

ESTUDIO EXPLORATORIO: BIOMARCADORES PARA FIBROSIS HEPÁTICA AVANZADA EN PACIENTES CON HEPATITIS AUTOINMUNE DEL HOSPITAL PROVINCIAL DEL CENTENARIO DE ROSARIO

ROCÍO STAMPONE¹, VALENTINA NALLI², ANTONELLA PACINI¹, MARÍA VIRGINIA REGGIARDO³, FERNANDO BESSONE³, FEDERICO TANNO³, SILVINA R. VILLAR^{1,2*}

1) Instituto de Inmunología Clínica y Experimental Rosario (IDICER-CONICET-UNR), Rosario, Santa Fe, Argentina.

2) Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Santa Fe, Argentina.

3) Servicio de gastroenterología y hepatología del Hospital Provincial del Centenario, Rosario, Santa Fe, Argentina.

Resumen

Introducción

La hepatitis autoinmune (HAI) es una enfermedad inflamatoria crónica que puede progresar a fibrosis e incluso a cirrosis. Aunque la biopsia hepática es el método diagnóstico de referencia, su naturaleza invasiva limita su uso en el seguimiento hepático del paciente.

Objetivo

Este estudio retrospectivo de carácter exploratorio tuvo como objetivo evaluar la capacidad predictiva de diversos índices no invasivos para detectar fibrosis hepática avanzada en pacientes con HAI, con y sin tratamiento inmunosupresor.

Materiales y métodos

Se incluyeron pacientes con HAI con estadio de fibrosis avanzada confirmados por biopsia, y un grupo control. A partir de parámetros de laboratorio de rutina, se calcularon diversos biomarcadores y se determinó su capacidad diagnóstica mediante curvas ROC.

Resultados

Los índices APRI y FIB-4 confirmaron su utilidad clínica (AUC>0,80). Además, los índices eritrocitarios RDW-CV y RDW-SD (AUC>0,90), las enzimas hepáticas ALT, AST, FAL, GGT (AUC>0,70), y los índices compuestos GGP, RPR y RSP (AUC>0,80) mostraron excelente utilidad diagnóstica, incluso en pacientes bajo tratamiento. En cambio, AAR, RLR y NLR capacidad predictiva limitada (AUC ~0,5–0,7), lo cual restringe su aplicabilidad clínica.

Conclusión

Este estudio identificó marcadores con alto potencial diagnóstico incluso en pacientes bajo tratamiento inmunosupresor y sentó las bases para validarlos en el seguimiento de HAI.

Palabras claves: fibrosis hepática, biomarcadores no invasivos, hepatitis autoinmune

* Dirección de correo electrónico: villar@idicer-conicet.gob.ar o villar_silvina@hotmail.com

EXPLORATORY STUDY: BIOMARKERS FOR ADVANCED LIVER FIBROSIS IN PATIENTS WITH AUTOIMMUNE HEPATITIS FROM ROSARIO

Abstract

Introduction

Autoimmune hepatitis (AIH) is a chronic inflammatory disease that can progress to fibrosis and even cirrhosis. Although liver biopsy remains the gold standard for diagnosis, its invasive nature limits its use in the ongoing monitoring of hepatic status in patients.

Objective

This exploratory retrospective study aimed to evaluate the predictive ability of various non-invasive indices for detecting advanced fibrosis in AIH patients, both with and without immunosuppressive treatment.

Materials and Methods

The study included AIH patients with biopsy-confirmed advanced fibrosis and a control group. Routine laboratory parameters were used to calculate various biomarkers, and their diagnostic performance was assessed using ROC curves.

Results

The APRI and FIB-4 indices confirmed their clinical utility (AUC > 0.80). Additionally, erythrocyte indices RDW-CV and RDW-SD (AUC > 0.90), liver enzymes ALT, AST, ALP, GGT (AUC > 0.70), and composite indices GGP, RPR, and RSP (AUC > 0.80) demonstrated excellent diagnostic performance, even in treated patients. In contrast, AAR, RLR, and NLR showed limited predictive capacity (AUC ~0.5–0.7), which reduces their clinical utility.

Conclusion

This study identified highly promising diagnostic markers, even in patients undergoing immunosuppressive therapy, and laid the groundwork for their validation in AIH monitoring.

Keywords: *liver fibrosis, non-invasive biomarkers, autoimmune hepatitis*

INTRODUCCIÓN

La hepatitis autoinmune (HAI) es una enfermedad inflamatoria crónica de curso progresivo, cuyo factor desencadenante aún no se comprende completamente. Se ha propuesto que su desarrollo puede estar influenciado por una predisposición genética, mientras que factores ambientales, como la dieta, el uso de fármacos o infecciones virales, podrían actuar como promotores en su patogenia. La enfermedad es mediada por células T y se asocia con una ruptura de la inmunotolerancia frente a los hepatocitos, lo que conduce a su destrucción, pudiendo desarrollar fibrosis, que posteriormente puede progresar a cirrosis e insuficiencia hepática terminal. Aunque la HAI puede afectar a personas de cualquier edad y sexo, su prevalencia es mayor en mujeres.¹⁻³

Un estudio reciente evidenció un incremento significativo en la incidencia y prevalencia de la HAI, con aumentos de 3.1 y 2.8 veces, respectivamente, en comparación con las tasas registradas antes del año 2000. Estos hallazgos resaltan la importancia de continuar

investigando esta patología para comprender mejor sus factores predisponentes, mecanismos fisiopatológicos y posibles estrategias de manejo.⁴

Las manifestaciones clínicas de la HAI son variables y fluctuantes. Si bien es frecuente la presencia de síntomas característicos de enfermedad hepática crónica, como hepatomegalia, esplenomegalia o ictericia, en algunos casos predominan signos inespecíficos como fatiga, letargo, malestar general, prurito y artralgia. En otros pacientes, la enfermedad permanece asintomática hasta estadios avanzados de fibrosis hepática.⁵ La terapia recomendada para la HAI consiste generalmente en prednisona sola o en combinación con azatioprina, la cual ha mostrado ser eficaz en la reducción de la actividad inflamatoria y en la mejoría de los parámetros clínicos y bioquímicos.⁶

El diagnóstico de HAI debe basarse en la combinación de los hallazgos clínicos característicos, junto con criterios bioquímicos (presencia de autoanticuerpos, niveles elevados de transaminasas, entre otros) e histo-

lógicos (hepatitis de interfase con afectación periportal, infiltración de células plasmáticas o necrosis).^{1,2} La biopsia hepática es considerada el estándar de referencia para la evaluación de la fibrosis hepática. A pesar de esto su uso en el monitoreo de la fibrosis es limitado, ya que se trata de un procedimiento invasivo, con riesgo de complicaciones, costos elevados y posibilidad de errores de muestreo.⁷ Estas limitaciones dificultan su aplicación en el seguimiento del paciente para evaluar la progresión de la fibrosis. Por esta razón, se han desarrollado modelos de diagnóstico no invasivos basados en parámetros de laboratorio de rutina para evaluar la fibrosis hepática en diversas patologías. No obstante, los estudios en HAI siguen siendo limitados, especialmente en pacientes que reciben tratamiento inmunosupresor.

En este contexto, el objetivo de nuestro estudio fue evaluar retrospectivamente una serie de índices no invasivos para determinar su capacidad de predecir fibrosis hepática avanzada en pacientes con HAI, utilizando la biopsia hepática como método de referencia. Considerando que el tratamiento inmunosupresor podría modificar las variables involucradas en estos índices, fue de nuestro interés identificar aquellos que conserven un buen rendimiento diagnóstico en ambos escenarios, con y sin tratamiento, manteniendo elevados niveles de sensibilidad y especificidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población estudiada

Para este estudio exploratorio y retrospectivo, se incluyeron pacientes del Servicio de Gastroenterología y Hepatología del Hospital Provincial del Centenario Rosario, Argentina con HAI en estadio avanzado de fibrosis hepática, sin tratamiento inmunosupresor (HAI_{S/TTO}, n=10), pacientes con HAI bajo tratamiento inmunosupresor (prednisona (10 mg/día) y azatioprina (50-100 mg/día)) con fibrosis en estadio avanzado (HAI_{C/TTO}, n=10), y un grupo control (Co) (n=15). Los pacientes fueron diagnosticados según los criterios definidos por el informe del Grupo Internacional de HAI.⁸ Los principales criterios de exclusión incluyeron lesión hepática inducida por fármacos y diagnóstico previo de enfermedades inflamatorias crónicas, infecciosas o autoinmunes, excepto la HAI. El protocolo de investigación fue aprobado por los Comités Institucionales de Bioética (Resoluciones N° 3634/2022, 4305/2022), y el estudio se llevó a cabo en conformidad con los principios de la Declaración de Helsinki. Se obtuvo el consentimiento

informado por escrito de todos los individuos antes de su inclusión en el estudio.

Biopsia hepática

Se analizaron retrospectivamente los informes de biopsias de pacientes con HAI entre 2017 y 2024, seleccionando 10 casos con fibrosis avanzada en estadio 3 (puentes de fibrosis entre espacios porta) y/o 4 (cirrosis), según la clasificación de Scheuer, los pacientes incluidos debían cumplir con todos los criterios de selección y contar con información de laboratorio completa.

Fórmulas de los índices evaluados con potencial valor pronóstico para predecir fibrosis hepática avanzada

- **RDW-CV:** amplitud de distribución eritrocitaria – coeficiente de variación (%)
- **RDW-SD:** amplitud de distribución eritrocitaria – desvío estándar(fl)
- **ALT:** alanina aminotransferasa (UI/L)
- **AST:** aspartato aminotransferasa (UI/L)
- **FAL:** fosfatasa alcalina (UI/L)
- **GGT:** γ -glutamyl transpeptidasa (UI/L)

- **APRI:**
$$\frac{\text{AST}(\text{UI/L}) / \text{x10} / (\text{LSN de AST (UI/L)})}{\text{plaquetas}(10^9/\text{L})}$$

*LSN: límite superior normal

- **FIB-4:**
$$\frac{\text{Edad (años)} \times \text{AST (UI/L)}}{\text{plaquetas} (10^9/\text{L}) \times \sqrt{\text{ALT} \left(\frac{\text{UI}}{\text{L}}\right)}}$$

- **RPR:**
$$\frac{\text{RDW-CV} (\%) }{\text{plaquetas}(10^9/\text{L})}$$

- **GGP:**
$$\frac{\text{GGT}(\text{UI/L})}{\text{plaquetas}(10^9/\text{L})}$$

- **RSP:**
$$\frac{\text{RDW-SD} (\text{fl})}{\text{plaquetas} (10^9/\text{L})}$$

- **NLR:**
$$\frac{\text{neutrófilos}(\%)}{\text{linfocitos}(\%)}$$

- **RLR:**
$$\frac{\text{RDW-CV} (\%)}{\text{linfocitos}(\%)}$$

- **AAR:**
$$\frac{\text{AST (UI/L)}}{\text{ALT (UI/L)}}$$

Análisis estadístico

Las comparaciones estadísticas entre pacientes con HAI y el grupo Co se llevaron a cabo utilizando pruebas t-Student para muestras paramétricas y test U de Mann Whitney para muestras no paramétricas. Después de verificar el supuesto de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk, se evaluó la homogeneidad de varianza utilizando el test de F para comparar varianzas. Cuando se detectaron varianzas desiguales, se aplicó la corrección de Welch en la prueba t. Se emplearon test pareados en las comparaciones entre los pacientes con HAI previo y posterior al tratamiento inmunosupresor. Los datos se resumieron gráficamente empleando curvas ROC para evaluar el rendimiento diagnóstico de cada índice de fibrosis hepática severa. Las diferencias entre las áreas bajo la curva (AUC) fueron testeadas usando test z. Los valores de corte se determinaron mediante el índice de Youden, que identifica el punto óptimo donde se logra la mejor combinación de sensibilidad y especificidad. Los datos se expresan como media \pm desvío estándar. Se consideraron estadísticamente significativos los valores de $p < 0.05$, codificados de la siguiente manera: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ y **** $p < 0.0001$.

RESULTADOS

1- Datos demográficos y resultados bioquímicos de la cohorte en estudio

En la **Tabla 1** se resume las características demográficas y de laboratorio de los individuos con HAI, diferenciando entre aquellos que se encuentran sin tratamiento, bajo terapia inmunosupresora y los Co. Se destacaron alteraciones marcadas en varios parámetros hematológicos relacionados con la patología. En particular, RDW-CV y RDW-SD estuvieron significativamente elevados en los pacientes con HAI, especialmente en los no tratados, en comparación con los Co ($p < 0.0001$ y $p = 0.0008$, respectivamente). Asimismo, se evidenciaron aumentos en las enzimas hepáticas ALT, AST, FAL y GGT, en HAI_{S/TTO} con respecto a los Co ($p < 0.001$ en todos los casos). En HAI_{C/TTO}, si bien los valores de estas enzimas comenzaron a disminuir con la terapia, se mantuvieron notablemente más elevados en comparación con los Co ($p < 0,05$ en todos los casos), lo que sugiere una respuesta parcial al mismo. En cuanto a los índices compuestos, como APRI, FIB-4, RPR, GGP y RSP estos también mostraron diferencias relevantes, siendo considerablemente más altos en los pacientes HAI_{S/TTO} en comparación con los Co ($p \leq 0.001$ para todos

los casos). Además, al comparar los grupos HAI_{C/TTO} y HAI_{S/TTO}, se observó que ALT, AST y FAL disminuyeron significativamente en HAI_{C/TTO} en comparación con HAI_{S/TTO} ($p < 0.01$ en todos los casos), lo que indica una mejoría bioquímica tras la terapia inmunosupresora. Del mismo modo, se evidenció una marcada reducción en los índices compuestos APRI, FIB-4 y GGP en los pacientes tratados respecto a los no tratados ($p < 0.05$ en todos los casos). En cambio, en los parámetros RDW-CV y RDW-SD se mantuvieron por encima de los rangos de referencia establecidos para sujetos sanos, y fueron similares entre los grupos HAI_{S/TTO} y HAI_{C/TTO}.

Además, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para explorar la distribución de los sujetos de estudio en función de diversos parámetros bioquímicos y hematológicos, y determinar su relación con el grupo al que pertenecen: Co, HAI_{S/TTO} y HAI_{C/TTO}. Los dos primeros componentes principales, dimensión 1 (Dim1) y dimensión 2 (Dim2) explicaron el 62% de la variabilidad total de los datos, siendo Dim1 responsable del 38,7% y Dim2 del 23,2%. La Dim1 se asoció principalmente con el perfil hematológico de la cohorte en estudio, dado que las variables que más contribuyeron a este eje fueron: RDW.CV, RDW.SD, hemoglobina, hematocrito y eritrocitos. Estas variables permitieron diferenciar claramente el grupo Co, cuyos individuos se agruparon de manera más compacta en el espacio definido por este componente, reflejando un perfil hematológico más homogéneo. En contraste, los pacientes con HAI, con y sin tratamiento, mostraron mayor dispersión, lo que podría reflejar alteraciones en estos parámetros. Por otro lado, la Dim2, da una idea del perfil hepático del grupo en estudio, dado que este eje estuvo dominado por: AST, ALT y GGT, indicadores indirectos del estado del hígado. Estas enzimas permitieron distinguir a los individuos HAI_{S/TTO}, quienes se agruparon principalmente en el extremo superior del gráfico, indicando un posible compromiso hepático más marcado en ausencia del tratamiento. En cambio, los sujetos con HAI_{C/TTO}, se distribuyó de forma más cercana los Co, lo que sugiere un posible normalizador del tratamiento. (**Figura 1**)

Estas enzimas permitieron distinguir a los pacientes sin tratamiento inmunosupresor (HAIS/TTO), quienes se agruparon principalmente en el extremo superior del gráfico, lo que indicaría un mayor compromiso hepático. En contraste, aquellos bajo tratamiento (HAIC/TTO) se ubicaron más próximos al grupo Co, lo que

sugiere un posible efecto normalizador asociado a la terapia.

También se evaluó la distribución de los índices compuestos (fórmulas que integran las variables bioquímicas y hematológicas) entre los grupos de estudio mediante el siguiente el PCA. Los dos primeros componentes explicaron en conjunto el 67.2% de la varianza total (Dim1: 40.6%, Dim2: 26.6%). En el gráfico biplot del PCA, los

Co tendieron a agruparse principalmente en el extremo izquierdo de la Dim1. Esta ubicación sugiere un perfil más homogéneo en relación a los índices que dominan ese eje, como RPR, RSP, GGP y RLR. Además, su distribución es claramente más compacta, lo que indica menor variabilidad interna. Por el contrario, los pacientes con HAI_{S/TTO} se ubicaron predominantemente hacia el lado derecho de la Dim1, presentando una mayor dispersión.

Tabla 1. Características demográficas y de laboratorio de los pacientes con hepatitis autoinmune y controles.

Variables	Controles (Co; n=15)	HAI sin tratamiento (HAI _{S/TTO} ; n=10)	HAI con tratamiento (HAI _{C/TTO} ; n=10)	Valor de p		
				*Co vs HAI _{S/TTO}	*Co vs HAI _{C/TTO}	* HAI _{S/TTO} vs HAI _{C/TTO}
Edad (años)	34 ± 14	36 ± 16	40 ± 16	0,3299	0,8381	0,0156
Sexo: F/M	15/-	10/-	10/-	-	-	-
Eritrocitos (M/mm ³)	4,49 ± 0,28	4,19 ± 0,84	4,18 ± 0,81	0,3004	0,2717	0,7518
Hemoglobina (g/dL)	13,4 ± 0,8	11,9 ± 2,7	12,5 ± 2,0	0,1139	0,2257	0,4776
Hematocrito (%)	40 ± 2	37 ± 8	38 ± 6	0,2498	0,2732	0,7283
RDW CV (%)	12,2 ± 0,5	15,0 ± 1,4	14,7 ± 2,4	<0,0001	0,0085	0,0972
RDW SD (fL)	39,5 ± 2,7	47,8 ± 5,5	48,9 ± 8,6	0,0008	0,0069	0,2078
Leucocitos (/mm ³)	6079 ± 1200	4445 ± 1720	5676 ± 2609	0,0120	0,6576	0,2343
Plaquetas (/mm ³)	267667 ± 68272	178500 ± 111983	184200 ± 71210	0,0044	0,0096	0,4375
Linfocitos (%)	35 ± 12	29 ± 8	29 ± 11	0,2101	0,2581	0,638
Neutrófilos (%)	55 ± 13	57 ± 9	56 ± 10	0,5670	0,6940	0,9223
ALT (UI/L)	15 ± 6	360 ± 397	38 ± 35	<0,0001	0,0423	0,0078
AST (UI/L)	17 ± 3	335 ± 382	42 ± 70	<0,0001	0,0099	0,0078
FAL (UI/L)	71 ± 18	199 ± 81	129 ± 56	<0,0007	0,0097	0,0019
GGT (UI/L)	18 ± 11	158 ± 136	104 ± 93	<0,0001	0,0006	0,0547
APRI	0,19 ± 0,05	4,73 ± 4,28	0,84 ± 0,88	<0,0001	0,0066	0,0078
FIB-4	0,67 ± 0,42	3,51 ± 2,74	1,66 ± 1,24	<0,0001	0,0007	0,0156
RPR	0,05 ± 0,01	0,11 ± 0,05	0,09 ± 0,05	0,0051	0,017	0,0799
GGP	0,07 ± 0,04	0,89 ± 0,76	0,67 ± 0,68	<0,0001	0,0007	0,0234
RSP	0,14 ± 0,04	0,34 ± 0,14	0,32 ± 0,17	0,0019	0,0107	0,0902
NLR	1,86 ± 1,01	2,17 ± 1,00	2,34 ± 1,26	0,4522	0,2987	0,9378
RLR	0,39 ± 0,14	0,55 ± 0,18	0,62 ± 0,38	0,0357	0,1025	>0,9999
AAR	1,32 ± 0,43	1,22 ± 1,13	1,30 ± 0,37	0,1151	0,9350	0,6406

Los datos se presentan como media ± SD. Valores normales: eritrocitos: 3.70-5.50 M/mm³; hemoglobina: 11.0-16.0 g/dL; hematocrito: 35-50 %; RDW CV, amplitud de distribución de glóbulos rojos - coeficiente de variación: F: (11.6-14.7 %) M: (11.9-12.9 %); RDW SD, amplitud de distribución de glóbulos rojos - desviación estándar: F: (36.5-50.2 fL) M: (39.9-46.3 fL); Leucocitos: 3400-9600 /mm³; Plaquetas: 150000-450000 /mm³; Linfocitos: 25-35%; Neutrófilos: 45-65% ; ALT, alanina aminotransferasa 5-33 U/L; AST, aspartato aminotransferasa: 5-32 U/L; FAL, fosfatasa alcalina 35-104 U/L; GGT, gamma-glutamyl transferasa 5-55 U/L; APRI: (AST(UI/L) /LSN, límite superior normal de AST (UI/L))/(plaquetas(10⁹/L)) x100; FIB-4: Edad (años) x AST (UI/L)/((plaquetas (10⁹/L) x √(ALT(UI/L))); RPR: (RDW-CV (%)/plaquetas(10⁹/L)); GGP:(GGT(UI/L)/plaquetas(10⁹/L)); RSP: (RDW-SD (fL)/plaquetas (10⁹/L)); F NLR: (neutrófilos(%)/linfocitos(%)); RLR: (RDW-CV (%)/linfocitos(%)); AAR: AST(UI/L /ALT(UI/L); femenino; M, masculino; Co, controles; HAI_{C/TTO}, hepatitis autoinmune con tratamiento inmunosupresor; HAI_{S/TTO}, hepatitis autoinmune sin tratamiento inmunosupresor; *p < 0.05, **p < 0.01 y ***p < 0.001 y ****p < 0.0001.

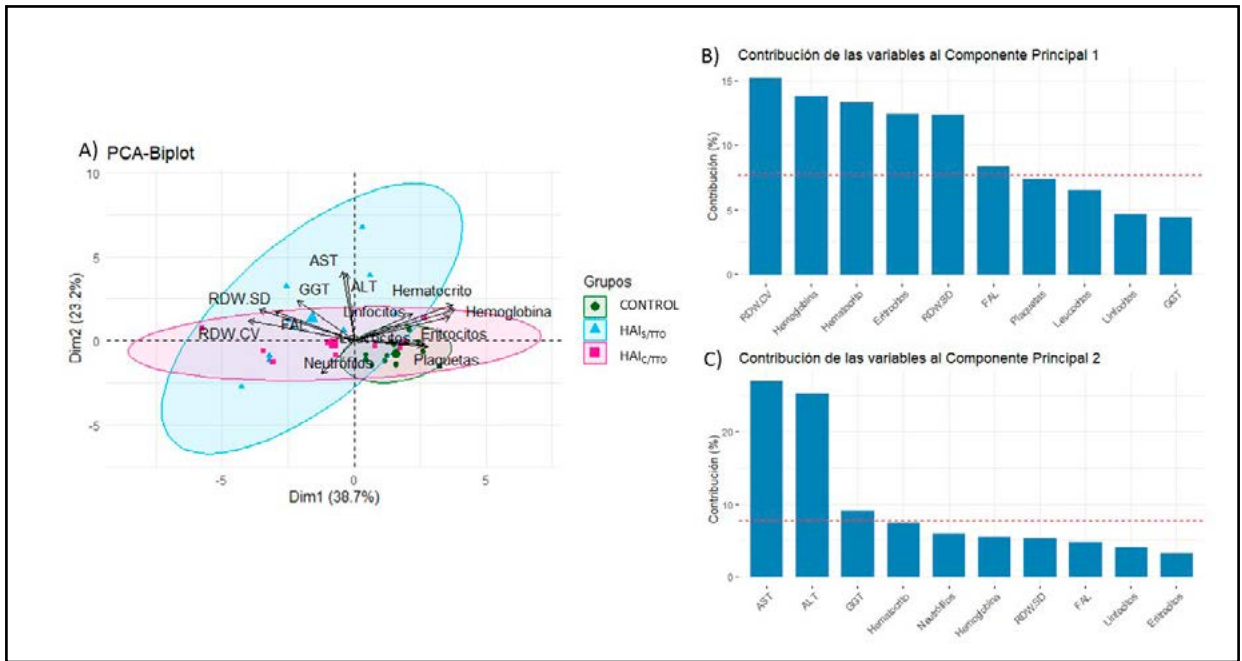


Figura 1. Análisis de componentes principales de parámetros bioquímicos y hematológicos. A) Biplot del PCA que muestra la distribución de los individuos según los dos primeros componentes principales, diferenciando los grupos: controles (Co), pacientes con HAI sin tratamiento (HAI_{SITTO}) y con tratamiento (HAI_{CITTO}). B) Contribución de las variables clínicas al Componente Principal 1 (Dim 1). C) Contribución de las variables clínicas al Componente Principal 2 (Dim 2).

Esto refleja una mayor heterogeneidad respecto a los índices compuestos, posiblemente vinculada a la actividad no controlada de la enfermedad. Por otra parte, el grupo HAI_{CITTO} también se posicionó hacia el lado derecho de Dim1, aunque con una distribución intermedia entre los sujetos Co y los pacientes sin tratamiento. De hecho, se observa cierta superposición entre este grupo y el de los Co, lo que sugiere que el tratamiento podría estar modulando parcialmente los valores de los índices, acercándolos a un perfil más similar al de individuos sin la patología, evitando una separación clara. En cuanto a Dim2, si bien no permitió una diferenciación marcada entre los grupos, mostró la variabilidad interna de los mismos. En este eje, las variables con mayor contribución fueron NLR, APRI, RLR y AAR, destacándose NLR como la de mayor peso individual, con una contribución cercana al 30%. Estos resultados sugieren que ciertos índices compuestos relacionados con inflamación y daño hepático permiten diferenciar con mayor claridad los grupos estudiados, resaltando su posible utilidad como marcadores clínicos en el contexto de la HAI. **Figura (2)**

2- Evaluación de la capacidad diagnóstica de biomarcadores para fibrosis hepática avanzada en hepatitis autoinmune

Se determinó el rendimiento diagnóstico de distintos índices no invasivos para discriminar fibrosis hepática avanzada en pacientes con HAI, tanto en tratamiento como sin terapia inmunosupresora en comparación con sujetos Co. La biopsia hepática fue utilizada como método de referencia. La **Tabla 2** resume los valores de corte óptimos, AUC, sensibilidad, especificidad y el índice de Youden de cada marcador. Las curvas ROC fueron agrupadas según la naturaleza clínica y funcional de los índices evaluados, con el fin de facilitar su interpretación comparativa y destacar las diferencias en la capacidad predictiva de cada marcador según el grupo de pacientes analizado. **(Figura 3)**

En la **Figura 3, panel A**, se muestran los índices APRI y FIB-4, que son empleados en la práctica clínica actualmente. Ambos presentaron excelente capacidad predictiva en pacientes sin tratamiento (AUC > 0.95 en ambos casos), y con buen rendimiento también en

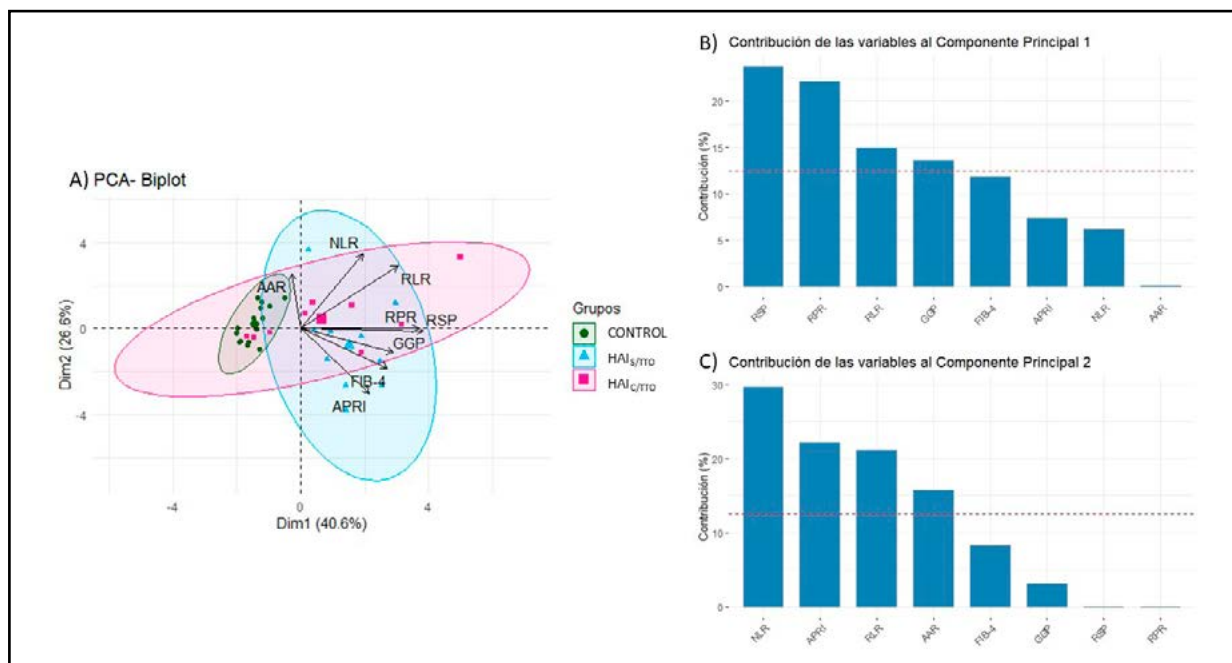


Figura 2. Análisis de componentes principales de índices compuestos.

A) Biplot del PCA que muestra la distribución de los individuos según los dos primeros componentes principales, diferenciando los grupos: controles (Co), pacientes con HAI sin tratamiento (HAI_{S/TTO}) y con tratamiento (HAI_{C/TTO}).

B) Contribución de los índices compuestos al Componente Principal 1 (Dim 1).

C) Contribución de los índices compuestos al Componente Principal 2 (Dim 2).

pacientes tratados (AUC > 0.80 en ambos casos). APRI se destacó especialmente por lograr una sensibilidad y especificidad del 100% en el grupo sin tratamiento (AUC = 1.00). En el **panel B**, los parámetros eritrocitarios, RDW-CV y RDW-SD, también demostraron un elevado potencial para distinguir la fibrosis hepática, con AUC ≥ 0.90 en HAI_{S/TTO} y HAI_{C/TTO}. En el caso del RDW-SD mostró una reducción en la sensibilidad para los pacientes bajo tratamiento. Sin embargo, ambos índices se perfilan como prometedores biomarcadores para el seguimiento de fibrosis en pacientes con HAI. En el **panel C**, se observó que las enzimas hepáticas ALT, AST, FAL y GGT presentaron una elevada capacidad discriminativa en pacientes con HAI_{S/TTO} (AUC ≥ 0.93 para las cuatro enzimas), y aunque en pacientes tratados la habilidad para predecir fibrosis fue algo menor, ALT fue la única enzima que tuvo una disminución más notable en su sensibilidad (70%) y en el AUC (0,743), lo que sugiere que podría ser un marcador menos fiable de fibrosis en pacientes en tratamiento. En el **panel D**, los índices compuestos GGP,

RPR y RSP se destacaron por su elevado rendimiento diagnóstico tanto en HAI_{C/TTO} como en el grupo HAI_{S/TTO} (AUC ≥ 0,88 en todos los casos). Cabe señalar que el índice RSP mostró una ligera disminución en su sensibilidad (70%), aunque mantuvo un buen desempeño global. Estos hallazgos sugieren que podrían ser herramientas útiles y consistentes para detectar fibrosis independientemente del estado terapéutico del paciente. Finalmente, en el **panel E**, los índices NLR y AAR mostraron un bajo desempeño predictivo tanto en aquellos los pacientes no tratados como bajo tratamiento inmunosupresor. El NLR presentó un AUC bajo (0.600–0.627), acompañado de baja sensibilidad (50%–70%) y especificidad (53%–73%), lo que refleja su escasa utilidad clínica. En el caso del AAR, aunque mostró una sensibilidad elevada (90%) en pacientes sin tratamiento, su especificidad fue consistentemente baja (53%–60%) y su AUC también se mantuvo en valores bajos (0.513–0.693), confirmando su pobre rendimiento diagnóstico. Por otro lado, el RLR se destacó por una alta sensibilidad (100%) en ausencia

Tabla 2. Capacidad predictiva de biomarcadores para fibrosis hepática avanzada en pacientes con hepatitis autoinmune

Índice	Tratamiento Inmunosupresor (SI/NO)	Valor de corte óptimo	Sensibilidad %	Especificidad %	Índice de Youden	AUC (95% IC)	Valor de p
FIB-4	NO	> 1,162	90	93	0,83	0,953 (0,875-1,000)	0,0002
	SI	> 0,585	100	67	0,67	0,887 (0,756-1,000)	0,0013
APRI	NO	> 0,472	100	100	1,00	1,000(1,000-1,000)	<0,0001
	SI	> 0,336	70	100	0,70	0,820 (0,618-1,000)	0,0078
RDW CV	NO	> 13,300	90	100	0,90	0,947 (0,842 -1,000)	0,0002
	SI	> 12,900	80	93	0,73	0,907 (0,767-1,000)	0,0007
RDW SD	NO	> 43,850	80	100	0,80	0,900 (0,756-1,000)	0,0016
	SI	> 44,050	70	100	0,70	0,900 (0,770-1,000)	0,0016
ALT	NO	> 36,500	90	100	0,90	0,973 (0,912 -1,000)	<0,0001
	SI	> 16,500	70	73	0,43	0,743 (0,527-0,960)	0,0429
AST	NO	> 35,500	90	100	0,90	0,977 (0,924-1,000)	<0,0001
	SI	> 22,500	80	93	0,73	0,803 (0,575-1,000)	0,0116
FAL	NO	> 136,00	80	100	0,80	0,932 (0,830-1,000)	0,0004
	SI	> 81,000	90	78	0,68	0,871 (0,710-1,000)	0,0023
GGT	NO	> 29,500	90	93	0,83	0,954 (0,875-1,000)	0,0002
	SI	> 20,500	90	86	0,76	0,893 (0,738-1,000)	0,0013
GGP	NO	> 0,202	100	100	1,00	1,000 (1,000-1,000)	<0,0001
	SI	> 0,115	90	86	0,76	0,893 (0,738-1,000)	0,0013
RPR	NO	> 0,062	90	87	0,77	0,887 (0,711-1,000)	0,0013
	SI	> 0,069	70	93	0,63	0,887 (0,757-1,000)	0,0013
RSP	NO	> 0,208	90	92	0,82	0,883 (0,696-1,000)	0,0024
	SI	> 0,168	80	83	0,63	0,892 (0,760-1,000)	0,0019
NLR	NO	> 1,588	70	53	0,23	0,600 (0,375-0,825)	0,4054
	SI	> 2,343	50	73	0,23	0,627 (0,398-0,856)	0,2919
RLR	NO	> 0,335	100	53	0,53	0,753 (0,563-0,943)	0,0350
	SI	> 0,597	50	93	0,43	0,700 (0,478-0,922)	0,0961
AAR	NO	> 1,225	90	53	0,43	0,693 (0,470-0,916)	0,1077
	SI	> 1,336	50	60	0,10	0,513 (0,278-0,748)	0,9117

Abreviaturas: FIB-4: Edad x AST/(plaquetas x $\sqrt{\text{ALT}}$); APRI: (AST(UI/LSN, límite superior normal de AST)/(plaquetas) x100; RDW CV, amplitud de distribución de glóbulos rojos - coeficiente de variación; RDW SD, amplitud de distribución de glóbulos rojos - desviación estándar; ALT, alanina aminotransferasa; FAL, fosfatasa alcalina; GGT, gamma-glutamil transferasa; AST, aspartato aminotransferasa; GGP:(GGT/plaquetas); RPR: (RDW-CV/plaquetas); RSP: (RDW-SD/plaquetas); NLR: (neutrófilos/linfocitos); RLR: (RDW-CV/linfocitos); AAR: (AST /ALT).

de inmunosupresión con un AUC moderado (0.753), pero una especificidad reducida (53%), y en pacientes tratados su sensibilidad disminuyó considerablemente (50%). En conjunto, estos tres índices no parecen aportar un valor clínico significativo para la predicción de fibrosis hepática avanzada, lo que limita su aplicabilidad práctica en este contexto.

La **Figura 4** integra de manera visual el desempeño predictivo de los biomarcadores analizados para identificar fibrosis hepática avanzada en los grupos HAI_{STTO} y HAI_{CTO}. La clasificación se basa en los valores del AUC derivados de las curvas ROC. Destacan varios índices con un rendimiento diagnóstico excelente (AUC \geq 0,90) en ambos grupos como FIB-4, APRI, RDW-CV, RDW-SD, AST,

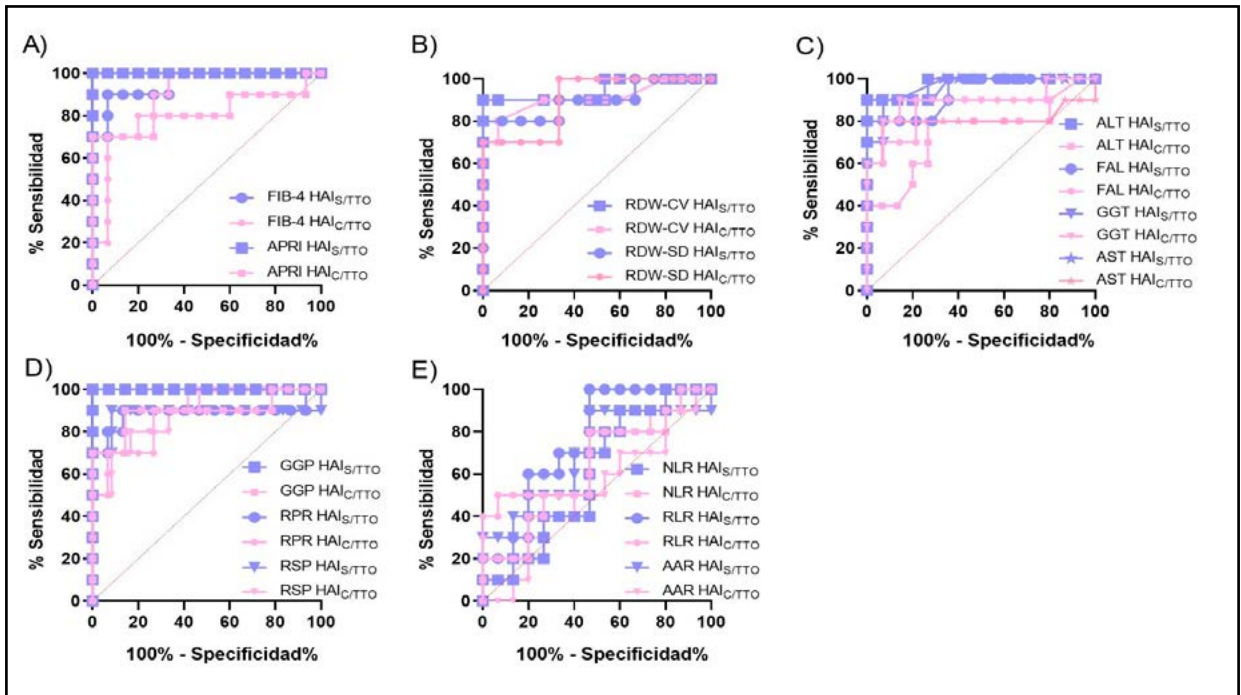


Figura 3. Curvas ROC de los índices evaluados para la predicción de fibrosis hepática avanzada.

Se muestran las curvas ROC agrupadas por tipo de índice:

- A) FIB-4 y APRI, marcadores clínicos validados y utilizados en la práctica clínica;
 - B) RDW-CV y RDW-SD, parámetros eritrocitarios;
 - C) ALT, FAL, GGT y AST enzimas hepáticas;
 - D) GGP, RPR y RSP, índices compuestos con alto potencial diagnóstico de fibrosis hepática;
 - E) NLR, RLR y AAR, índices compuestos con capacidad discriminativa moderada o baja para predecir fibrosis hepática.
- Los colores diferencian a los pacientes sin tratamiento (HAI_{S/ITTO}) (celeste) y con tratamiento (HAI_{C/ITTO}) (rosa). Abreviaturas: FIB-4: (Edad x AST)/((plaquetas x \sqrt{ALT})); APRI: (AST/LSN, límite superior normal de AST)/(plaquetas x100); RDW CV, amplitud de distribución de glóbulos rojos - coeficiente de variación; RDW SD, amplitud de distribución de glóbulos rojos - desviación estándar; ALT, alanina aminotransferasa; FAL, fosfatasa alcalina; GGT, gamma-glutamil transferasa; AST, aspartato aminotransferasa; GGP: GGT/plaquetas; RPR: RDW-CV /plaquetas; RSP: RDW-SD /plaquetas; NLR: neutrófilos/linfocitos; RLR: RDW-CV /linfocitos; AAR: AST /ALT.

FAL, GGT, GGP, RPR y RSP. ALT demostró tener una capacidad predictiva aceptable en ambos grupos, aunque con inferior AUC en pacientes tratados. Mientras que RLR evidenció un rendimiento moderado, pero su aplicabilidad clínica se ve restringida por su baja sensibilidad y/o especificidad. Finalmente, los índices AAR y NLR se ubicaron en la categoría de baja capacidad predictiva (AUC < 0,70), limitando su utilidad en esta patología.

DISCUSIÓN

La HAI es un trastorno hepático crónico caracterizado por inflamación persistente y evolución progre-

siva, cuyos síntomas iniciales suelen ser inespecíficos y con manifestaciones clínicas heterogéneas. Entre sus complicaciones más frecuentes destaca la fibrosis hepática, la cual puede encontrarse en etapas avanzadas al momento del diagnóstico, alcanzando la cirrosis.^{2,5} Si bien la biopsia hepática sigue siendo el método estándar de referencia para evaluar la fibrosis, su carácter invasivo y sus limitaciones prácticas han impulsado el desarrollo de índices no invasivos, los cuales han demostrado utilidad clínica en el diagnóstico de esta condición.^{7,9-11} No obstante, la evidencia sobre la aplicación de estos biomarcadores en HAI, particularmente

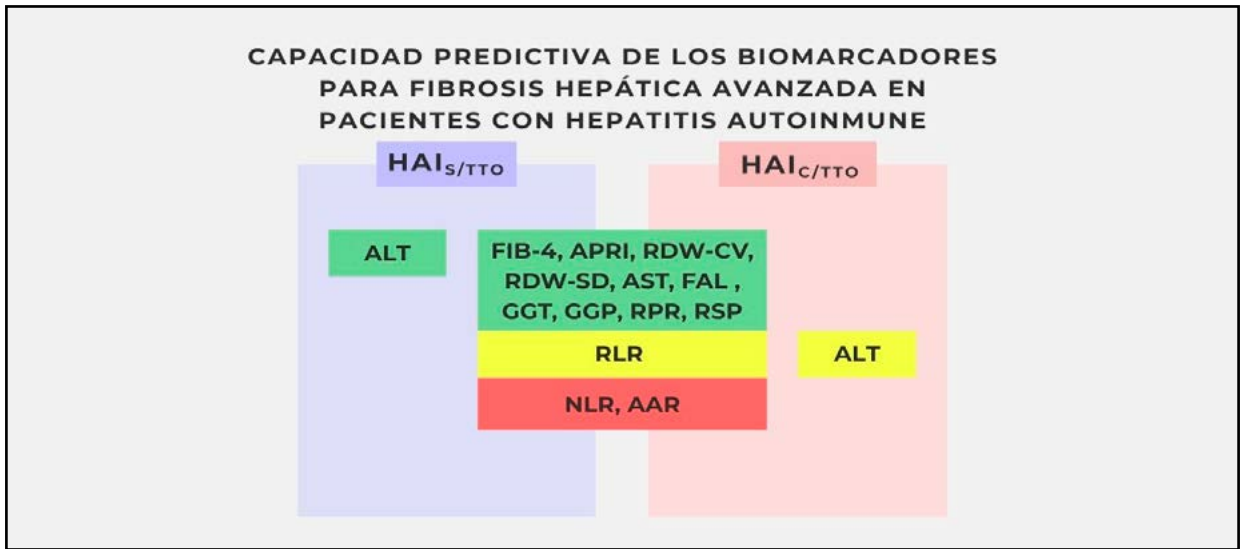


Figura 4. Síntesis gráfica del desempeño diagnóstico de los índices evaluados para fibrosis hepática avanzada en HAI.

Clasificación de los biomarcadores según su capacidad predictiva, determinada a partir del análisis de curvas ROC:

- **Alta** capacidad predictiva (AUC ≥ 0,90);
- **Moderada** capacidad predictiva (AUC ≥ 0,70 y ≤ 0,90);
- **Baja** capacidad predictiva (AUC < 0,70).

Abreviaturas: FIB-4: (Edad x AST)/((plaquetas x √ALT); APRI: (AST/LSN, límite superior normal de AST)/(plaquetas x100); RDW CV, amplitud de distribución de glóbulos rojos - coeficiente de variación; RDW SD, amplitud de distribución de glóbulos rojos - desviación estándar; ALT, alanina aminotransferasa; FAL, fosfatasa alcalina; GGT, gamma-glutamil transferasa; AST, aspartato aminotransferasa; GGP: GGT/plaquetas; RPR: RDW-CV / plaquetas; RSP: RDW-SD /plaquetas; NLR: neutrófilos/linfocitos; RLR: RDW-CV /linfocitos; AAR: AST /ALT.

en el contexto de tratamiento inmunosupresor, sigue siendo limitada.

En este estudio exploratorio se evaluó el rendimiento diagnóstico de múltiples biomarcadores para la predicción de fibrosis hepática avanzada en pacientes con HAI, tanto bajo tratamiento inmunosupresor como sin él, en comparación con los individuos Co. Además, se aplicó un análisis de componentes principales -PCA- para identificar qué variables contribuyen de forma más significativa a la diferenciación entre los grupos, permitiendo así explorar patrones globales en los datos y reforzar la interpretación de los hallazgos clínicos.

En el análisis PCA de los parámetros bioquímicos y hematológicos, se observó que las variables hematológicas, RDW-CV, RDW-SD, hemoglobina, hematocrito y eritrocitos, fueron las principales responsables de la diferenciación del grupo Co respecto de los pacientes con

HAI. Los sujetos Co mostraron un perfil hematológico más homogéneo y compacto, mientras que los pacientes con HAI, especialmente aquellos sin tratamiento, exhibieron una mayor dispersión, posiblemente reflejando las alteraciones propias de la enfermedad. Por otro lado, las enzimas hepáticas AST, ALT y GGT, marcadores indirectos del estado funcional del hígado, se asociaron principalmente con la dimensión que permitió distinguir al grupo sin tratamiento inmunosupresor. Esto podría deberse a que, en estos pacientes, las transaminasas se mantienen elevadas por la actividad inflamatoria hepática activa, mientras que, en los pacientes tratados, la terapia inmunosupresora reduce sus niveles en sangre, independientemente del grado de daño hepático presente. En cuanto al grupo con tratamiento, se ubicó en una posición intermedia entre los individuos Co y los pacientes sin tratamiento, sin mostrar una separación

tan clara, lo que podría indicar un perfil clínico parcialmente modificado por la terapia, pero aún distinto del grupo Co.

Se ha documentado que niveles elevados de RDW se asocian con la severidad de varias enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide, así como con patologías hepáticas, entre ellas la HAI, la hepatitis B crónica y la cirrosis biliar primaria. Aunque los mecanismos que vinculan al RDW con la fibrosis hepática no se comprenden completamente, se ha propuesto que la inflamación crónica podría interferir en la maduración eritrocitaria, favoreciendo la liberación de eritrocitos inmaduros de mayor tamaño al torrente sanguíneo y elevando así los valores de RDW.¹²⁻¹⁵ En nuestro estudio, tanto el RDW-CV como el RDW-SD se encontraron significativamente aumentados en los grupos con HAI en comparación con los individuos Co, y ambos mostraron una elevada capacidad predictiva, incluso en pacientes bajo terapia inmunosupresora. Este hallazgo resulta relevante, dado que, aunque la literatura ya ha documentado su utilidad como predictor de fibrosis hepática, no se han encontrado trabajos que evalúen su comportamiento en pacientes con HAI tratados con inmunosupresores.^{16,17} En línea con esto, el estudio de Wang et al., identificó al RDW como un posible predictor, pero remarcó la necesidad de investigar su valor diagnóstico en pacientes en tratamiento.¹⁴

Asimismo, ese mismo grupo sugirió que los índices compuestos RPR y RSP podrían ser útiles para predecir fibrosis hepática avanzada.¹⁸ Nuestros resultados respaldan esta propuesta, ya que ambos biomarcadores presentaron un excelente desempeño diagnóstico. Aunque se observó una leve disminución en la sensibilidad y/o especificidad en los sujetos HAI_{C/TTO}, estos índices mantuvieron una muy buena capacidad predictiva, consolidándose como herramientas no invasivas prometedoras para el monitoreo de fibrosis. Estos parámetros tienen como numerador al RDW-CV o RDW-SD, variables ya mencionadas como buenos predictores individuales, lo que puede explicar su buen rendimiento. Además, comparten un componente clave en el denominador: el recuento plaquetario, que en nuestra cohorte fue significativamente menor en pacientes con HAI en comparación con los individuos Co, aunque dentro de rangos normales. Esta disminución podría reflejar la progresión de la enfermedad hacia etapas más avanzadas, como la cirrosis, condición que pueden provocar hipertensión portal e inducir hiperesplenismo, aumentando la destrucción

esplénica de plaquetas. A su vez, el daño hepático podría reducir la producción de trombopoyetina, hormona clave en la generación de plaquetas. La combinación de ambos mecanismos llevaría a una disminución del recuento plaquetario.¹⁸ Este parámetro también forma parte de los índices APRI y FIB-4, ampliamente validados como predictores no invasivos de fibrosis hepática.⁹ Nuestros resultados refuerzan su utilidad en la identificación de fibrosis avanzada en pacientes con HAI.

Otro índice compuesto evaluado en este trabajo fue el GGP, el cual destacó como un buen predictor de fibrosis hepática avanzada tanto en el grupo HAI_{S/TTO} como en HAI_{C/TTO}. Este resultado puede interpretarse mejor al considerar que el GGP incluye en su fórmula a la enzima hepática GGT, la cual, junto con AST y ALT, desempeña un papel clave como marcador bioquímico del daño hepático. El aumento de AST, ALT y GGT en la HAI, refleja la presencia de daño hepatocelular, lo cual explica que estas enzimas sean buenos predictores de fibrosis hepática avanzada en esta cohorte. Además, nuestros resultados indican que, a pesar del tratamiento inmunosupresor, que tiende a mejorar el cuadro clínico y disminuir los niveles de estas enzimas, éstas continúan siendo marcadores útiles para evaluar el daño hepático. Sin embargo, el índice AAR (relación AST/ALT), no mostró una capacidad diagnóstica destacada para la predicción de fibrosis hepática avanzada, tal como lo evidenció el análisis de las curvas ROC. En línea con nuestros resultados, Chen et al. también reportaron que, en hepatitis viral, el AAR carece de utilidad para este fin.¹⁷

En cuanto al índice NLR, presenta en su numerador el porcentaje de neutrófilos y en el denominador porcentaje de linfocitos. Nuestros resultados muestran que los valores de linfocitos, al igual que los de neutrófilos no presentan variabilidad significativa entre los grupos de estudio. Esta homogeneidad explica su limitada capacidad para discriminar entre grupos y, consecuentemente, su bajo rendimiento predictivo de fibrosis hepática avanzada en HAI. Aunque nuestro enfoque difiere del estudio de Liu et al. (2019), quienes al evaluar el índice NLR para diferenciar entre estadios tempranos (F0-1) y avanzados (F3-4) de fibrosis en pacientes con HAI sin tratamiento inmunosupresor, encontraron que este índice presentaba una escasa utilidad clínica como predictor.¹⁹ Esta concordancia sugiere que la limitación de este biomarcador se extiende a distintos contextos clínicos dentro de la HAI, ya sea vinculados al tratamiento o a diferentes estadios de fibrosis.

Por último, el índice RLR, aunque mostró un rendimiento aceptable según su área bajo la curva, presentó limitaciones importantes. En pacientes sin tratamiento, su baja especificidad podría conllevar una alta tasa de falsos positivos, mientras que, en aquellos bajo tratamiento, la baja sensibilidad indica una mayor probabilidad de falsos negativos. Por ello, a pesar de su desempeño moderado, RLR presenta limitaciones que restringen su utilidad como herramienta diagnóstica confiable en HAI.

CONCLUSIÓN

Este trabajo confirmó la utilidad de los índices APRI y FIB-4 ya utilizados en la práctica clínica, en esta cohorte en estudio de pacientes con HAI. Además, se encontró que los índices eritrocitarios RDW-CV y RDW-SD, las enzimas hepáticas ALT, AST, FAL y GGT, y los índices compuestos GGP, RPR y RSP presentaron un excelente rendimiento diagnóstico incluso en pacien-

tes bajo tratamiento inmunosupresor. Estos resultados sugieren su potencial aplicación como herramientas de monitoreo no invasivas a lo largo del curso de la enfermedad. Por el contrario, AAR y NLR mostraron una escasa capacidad predictiva en esta cohorte, mientras que RLR, si bien presentó un rendimiento moderado según el AUC, evidenció limitaciones en sensibilidad y especificidad. En conjunto, estos tres índices muestran una aplicabilidad limitada para el diagnóstico no invasivo de fibrosis hepática en el contexto de la HAI.

De este modo, el presente estudio establece un marco de referencia para futuras investigaciones con cohortes más amplias y en diversos estadios de fibrosis, dirigidas a validar y optimizar el uso de los índices con mayor capacidad discriminativa, incluso durante el tratamiento inmunosupresor. Su incorporación en la práctica clínica podría significar un avance relevante para el seguimiento no invasivo de pacientes con HAI.

BIBLIOGRAFÍA

- Muratori L, Lohse AW, Lenzi M. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *BMJ*.380:1-18,2023. doi:10.1136/bmj-2022-070201
- Reau NS, Lammert CS, Weinberg EM. Autoimmune hepatitis: Current and future therapies. *Hepatology Commun*.8(6):1-9,2024. doi:10.1097/hc9.0000000000000458
- Mieli-Vergani G, Vergani D, Czaja AJ, et al. Autoimmune hepatitis. *Nat Rev Dis Primers*.4:1-22,2018. doi:10.1038/nrdp.2018.17
- Woo Hahn J, Ran Yang H, Soo Moon J, et al. Global incidence and prevalence of autoimmune hepatitis, 1970-2022: a systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine*. 65:1-14, 2023. doi:10.1016/j.eclinm.2023.102280
- EASL Clinical Practice Guidelines: Autoimmune hepatitis q. 63:971-1004, 2015.
- Pellicano R, Ferro A, Cicerchia F, Mattivi S, Fagoonee S, Durazzo M. Autoimmune Hepatitis and Fibrosis. *J Clin Med*. 12(5):1-18, 2023. doi:10.3390/jcm12051979
- Mardini H, Record C. Detection assessment and monitoring of hepatic fibrosis: biochemistry or biopsy? *Ann Clin Biochem*.42:441-447, 2005.
- Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, et al. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 48(1):169-176, 2008. doi:10.1002/hep.22322
- Maroto-García J, Moreno-Álvarez A, Sanz De Pedro MP, Buño-Soto A, González Á. Biomarcadores séricos para la evaluación de la fibrosis hepática. *Advances in Laboratory Medicine*. 5:131-147, 2024. doi:10.1515/almed-2023-0172
- Sharma S, Khalili K, Nguyen GC. Non-invasive diagnosis of advanced fibrosis and cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 20(45):16820-16830, 2014. doi:10.3748/wjg.v20.i45.16820
- Cequera A, García de León Méndez MC. Biomarcadores para fibrosis hepática, avances, ventajas y desventajas. *Rev Gastroenterol Mex*. 79:187-199, 2014. doi:10.1016/j.rgmx.2014.05.003
- Mohamed OSD, Azmy GJ, Elfadl EMA. Clinical significance of red blood cell distribution width in systemic lupus erythematosus patients. *Egyptian Rheumatology and Rehabilitation*. 47:1-8, 2020. doi:10.1186/s43166-020-00037-y
- Al-Rawi ZS, Gorial FI, Al-Bayati AA. Red cell distribution width in rheumatoid arthritis. *Mediterr J Rheumatol*.29(1):38-42, 2018. doi:10.31138/mjr.29.1.38

14. Wang H, Wang J, Huang R, et al. Red blood cell distribution width for predicting significant liver inflammation in patients with autoimmune hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 31(12):1527-1532, 2019. doi:10.1097/MEG.0000000000001447
15. Wang H, Xu H, Qu L, et al. Red blood cell distribution width and globulin, noninvasive indicators of fibrosis and inflammation in chronic hepatitis patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 28(9):997-1002, 2016. doi:10.1097/MEG.0000000000000662
16. Li X, Xu H, Gao P. Red blood cell distribution width-to-platelet ratio and other laboratory Indices associated with severity of histological hepatic fibrosis in patients with autoimmune hepatitis: A retrospective study at a single center. *Medical Science Monitor.* 26:1-10, 2020. doi:10.12659/MSM.927946
17. Chen B, Ye B, Zhang J, Ying L, Chen Y. RDW to Platelet Ratio: A Novel Noninvasive Index for Predicting Hepatic Fibrosis and Cirrhosis in Chronic Hepatitis B. *PLoS One.* 8:1-8, 2013. doi:10.1371/journal.pone.0068780
18. Wang H, Wang J, Xia J, et al. Red cell distribution width to platelet ratio predicts liver fibrosis in patients with autoimmune hepatitis. *Medicine.* 99:1-6, 2020. doi:10.1097/MD.00000000000021408
19. Liu L, Cao J, Zhong Z, et al. Noninvasive indicators predict advanced liver fibrosis in autoimmune hepatitis patients. *J Clin Lab Anal.* 33(7):1-9, 2019. doi:10.1002/jcla.22922