: Correlation to disease progression and clinical events. *Blood* **1998**, *92*, 2084–2092. [\[CrossRef\]](#)
31. Sandler, N.G.; Wand, H.; Roque, A. Plasma Levels of Soluble CD14 Independently Predict Mortality in HIV Infection. *J. Infect. Dis.* **2011**, *203*, 780–790. [\[CrossRef\]](#)
32. Sandler, N.G.; Koh, C.; Roque, A. Host Response to Translocated Microbial Products Predicts Outcomes of Patients With HBV or HCV Infection. *Gastroenterology* **2011**, *141*, 1220–1230. [\[CrossRef\]](#)
33. Leclercq, S.; Cani, P.D.; Neyrinck, A. Role of intestinal permeability and inflammation in the biological and behavioral control of alcohol-dependent subjects. *Brain Behav. Immun.* **2012**, *26*, 911–918. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Agiasotelli, D.; Alexopoulou, A.; Vasilieva, L.; Hadziyannis, E.; Goukos, D.; Daikos, G.L.; Dourakis, S.P. High serum lipopolysaccharide binding protein is associated with increased mortality in patients with decompensated cirrhosis. *Liver Int.* **2016**, *37*, 576–582. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Fuster, D.; Tsui, J.L.; Cheng, D.M. Impact of Lifetime Alcohol Use on Liver Fibrosis in a Population of HIV-Infected Patients With and Without Hepatitis C Coinfection. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **2013**, *37*, 1527–1535. [\[CrossRef\]](#)
36. Hashem, A.; Awad, A.; Shousha, H. Validation of a machine learning approach using FIB-4 and APRI scores assessed by the metavir scoring system: A cohort study. *Arab. J. Gastroenterol.* **2021**, *22*, 88–92. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
37. Berzigotti, A.; Tsochatzis, E.; Boursier, J.; Castera, L.; Cazzagon, N.; Friedrich-Rust, M.; Petta, S.; Thiele, M. EASL Clinical Practice Guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis—2021 update. *J. Hepatol.* **2021**. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
38. Blackard, J.T.; Welge, J.A.; Taylor, L.E. HIV Mono-infection Is Associated With FIB-4-A Noninvasive Index of Liver Fibrosis in Women. *Clin. Infect. Dis.* **2011**, *52*, 674–680. [\[CrossRef\]](#)

