







## ÍNDICE

|  |           |
|--|-----------|
| ✚ <b>Introducción</b>  | <b>5</b>  |
| ✚ <b>Hipótesis</b>   | <b>11</b> |
| ✚ <b>Objetivos</b>   | <b>11</b> |
| ✚ <b>Metodología:</b>  | <b>12</b> |
| ○ Diseño del estudio, lugar y tiempo de ejecución                  | 12        |
| ○ Sujetos (criterios de inclusión, exclusión)                      | 13        |
| ○ Variables a estudio  | 14        |
| ○ Recogida de variables  | 15        |
| ○ Análisis de datos  | 15        |
| ○ Dificultades y limitaciones                                      | 16        |
| ✚ <b>Aspectos éticos</b>   | <b>17</b> |
| ✚ <b>Plan de trabajo</b>   | <b>17</b> |
| ✚ <b>Marco Estratégico: aplicabilidad y utilidad de resultados</b> | <b>20</b> |
| ✚ <b>Presupuesto</b>   | <b>22</b> |
| ✚ <b>Bibliografía</b>  | <b>23</b> |
| ✚ <b>Anexos</b>  | <b>25</b> |

## INTRODUCCIÓN

El consumo excesivo de alcohol es un problema de salud global. La enfermedad hepática alcohólica (EHA) abarca un espectro de lesiones que van desde la esteatosis simple hasta la cirrosis. La esteatosis es la respuesta más temprana al consumo excesivo de alcohol y se caracteriza por el depósito de grasa en los hepatocitos. La esteatosis puede progresar a esteatohepatitis, que es un tipo de lesión hepática inflamatoria más grave. Esta etapa de la enfermedad hepática puede conducir al desarrollo de fibrosis, durante la cual hay un depósito excesivo de proteínas de la matriz extracelular. La respuesta fibrótica comienza con fibrosis pericelular activa, que puede progresar a cirrosis, caracterizada por cicatrices hepáticas excesivas, alteraciones vasculares e insuficiencia hepática eventual. Todavía no existen terapias farmacológicas o nutricionales aprobadas por la FDA para el tratamiento de pacientes con enfermedad hepática alcohólica. Dejar de beber (es decir, abstinencia) es una parte integral de la terapia. El trasplante de hígado (TH) sigue siendo la estrategia para salvar vidas en pacientes con enfermedad hepática alcohólica en etapa terminal<sup>(1)</sup>.

El diagnóstico de EHA se basa en una combinación de características, que incluye un historial de consumo significativo de alcohol (basado en la declaración de los pacientes), evidencia clínica de enfermedad hepática junto a alteraciones de parámetros analíticos de laboratorio<sup>(2)</sup>.

Según las directrices actuales de la Asociación Europea para el Estudio del Hígado (EASL) y la Asociación Americana para el Estudio de las Enfermedades Hepáticas (AASLD), la confirmación del consumo de etanol >30 g por día junto con la presencia de signos clínicos y/o signos de daño hepático es clave en el diagnóstico de EHA. En estas guías, el diagnóstico también se basa en parámetros analíticos: gamma-glutamyl transferasa (GGT), transferrina deficiente en carbohidratos (CDT), aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), volumen corpuscular medio (MCV), marcadores de técnicas de fibrosis y ecografía (detección de esteatosis, clasificación de alteraciones parenquimatosas). También puede ser necesario realizar una biopsia de hígado para confirmar el diagnóstico<sup>(2,3,4)</sup>. Sin embargo, todos los parámetros mencionados anteriormente pueden no ser útiles para el diagnóstico de EHA

leve o cirrosis temprana<sup>(2,5)</sup>, y los pacientes normalmente son asintomáticos hasta que se haya alcanzado un estado avanzado de enfermedad hepática.

Los factores más importantes que determinan la progresión de la enfermedad son la duración de abuso de alcohol, el patrón de consumo de alcohol y la cantidad de alcohol consumido.

La Enfermedad hepática alcohólica (EHA) es la segunda indicación más común de trasplante hepático (TH) de la enfermedad hepática crónica en el mundo occidental<sup>(6,7)</sup>. La cirrosis hepática y el carcinoma hepatocelular (HCC) son las principales consecuencias que limitan la vida de las enfermedades hepáticas fibróticas progresivas, causadas principalmente por la infección viral crónica, el consumo excesivo de alcohol y la enfermedad del hígado graso no alcohólico<sup>(8)</sup>. El HCC es el segundo cáncer más letal del mundo con un marcado aumento de la mortalidad en Europa, América del Norte, América del Sur y África. Sobre todo, se ha observado una tendencia ascendente de HCC relacionada con el alcohol. En Europa, el consumo excesivo de alcohol representa el 40-50% de los casos de cáncer de hígado y, con la fuerte disminución de la hepatitis viral crónica, se ha estimado que en unos años, el alcohol será la principal causa de cáncer de hígado en los países desarrollados<sup>(1)</sup>. Según la "Colaboración global contra el cáncer de hígado por enfermedad", recientemente se estimó que un tercio de las muertes por cáncer de hígado están relacionadas con el abuso del alcohol<sup>(9)</sup>. Previa a inclusión en un programa de trasplante de hígado de pacientes con EHA, se recomienda un período de abstinencia de al menos 6 meses<sup>(4)</sup>. Sin embargo, la recaída de alcohol en la lista de espera se detecta en hasta un 25% <sup>(10)</sup> y ocurre en hasta un 50% de los receptores de trasplante de hígado<sup>(11)</sup>.

En estos pacientes que ya han sido sometidos a trasplante hepático, las tasas de recaída del alcohol son variables, pero en los bebedores con consumo moderado de alcohol, la recaída podría ser alrededor del 20%<sup>(7)</sup>. En estos casos de consumo excesivo de alcohol la supervivencia del injerto se ve significativamente afectada<sup>(21)</sup>. Por ello, se requiere de programas de vigilancia continua para los receptores de TH para evitar la recaída del alcohol, así como herramientas para maximizar las tasas de detección temprana de la recaída del alcohol para prevenir el daño del injerto<sup>(12)</sup>.

Dumortier y col. reportó una tasa de recaída severa de alcohol del 18% (128/712) después del trasplante hepático. La edad media en el grupo de recaída alcohólica fue de  $47,2 \pm 7,1$  años, la mayoría eran hombres (101/128, 78,9%) y el seguimiento medio después del trasplante fue de  $9,0 \pm 4,2$  años. También informaron la tasa de recaída de la cirrosis alcohólica después del TH que se diagnosticó en 41/128 (32%) de los pacientes con recaída alcohólica grave. El consumo de alcohol se determinó en cada consulta en una entrevista con el paciente, también con familiares y amigos, así como también con los primeros cuidados del médico y análisis de sangre y orinas regularmente. En un análisis estadístico univariado, observaron una asociación significativa en el desarrollo de la recaída de la cirrosis alcohólica: una edad más joven para el TH y abstinencia alcohólica pre-TH más corta (<6 meses)<sup>(7)</sup>.

Burra y col. en un estudio del Registro Europeo de Trasplantes de Hígado (ELTR) con 68,776 trasplantes de hígado; 9880 de estos pacientes fueron trasplantados por EHA y 1478 por EHA + patología viral (VHC/VHB) y se obtuvo unas tasas de recaída alcohólica de hasta el 50% a los 5 años de seguimiento. La mayoría de los centros, sugieren que existe un impacto significativo de la recaída del alcohol en la supervivencia después del trasplante. En el estudio, encontramos que el 33% de los pacientes tenían algún grado de recaída: en el 64% el alcohol era ocasional pero en el 36% el abuso de alcohol era moderado (clasificado como más de 200 g de alcohol por semana) pero el injerto sólo mostró cambios menores en la histología en una mediana de 3 años<sup>(17)</sup>.

Addolorato y col. evaluó retrospectivamente el impacto de la recaída de alcohol después del trasplante de hígado en una Unidad de Adicción al Alcohol (AAU). Un total de 92 pacientes con cirrosis alcohólica fueron sometidos a TH. El 89% eran hombres (82) con una edad promedio de 49.3 años. Analizaron la recaída alcohólica en dos grupos, grupo A (40%): los pacientes que no fueron seguidos por la AAU y el grupo B (60%) en el que se incluían los pacientes que fueron seguidos por la AAU. En general, se observó una recaída alcohólica en el 23,9% (22) de los pacientes después de TH. La recaída alcohólica se analizó en los 2 grupos y se observó una recaída menor en el grupo que estaba en seguimiento por la AAU (16.4% vs 35.1%)<sup>(13)</sup>. Se observó una recaída del consumo de alcohol en 22 pacientes después de una mediana de 24,5 meses. Las tasas

estimadas de recaída de alcohol fueron 5.2% después de un año, 20.4% después de tres años, 21.9% después de cinco años y 33.5% después de 10 años<sup>(14)</sup>.

Para identificar a los sujetos que consumen alcohol en exceso se precisa de una revisión exhaustiva de la historia clínica y cuestionarios y/o entrevistas personalizadas con el paciente; pero la sensibilidad generalmente es deficiente, ya que es frecuente la omisión de información por parte de los consumidores habituales, y en ocasiones está falseada. Esto conlleva a una elevada tasa de falsos negativos por lo que la tasa de recaída alcohólica está infraestimada.

En estos casos, además de las entrevistas clínicas, son necesarias herramientas de detección medibles, como parámetros analíticos que pueden aportar más información sobre el consumo de alcohol. Se han descrito una serie de biomarcadores indirectos y directos para detectar el consumo de alcohol, que podría complementar el diagnóstico de recaída alcohólica en los pacientes trasplantados hepáticos; como la gamma glutamil transpeptidasa (GGT), aspartato transaminasa (AST), alanina transaminasa (ALT) y volumen corpuscular medio (VCM), también se utilizan los marcadores de alcohol, la Transferrina Deficiente en Carbohidratos (CDT) y etanol en aire aspirado, sangre u orina, como pruebas de detección<sup>(13)</sup>.

La ALT se encuentra casi exclusivamente en el citoplasma del hígado y se libera a la sangre como resultado del aumento de la permeabilidad de la membrana y la rotura secundaria al daño de los hepatocitos. Parece ser la prueba más sensible y específica para el daño hepatocelular agudo. Aunque de forma aislada, parece no ser útil como marcador de abuso crónico de alcohol o de enfermedad hepática crónica. Por otro lado, una relación  $AST/ALT > 2$  parece proporcionar información significativa y refleja enfermedad hepática de etiología alcohólica. En cuanto a la GGT sigue siendo el marcador de abuso de alcohol más utilizado. Puede elevarse debido al aumento de la síntesis o la liberación acelerada de las células hepáticas dañadas o muertas. Una elevación marcada de GGT, aunque es inespecífico, parece indicar principalmente un consumo excesivo continuo, en lugar de episódico, aunque algunos bebedores moderados también producen niveles elevados de GGT. Esta no es la única causa de niveles elevados de GGT, también pueden aumentar en otras patologías, como alteraciones hepatobiliares, obesidad, diabetes, hipertensión e hipertrigliceridemia<sup>(15)</sup>.



Las recomendaciones de los Institutos Nacionales de la Salud / Instituto Nacional sobre el Abuso del Alcohol y el Alcoholismo para pacientes con EHA indican: "Para la detección en entornos de atención primaria, las entrevistas y los cuestionarios tienen mayor sensibilidad y especificidad que los análisis de sangre para marcadores bioquímicos, ya que estos identifican alrededor de 10 % a 30% de los bebedores habituales. Sin embargo, los marcadores bioquímicos pueden ser útiles cuando se sospecha un consumo excesivo de alcohol, pero el paciente lo niega"<sup>(3,17,18)</sup>.

Toda esta gama de biomarcadores son útiles cuando el consumo de alcohol se ha hecho a corto plazo (en 24-48h). Por lo tanto, existe la necesidad de un biomarcador que sea positivo en el intervalo de tiempo, entre un día y una semana<sup>(17)</sup>.

Muchos centros de trasplantes en Europa y en los Estados Unidos utilizan habitualmente etanol (EtOH) y CDT como marcadores directos del consumo de alcohol, así como GGT y VCM como marcadores indirectos. Sin embargo, en la práctica cotidiana, no se han introducido métodos fiables para evaluar la abstinencia: ni los cuestionarios ni los indicadores convencionales para el consumo de alcohol (etanol en la sangre u orina) pueden confirmar o excluir la ingesta de alcohol con suficiente fiabilidad ya que su detección es deficiente en un periodo de tiempo a partir de las 24 horas postingesta<sup>(3,13)</sup>.

El etanol, después de su ingesta, se absorbe a través de la mucosa oral, gástrica e intestinal. Alrededor del 2-10% se elimina vía urinaria, por el sudor y en aire expirado de forma inalterada. La oxidación del EtOH empieza en el estómago y es facilitada por la alcohol deshidrogenasa (ADH). Esta enzima cataliza la conversión reversible de los alcoholes a sus correspondientes aldehídos y cetonas utilizando NAD (Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido) como cofactor:  $\text{Alcohol} + \text{NAD} = \text{Aldehído (Cetona)} + \text{NADH} + \text{H}^+$ . En un segundo paso, el acetaldehído producido es metabolizado a ácido acético principalmente por la aldehído deshidrogenasa hepática (ALDH). La mayor parte del EtOH es metabolizado por esta vía y por otras 2 más: el sistema microsomal oxidativo del etanol (MEOS) y el mediado por el complejo catalasa-peróxido de hidrógeno. Una cantidad muy pequeña (< 0.1%) de etanol experimenta reacciones de conjugación con ácido glucurónico en presencia de uridina-difosfato-glucuroniltransferasa mitocondrial unida a la membrana para producir etilglucurónido (EtG) y con sulfato

para producir sulfato de etilo (EtS), que se excretan en la orina<sup>(19-20)</sup>. Estos dos metabolitos (EtG y EtS) se miden con más frecuencia en la orina como marcadores de consumo de alcohol, pero también pueden medirse en sangre total y suero. Como se ha mencionado anteriormente, el EtG es un metabolito directo del etanol, no volátil, soluble en agua, que muestra una alta estabilidad de almacenamiento<sup>(12,17)</sup>. Por ello, es uno de los biomarcadores emergentes más rápidos para detectar el consumo de alcohol.

El EtG puede detectarse hasta 36 h en la sangre y hasta 90 h en la orina, incluso después de la eliminación completa de EtOH del cuerpo y es detectable después de consumir cantidades muy pequeñas de alcohol ( $\leq 5$  g). Se puede medir fácilmente mediante un inmunoensayo (límite de detección inferior 0.1 mg/L) o cromatografía líquida en tándem con la espectrometría de masas (LC-MS/MS)<sup>(3)</sup>.

El diagnóstico de recaída de alcohol usando un marcador de consumo como el etilglucurónido urinario (EtGu) puede ser útil, debido a su fácil recolección de muestra y porque puede detectarse en la orina entre 72 y 90 horas después de la ingesta de alcohol<sup>(3,21)</sup>.

## **HIPÓTESIS**

- Hipótesis general: La determinación de etilglucurónido urinario (EtGu) permite detectar el consumo de alcohol entre 72 y 90 horas después de la ingesta. Por tanto, el etilglucurónido urinario podría utilizarse como biomarcador para evaluar la recaída alcohólica después de trasplante hepático de origen enólico. También se podrá estudiar la correlación del consumo de alcohol mediante la positividad de etilglucurónido en orina y la alteración de las enzimas hepáticas y/o complicaciones (estenosis).
- Hipótesis operativa: incluir la determinación de etilglucurónido urinario en pacientes que han sido sometidos a trasplante hepático por causa enólica, permite detectar de forma precoz el consumo de alcohol. Además, orienta al diagnóstico diferencial en pacientes con alteraciones de las enzimas hepáticas y/o complicaciones postrasplante.



## **OBJETIVOS**

Objetivo principal: cuantificar la tasa de recaída de alcohol en receptores de trasplante de hígado de etiología alcohólica a partir de 4 meses postrasplante mediante la determinación en orina de etilglucurónido.

Objetivos secundarios: analizar la correlación de la positividad de etilglucurónido urinario (> 200 ng/mL) con la alteración de las enzimas hepáticas y/o la aparición de complicaciones posteriores al trasplante hepático.

## **METODOLOGÍA**

### **Diseño del estudio, lugar y tiempo de ejecución**

#### Trasplante hepático y seguimiento

Entre octubre de 2012 y agosto de 2017 se realizaron 184 trasplantes de hígado en el Hospital General Universitario de Alicante. Todos los pacientes fueron incluidos en la lista después de la implementación de un sistema de asignación basado en la priorización más enfermo utilizando la puntuación MELD (Model For End-Stage Liver Disease), con un carcinoma hepatocelular (CHC) que recibió un injerto compatible con la sangre cadáver. La inmunosupresión estándar se logró con un régimen de: a) Esteroides: metilprednisolona 500 mg IV administrados inmediatamente después de restablecer los flujos portal y arterial durante el procedimiento, seguidos de una reducción de la dosis por vía oral de 4 días IV y de 8 días hasta el día 12, con prednisona 10 mg VO diarios hasta el día 90 posterior al trasplante, y prednisona 5 mg VO diarios hasta el día #180, cuando se suspende; b) Tacrolimus (Advagraf®) 0.1-0.15 mg / kg VO una vez al día; c) Micofenolato mofetilo (1 g VO / 12 h). Los pacientes con disfunción renal recibieron inducción con basiliximab (Simulect®) seguido de un inicio tardío de tacrolimus. Los pacientes fueron seguidos inicialmente dos veces a la semana en forma ambulatoria y fueron atendidos simultáneamente por hepatólogos, cirujanos y farmacéuticos.

Una vez que los pacientes sometidos a trasplante hepático son dados de alta del hospital, se programan citas en consultas externas con el digestólogo y el farmacéutico, y antes de acudir el médico les entrega, de forma protocolizada, peticiones de análisis de sangre y de etilglucurónido en orina. Una vez se obtienen los resultados de las analíticas, los pacientes acuden a la consulta, y allí es donde se realiza la entrevista personalizada y donde se puede detectar a los pacientes consumidores de alcohol en el postrasplante.

## **Sujetos**

### **1.1 Población accesible o fuente de sujetos.**

- Población diana: pacientes adultos trasplantados hepáticos con etiología de enfermedad hepática alcohólica.
  
- Población accesible: pacientes adultos trasplantados hepáticos en el Hospital General Universitario de Alicante, con etiología de enfermedad hepática alcohólica hasta diciembre 2018.
  
- Población elegible: pacientes adultos trasplantados hepáticos en el Hospital General Universitario de Alicante, con etiología de enfermedad hepática alcohólica hasta diciembre 2018 y con al menos una determinación de etilglucurónido en orina como criterio de selección.

### **1.2 Sujetos del estudio: criterios de selección.**

Todos los pacientes con trasplante de hígado con enfermedad hepática alcohólica y un mínimo de un análisis de etilglucurónido urinario se incluyeron en el estudio.

- Criterios de inclusión:
  - Pacientes adultos trasplantados hepáticos en el Hospital General de Alicante
  - De etiología alcohólica
  - Tiempo post-trasplante superior a 4 meses.
  - Con al menos una determinación de etilglucurónido en orina
  
- Criterios de exclusión:
  - Pacientes adultos trasplantados que no sean de etiología alcohólica (como Hepatitis C, Hepatitis B, enfermedad del hígado graso no alcohólica).
  - Tiempo después del trasplante menor de 4 meses.
  - Pacientes que no tengan ninguna determinación de etilglucurónido.

## **Variables a estudio**

Las variables analizadas fueron: edad al momento del trasplante, sexo, diagnóstico y etiología de la insuficiencia hepática, bilirrubina total, aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT),  $\gamma$ -glutamilttransferasa (GGT), fosfatasa alcalina (AF) y postrasplante. Complicaciones (aumento del biomarcador hepático o patología biliar) en el momento en que se analizó el etilglucurónido. El consumo de alcohol se basó en la positividad a la etilglucurónido en orina. La determinación del etilglucurónido urinario se realizó mediante un inmunoensayo enzimático basado en anticuerpos monoclonales en la plataforma INDIKO PLUS (R) (Inmunoensayo enzimático de etilglucurónido DRI, Thermo Fisher Scientific Diagnostics (R)) (rango: 100-2000 ng /mL).

Se definieron dos grupos en función de la positividad del etilglucurónido: grupo de recaída (uEtG > 200 ng / mL) y grupo de no recaída (uEtG <100 ng / mL). Los pacientes se estratificaron según las complicaciones posteriores al trasplante: sin alteración de las enzimas hepáticas, alteración de las enzimas hepáticas sin complicaciones biliares y alteración de las enzimas hepáticas con complicaciones biliares (evaluada mediante métodos estándar: ecografía, colangiopancreatografía por resonancia magnética (CPRM) y colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE)).

Variables descriptivas: edad al momento del trasplante, sexo, MELD diagnóstico y etiología de la insuficiencia hepática.

Variables explicativas: parámetros analíticos de bilirrubina total, aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT),  $\gamma$ -glutamilttransferasa (GGT), fosfatasa alcalina (AF) y complicaciones postrasplante (aumento de biomarcadores hepáticos o patología biliar) en el momento en que se determinó el etilglucurónido.

Variables resultado:

- porcentaje de pacientes con determinaciones de etilglucurónido tanto en el grupo de recaída alcohólica y en el grupo de no recaída.

- determinación de etilglucurónido urinario: se definirá el grupo de recaída alcohólica con EtGu > 200 ng/mL y el grupo de no recaída con EtGu < 100 ng/mL.
- parámetros analíticos: AST/ALT > 2, bilirrubina total > 1 mg/dL, FA por encima de valores normales: 33-96 mg U/L y GGT > 2 veces su valor normal (valores normales: 5-58 U/L), relación GGT/FA > 2,5.

### **Recogida de variables**

El reclutamiento de los pacientes se hará a partir de los informes toxicológicos de la Unidad de Farmacocinética Clínica del Servicio de Farmacia del Hospital General Universitario de Alicante (HGUA) del Sistema de Información de Laboratorio. Para la recogida de variables planteadas se precisa la información recogida a través de las historias clínicas electrónicas de los pacientes (Orion Clinic(R)), de los datos bioquímicos de sangre (Gestlab(R)) y de las determinaciones realizadas de etilglucurónido en orina.

Todo ello se realizará por parte de la investigadora principal que realiza el proyecto para que no falten datos y cerciorarse de que dichos datos sean precisos y exactos.

### **Análisis estadístico**

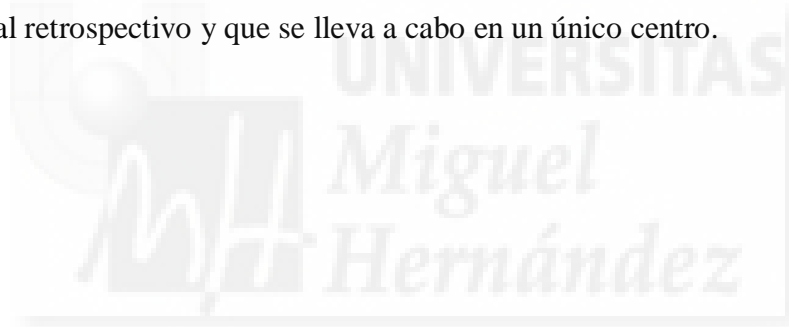
Las variables continuas se expresan como media e IC del 95%, o como mediana y rango intercuartil, dependiendo de la distribución de los datos. Para la descripción de las variables categóricas, se ha utilizado el número y el porcentaje de pacientes por categoría de respuesta. Comparamos las variables entre los grupos que utilizaron las pruebas ANOVA en variables continuas o el equivalente para las variables no paramétricas, dependiendo de las características inherentes para cada variable de estudio, y las pruebas de McNemar para analizar las variables categóricas de muestras

relacionadas. El umbral de significación se estableció en 0.05. El análisis estadístico se realizó utilizando SPSS v.19.

### **Dificultades y limitaciones**

Una de las limitaciones que presenta este estudio es que la protocolización de determinación de etilglucurónido se puso en marcha en pacientes que llevaban trasplantados más de un año, esto se debió a la inexistencia de la técnica en aquel momento. Por tanto, a la hora de estimar el tiempo medio hasta la primera determinación de etilglucurónido estaríamos sobreestimando el tiempo, igualmente sucede al determinar el tiempo medio hasta la recaída de consumo de alcohol (positividad a etilglucurónido).

Otra limitación es que el estudio no es comparado con un grupo control, es un estudio observacional retrospectivo y que se lleva a cabo en un único centro.





## **ASPECTOS ÉTICOS**

Se solicitó la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del HGUA de este estudio a principios del mes de julio de 2019, y actualmente, está pendiente de aprobación.

Se informará a cada sujeto acerca de la naturaleza del estudio, voluntariedad de la participación en el mismo y de los objetivos propuestos. A todos los sujetos se les dará un Consentimiento Informado por escrito (Anexo I) que deberán rellenar. En dicho consentimiento se hará constar también lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.

## **PLAN DE TRABAJO**

### **Etapas de desarrollo del proyecto**

1ª Fase:

Meses 1º a 4º (julio - octubre 2019): Elaboración del protocolo y solicitar autorización del CEIC del HGUA por parte de la investigadora principal.

2ª Fase:

Meses 5º a 8º (noviembre 2019 - febrero 2020): ejecución del protocolo. En esta fase se procederá a la recogida de información, reclutar a los pacientes que cumplen criterios de inclusión y recoger todas las variables. La investigadora principal será la responsable de la inclusión de los pacientes y elaborar la base de datos del estudio.

3ª Fase:

Meses 9º a 12º (marzo - mayo 2020): interpretación de datos y análisis estadístico de los mismos. En esta fase se terminará la base de datos y se preparará para el análisis

estadístico mediante el programa estadístico SPSS v.19. El análisis se realizará por parte de la investigadora principal y el equipo investigador formado por la Unidad de trasplante hepático del Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL) del HGUA.

4ª Fase:

Meses 13º a 16º (junio - septiembre 2020): redacción del artículo y publicación de resultados.

#### Final del proyecto

El proyecto finalizará en octubre de 2020, cuando se haya redactado y revisado por parte de un editor científico. Envío a revistas de alto impacto científico y congresos nacionales e internacionales.



#### **Distribución de tareas del equipo investigador**

La investigadora principal (IP) se encargará de solicitar las autorizaciones necesarias para llevar a cabo el estudio, y obtener el consentimiento informado de los pacientes. Además, se responsabilizará de todo el proceso de recogida de variables y de reclutar a los pacientes con criterios de inclusión. Así mismo, también se encargará de la realización de la base de datos, y de las distintas fases del proyecto como redacción del estudio y análisis de resultados definitivos de la investigación, con la finalidad de la difusión del mismo.

El equipo de Investigadores Docentes (ID) estará formado por los integrantes de la Unidad de Trasplante Hepático del Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL) del HGUA que junto a la IP, asegurarán la correcta recogida de datos y, además, serán responsables del análisis e interpretación de resultados.

### Cronograma de actividades

| Tareas - Responsable                 |        | Jul – 19 | Ago – 19 | Sept – 19 | Oct – 19 | Nov – 19 | Dic – 19 | Ene – 20 | Feb – 20 | Mar – 20 | Abr – 20 | May – 20 | Jun – 20 | Jul – 20 | Ago – 20 | Sept – 20 | Oct – 20 |
|--------------------------------------|--------|----------|----------|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|----------|
| Elaboración del protocolo            | IP     | X        | X        | X         | X        |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |          |
| Solicitar permiso del CEIC           | IP     | X        | X        | X         | X        |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |           |          |
| Reclutamiento pacientes              | IP     |          |          |           |          | X        | X        | X        | X        |          |          |          |          |          |          |           |          |
| Recogida variables                   | IP     |          |          |           |          | X        | X        | X        | X        |          |          |          |          |          |          |           |          |
| Elaboración Base de Datos            | IP     |          |          |           |          | X        | X        | X        | X        |          |          |          |          |          |          |           |          |
| Preparación Base de Datos            | IP     |          |          |           |          |          |          |          |          | X        | X        | X        |          |          |          |           |          |
| Análisis estadístico                 | IP, ID |          |          |           |          |          |          |          |          | X        | X        | X        |          |          |          |           |          |
| Interpretación resultados            | IP, ID |          |          |           |          |          |          |          |          | X        | X        | X        |          |          |          |           |          |
| Redacción artículo                   | IP     |          |          |           |          |          |          |          |          |          |          |          | X        | X        | X        | X         | X        |
| Publicación y difusión de resultados | IP     |          |          |           |          |          |          |          |          |          |          |          | X        | X        | X        | X         | X        |

Leyenda: Investigador Principal (IP), Investigador Docente (ID)

## **Experiencia del equipo investigador**

El equipo investigador del proyecto está formado por un conjunto de profesionales con una amplia experiencia en el ámbito clínico y asistencial. Está compuesto por algunos integrantes de la Unidad de Trasplante Hepático del HGUA, que se trata de un equipo multidisciplinar y protocolizado.

Para facilitar la metodología del proyecto, la IP informará de todas las fases del estudio a los integrantes del equipo. Sobre todo, se hará hincapié en la fase de análisis e interpretación de resultados que es la parte en la que se colabora más estrechamente.

## **MARCO ESTRATÉGICO**

### **Utilidad y aplicabilidad práctica**

La enfermedad hepática alcohólica es la causa más común de trasplante hepático en Europa y Norteamérica. Está descrito en la bibliografía que después del trasplante hay una proporción de pacientes que tienen recaída alcohólica. Uno de los métodos que hay para detectar el consumo de alcohol es la entrevista personalizada o cuestionarios al paciente. Estos métodos, a pesar de la frecuente omisión de información por parte de los consumidores habituales, presentan más sensibilidad y especificidad que los marcadores bioquímicos en sangre ya que estos solo detectan el consumo de alcohol temprano. En cuanto a los biomarcadores, son útiles cuando el consumo de alcohol se ha hecho a corto plazo (en 24-48h). Estos biomarcadores podrían complementar el diagnóstico de recaída alcohólica en los pacientes trasplantados hepáticos; como la gamma glutamil transpeptidasa (GGT), aspartato transaminasa (AST), alanina transaminasa (ALT) y volumen corpuscular medio (VCM), también se utilizan los marcadores de alcohol directos como la Transferrina Deficiente en Carbohidratos (CDT) y etanol en aire aspirado, sangre u orina.

Hasta la fecha, todavía faltan las directrices nacionales e internacionales para la detección de biomarcadores de alcohol en pacientes dentro postrasplante hepático. Dado que ninguno de los biomarcadores existentes es óptimo, la investigación para identificar

un marcador de consumo de alcohol preciso, fácil de medir y de bajo coste sigue siendo una prioridad. También podría determinar la mejor manera de combinar y calificar biomarcadores de recaída.

Por lo tanto, existe la necesidad de un biomarcador que sea positivo en el intervalo de tiempo, entre un día y una semana. El etilglucurónido es un metabolito del etanol que puede detectarse hasta 36 h en la sangre y hasta 90 h en la orina, incluso después de la eliminación completa de EtOH del cuerpo y es detectable después de consumir cantidades muy pequeñas de alcohol ( $\leq 5$  g) además, es fácil su recolección. Por ello mediante la protocolización de la determinación del EtG en orina a todos los pacientes trasplantados hepáticos, de etiología enólica y con un tiempo postrasplante mayor a 4 meses, se podría detectar el consumo de alcohol. Así mismo, mediante este estudio se evaluará la tasa recaída alcohólica en estos pacientes, además de analizar la correlación de la alteración de las enzimas hepáticas y/o complicaciones con resultado positivo a etilglucurónido. De esta forma, orientará en el diagnóstico diferencial de la enfermedad hepática.

### **Medios disponibles para la realización del proyecto**

Tanto el HGUA como la Universidad Miguel Hernández (UMH) dispone de los medios necesarios para llevar a cabo el estudio.

El hospital ofrece recursos materiales, como ordenadores, programas informáticos adecuados para elaborar la base de datos, plataformas informáticas donde consultar la historia clínica electrónica (Orion Clinic(R)) de los pacientes, así como la plataforma de Sistema de Información de Laboratorios Gestlab(R) donde se accede a las analíticas de sangre. Además, el servicio de Farmacia, en la Unidad de Farmacocinética Clínica, es donde se determina el etilglucurónido en orina mediante un inmunoensayo enzimático basado en anticuerpos monoclonales en la plataforma INDIKO PLUS(R).

Tanto el hospital como la UMH cuenta con acceso libre al software estadístico donde se realizará el análisis estadístico.

## **PRESUPUESTO**

Todo el material inventariable para llevar a cabo el estudio y las plataformas informáticas está a disposición del HGUA, de la UMH y de la investigadora principal.

Gastos de ejecución: elaboración de la base de datos, programa estadístico SPSS v19 y necesario para el estudio no supone ningún gasto adicional al presupuesto.

Los gastos derivados propiamente del proyecto se generarán en el apartado de difusión del estudio.

No se han estimado los gastos de publicación ya que el artículo se enviará a revistas sin coste.



## BIBLIOGRAFÍA

1. Natalia A. Osna, Ph.D., Terrence M. Donohue, Jr., Ph.D., and Kusum K. Kharbanda, Ph.D. Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and Current Management. *Alcohol Res.* 2017; 38(2): 147–161.PMID: [28988570](#)
2. O'Shea RS. Alcoholic liver disease. *Am J Gastroenterol.* 2010;105(1):14-32. <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2009.593>. doi: 10.1038/ajg.2009.593.
3. Staufer K, Yegles M. Biomarkers for detection of alcohol consumption in liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2016 Apr 14;22(14):3725-3734.
4. European Association for the Study of Liver. EASL clinical practical guidelines: management of alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2012; 57: 399-420 [PMID: 22633836 DOI:10.1016/j.jhep.2012.04.004]
5. Sharp AH, Black JL, Dubel SJ, Sundarraj S, Shen JP, Yunker AM, Copeland TD, McEnery MW. Biochemical and anatomical evidence for specialized voltage-dependent calcium channel gamma isoform expression in the epileptic and ataxic mouse, stargazer. *Neuroscience* 2001; 105:599-617 [PMID: 11516827]
6. Burra P, Senzolo M, Adam R, et al. Liver transplantation for alcoholic liver disease in europe: A study from the ELTR (european liver transplant registry). *American Journal of Transplantation.* 2010;10(1):138-148. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02869.x.
7. Dumortier J, Dharancy S, Cannesson A, et al. Recurrent alcoholic cirrhosis in severe alcoholic relapse after liver transplantation: A frequent and serious complication. *Am J Gastroenterol.* 2015;110(8):6; quiz 1167. doi: 10.1038/ajg.2015.204 [doi].
8. Lucey MR, Schaubel DE, Guidinger MK, Tome S, Merion RM. Effect of alcoholic liver disease and hepatitis C infection on waiting list and posttransplant mortality and transplant survival benefit. *Hepatology* 2009; 50: 400-406 [PMID: 19472315 DOI:10.1002/hep.23007]
9. Burra P, Zanetto A, Germani G. Liver Transplantation for Alcoholic Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma. *Cancers (Basel)* 2018 Feb9;10(2):10.3390/cancers10020046.
10. Carbonneau M, Jensen LA, Bain VG, Kelly K, Meeberg G, Tandon P. Alcohol use while on the liver transplant waiting list: a single-center experience. *Liver Transpl* 2010; 16: 91-97 [PMID:19866447 DOI: 10.1002/lt.21957]
11. Dew MA, DiMartini AF, Steel J, De Vito Dabbs A, Myaskovsky L, Unruh M, Greenhouse J. Meta-analysis of risk for relapse to substance use after transplantation of the liver or other solid organs. *Liver Transpl* 2008; 14: 159-172 [PMID: 18236389 DOI:10.1002/lt.21278]
12. Vassallo GA, Tarli C, Rando MM, et al. Liver transplantation in patients with alcoholic liver disease: A retrospective study. *Alcohol Alcohol.* 2017:1-6. doi: 10.1093/alcalc/agx097[doi].
13. Addolorato G, Mirijello A, Leggio L, Ferrulli A, D'Angelo C, Vassallo G, et al. Liver transplantation in alcoholic patients: impact of an alcohol addiction unit within a liver transplant center. *Alcohol Clin Exp Res* 2013 Sep;37(9):1601-1608.
14. Grat M, Lewandowski Z, Grat K, Wronka KM, Krasnodebski M, Barski K, et al. Negative outcomes after liver transplantation in patients with alcoholic liver disease beyond the fifth post-transplant year. *Clin Transplant* 2014 Oct;28(10):1112-1120.
15. Allen, J.P.; Litten, R.Z.; Strid, N.; and Sillanaukee, P. The role of biomarkers in alcoholism medication trials. *Alcohol Clin Exp Res* 25(8):1119–1125, 2001

16. Singal AK, Bataller R, Ahn J, Kamath PS, Shah VH. ACG clinical guideline: Alcoholic liver disease. *Am J Gastroenterol*. 2018. doi: 10.1038/ajg.2017.469 [doi].
17. Kling CE, Perkins JD, Carithers RL, Donovan DM, Sibulesky L. Recent trends in liver transplantation for alcoholic liver disease in the united states. *World J Hepatol*. 2017;9(36):1315-1321. doi: 10.4254/wjh.v9.i36.1315 [doi].
18. Helping patients who drink too much. A clinician's guide. Updated 2005, edition. Available from: URL: [http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/practitioner/cliniciansguide2005/clinicians\\_guide.htm](http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/practitioner/cliniciansguide2005/clinicians_guide.htm)
19. Schmitt G, Aderjan R, Keller T, Wu M. Ethyl glucuronide: an unusual ethanol metabolite in humans. Synthesis, analytical data, and determination in serum and urine. *J Anal Toxicol* 1995; 19:91-94 [PMID: 7769794]
20. Dahl H, Stephanson N, Beck O, Helander A. Comparison of urinary excretion characteristics of ethanol and ethyl glucuronide. *J Anal Toxicol* 2002; 26: 201-204 [PMID: 12054359]
21. Walsham NE, Sherwood RA. Ethyl glucuronide and ethyl sulfate. *Advances in clinical chemistry*. 2014;67:47. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25735859>.





## ANEXO I

### MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LOS SUJETOS INCLUIDOS EN EL ESTUDIO

Yo, D/Dña.....como, en pleno uso de mis facultades, libre y voluntariamente, EXPONGO: que he sido debidamente INFORMADO/A por ....., de que entro a formar parte de un estudio observacional retrospectivo sobre “ETILGLUCURÓNIDO URINARIO COMO MARCADOR PARA EVALUAR LA TASA DE RECAÍDA DE ALCOHOL DESPUÉS DE TRASPLANTE HEPÁTICO”.

1. Se me ha entregado una copia de la Hoja de Información al Participante y una copia de este Consentimiento Informado, fechado y firmado. Se me han explicado las características y el objetivo del estudio.
2. He contado con el tiempo y la oportunidad para realizar preguntas y plantear las dudas que poseía. Todas las preguntas fueron respondidas a mi entera satisfacción.
3. Se me ha asegurado que se mantendrá la confidencialidad de mis datos.
4. El consentimiento lo otorgo de manera voluntaria y sé que soy libre de retirarme del estudio en cualquier momento del mismo, por cualquier razón y sin que tenga ningún efecto sobre mi tratamiento médico futuro.

\_\_\_ DOY

\_\_\_ NO DOY

Mi consentimiento para la participación en el estudio propuesto.

Firmo el presente documento para que así conste.

Firma del participante/paciente

Firma del Investigador o la persona que proporciona la información y la hoja de consentimiento

Alicante, a..... de.....de 20.....

## **ANEXO II**

### **HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE**

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** “ETILGLUCURÓNIDO URINARIO COMO MARCADOR PARA EVALUAR LA TASA DE RECAÍDA DE ALCOHOL DESPUÉS DE TRASPLANTE HEPÁTICO”.

**INVESTIGADOR PRINCIPAL:** Pepa Boada Hernández

**CENTRO:** Hospital General Universitario de Alicante

Nos dirigimos a usted para informarle sobre el estudio de investigación en el que se le invita a participar. Todo el desarrollo del estudio se llevará a cabo de acuerdo con los requerimientos éticos de las declaraciones de Helsinki para la investigación con seres humanos, así como de acuerdo con las normas de buena práctica clínica. En cumplimiento de las disposiciones legales vigentes, el estudio ha sido aprobado por un Comité Ético de Investigación Clínica.

El objetivo de este estudio es cuantificar la tasa de recaída de alcohol en receptores de trasplante de hígado de etiología alcohólica a partir de 4 meses postrasplante mediante la determinación en orina de etilglucurónido. Para ello, los participantes se extraerán analíticas de sangre y de orina indicadas por el médico que de no participar en el estudio también deberán solicitarse. Además de acudir a las consultas con el médico que de la misma forma estarían programadas. Otros objetivos que se estudiarán: analizar la correlación de la positividad de etilglucurónido urinario ( $> 200$  ng/mL) con la alteración de las enzimas hepáticas y/o la aparición de complicaciones posteriores al trasplante hepático.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Su participación es voluntaria. Si interviene en este estudio debe saber que en cualquier momento puede decidir no seguir participando, comunicándolo a la Investigadora Principal del estudio, sin tener que manifestar razón alguna para ello. Si decide retirarse del estudio, su atención médica y farmacéutica no se verán modificadas. En caso que decida abandonar el estudio no se añadirá ningún dato nuevo a la base de datos. Los voluntarios no recibirán ninguna compensación económica por su participación en el proyecto. No se recogerán ni tratarán datos personales de los pacientes. De acuerdo con la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales (LOPD), los datos personales y de salud (ya consten en su historia clínica, ya los haya proporcionado como consecuencia de su participación en este estudio) que se recojan con motivo de este estudio son los necesarios para cubrir los objetivos del mismo. Estos datos serán identificados por medio de un código para garantizar la confidencialidad de su identidad y únicamente la IP (Pepa Boada) tendrá acceso a esta información. También podrán acceder a estos datos las Autoridades Sanitarias y el Comité Ético de Investigación Clínica. Todos ellos mantendrán en todo momento la confidencialidad de esta información.

Si usted tiene alguna duda ahora o en algún momento del estudio, por favor contacte:

Dr.....

Dirección:.....

Teléfono:.....

En caso que esté de acuerdo en participar en el presente estudio, por favor, rellene y firme el formulario de consentimiento informado adjunto.

