

Silvia Espina Cadena

Efecto de la suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato sobre la composición corporal, el estado nutricional y clínico y los niveles de aminoácidos en la cirrosis hepática

Director/es

Arbonés Mainar, Jose Miguel
Fuentes Olmo, Javier

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>

© Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON β -
HIDROXI- β -METILBUTIRATO SOBRE LA
COMPOSICIÓN CORPORAL, EL ESTADO
NUTRICIONAL Y CLÍNICO Y LOS NIVELES DE
AMINOÁCIDOS EN LA CIRROSIS HEPÁTICA

Autor

Silvia Espina Cadena

Director/es

Arbonés Mainar, Jose Miguel
Fuentes Olmo, Javier

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA
Escuela de Doctorado

Programa de Doctorado en Medicina

2022



Facultad de Medicina
Universidad Zaragoza

TESIS DOCTORAL

**Efecto de la suplementación con
 β -hidroxi- β -metilbutirato sobre la composición
corporal, el estado nutricional y clínico y los
niveles de aminoácidos en la cirrosis hepática**

Silvia Espina Cadena

Director/es:

Jose Miguel Arbonés Mainar

Javier Fuentes Olmo

Zaragoza, 2022



Universidad
Zaragoza

Efecto de la suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato sobre la composición corporal, el estado nutricional y clínico y los niveles de aminoácidos en la cirrosis hepática

TESIS DOCTORAL

Departamento de Medicina, Psiquiatría y Dermatología

Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza.

2022

DOCTORANDO

Silvia Espina Cadena

Licenciada en Medicina y Cirugía, Universidad de Zaragoza

Especialista en Aparato Digestivo

DIRECTORES

Dr. Jose Miguel Arbonés Mainar

Investigador principal de AdipoFat (*Adipocyte and Fat Biology Laboratory*), Unidad de Investigación Traslacional del Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS), Zaragoza

Instituto de Investigación Sanitaria (IIS) Aragón, Zaragoza

Centro de Investigación Biomédica en Red Fisiopatología Obesidad y Nutrición (CIBERObn) Instituto Salud Carlos III, Madrid

Dr. Javier Fuentes Olmo

Jefe de Sección de Hepatología Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza

Profesor asociado de Medicina de la Universidad de Zaragoza

D. Jose Miguel Arbonés Mainar, investigador del Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS) de Zaragoza, España.

CERTIFICA:

Que la presente Tesis Doctoral, titulada “Efecto de la suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato sobre la composición corporal, el estado nutricional y clínico y los niveles de aminoácidos en la cirrosis hepática” ha sido realizada bajo su dirección por la Licenciada en Medicina y Cirugía **Dña Silvia Espina Cadena** como trabajo para optar al grado de Doctor.

Hallándose concluida y reuniendo las condiciones necesarias, autoriza su presentación a fin de que pueda ser defendida ante el tribunal correspondiente.

Para que conste a efectos oportunos, firmo el presente en Zaragoza a 19 de Abril de 2022.

Fdo: Dr. Jose Miguel Arbonés Mainar

D. Javier Fuentes Olmo, Doctor en Medicina y Cirugía, Profesor asociado de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza y Jefe de Sección de Hepatología del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza.

CERTIFICA:

Que la presente Tesis Doctoral, titulada “Efecto de la suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato sobre la composición corporal, el estado nutricional y clínico y los niveles de aminoácidos en la cirrosis hepática” ha sido realizada bajo su dirección por la Licenciada en Medicina y Cirugía **Dña Silvia Espina Cadena** como trabajo para optar al grado de Doctor.

Hallándose concluida y reuniendo las condiciones necesarias, autoriza su presentación a fin de que pueda ser defendida ante el tribunal correspondiente.

Para que conste a efectos oportunos, firmo el presente en Zaragoza a 19 de Abril de 2022.

Fdo: Dr. Javier Fuentes Olmo

Este trabajo ha sido posible gracias a la beca concedida por Refbio II, proyecto cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) a través del programa POCTEFA, así como al soporte material de Abbott, que realizó una reducción del coste de los suplementos orales.

AGRADECIMIENTOS

La realización de esta tesis doctoral ha sido un proceso de maduración personal y me ha enseñado lo que significa la palabra “constancia”. Cierro una bonita etapa en mi vida, y querría expresar mi agradecimiento:

A mi director el Dr. Jose Miguel Arbonés, por su supervisión, constante implicación y apoyo tanto laboral como emocional. Gracias por confiar en mí y ser el pilar fundamental de este trabajo.

A mi director el Dr. Javier Fuentes, por involucrarte en este proyecto y transmitirme tu interés por la Hepatología.

A las compañeras de ADIPOFAT, en especial a Mapi, por no dudar en enseñarme tu conocimiento en el laboratorio con infinita paciencia.

Al Dr. Alejandro Sanz, gracias por la supervisión y por prestarme el material necesario.

A las compañeras del departamento de Bioquímica, por su labor minuciosa y el compromiso con este trabajo.

A todos los colaboradores internacionales que han participado en este proyecto.

A mi compañera la Dra. Vanesa Bernal, por ser fuente de creatividad y sabiduría y por tu capacidad de liderazgo.

A mis padres, porque gracias a ellos he conseguido lograr mis objetivos, por enseñarme el significado de la palabra “esfuerzo”, y por estar ahí cada día.

A mi abuela Rosario, por enseñar a valerme; siempre estarás en mi corazón.

A Ana y Carlos, por apoyarme y confiar en mí.

A mi hermana Laura, por adentrarme en la investigación, por inspirarme con tu ingenio y por ser mi ejemplo a seguir.

A Sergio, por ser mi compañero de vida, mi apoyo esencial, por cuidarme y entenderme.

Por último y más importante, a mis pacientes, a quienes intenté tratar lo mejor que pude, y que gracias a ellos esta investigación ha sido posible.

ABREVIATURAS

AAA: aminoácidos aromáticos

AACR: aminoácidos de cadena ramificada

ACLF: Acute-on-Chronic Liver Failure

ACT: agua corporal total

ADH: hormona antidiurética

APO A1: apolipoproteína A1

APO B: apolipoproteína B

ARNm: ácido ribonucleico mensajero

ATP: adenosín trifosfato

BCKA: cetoácido de cadena ramificada

BCKDH: cetoácido de cadena ramificada deshidrogenasa

BIA: impedanciometría bioeléctrica

CBP: colangitis biliar primaria

CK: creatinquinasa

CONSORT: Consolidated Standards of Reporting Trials

CTX: Telopéptido C-terminal del colágeno tipo I

DE: desviación estándar

DRE: malnutrición relacionado con enfermedad

DXA: densitometría ósea

ECA: ensayo clínico aleatorizado

EHGNA: enfermedad de hígado graso no alcohólico

EHM: encefalopatía hepática mínima

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica

ESPEN: European Society for Clinical Nutrition and Metabolism

EWGSOP: European Working Group on Sarcopenia in Older People

FA: fosfatasa alcalina

GGT: gamma-glutamyl transferasa

GH: hormona de crecimiento

GLUT4: proteína transportadora de glucosa

GOT: glutámico oxalacético transaminasa

GPT: glutámico-pirúvica transaminasa

GS: glutamina sintetasa

GSK3: glucógeno sintasa cinasa 3

HCC: carcinoma hepatocelular o hepatocarcinoma

HDL: lipoproteína de alta densidad

HGF: factor de crecimiento de hepatocito

HMB: β -hidroxi- β -metilbutirato

IGF-1: factor de crecimiento insulínico tipo 1

IMC: índice de masa corporal

IMG: índice de masa grasa

IMLG: índice de masa libre de grasa

IMM: índice de masa muscular

INR: International normalized ratio

KIC: ácido α -ketoisocaproico

LDH: lactato deshidrogenasa

LDL: lipoproteína de baja densidad

LDUST: Liver Disease Undernutrition Screening Tool

LEC: líquido extracelular

LFI: Liver Frailty Index

LIC: líquido intracelular

LSN: límite superior de la normalidad

MCC: masa celular corporal

MCE: masa celular extracelular

MELD: Model for End stage Liver Disease

MF-BIA: bioimpedanciometría de frecuencia múltiple

MG: masa grasa

MLG: masa libre de grasa

MM: masa muscular

MMAE: masa magra apendicular esquelética

MNA: Mini Nutritional Assessment

mTOR: mammalian target of rapamycin

NF- κ B: Factor de transcripción nuclear kappa B

PBE: peritonitis bacteriana espontánea

PCR: proteína C reactiva

PICP: propéptido C terminal de Colágeno tipo I

PhA: ángulo de fase

PHES: Psychometric Hepatic Encephalopathy Score

R: resistencia

RAA: renina angiotensina aldosterona

RFH-GSA: Royal Free Hospital-Global Subjective Assessment

RFH-NPT: Royal Free Hospital-Nutritional Prioritizing Tool

SFB: suero fetal bovino

SF-BIA: bioimpedanciometría de frecuencia única

SPPB: Short Physical Performance Battery

TC: tomografía computarizada

TIPS: shunt portosistémico intrahepático transyugular

TGF: factor de crecimiento transformante

TNF: factor de necrosis tumoral

TOH: trasplante ortotópico hepático

TUG: Test get up and go

VLDL: lipoproteína de muy baja densidad

VSG: Valoración Subjetiva Global

Xc: reactancia

Z: impedancia

PUBLICACIONES A REVISTAS Y PÓSTERS/COMUNICACIONES A CONGRESOS DERIVADAS DE LA TESIS

PUBLICACIONES A REVISTAS

1. Espina S, Gonzalez-Irazabal Y, Sanz-Paris A, Lopez-Yus M, Garcia-Sobreviela MP, del Moral-Bergos R, et al. Amino Acid Profile in Malnourished Patients with Liver Cirrhosis and Its Modification with Oral Nutritional Supplements: Implications on Minimal Hepatic Encephalopathy. *Nutrients*. 2021;13(11):3764

PÓSTERS/COMUNICACIONES A CONGRESOS

1. Silvia Espina, Jose Miguel Arbonés-Mainar. *In vitro* effects of β -hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation on hyperammonemic myotubes. 14th French-Spanish CTPIOD Meeting. 27-28 de septiembre de 2017.

2. Silvia Espina Cadena, Maria Pilar García Sobreviela, Alejandro Sanz Paris, Vanesa Bernal Monterde, Javier Fuentes Olmo, Eva Fernández Bonilla, Jose Miguel Arbonés Mainar. Efecto in vitro de la suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) en miotubos cultivados con amonio. 43º Congreso anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado (AEEH). 21-23 de febrero de 2018.

3. Silvia Espina Cadena, Vanesa Bernal Monterde, Alejandro Sanz Paris, Beatriz García Rodríguez, Yolanda González Irazabal, Javier Fuentes Olmo, Eva Fernández Bonilla, Maria Pilar García Sobreviela, Jose Miguel Arbonés Mainar. Suplementación oral con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) en cirrosis hepática y malnutrición clínica: ensayo clínico aleatorizado. 46º Congreso anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado (AEEH). 14-15 de junio de 2021.

4. Silvia Espina Cadena, Vanesa Bernal Monterde, Yolanda González Irazabal, Beatriz García Rodríguez, Alejandro Sanz Paris, Javier Fuentes Olmo, Maria Pilar García Sobreviela, Jose Miguel Arbonés Mainar. Efecto en cirrosis hepática de la suplementación oral con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) en los niveles plasmáticos de

aminoácidos. 46º Congreso anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado (AEEH). 14-15 de junio de 2021.

5. Silvia Espina Cadena, Vanesa Bernal Monterde, Alejandro Sanz Paris, Beatriz García Rodríguez, Yolanda González Irazabal, Javier Fuentes Olmo, Eva Fernández Bonilla, Maria Pilar García Sobreviela, Jose Miguel Arbonés Mainar. Nutritional supplementation with β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) in malnourished cirrhotic patients. The International Liver Congress (ILC) 2021. 23-26 de junio de 2021.

6. Silvia Espina Cadena, Vanesa Bernal Monterde, Yolanda González Irazabal, Beatriz García Rodríguez, Alejandro Sanz Paris, Javier Fuentes Olmo, Maria Pilar García Sobreviela, Jose Miguel Arbonés Mainar. Effect of β -Hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) supplementation on plasma amino acid levels in liver cirrhosis. UEG Week 2021. 3-5 de octubre 2021.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. CIRROSIS HEPÁTICA. DEFINICIÓN E HISTORIA NATURAL..	3
1.2. EPIDEMIOLOGÍA Y PRONÓSTICO DE LA CIRROSIS HEPÁTICA	5
1.3. CIRROSIS HEPÁTICA DESCOMPENSADA	7
1.3.1. Fisiopatología	7
1.3.2. Principales manifestaciones	8
1.3.3. Diagnóstico de la descompensación hepática	8
1.3.4. Manejo de la cirrosis hepática descompensada	9
1.4. TRASTORNOS RELACIONADOS CON LA NUTRICIÓN.....	11
1.4.1. Definiciones	11
1.4.1.1. Malnutrición	11
1.4.1.2. Sarcopenia	12
1.4.2. Evaluación nutricional	12
1.4.2.1. Bioimpedanciometría (BIA).....	15
1.4.2.2. Otros métodos antropométricos.....	19
1.4.2.3. Fuerza de agarre.....	20
1.5. CIRROSIS HEPÁTICA Y NUTRICIÓN	22
1.5.1. Malnutrición y sarcopenia en la cirrosis hepática. Definición.....	22
1.5.2. Impacto clínico de la malnutrición y sarcopenia en la cirrosis hepática.....	22
1.5.3. Fisiopatología de la malnutrición.....	23
1.5.4. Fisiopatología de la sarcopenia	25
1.5.4.1. Alteraciones metabólicas	25

1.5.4.2. Eje hígado-músculo	25
1.5.5. Valoración nutricional en la cirrosis hepática.....	28
1.5.6. Tratamiento nutricional en la cirrosis hepática	31
1.5.6.1. Recomendaciones nutricionales generales	31
1.5.6.2. Recomendaciones en la cirrosis hepática con sarcopenia	32
1.5.7. Beneficios clínicos de la terapia nutricional	34
1.6. β -HIDROXI- β -METILBUTIRATO (HMB).....	36
1.6.1. Metabolismo del HMB.....	36
1.6.2. Efectos del HMB	38
1.6.2.1. Efectos sobre el metabolismo de la leucina.....	38
1.6.2.2. Efectos del HMB en el músculo esquelético	38
1.6.2.3. Efectos del HMB en parámetros de inflamación y cardiovasculares	39
1.6.3. Suplementación con HMB	40
1.6.3.1. Suplementación oral con HMB en deportistas	40
1.6.3.2. Suplementación oral con HMB en ancianos.....	41
1.6.3.3. Suplementación oral con HMB en pacientes con caquexia.....	42
1.6.3.4. Suplementación oral con HMB en pacientes con cirrosis hepática.....	43
1.6.3.5. Suplementación oral con HMB en individuos sanos.....	43
1.6.3.6. Suplementación oral con HMB asociado a nutrientes hipercalóricos	44
1.7. ENSAYO CLÍNICO	44
2. HIPÓTESIS	47
3. OBJETIVOS	51

4. MATERIAL Y MÉTODOS	55
4.1. ESTUDIO DE FARMACOCINÉTICA CON HMB	57
4.2. ENSAYO CLÍNICO	57
4.2.1. Consideraciones éticas del estudio.....	57
4.2.2. Diseño del ensayo.....	58
4.2.3. Criterios de inclusión	58
4.2.4. Criterios de exclusión.....	58
4.2.5. Selección de sujetos	59
4.2.6. Intervención y grupo control.....	59
4.2.7. Aleatorización y enmascaramiento	60
4.2.8. Tamaño de la muestra y potencia estadística.....	61
4.2.9. Variables del estudio	61
4.2.9.1. Determinación de variables clínicas	61
4.2.9.2. Determinación de variables analíticas	63
4.2.9.3. Determinación de variables antropométricas	64
4.2.10. Determinación de HMB y aminoácidos.....	64
4.2.11. Análisis de los datos.....	65
4.2.12. Protocolo del estudio.....	66
4.3. ESTUDIO DE SEGUIMIENTO LONGITUDINAL.....	67
4.3.1. Diseño del estudio longitudinal.....	67
4.3.2. Variables del estudio longitudinal.....	67
4.3.2.1. Escalas pronósticas y de supervivencia.....	67
4.3.2.2. Variables clínicas.....	68

4.3.2.3. Variables analíticas.....	68
4.3.3. Análisis de los datos.....	68
4.4. ESTUDIO IN VITRO.....	69
5. RESULTADOS.....	71
5.1. ESTUDIO DE FARMACOCINÉTICA DEL HMB.....	73
5.2. ENSAYO CLÍNICO.....	73
5.2.1. Diagrama de flujo.....	73
5.2.2. Características basales de la población.....	75
5.2.2.1. Datos clínico-demográficos basales.....	75
5.2.2.2. Datos analíticos basales.....	77
5.2.2.3. Datos de composición corporal y fuerza de agarre basales.....	81
5.2.3. Resultados finales del ensayo clínico.....	83
5.2.3.1. Análisis de resultados analíticos.....	83
5.2.3.2. Análisis de resultados de antropometría y fuerza de agarre.....	91
5.2.3.3. Análisis de resultados de bioimpedanciometría.....	92
5.2.3.4. Análisis de resultados clínicos.....	94
5.2.3.5. Análisis de aminoácidos.....	98
5.2.3.6. Análisis de pacientes perdidos.....	102
5.3. ESTUDIO DE SEGUIMIENTO.....	104
5.3.1. Análisis de supervivencia.....	104
5.3.2. Variables clínicas.....	104
5.3.3. Escalas pronósticas.....	106
5.3.4. Variables analíticas.....	106

5.4. ESTUDIO IN VITRO	108
6. DISCUSIÓN.....	113
6.1. ESTUDIO DE FARMACOCINÉTICA DEL HMB.....	115
6.2. ENSAYO CLÍNICO	115
6.2.1 Características basales.....	115
6.2.1.1. Características clínico-demográficas basales	115
6.2.1.2. Características analíticas basales	117
6.2.1.3. Características antropométricas y fuerza de agarre basales.....	120
6.2.2. Resultados finales del ensayo clínico.....	122
6.2.2.1. Efectos a nivel analítico.....	123
6.2.2.2. Efectos en la composición corporal y fuerza de agarre	126
6.2.2.3. Efectos a nivel clínico.....	129
6.2.3. Aminoácidos plasmáticos.....	130
6.2.4. Pacientes perdidos	132
6.3. ESTUDIO DE SEGUIMIENTO.....	133
6.4. ESTUDIO IN VITRO	134
7. CONCLUSIONES.....	137
8. ÍNDICE DE FIGURAS.....	141
9. ÍNDICE DE TABLAS.....	145
10. ANEXOS	149
11. BIBLIOGRAFÍA.....	173

1. INTRODUCCIÓN

«Muchos de nuestros sueños al principio parecen imposibles, luego parecen improbables y entonces, cuando convocamos la voluntad, se hacen inevitables»
(Christopher Reeve).

1.1. CIRROSIS HEPÁTICA. DEFINICIÓN E HISTORIA NATURAL

La cirrosis hepática es una condición caracterizada por el desarrollo histológico de nódulos de regeneración rodeados de septos fibrosos en respuesta a un daño hepático crónico (1). Los diferentes mecanismos que producen daño hepático provocan necroinflamación, fibrogénesis, angiogénesis y regeneración, ocasionando extinción del parénquima y colapso de estructuras hepáticas. Como consecuencia, se produce una distorsión pronunciada de la arquitectura vascular que aumenta la resistencia al flujo portal produciendo hipertensión portal y disfunción hepática (2).

La presión portal se incrementa a medida que la enfermedad progresa; se denomina “hipertensión portal” cuando el gradiente de presión entre la vena porta y la vena cava inferior es igual o superior a 6mmHg, y es “clínicamente significativa” cuando ésta es igual o superior de 10mmHg. Cuando la presión portal es igual o superior a 12mmHg existe riesgo de descompensación (hemorragia por varices, ascitis, encefalopatía hepática...) y cuando supera los 16mmHg las complicaciones son recurrentes (3, 4). La historia natural de la cirrosis hepática está caracterizada por una fase asintomática, denominada “compensada”, seguida de una rápida y progresiva fase marcada por las complicaciones derivadas de la hipertensión portal y/o la disfunción hepática, denominada “descompensada”.

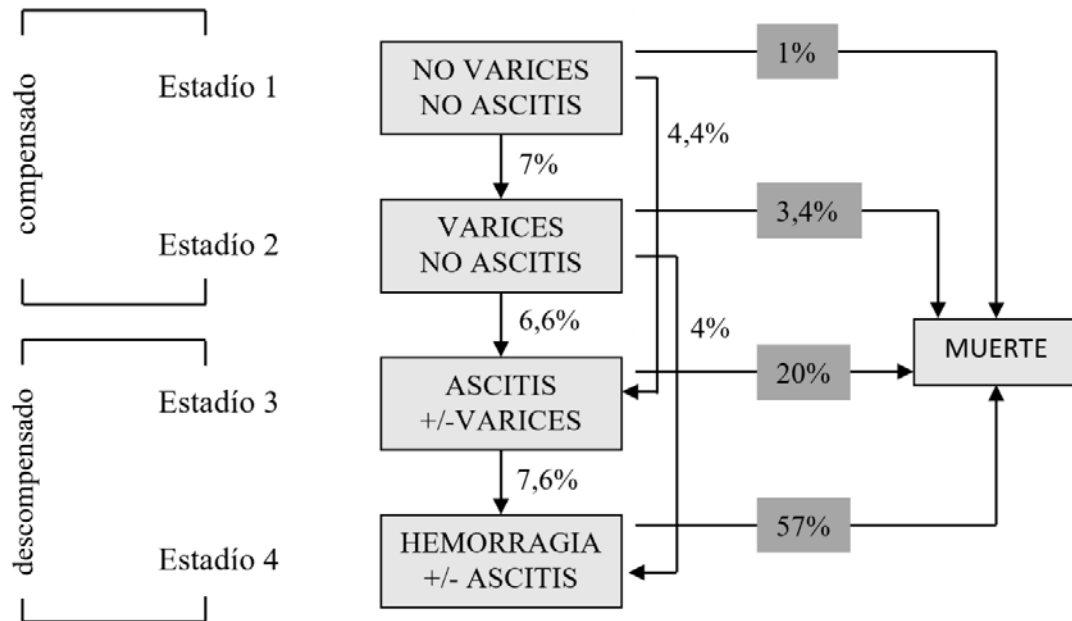
A medida que la enfermedad avanza, además de incrementarse la presión portal, la función hepática se deteriora, resultando en el desarrollo de ascitis, hemorragia por varices, encefalopatía hepática o ictericia. Cualquiera de estas complicaciones marca la transición de la fase compensada a descompensada. Además, esta progresión puede estar acelerada por el desarrollo de otras complicaciones como resangrado, insuficiencia renal, infecciones o hepatocarcinoma (HCC), entre otras (4).

En la conferencia de consenso de Baveno IV (2005) se estableció una nueva clasificación de la historia natural de la cirrosis hepática en 4 estadios (5), cada uno con distintas características clínicas y diferente pronóstico (Figura 1). El estadio 1 y 2 pertenecen a la cirrosis compensada y el estadio 3 y 4 a la cirrosis descompensada.

- Estadio 1: está caracterizado por la ausencia de varices y de ascitis
- Estadio 2: está caracterizado por la presencia de varices esofágicas sin ascitis y sin hemorragia

- Estadío 3: está caracterizado por la ascitis con o sin varices esofágicas, pero sin hemorragia
- Estadío 4: está caracterizado por la hemorragia variceal con o sin ascitis

Figura 1. Historia natural de la cirrosis hepática según Baveno IV: probabilidad anual



Fuente: adaptado de D'Amico, G et al. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol* 2006. (6)

1.2. EPIDEMIOLOGÍA Y PRONÓSTICO DE LA CIRROSIS HEPÁTICA

Basado en los datos de *Global Burden of Disease* (GBD) de 2017, la cirrosis hepática constituyó el 2,4% de muertes globalmente comparado con el 1,9% en 1997; sin embargo, a pesar del aumento en el número total de muertes, ha disminuido la tasa de mortalidad estandarizada por edad del 21,0 en 1997 al 16,5 en 2017 (por cada 100.000 habitantes) (7). La prevalencia global es desconocida, aunque en España se estima entre el 1 y el 2% de la población, siendo más frecuente en varones con más de 50 años (8). Además de la mortalidad, la cirrosis hepática es una causa importante de morbilidad, pues provoca respecto a la población general una disminución de la calidad de vida, una mayor prevalencia de desempleo (55% vs 30%) y un mayor gasto sanitario (9).

Las causas de cirrosis varían: en países occidentales industrializados el alcohol y la esteatohepatitis no alcohólica se sitúan por delante de las hepatitis virales, mientras que en China y otros países asiáticos la hepatitis B continúa como la principal causa (10).

La media de supervivencia para los pacientes con cirrosis hepática en fase compensada es de 12 años, mientras que aquellos que están en fase descompensada la supervivencia se reduce a 2 años. El riesgo de transición de cirrosis compensada a descompensada es de 5-7% por año (6).

En la cirrosis hepática se usan fundamentalmente 2 escalas (scores) para evaluar el pronóstico y el estado funcional del paciente. La primera en aparecer fue la clasificación de Child-Pugh, propuesta para predecir el riesgo quirúrgico de pacientes sometidos a la ya obsoleta cirugía mediante shunt portosistémico en la hemorragia por varices esofágicas. La primera versión incluía entre sus parámetros la presencia de ascitis, encefalopatía hepática, el estado nutricional, la bilirrubina total y la albúmina, pero posteriormente se modificó añadiendo el tiempo de protrombina o el INR (del inglés *International Normalized Ratio*) y quitando el estado nutricional. La clasificación de Child-Pugh es ampliamente utilizada para evaluar la severidad de la disfunción hepática, y se gradúa según su puntuación en 3 clases: clase A (5-6 puntos), clase B (7-9 puntos) y clase C (10-15 puntos) (Tabla 1) (11).

Tabla 1. Clasificación de Child-Pugh

	1 punto	2 puntos	3 puntos
Ascitis	Ausente	Leve	Moderada
Bilirrubina (mg/dl)	<2	2-3	>3
Albúmina (g/dl)	>3,5	2,8-3,5	<2,8
INR	<1,7	1,7-2,3	>2,3
Encefalopatía	No	Grado 1-2	Grado 3-4

INR: *International Normalized Ratio*

La escala MELD (Model for End-stage Liver Disease) fue inicialmente creada para predecir la supervivencia de pacientes que se iban a someter a un shunt portosistémico intrahepático transyugular (TIPS). En la primera versión se incluía la etiología de la cirrosis, pero la versión presente incorpora 3 variables objetivas, incluyendo la bilirrubina, la creatinina y el INR. La fórmula matemática para calcularlo es: $9,57 \text{ Ln(creatinina)} + 3,78 \text{ Ln(bilirrubina)} + 11,2 \text{ Ln(INR)} + 6,43$. Actualmente se utiliza como escala de prioridad para los candidatos a trasplante ortotópico hepático (TOH) (12) y estima la probabilidad de mortalidad a 3 meses. Así, un MELD 10-19 tiene una probabilidad de mortalidad a los 3 meses del 6% y un MELD de 20 a 29 del 19,6%. Por otra parte, se ha demostrado que la probabilidad de descompensación hepática es mayor si el MELD es superior a 10 o si la albúmina es inferior a 4mg/dl.

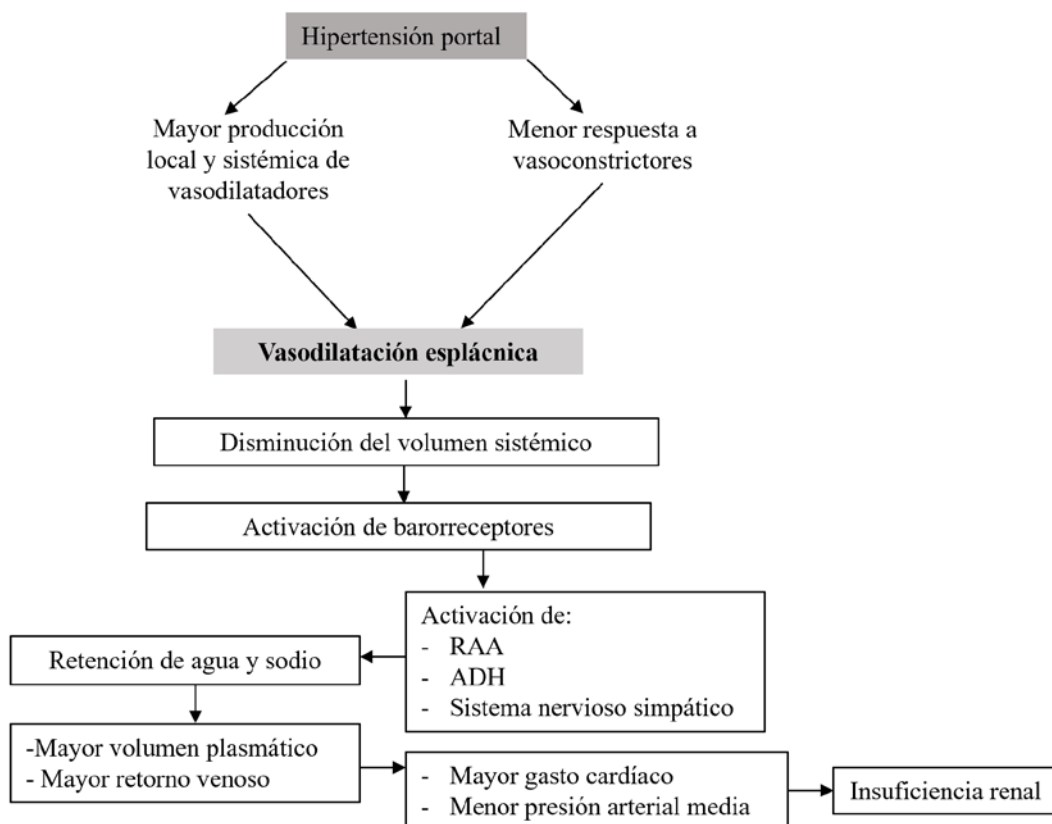
Las escalas Child-Pugh y MELD score se usan ampliamente para predecir el pronóstico de los pacientes con cirrosis hepática, pero debido a que no son totalmente precisas, muchas veces se usan conjuntamente (12).

1.3. CIRROSIS HEPÁTICA DESCOMPENSADA

1.3.1. FISIOPATOLOGÍA

Las manifestaciones clínicas de la cirrosis hepática descompensada son mayoritariamente consecuencia de la circulación hiperdinámica. Ésta es secundaria a la vasodilatación arterial periférica, que ocurre mayoritariamente en el área esplácnica, produciendo un aumento del gasto cardíaco y una disminución de la volemia efectiva. En última instancia se produce una hipoperfusión periférica de los órganos, siendo el riñón el más afectado (13). La hipovolemia arterial efectiva conduce a una activación de los sistemas vasoconstrictores, como el renina-angiotensina-aldosterona (RAA) o el sistema nervioso simpático, y a la activación de mecanismos de retención de agua y sodio, como el sistema de arginina-vasopresina (14) (Figura 2).

Figura 2. Fisiopatología de la circulación hiperdinámica



Fuente: adaptado de Colle, I et al. Hemodynamic changes in splanchnic blood vessels in portal hypertension. *Anat Rec (Hoboken)* 2008. (13)

RAA: Renina-Angiotensina-Aldosterona. ADH: hormona antidiurética.

1.3.2. PRINCIPALES MANIFESTACIONES

La ascitis es el acúmulo de líquido secundario a la hipertensión portal y es la manifestación más frecuente de la descompensación de la cirrosis hepática; cuando no hay respuesta al tratamiento con diuréticos se denomina “ascitis refractaria”. El sangrado por varices gastro-esofágicas se produce por la rotura de la pared de la variz por una excesiva tensión de la misma, secundaria a la hipertensión portal. La encefalopatía hepática se manifiesta en fases más avanzadas y se produce por una disfunción celular hepática y/o shunts porto-sistémicos que conducen a un exceso de toxinas que cruzan la barrera hematoencefálica, entre ellas el amonio y la glutamina. Por último, secundario a la circulación hiperdinámica, se produce insuficiencia renal e hiponatremia (15).

En general, los eventos de descompensación están desencadenados por factores precipitantes como las infecciones, la trombosis de la vena porta, la cirugía o el hepatocarcinoma (4). El factor precipitante más frecuente es la infección, puesto que en la cirrosis hepática existe un estado de inmunodepresión. Las infecciones más frecuentes son la peritonitis bacteriana espontánea (PBE), las infecciones del tracto urinario, la neumonía y la celulitis (15).

1.3.3. DIAGNÓSTICO DE LA DESCOMPENSACIÓN HEPÁTICA

La ascitis se define como más de 25ml de líquido en la cavidad abdominal, y se gradúa en tres estadios: grado I (ascitis ecográfica), grado II (ascitis moderada) y grado III (ascitis de gran volumen). El diagnóstico en el grado II y III es clínico, y la paracentesis permite descartar una complicación infecciosa. El sangrado por varices gastro-esofágicas se diagnostica mediante gastroscopia, evidenciando cordones varicosos en el esófago y/o estómago (16).

Sin embargo, el diagnóstico de la encefalopatía hepática requiere de escalas clínicas para su graduación; de ellas, la de West-Haven ha sido utilizada de forma generalizada. Dado que las manifestaciones clínicas son progresivas, formando un espectro continuo, a veces es difícil diferenciar los estadios. Actualmente la encefalopatía hepática se divide en 2 subcategorías:

1. La encefalopatía hepática no manifiesta, que comprende la encefalopatía hepática mínima (EHM) y la grado I.
2. La encefalopatía hepática clínicamente manifiesta, que agrupa el grado II o superior de la West-Haven (17).

La EHM constituye el estadio subclínico previo al desarrollo de encefalopatía hepática clínica, y requiere de métodos neuropsicológicos y/o neurofisiológicos para su detección. Entre las pruebas neuropsicológicas más utilizadas destaca una batería de test psicométricos denominada PHES (del inglés, *Psychometric Hepatic Encephalopathy Score*), validado en nuestro país, que agrupa cinco ejercicios que valoran fundamentalmente la habilidad motora fina, la atención y la rapidez del procesamiento de información. Entre las ventajas está que es fácil de realizar por personal entrenado, no requiere mucho tiempo ni medios adicionales y tiene una gran sensibilidad; entre los inconvenientes está que el rendimiento se ve influido por la edad, el nivel de estudios y la variación geográfica (18).

1.3.4. MANEJO DE LA CIRROSIS HEPÁTICA DESCOMPENSADA

El manejo de la cirrosis hepática descompensada debería estar basado en la prevención de la progresión y en el tratamiento de los eventos de descompensación.

La prevención de la progresión debería ser dirigida desde dos abordajes. El primero es la supresión del factor etiológico, mientras que el segundo está basado en dianas patogénicas de la descompensación y la progresión de la cirrosis. En primer lugar, suprimir el factor etiológico es una medida efectiva en prevenir la descompensación de pacientes compensados, pero en los descompensados el efecto es menor y la “recompensación” de la cirrosis hepática se consigue solo en una parte de los pacientes. En cuanto a las estrategias basadas en dianas patogénicas se incluyen: 1) anomalías de la microbiota y traslocación bacteriana, mejorando el eje intestino-hígado, a través de la administración de antibioterapia general o de acción intestinal como la rifaximina 2) mejorando la función circulatoria a través de la administración crónica de albúmina, en actual estudio mediante ensayos clínicos, 3) tratando el estado inflamatorio, como el uso de pentoxifilina o estatinas, en estudio mediante ensayos clínicos, 4) mejorando la

hipertensión portal, a través del tratamiento con beta-bloqueantes, y en estudio otras estrategias como el uso de estatinas o anticoagulantes como enoxaparina (19).

Dentro del manejo de los eventos de descompensación se debe valorar si el paciente es candidato a trasplante hepático.

El tratamiento de los principales eventos de descompensación se puede resumir en:

- Ascitis: restricción de sodio + diuréticos +/- paracentesis evacuadoras +/- TIPS.
- Sangrado por varices gastro-esofágicas: tratamiento endoscópico + vasoconstrictores +/- TIPS.
- Encefalopatía hepática: laxantes disacáridos no absorbibles +/- rifaximina (2).

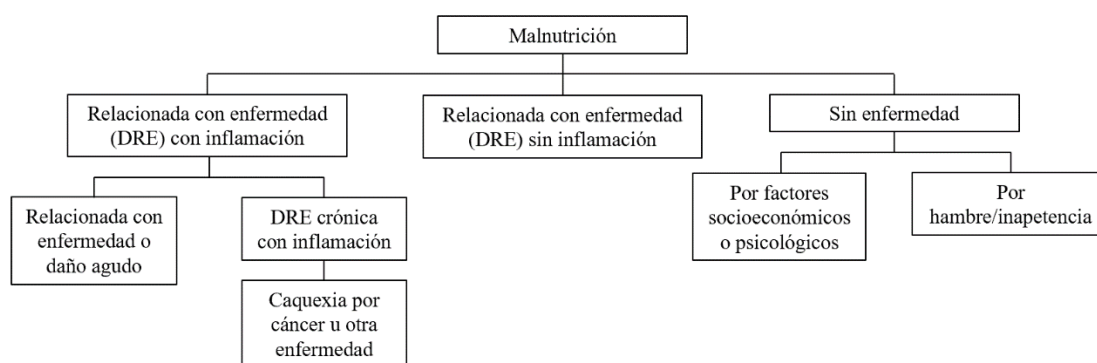
1.4. TRASTORNOS RELACIONADOS CON LA NUTRICIÓN

1.4.1. DEFINICIONES

1.4.1.1. Malnutrición

La malnutrición ha sido definida por la Sociedad Europea de Nutrición Clínica y Metabolismo (ESPEN) como un estado resultante de la falta de ingesta o captación de nutrientes que conduce a una composición y masa celular corporal alterada, provocando una función física y mental disminuida (20), y considera al término “desnutrición” como sinónimo de “malnutrición”. Según los criterios GLIM, para el diagnóstico de malnutrición es necesario 1 criterio fenotípico (pérdida de peso no voluntaria, índice de masa corporal bajo, masa muscular reducida) y 1 criterio etiológico (ingesta reducida, inflamación o enfermedad) (21). Los criterios diagnósticos de malnutrición para la Sociedad Americana de Nutrición Enteral y Parenteral (ASPEN) son dos o más de los siguientes: ingesta disminuida, pérdida de peso, pérdida de masa muscular, pérdida de grasa subcutánea, acumulación de líquidos y/o pérdida de fuerza muscular (22). La malnutrición se divide en tipos según la etiología, según se asocie o no a enfermedad, y según la enfermedad se asocie o no a inflamación (Figura 3).

Figura 3. Clasificación de la malnutrición según la etiología



Fuente: adaptado de Cederholm, T et al. ESPEN guidelines on definitions and terminology of clinical nutrition. *Clin Nutr* 2017. (20)

La malnutrición relacionada con enfermedad (DRE) con inflamación es una condición catabólica provocada por la enfermedad subyacente a través de mecanismos de respuesta inflamatoria (23). Se subdivide en aguda y crónica. La asociada a un proceso agudo se debe al estrés metabólico que se ocasiona, secundaria a las citoquinas proinflamatorias, a la liberación de corticoides y catecolaminas, a la resistencia a la insulina, al encamamiento y a la ingesta disminuida. La asociada a un proceso crónico se conoce como “caquexia”, típica de enfermedades como el cáncer, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), la hepatopatía crónica, las enfermedades inflamatorias intestinales, y otras enfermedades crónicas (20). La DRE sin inflamación se define clínicamente como la entidad previa, pero está desencadenada por otros mecanismos de la enfermedad, como disfagia, disfunción cognitiva, trastornos neurológicos, psiquiátricos (anorexia nerviosa o depresión) o malabsortivos, en los que no existe como desencadenante la inflamación asociada a la enfermedad. En esta entidad se incluye a la malnutrición asociada a la edad (24). La malnutrición sin enfermedad se debe a la deprivación de comida, habitualmente en países en desarrollo, o a factores socioeconómicos o psicológicos que causan disminución de la ingesta o mala calidad de la misma, como en condiciones de autoabandono, mala dentición, pobreza, etc (20).

1.4.1.2. Sarcopenia

La sarcopenia es un síndrome caracterizado por una pérdida generalizada de masa, fuerza y función muscular, aunque los criterios diagnósticos no están firmemente establecidos (20). Se denomina primaria cuando es un proceso relacionado con la edad y precede a la fragilidad, y secundaria cuando es el resultado de mecanismos patogénicos: por enfermedad, por actividad (por ejemplo, desuso) o por nutrición (por ejemplo, deficiencia proteínica).

1.4.2. EVALUACIÓN NUTRICIONAL

La evaluación nutricional debería realizarse en todos los individuos que están en riesgo de malnutrición o sarcopenia. El screening de malnutrición se realiza mediante cuestionarios clínicos, principalmente el de “Valoración Subjetiva Global” (VSG) o el

“Mini Nutritional Assessment” (MNA). El screening de sarcopenia se realiza mediante el cuestionario clínico denominado SARC-F (25).

La evaluación del estado nutricional comprende información del peso corporal, la talla corporal, el índice de masa corporal (IMC), los índices bioquímicos, la función muscular y la composición corporal. Además, se debe recabar información sobre la existencia de enfermedades subyacentes o eventos agudos, antecedentes psicosociales y otras condiciones que limiten la ingesta. Se deberá recoger también información sobre los alimentos ingeridos a través de encuestas dietéticas. Hay modelos normalizados como el registro de tres días, el recuerdo de 24 horas o la historia dietética (26).

Los índices bioquímicos, en general, no son buenos indicadores del estatus nutricional de un paciente y se ven condicionados por la actividad inflamatoria, por lo que su validez en estas condiciones es baja. Sin embargo, se usan principalmente para la monitorización durante una terapia nutricional y para indicar la actividad catabólica. Así, teniendo en cuenta la vida media ($t_{1/2}$) de cada proteína, los niveles de albúmina plasmática ($t_{1/2}$ de 21 días) y de transtiretina (prealbúmina) ($t_{1/2}$ de 3 días) monitorizan los efectos de la terapia nutricional a largo y corto plazo respectivamente (27). Las concentraciones séricas de proteína C reactiva se utilizan para monitorizar la actividad inflamatoria. Los niveles $<200\text{mg/dl}$ de transferrina pueden reflejar daño hepático, aumento del catabolismo proteico o disminución del anabolismo proteico, mientras que unos niveles aumentados reflejan deficiencia férrica. Además, niveles adecuados de osteocalcina, una proteína sintetizada por los osteoblastos, aumentan la sensibilidad a la insulina del músculo y del tejido adiposo (28).

La medición de la composición corporal y, por tanto, la evaluación de sarcopenia se engloba dentro del examen físico. Se dispone principalmente de la bioimpedanciometría (BIA), la densitometría ósea (DXA), la tomografía computarizada (TC) y la antropometría.

La función muscular se estudia mediante la prueba de la fuerza de agarre (“*hand grip strength*”) y mediante diversos test (entre paréntesis está el punto de corte para sarcopenia): el test de levántate y anda “get-up-and-go” (TUG) (≥ 20 segundos), el test de sentarse y levantarse de una silla “chair stand test” (>15 segundos para 5 levantamientos), el test de velocidad de la marcha ($\leq 0,8\text{m/s}$), caminar 400 metros (≥ 6

minutos o no completado), y con el test “Short Physical Performance Battery” (SPPB o test de Guralnik) (≤ 8 puntos) (29).

La determinación de la excreción urinaria de creatinina es una medida directamente relacionada con la masa muscular total (30), pero requiere un control estricto de la dieta realizada y los resultados objetivos presentan una gran variabilidad en un mismo individuo; además, no es un buen parámetro de nutrición en el caso concreto de la cirrosis hepática debido al frecuente deterioro de la función renal presente en estos individuos.

La Tabla 2 resume los principales métodos para evaluar la composición corporal y los puntos de corte de la sarcopenia.

Tabla 2. Métodos de evaluación de la sarcopenia

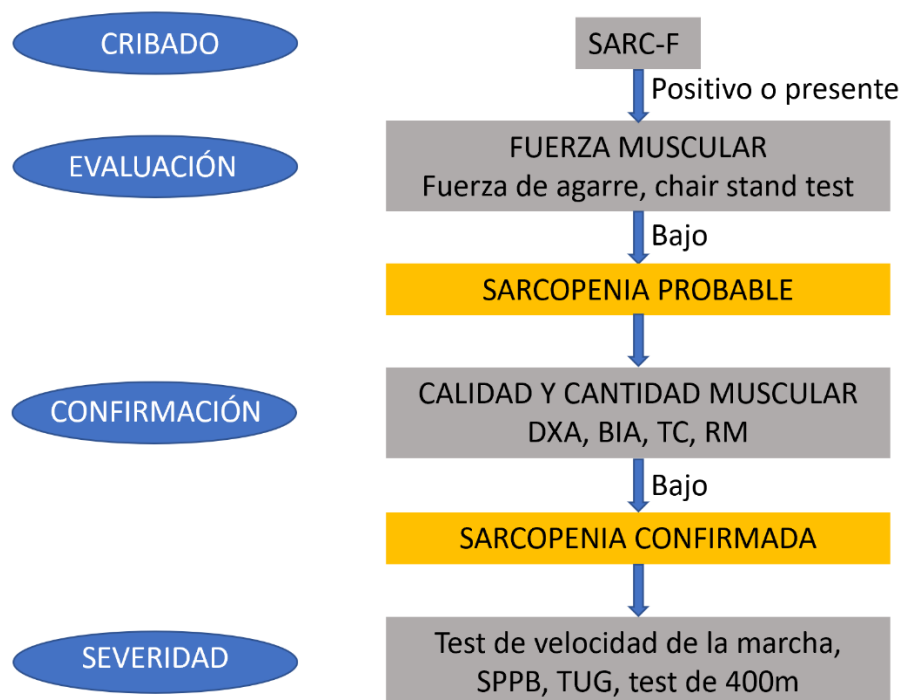
SARCOPENIA	
Evaluación masa muscular (MM)	Evaluación fuerza muscular
TC (Índice musculoesquelético L3): $\leq 38,5 \text{ cm}^2/\text{m}^2$ (mujeres)/ $\leq 52,4 \text{ cm}^2/\text{m}^2$ (hombres)	Fuerza de agarre (dominante): $\leq 16\text{Kg}$ (mujeres)/ $\leq 27\text{Kg}$ (hombres)
DXA: MMAE $< 15\text{Kg}$ (mujeres)/ 20Kg (hombres) IMM: $< 5,5\text{Kg}/\text{m}^2$ (mujeres)/ $< 7 \text{ Kg}/\text{m}^2$ (hombres)	Test de sarcopenia: TUG, chair stand test, velocidad de la marcha, SPPB, etc
BIA: MMAE $< 15\text{Kg}$ (mujeres)/ 20Kg (hombres) IMM: $< 5,5\text{Kg}/\text{m}^2$ (mujeres)/ $< 7 \text{ Kg}/\text{m}^2$ (hombres) PhA $< 5^\circ$	
Antropometría manual: Circunferencia muscular braquial: $< 19,2\text{cm}$ (mujeres)/ $< 21,1\text{cm}$ (hombres) Circunferencia pantorrilla $< 31\text{cm}$	

Fuente: elaboración propia

TC: tomografía computarizada, L3: lumbar 3, DXA: densitometría ósea, BIA: bioimpedanciometría, MMAE: masa muscular apendicular esquelética, IMM: índice de masa muscular, PhA: ángulo de fase, TUG: test get-up-and-go, SPPB: Short Physical Performance Battery.

La ESPEN estableció unos criterios para la evaluación, confirmación y severidad de la sarcopenia (Figura 4).

Figura 4. Definición y diagnóstico de la sarcopenia



Fuente: adaptado de Cruz-Jentoft, A. J. et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age and ageing. Age Ageing* 2019. (31)

DXA: densitometría ósea, BIA: bioimpedanciometría, TC: tomografía computarizada, RM: resonancia magnética, SPPB: Short Physical Performance Battery, TUG: test get-up-and-go.

Se desarrollan a continuación los principales métodos de medición de la composición corporal y de evaluación de la fuerza muscular.

1.4.2.1. Bioimpedanciometría (BIA)

El cuerpo humano es un volumen que está compuesto de masa grasa (MG), que está considerada como no conductora de la corriente eléctrica, y de masa libre de grasa (MLG), que conduce la corriente eléctrica debido a la conductividad de los electrolitos

disueltos en el agua corporal. La MLG es heterogénea y metabólicamente activa, y está compuesta de proteínas, agua y minerales. El agua corporal total (ACT) es el mayor componente de la MLG y en individuos normales es del 73,2%. A su vez, el ACT se divide en el líquido extracelular (LEC) (40% del ACT), compuesto por plasma y fluido intersticial, y líquido intracelular (LIC) (60% del ACT), compuesto por el localizado dentro de las células. La masa celular corporal (MCC) también se engloba dentro de la MLG. El porcentaje de masa grasa (%MG) se determina a partir de la MLG y el peso corporal (32).

Masa corporal total: $MG + MLG$

Agua corporal total: $MLG \times 0,73$

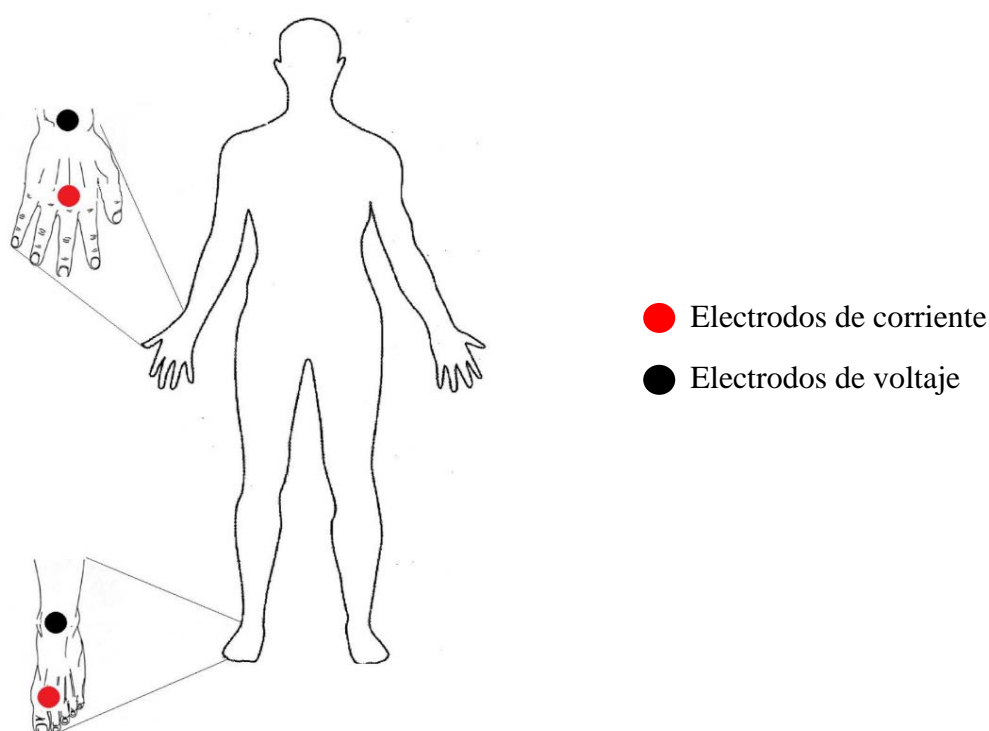
El objetivo de los métodos antropométricos es estimar la MG y la MLG. En la población general existen oscilaciones de su rango medio según la edad y el sexo, y se han desarrollado diversas ecuaciones para su cálculo (33).

La BIA es un método rápido no invasivo y de bajo coste que sirve para estimar la composición corporal en individuos dentro de un rango de IMC (16-34Kg/m²). La BIA es útil para determinar el estado nutricional de un individuo y para cuantificar el estado de hidratación. La BIA evalúa indirectamente la composición corporal de acuerdo con la resistencia (R) y reactancia (Xc) a una pequeña corriente eléctrica. R se define como la oposición de los conductores biológicos al flujo de la corriente eléctrica, y es proporcional al contenido líquido y electrolítico del cuerpo humano; Xc mide la conductividad de las membranas celulares (34). Requiere de un procedimiento estandarizado como ayunas de al menos 2 horas y el vaciamiento de la vejiga antes de su realización. En general, el método más utilizado que evalúa el cuerpo entero es el de mano-pie, en decúbito supino durante 15 minutos, con 4 electrodos (tetrapolar), como indica la Figura 5.

Impedancia (Z) = $R + Xc$

Existen 2 tipos de BIA, de frecuencia única (“*Single Frequency Bioimpedance Analysis*” o SF-BIA) y de frecuencia múltiple (“*Multiple Frequency Bioimpedance Analysis*” o MF-BIA). La capacidad predictiva depende de las condiciones del paciente, así en individuos enfermos parece que la SF-BIA es más precisa en el ACT mientras que, en general, la MF-BIA es más exacta con el LEC (35).

Figura 5. Bioimpedancia con método mano-pie (35)



Pichard et al (2000) (36) evaluaron una población caucásica de 3393 individuos desde 15 a 64 años, y concluyeron que la MLG media oscila de 59,1-61Kg para hombres y 43,3-44,1Kg para mujeres, que supone un 38% superior en hombres. Con la edad, aumenta la MG y disminuye la MLG (37). El %MG depende del IMC, el sexo, la edad y la raza. En general, el %MG debe ser inferior al 30% en mujeres y al 25% en hombres (38). No obstante, hay que tener en cuenta que en la estimación de los parámetros antropométricos la resistencia y la reactancia contribuyen un 0-20% y la inclusión de otras medidas corporales aumenta la predicción (39).

La sarcopenia se define como un índice de masa muscular (IMM) por debajo de 2 desviaciones estándar de la media de un grupo de referencia joven del mismo sexo. La

suma de la masa magra (Kg) de los dos brazos y las dos piernas se denomina “masa magra apendicular esquelética” (MMAE). El IMM se define como la MMAE en Kg dividido por altura al cuadrado en metros. Para el cálculo de la MMAE en la BIA se ha utilizado una estimación según la cual la MMAE representa el 73-75% de la masa muscular total (40), esta última calculada con una fórmula que utiliza el peso, R, el género y la edad, y que ha sido validada por estar altamente correlacionada con la masa muscular medida por RM (41). Actualmente, el Grupo Europeo de Trabajo sobre la Sarcopenia en Personas de Edad Avanzada 2 (*European Working Group on Sarcopenia in Older People 2*) (EWGSOP2) define sarcopenia como una MMAE <20Kg en hombres y <15Kg en mujeres, así como un IMM <7 Kg/m² en hombres y <5,5 Kg/m² en mujeres (31).

Las ecuaciones para estimar la composición corporal a través de la bioimpedanciometría en condiciones donde la hidratación está alterada, como por ejemplo la cirrosis hepática, la insuficiencia renal, la insuficiencia cardíaca o la obesidad, puede ser errónea. En general, se utiliza un método de análisis vectorial, conocido como gráfica RXc, que representa el estado de hidratación de un individuo a través de una escala de percentil, un vector de impedancia y su ángulo de fase, y lo compara con el intervalo de referencia de una población normal. En los pacientes con cirrosis hepática el análisis de la gráfica RXc establece que, en general, existe una disminución de la MLG y, a medida que progresa la enfermedad hepática, se produce una condición de hiperhidratación (34).

Norman et al (2012) (42) estableció que en estas situaciones el uso de parámetros “crudos” como el ángulo de fase (PhA) es un predictor esencial del estatus clínico. Se calcula directamente a través de la fórmula: $(Xc/R) \times 180^\circ/\pi$, con valores normales en individuos sanos entre 5 y 7°, siendo de 5,4° el valor de corte para individuos con cirrosis hepática (43). Los valores del ángulo de fase están directamente relacionados con la celularidad. Los principales determinantes del PhA son la edad (decrece a mayor edad), el sexo (mayor en hombres), el IMC (decrece a menor IMC), malnutrición e inflamación (a mayor grado decrece). Se ha demostrado que el PhA es un marcador de la cantidad y calidad de la masa celular y de la hidratación, por lo que se considera un marcador útil de la situación nutricional. En condiciones de malnutrición, el cambio precoz característico de agua intracelular a extracelular y el incremento de MCE (masa celular extracelular)/MCC se refleja a través del ángulo de fase (44). Además, se relaciona con la cantidad total de proteínas corporales y de masa muscular, así como con la fuerza de

agarre, por lo que es un buen marcador de índice muscular. Por último, también se le ha considerado como predictor de mortalidad (42).

1.4.2.2. Otros métodos antropométricos

La DXA es un método para la medición de la composición corporal que da información sobre la MG, la MLG y el contenido mineral óseo. La radiación ionizante utilizada es baja y depende del dispositivo y la edad del paciente. Al igual que con la BIA, se define sarcopenia cuando el índice de masa muscular está por debajo de 2 desviaciones estándar (DE) de la media de un grupo de referencia joven del mismo sexo. Se utiliza como punto de corte el IMM de 7Kg/m² para los hombres y de 5,5Kg/m² para las mujeres y una MMAE <20Kg en hombres y <15Kg en mujeres (31).

La TC es un método utilizado en los últimos años con mayor frecuencia para evaluar la depleción de la masa muscular (sarcopenia) (45); en general se utiliza el índice musculoesquelético lumbar, que es el resultado de dividir el área del músculo esquelético en la sección transversal a nivel de L3 entre la altura del paciente, definiendo sarcopenia como un valor $\leq 38,5 \text{ cm}^2/\text{m}^2$ para mujeres y $\leq 52,4 \text{ cm}^2/\text{m}^2$ para hombres (46).

Respecto a la antropometría manual, la medición de los pliegues cutáneos (tricipital, bicipital, subescapular y suprailíaco) permite cuantificar el tejido adiposo de un individuo. Se puede utilizar el pliegue cutáneo tricipital aislado o la suma de los cuatro pliegues, y el valor del percentil varía en función de la edad y el sexo. El valor estándar del pliegue tricipital es de 12,5mm para los hombres y de 16,5mm para las mujeres. En general, un pliegue $\leq 12\text{mm}$ indica malnutrición (47). Además, existen otras mediciones como la circunferencia media del brazo, que evalúa la masa muscular y la grasa subcutánea. El valor estándar para hombres es de 29,3cm y para mujeres de 28,5cm. En general, un valor $\leq 21\text{cm}$ indica malnutrición (48). La circunferencia media muscular del brazo (cm) proporciona un índice de masa muscular y se calcula restando a la circunferencia media del brazo el valor del pliegue tricipital multiplicado por 0,314; el valor estándar para hombres es de 25,3cm y para mujeres de 23,3cm; para indicar sarcopenia el valor en hombres debe ser inferior a 21,1cm y en mujeres inferior a 19,2cm (49). Otro valor es el perímetro de la pantorrilla, un valor <31cm indica malnutrición y sarcopenia (50).

La Tabla 3 detalla las principales ventajas e inconvenientes de cada método para evaluar la composición corporal.

Tabla 3. Ventajas e inconvenientes de los métodos antropométricos

Método	Equipamiento	Ventajas	Desventajas
Antropometría manual	Cinta métrica, plicómetro	Rápido, seguro, accesible, mínimo entrenamiento	Alta variabilidad inter-observador, no se pueden distinguir compartimentos corporales
Bioimpedanciometría (BIA)	Equipo de BIA	Rápido, seguro, accesible, mínimo entrenamiento	Condiciones previas a la medición, sensible a la sobrecarga hídrica
Densitometría ósea (DXA)	Densitómetro óseo	Rápido, seguro	Exposición a la radiación, sensible a la sobrecarga hídrica
Ecografía	Ecógrafo	Rápido, seguro, accesible	Operador-dependiente
TC	Cámara, software	Preciso, rápido, medición de la calidad y cantidad muscular	Exposición a la radiación, no fácilmente repetible
RM	Cámara, software	Preciso, no radiación, medición de la calidad y cantidad muscular	Coste, disponibilidad limitada

TC: tomografía computarizada, RM: resonancia magnética

Fuente: modificado Lai JC. et al. Malnutrition, Frailty, and Sarcopenia in Patients With Cirrhosis: 2021 Practice Guidance by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2021. (51)

1.4.2.3. Fuerza de agarre

La fuerza de agarre se utiliza como medición de la funcionalidad muscular. Es un método barato, fiable y reproducible. Habitualmente se utiliza el dinamómetro de mano hidráulico Jamar en la mano dominante (52). La posición correcta es en sedestación, con la espalda apoyada sobre el respaldo, el codo flexionado 90°, el antebrazo neutral y la muñeca 0-30° en dorsiflexión (Figura 6). Después de calibrar el dinamómetro y ajustar el tamaño del agarre al de la mano, se solicita realizar el máximo esfuerzo durante 3-5 segundos, y se debe repetir la toma 3 veces, seleccionando el valor máximo en Kg.

Figura 6. Posición de la mano en la fuerza de agarre mediante dinamómetro Jamar



Los valores de referencia dependen de la edad, el sexo, la altura y la mano con la que se realiza la determinación (dominante/no dominante). El EWGSOP2 estableció tras un estudio en 2014 el punto de corte para sarcopenia en la mano dominante en 27 Kg para hombres y 16 Kg para mujeres (31, 53).

1.5. CIRROSIS HEPÁTICA Y NUTRICIÓN

1.5.1. MALNUTRICIÓN Y SARCOPENIA EN LA CIRROSIS HEPÁTICA. DEFINICIÓN

La malnutrición en la cirrosis hepática consiste principalmente en la pérdida de la masa muscular esquelética o sarcopenia, asociada generalmente a una alteración del metabolismo energético y a una pérdida de tejido adiposo visceral y subcutáneo. Los hombres tienden a perder mayor masa muscular mientras que las mujeres suelen perder mayor tejido adiposo (54). En los pacientes con cirrosis hepática por esteatohepatitis no alcohólica se objetiva generalmente una obesidad sarcopénica, en la que la pérdida de masa muscular no se acompaña de pérdida de tejido adiposo (55).

La sarcopenia es el mayor componente de la malnutrición en la cirrosis hepática (56), y se define como la pérdida progresiva y generalizada de masa, fuerza y función del músculo esquelético con el consiguiente riesgo de efectos adversos (57).

1.5.2. IMPACTO CLÍNICO DE LA MALNUTRICIÓN Y SARCOPENIA EN LA CIRROSIS HEPÁTICA

La malnutrición relacionada con la cirrosis hepática está dentro del grupo de DRE-crónica con inflamación. Se trata de una malnutrición mixta calórico-proteica que está relacionada con el estadio clínico de la cirrosis hepática, estimándose una prevalencia del 20% en la fase compensada y en más del 50% en la fase descompensada. En el estadio Child-Pugh clase A la prevalencia de la malnutrición calórico-proteica es del 21%, en la clase B del 40% y en la clase C es hasta del 90% (34). Todos los pacientes con cirrosis descompensada que son candidatos a trasplante hepático presentan algún grado de malnutrición (58).

La etiología *per se* no parece influenciar la prevalencia y el grado de malnutrición; sin embargo, en los alcohólicos es más prevalente y de mayor gravedad, aunque parece deberse a factores adicionales como estilos de vida poco saludables y factores socioeconómicos (59).

La sarcopenia está presente en el 40-60% de los pacientes con cirrosis hepática, siendo la forma más severa la de etiología alcohólica. Probablemente todos los pacientes

con cirrosis hepática asocian un grado leve de sarcopenia, pero es de mayor magnitud a medida que avanza la severidad de la disfunción hepática cuantificada por el estadio Child-Pugh (60). La sarcopenia es un factor predictor de mortalidad con independencia del MELD, y aumenta el riesgo de infección y de la estancia de hospitalización (61).

La malnutrición y la sarcopenia están asociados con peor calidad de vida y mayor número de complicaciones como susceptibilidad a infecciones, encefalopatía hepática y ascitis, así como son predictores independientes de menor supervivencia en cirrosis hepática y en pacientes en lista de espera de trasplante hepático (62).

La mortalidad por sepsis es mayor en pacientes con cirrosis hepática con sarcopenia con respecto a sin sarcopenia. Parece que la causa es multifactorial, en parte por el déficit de proteínas necesario para la formación de anticuerpos y citoquinas, y en parte por las alteraciones hormonales y endotoxinas que existen en la sarcopenia (61).

Por último, se ha visto que una mayor evaluación nutricional en pacientes con cirrosis hepática hospitalizados está asociada a menor tasa de reingreso a los 90 días (63).

1.5.3. FISIOPATOLOGÍA DE LA MALNUTRICIÓN

La malnutrición calórico-proteica en los pacientes con cirrosis hepática se desarrolla como consecuencia de múltiples factores, principalmente aquellos que están relacionados con la ingesta calórica disminuida, las alteraciones en el metabolismo y la malabsorción.

La reducción de la ingesta calórica se debe fundamentalmente a la hiporexia o disminución del apetito. La hiporexia en estos pacientes se ha atribuido a un descenso del aclaramiento de colecistoquinina y a un incremento de las citoquinas inflamatorias, principalmente de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), así como a hormonas como la leptina (64). Otras causas de ingesta calórica reducida son la saciedad precoz como consecuencia de la compresión gástrica por la ascitis (65) y la malabsorción de grasa como resultado del edema intestinal y la excreción reducida de sales biliares (34).

En los pacientes con cirrosis hepática se produce una disminución de la capacidad de síntesis y de reserva hepática, que conduce a una disminución de las reservas de glucógeno, provocando una gluconeogénesis acelerada a partir de aminoácidos, es decir,

un hipercatabolismo proteico que conduce a destrucción muscular e hiperamonemia. Se estima que el 34% de los pacientes con cirrosis hepática descompensada presentan un estado hipercatabólico. La gluconeogénesis es un procedimiento de alto gasto energético que contribuye al alto gasto energético en reposo que, en estos pacientes, es mayor al 120% respecto al valor normal. La vía de la ubiquitina-proteosoma y, sobre todo, la autofagia parecen ser los mecanismos dominantes de la proteólisis. En fases más avanzadas está disminuida la síntesis proteica (64).

La malnutrición puede agravarse por factores asociados como la disgeusia, la anorexia de las enfermedades crónicas, así como la alteración en la motilidad intestinal, la disminución de la absorción de nutrientes y la enteropatía pierde-proteínas secundaria a la hipertensión portal. Además, existen otros factores adicionales que empeoran la malnutrición como largos periodos de hospitalización, la encefalopatía hepática y el sangrado gastrointestinal (62). Todo ello se resume en la Tabla 4.

Tabla 4. Factores asociados a la malnutrición en la cirrosis hepática

Ingesta disminuida	Alteraciones metabólicas
Nausea y saciedad precoz <ul style="list-style-type: none"> • Ascitis • Alteración de la motilidad gástrica e intestinal 	Estado hipermetabólico <ul style="list-style-type: none"> • Sistema nervioso simpático activado • Circulación hiperdinámica • Translocación bacteriana intestinal
Disgeusia <ul style="list-style-type: none"> • Deficiencia de Zinc 	Inactividad física
Restricción dietética <ul style="list-style-type: none"> • Restricción de sal • Ayunas por hospitalizaciones y análisis • Restricción proteica por encefalopatía hepática 	Sepsis y citoquinas
Hiporexia <ul style="list-style-type: none"> • Alteración hormonal • Citoquinas 	Gluconeogénesis incrementada <ul style="list-style-type: none"> • Disminución de la reserva de glucógeno • Hipercatabolismo de grasa y músculo
Abuso de alcohol	Malabsorción
	Shunt portosistémico
	Deficiencia de ácidos biliares <ul style="list-style-type: none"> • Disminución de síntesis hepática • Shunt portosistémico
	Sobrecrecimiento bacteriano intestinal
	Sangrado gastrointestinal <ul style="list-style-type: none"> • Hiperomotilidad • Pérdida de proteínas

Fuente: modificado Bahat, G. et al. Cut-off points to identify sarcopenia according to European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) definition. *Clin Nutr* 2016. (66)

1.5.4. FISIOPATOLOGÍA DE LA SARCOPENIA

La masa musculoesquelética se mantiene en un balance entre la síntesis proteica, la proteólisis y posiblemente el potencial regenerativo mediado por las células madre musculares (satélites).

1.5.4.1. Alteraciones metabólicas

En la fase inicial de la cirrosis hepática existe un desorden metabólico de “ayuno acelerado”, caracterizado por un aumento de la oxidación de los ácidos grasos y de la gluconeogénesis, siendo los aminoácidos el principal sustrato mediante proteólisis en el músculo esquelético. Como resultado, se generan aminoácidos de cadena ramificada (AACR) y aromáticos (AAA), siendo los primeros metabolizados en el músculo esquelético y los segundos en el hígado, por lo que en los pacientes con cirrosis hepática están disminuidos los niveles séricos de AACR al utilizarlos de fuente de energía y están aumentados los niveles de AAA como consecuencia de la disfunción hepática y el shunt portosistémico (60). Los AACR son aminoácidos esenciales compuestos por leucina, isoleucina y valina. En la cirrosis hepática está disminuido el índice de Fisher (AACR/AAA) (67). La concentración reducida de aminoácidos en la célula muscular activa la proteólisis mediante la vía de la ubiquitina-proteosoma y, sobre todo, la autofagia. La autofagia se ha visto activada tanto en la cirrosis como experimentalmente bajo condiciones de hiperamonemia en miotubos. En fases más avanzadas está disminuida la síntesis proteica (60).

1.5.4.2. Eje hígado-músculo

Una de las principales razones por las que la sarcopenia no es bien comprendida en la cirrosis hepática es la dificultad de encontrar el mediador en el eje hígado-músculo. Se han propuesto como principales mediadores un incremento del amonio, un descenso de la testosterona, un descenso de la hormona del crecimiento y la endotoxemia (62).

En la cirrosis hepática existe una hiperamonemia debido a la alteración en el ciclo de la urea como consecuencia de la disfunción celular hepática y al shunt portosistémico. La

función principal del ciclo de la urea consiste en la eliminación del excedente de amonio procedente del metabolismo de los aminoácidos y de las purinas, de la actividad glutaminasa del enterocito y de la urealisis en el intestino. El otro “detoxificador” es el músculo esquelético; en sujetos sanos el 50% del amonio se metaboliza en el músculo esquelético y en la cirrosis hepática esta cifra es aún superior, siendo el músculo esquelético el principal órgano de detoxificación del amonio, manteniendo unos niveles séricos de amonio que no causen neurotoxicidad (68).

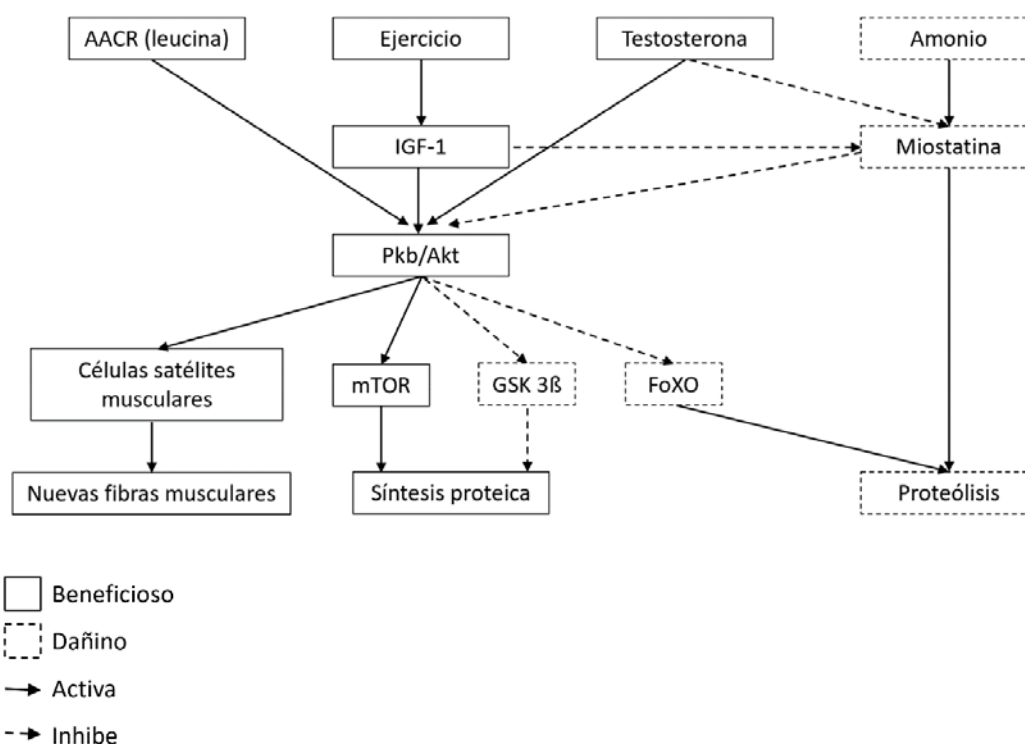
Los efectos de la hiperamonemia son bien conocidos a nivel neurológico, produciendo toxicidad sobre las neuronas y los astrocitos, mientras que el efecto sobre el músculo esquelético está menos estudiado, pero parece activar los mecanismos moleculares de sarcopenia. La hiperamonemia induce nitración en las proteínas de los astrocitos (69) y del músculo esquelético (70), causándoles daños estructurales y funcionales; la activación de la autofagia podría ser una respuesta para degradar a estas proteínas anómalas, además de servir como fuente de aminoácidos esenciales (70).

La hiperamonemia activa a nivel del músculo esquelético la expresión de miostatina, un miembro de la superfamilia de factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) producida por los miocitos, observándose niveles elevados de miostatina a nivel plasmático y en músculo esquelético en pacientes con cirrosis hepática. La miostatina se activa como consecuencia de la activación del factor de transcripción nuclear kappa B (NF- κ B). La miostatina parece ser el mediador de la hiperamonemia en la inhibición de la síntesis proteica y la activación de la autofagia, siendo el nexo entre la disfunción hepática y la sarcopenia (71, 72).

Además de la miostatina, el otro factor de crecimiento que regula el músculo esquelético, de efecto contrario, es el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1), también llamado somatomedina C. El IGF-1 está regulado por el ejercicio físico y estimula el crecimiento del músculo esquelético a través de la activación de la proteína quinasa B (Pkb/Akt), la cual activa mTOR (*mammalian target of rapamycin*) e inhibe el factor de transcripción FoXO (*Forkhead box class O*) y el enzima glucógeno sintasa cinasa 3 (GSK3). La Pkb/Akt se activa también por la testosterona y la leucina, y activa a su vez a las células satélite musculares, precursoras de las nuevas fibras musculares. La miostatina es activada por la hiperamonemia e inhibida por la testosterona, y tiene un

efecto catabólico sobre el músculo esquelético a través de la inhibición de la Pkb/Akt. Se detalla un esquema en la Figura 7 (57).

Figura 7. Regulación del crecimiento del músculo esquelético



Fuente: adaptado de Vasques, J. et al. Nutritional support in cirrhotic patients with sarcopenia. *Clin Nutr ESPEN* 2019. (57)

IGF-1: factor de crecimiento insulínico tipo 1, Pkb/Akt: proteína quinasa B, mTOR: mammalian target of rapamycin, GSK2: enzima glucógeno sintasa cinasa 3, FoXO: forkhead box class O.

La eliminación de amonio para formar glutamato consume α -cetoglutarato, un intermediario del ciclo de Krebs. Inversamente, el glutamato y la glutamina sirven como sustratos para generar α -cetoglutarato y amonio respectivamente (60). En condiciones normales, la reacción ocurre hacia la formación de α -cetoglutarato, pero en la cirrosis hepática, debido al deterioro de la capacidad hepática para la detoxificación del amonio, el músculo esquelético funciona como compañero metabólico del hígado y la reacción ocurre fundamentalmente hacia la formación de glutamina y, por tanto, eliminando amonio y perdiendo α -cetoglutarato (cataplerosis). Esto provoca una disminución de la síntesis de ATP (adenosín trifosfato) en el músculo por alteración del flujo del ciclo de Krebs y disfunción mitocondrial, lo que conlleva una disminución de la síntesis proteica

por baja disponibilidad de ATP. Finalmente, cuando la masa muscular es baja, la eliminación no hepática del amonio está deteriorada, por lo que en pacientes con sarcopenia puede ocurrir más frecuentemente consecuencias como la encefalopatía hepática. Por tanto, existe una relación inversa entre la masa muscular y los niveles séricos de amonio (60).

Otros mediadores del eje hígado-músculo son la hormona del crecimiento (GH) y la testosterona, ambas disminuidas en la cirrosis hepática; en el caso de la testosterona por un incremento de la actividad de la enzima aromatasa (60). Ambas hormonas inhiben la expresión de la miostatina, pero se desconoce si contribuyen a la alteración en la síntesis proteica y al incremento de la expresión de miostatina. Por último, la endotoxemia resultante de la disfunción hepatocelular e inmune y del shunt portosistémico puede contribuir a la alteración de la síntesis proteica y potencialmente activar la autofagia (60).

1.5.5. VALORACIÓN NUTRICIONAL EN LA CIRROSIS HEPÁTICA

La valoración nutricional en la cirrosis hepática requiere de una especial atención por las características de los pacientes. En ellos la valoración de la composición global se verá afectada por el estado variable de hidratación, condicionando los resultados y no haciéndolos superponibles al del resto de grupo de individuos. Además, algunos marcadores de laboratorio utilizados para evaluar el estado nutricional, como la albúmina sérica o la proteína ligada al retinol, son producidas en el hígado y sus niveles están disminuidos en la cirrosis hepática avanzada, con o sin la presencia de malnutrición (73).

Como en el resto de los grupos, deberemos realizar una primera valoración del peso, la talla, el índice de masa corporal y de la función hepática medido por el score Child-Pugh. Al grupo de individuos de IMC 18,5-29,9 Kg/m² se les debe realizar una evaluación global mediante cuestionarios clínicos para estratificar el riesgo de malnutrición. El grupo de individuos de IMC <18,5 Kg/m² y aquellos con Child-Pugh clase C presentan alto riesgo de malnutrición y sarcopenia por lo que no es necesario aplicar cuestionarios clínicos y directamente se les debe realizar una valoración de la masa y función muscular. Por último, aquellos con un IMC ≥30 Kg/m² deberían recibir recomendaciones nutricionales específicas, teniendo presente que la ascitis supone un 5%

del peso en el grado leve, un 10% en el grado moderado y un 15% en el grado severo, con un 5% de peso adicional si existe edema bilateral (62).

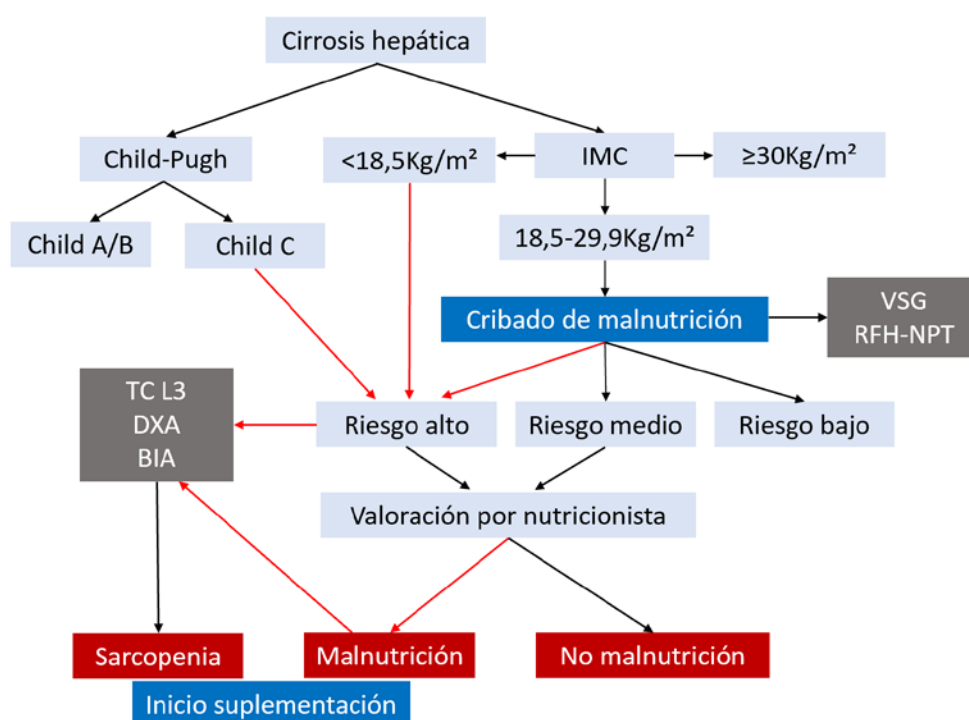
Los cuestionarios clínicos utilizados como cribado de malnutrición no están bien validados en la cirrosis hepática. El más ampliamente utilizado es la Valoración Subjetiva Global (VSG), sin embargo, parece que en la cirrosis hepática infraestima la malnutrición y sarcopenia. Recientemente se ha desarrollado una variación del VSG para los pacientes cirróticos denominado RFH-GSA (del inglés *Royal Free Hospital-Global Subjective Assessment*), que se ha estimado como una herramienta muy reproducible, pero necesita personal entrenado por lo que limita su uso como cribado. Por este motivo se ha diseñado una modificación denominada RFH-NPT (del inglés *Royal Free Hospital-Nutritional Prioritizing Tool*) mucho más ágil que no precisa entrenamiento específico, pero necesita mayor validación clínica (62). La puntuación del cuestionario RFH-NPT se ha correlacionado con el deterioro clínico, la severidad de la enfermedad (Child-Pugh, MELD) y con complicaciones clínicas como la ascitis, el síndrome hepatorenal y los episodios de encefalopatía hepática, así como una mejoría de su puntuación en una mayor supervivencia (74). La escala LDUST (del inglés *Liver Disease Undernutrition Screening Tool*) es otra escala basada en 6 preguntas subjetivas al paciente con cirrosis, pero su valor predictivo negativo es bajo (75). El cuestionario MNA, aunque está validado para ancianos, parece ser también una buena herramienta de cribado en individuos con cirrosis hepática y sus resultados se correlacionan con otros parámetros de valoración nutricional (76, 77).

Los individuos con riesgo medio y alto de malnutrición por los cuestionarios clínicos de cribado deben ser valorados por un experto nutricionista. Aquellos que presentan riesgo alto, ya sea por cribado a través de cuestionarios clínicos, un IMC $<18,5\text{Kg/m}^2$ o mala función hepática (Child-Pugh clase C), deben recibir una evaluación nutricional más exhaustiva mediante la valoración de la masa y función muscular para estimar la sarcopenia. Los individuos con riesgo medio de malnutrición por cribado en los que se confirma la malnutrición por el experto nutricionista se les debe realizar la valoración de la masa y función muscular (62) para estudio de sarcopenia. Todo ello se resume en la Figura 8.

La masa muscular se evalúa a través de los mismos métodos que en otros grupos de individuos, a través de la antropometría, la BIA, la DXA, la ecografía (grosor del muslo) y la TC/RM. Hay que tener en cuenta que las fluctuaciones del estado de

hidratación condicionan los resultados de la antropometría, de la BIA y de la DXA. No obstante, la evaluación de la masa muscular se inicia generalmente con la antropometría y la BIA puesto que son métodos diagnósticos baratos, ampliamente disponibles y utilizados en la práctica (73). En los últimos años se está dando mayor importancia en la BIA al ángulo de fase como marcador de malnutrición en estos pacientes, siendo 5,4° el valor de corte para individuos con cirrosis hepática (43). No hay puntos de corte específicos del IMM para definir sarcopenia en la cirrosis hepática (78). La DXA y la TC se utilizan como diagnóstico definitivo de malnutrición/sarcopenia (73), siendo el “gold standard” la medición por TC del denominado “índice musculoesquelético lumbar L3” puesto que en sus valores no influye la hidratación, teniendo en cuenta que los últimos estudios parecen indicar que el punto de corte varía ligeramente en los individuos con cirrosis hepática, siendo para las mujeres $\leq 39 \text{ cm}^2/\text{m}^2$ y para los hombres $\leq 50 \text{ cm}^2/\text{m}^2$ (79).

Figura 8. Valoración nutricional en la cirrosis hepática



Fuente: adaptado de EASL Clinical Practice Guidelines. EASL Clinical Practice Guidelines on nutrition in chronic liver disease. *J Hepatol.* 2019. (62)

Los índices antropométricos no están bien validados en los individuos con cirrosis hepática, no habiendo puntos de corte específicos del pliegue tricípital, de la circunferencia media muscular del brazo, de la circunferencia del brazo o de la circunferencia de la pantorrilla. Utilizando percentiles basados en la población general, se ha objetivado que el pliegue tricípital y, sobre todo, la circunferencia media muscular del brazo tiene un valor pronóstico en la mortalidad (79).

Por último, como medida de la función muscular se usa la fuerza de agarre o test específicos como el SPPB. En los individuos con cirrosis hepática no hay un punto de corte específico en la fuerza de agarre (80).

Se ha estudiado recientemente la correlación entre los puntos de corte definidos para sarcopenia para la población general en los individuos con cirrosis hepática en lista pretrasplante hepático, encontrando una correlación moderada entre el TC y la DXA y la fuerza de agarre y la DXA, mientras que hay una correlación débil entre el TC y la fuerza de agarre (80).

1.5.6. TRATAMIENTO NUTRICIONAL EN LA CIRROSIS HEPÁTICA

1.5.6.1. Recomendaciones nutricionales generales

- En pacientes con cirrosis hepática malnutridos o con una descompensación aguda se debería incrementar la ingesta energética diaria, en torno a 30-35Kcal/Kg/día.
- En pacientes con cirrosis hepática compensada no malnutridos la ingesta de proteínas debería ser 1,2g/kg/día, mientras que en pacientes cirróticos malnutridos o con sarcopenia la ingesta proteica debería ser 1,5g/kg/día (59).
- No se debe restringir la ingesta proteica en cirrosis hepática con encefalopatía hepática, puesto que incrementa el catabolismo proteico.
- En individuos con cirrosis hepática y obesidad se recomienda una pérdida ponderal del 5-10% basada en una dieta moderadamente hipocalórica con una adecuada ingesta proteica.
- Se deben evitar los ayunos prolongados consumiendo de 3 a 5 comidas diarias e ingiriendo un snack nocturno de al menos 50 gramos de carbohidratos. Así, se

deberían realizar 3 comidas principales (desayuno, comida, cena) y 3 snacks (almuerzo, merienda, antes de acostarse).

- En cuanto al origen de la proteína, en la cirrosis compensada un tercio debería provenir de productos lácteos, un tercio de fuentes de origen vegetal y un tercio de origen animal no lácteo (81).
- En pacientes con cirrosis hepática “intolerantes” a proteínas, se debería recomendar un aporte proteico a base de proteínas vegetales o AACR (0,25g/Kg/día).
- Se debe administrar micronutrientes (especialmente tiamina y vitamina D) para tratar la deficiencia confirmada o clínicamente sospechada. La vitamina D está disminuida con cifras <20ng/ml y se debe alcanzar >30ng/ml como objetivo terapéutico (59).

Aquellos que no alcancen la ingesta mínima calórica o proteica pese a las recomendaciones anteriores son candidatos a iniciar suplementación, preferiblemente por vía oral.

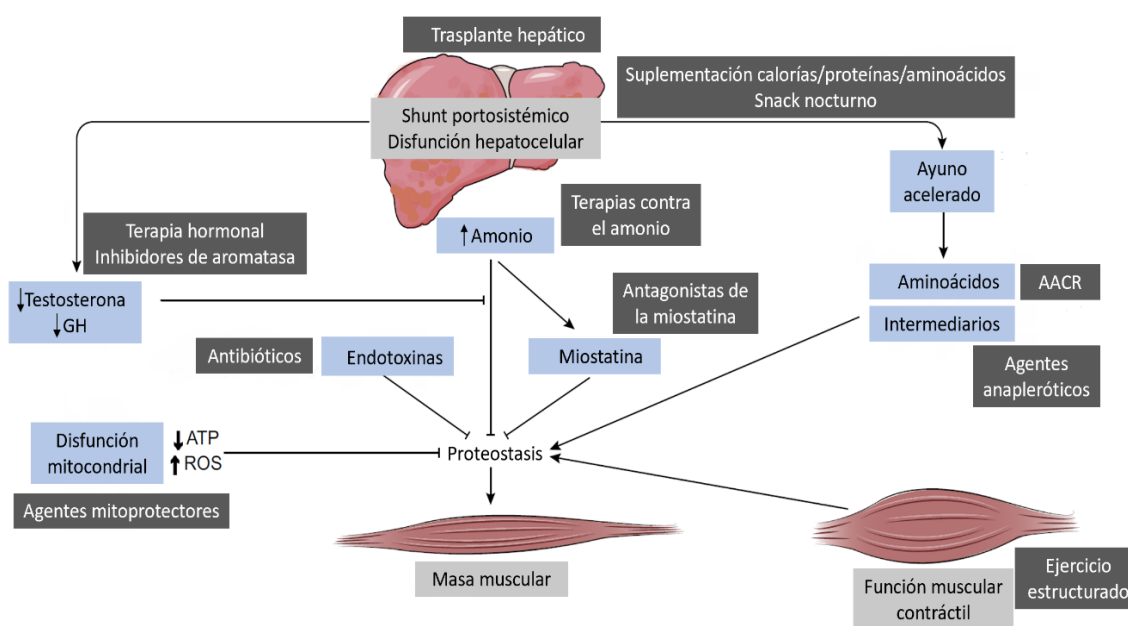
1.5.6.2. Recomendaciones en la cirrosis hepática con sarcopenia

Se han evaluado distintas estrategias terapéuticas para aumentar la masa muscular de los individuos con cirrosis hepática, que se resumen en la Figura 9.

Suplementación nutricional

En general, es difícil conseguir que individuos con cirrosis hepática malnutridos con sarcopenia logren un adecuado aporte calórico y proteico, según las recomendaciones nutricionales generales. Bajo este contexto, se puede optar por suplementación nutricional oral, e incluso si no se consigue el objetivo o ésta no es posible (encefalopatía hepática, hemorragia digestiva, íleo intestinal), se puede optar por suplementación parenteral durante periodos cortos, en general, menos de 1 mes. Respecto al tipo de suplementación oral, se puede optar por la de aminoácidos estándar o por la basada en AACR (62).

Figura 9. Estrategias terapéuticas para la sarcopenia en la cirrosis hepática



Fuente: adaptado de EASL Clinical Practice Guidelines. EASL Clinical Practice Guidelines on nutrition in chronic liver disease. *J Hepatol.* 2019. (62)

AARC: aminoácidos de cadena ramificada, ROS: especies de oxígeno reactivas.

Ejercicio y actividad física

En adición a la suplementación oral, la actividad física y el ejercicio son estímulos anabólicos que pueden mejorar la masa y función muscular. El ejercicio aeróbico mejora la capacidad funcional del músculo esquelético, pero no necesariamente la masa muscular, mientras que el ejercicio anaeróbico incrementa la masa muscular; por tanto, una combinación de ambos tipos de ejercicio probablemente sería apropiado y beneficioso. No obstante, el ejercicio puede aumentar los niveles de amonio y la presión portal, y se requieren de estudios que evalúen el efecto a largo plazo de la terapia de suplementación oral asociada a la actividad física (62).

Otras estrategias

Se ha propuesto la terapia hormonal de sustitución con GH o testosterona, pero no han sido efectivos de forma consistente, e incluso la testosterona se ha asociado a un riesgo aumentado de hepatocarcinoma (82). Las estrategias basadas en la disminución del amonio (rifaximina, lactulosa, etc) pueden resultar en un aumento de la masa y función

muscular a partir de su efecto negativo sobre la proteostasis; sin embargo, los datos en el momento actual derivan de estudios preclínicos y requieren validación en humanos (62).

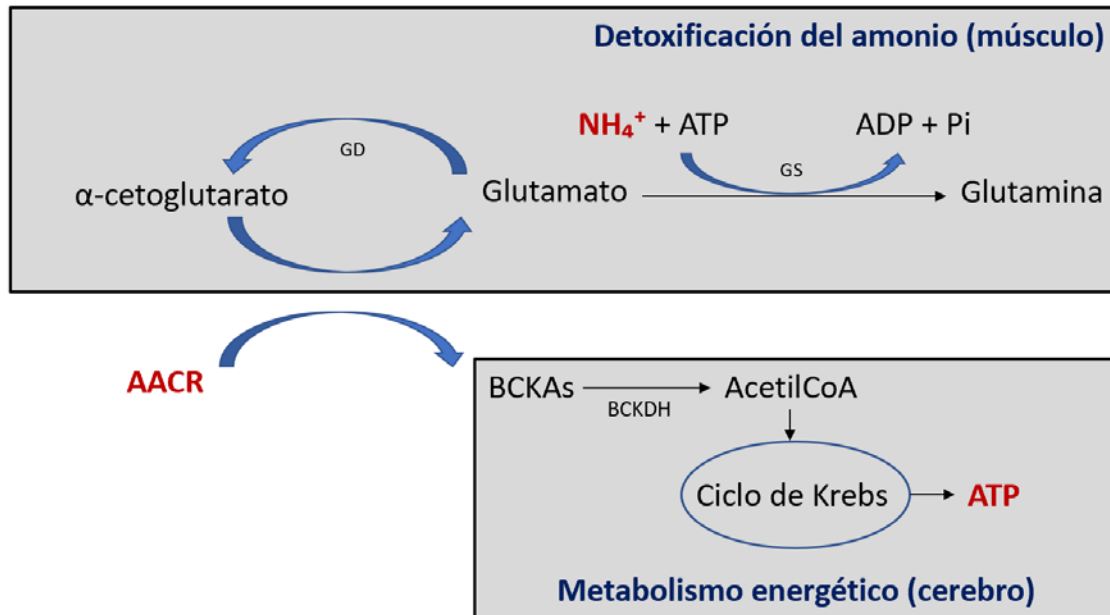
1.5.7. Beneficios clínicos de la terapia nutricional

La revisión sistemática realizada por la Cochrane en 2012 establece que en aquellos pacientes con cirrosis hospitalizados que reciben suplementación oral hay menor incidencia de ascitis, posiblemente menor incidencia de infecciones y una resolución más rápida de la encefalopatía hepática, no encontrando diferencias en la mortalidad. Respecto al tipo de suplementación oral, solo hay mejoría de la resolución de la encefalopatía hepática en el grupo de AACR. Tanto en la estándar como en el de AACR no hay mejoría de la prevención de la aparición de encefalopatía hepática ni en la resolución de la ascitis (83). No está claro su efecto sobre la calidad de vida, aunque en aquellos en los que aumenta la masa magra parece haber mejoría de la calidad de vida (84, 85).

En cuanto al efecto de la suplementación con AACR, la Cochrane realizó nuevamente una revisión en 2017 estudiando el efecto en cirrosis hepática con encefalopatía, tanto mínima como abierta, encontrando que producen un efecto positivo sobre los síntomas de la encefalopatía hepática, sin encontrar bajo estas condiciones beneficio sobre la mortalidad, la calidad de vida o los parámetros nutricionales (86, 87). El mecanismo fisiopatológico por el cual mejoran la encefalopatía hepática parece ser: (1) aumenta la detoxificación del amonio vía α -cetoglutarato en el músculo esquelético, disminuyendo los niveles séricos de amonio y, por tanto, reduciendo la activación de la miostatina (88), (2) sirve de sustrato anaplerótico a nivel cerebral mejorando el metabolismo energético (Figura 10) y (3) reduce el flujo cerebral de AAA (89).

Otros efectos propuestos de la suplementación oral con AACR son la activación de mTOR, con lo que aumentaría la síntesis proteica, y la estimulación de la producción de factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), con lo que se promovería la regeneración hepatocitaria (90).

Figura 10. Mecanismos fisiopatológicos de mejoría de la encefalopatía hepática con suplementación oral de AACR



Fuente: modificado Kawaguchi, T. et al. Effects of oral branched-chain amino acids on hepatic encephalopathy and outcome in patients with liver cirrhosis. *Nutr Clin Pract* 2013. (89)

AACR: aminoácidos de cadena ramificada, GS: enzima glutamina sintetasa, GD: glutamato deshidrogenasa, BCKA: cetoácidos de cadena ramificada. BCKDH: enzima cetoácido de cadena ramificada deshidrogenasa.

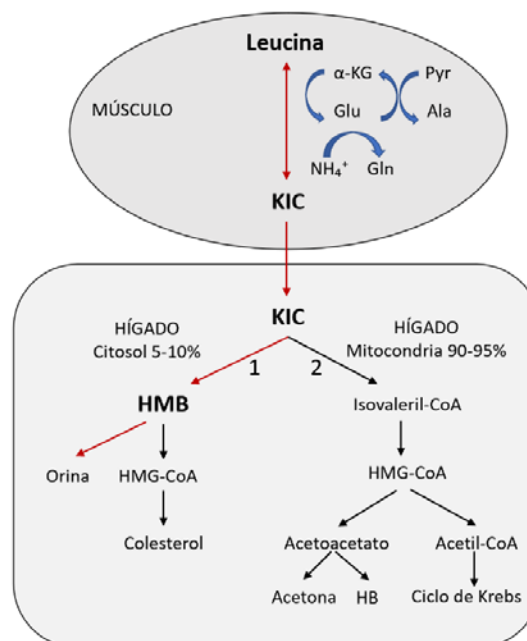
En la revisión sistemática realizada por la ESPEN en 2018 acerca de la suplementación oral con AACR en pacientes cirróticos (91) se objetiva un leve aumento (media del 4%) de la fuerza muscular y no efecto sobre el peso, la masa grasa o la masa muscular. Se observó que la suplementación con AACR sobre pacientes con un estado nutricional dentro de los valores normales de referencia tenían un efecto más beneficioso que aquellos malnutridos sobre la albúmina sérica, la fuerza muscular y la encefalopatía hepática. Por último, se objetivó un leve aumento del 2% de los niveles de albúmina sin otro efecto en la función hepática evaluando el tiempo de protrombina y la bilirrubina total; tampoco hubo cambios sobre las enzimas hepáticas o los niveles de amonio. En cualquier caso, la revisión sistemática concluye que la suplementación oral con AACR es una terapia cara y los resultados en los pacientes con cirrosis hepática y malnutrición son contradictorios, probablemente por la heterogeneidad de los estudios previos, pudiendo ser una opción terapéutica de segunda línea en la encefalopatía hepática (91).

1.6. β -HIDROXI- β -METILBUTIRATO (HMB)

1.6.1. METABOLISMO DEL HMB

El HMB es un derivado metabólico activo del aminoácido esencial de cadena ramificada leucina, que tiene un importante rol en el metabolismo proteico estimulando la síntesis proteica. La mayoría del HMB es producido en el hígado a partir de KIC (ácido α -ketoisocaproico) por la enzima KIC dioxigenasa. Las concentraciones plasmáticas normales de HMB son 2-5 $\mu\text{mol/L}$ (μM), aunque la concentración aumenta después de una comida con leucina, y hay una producción diaria de 0,2-0,4g de HMB/día, dependiendo de la leucina en la dieta. Se ha demostrado que sus niveles plasmáticos disminuyen con la edad, y son menores en mujeres (92). Algunos alimentos como los cítricos, los pescados o la leche materna contienen HMB, y bajo la administración de leucina se pueden incrementar sus niveles séricos en 5-10 veces el valor normal. La Figura 11 muestra los pasos en la producción de HMB, estimándose que un 2-10% de la leucina es oxidada a HMB (93).

Figura 11. Ruta metabólica del HMB



Fuente: adaptado de Holecek, M. et al. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation and skeletal muscle in healthy and muscle-wasting conditions. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2017. (93)

KG: cetoglutarato, Ala: alanina, Pyr: piruvato, Glu: glutamato, Gln: glutamina, KIC: ácido α -ketoisocaproico, HMG-CoA: 3-hidroxi- β -metil-glutaril-CoA, 1: KIC dioxigenasa, 2: BCKDH (93), HB: β -hidroxibutirato

Existen dos formulaciones de suplementación oral de HMB (β -hidroxi- β -metilbutirato), la sal de calcio de HMB (HMB-Ca) y una forma de ácido libre de HMB (HMB-FA) (94), habiendo sido demostrado el efecto del HMB con cualquiera de las dos formulaciones. Por el momento no está claro, pero parece que la formulación HMB-Ca tiene mejor biodisponibilidad que la forma HMB-FA (95).

El nivel plasmático de HMB depende de la dosis y de la administración de nutrientes concomitantes. Así, a mayor dosis orales mayor nivel plasmático, mayor aclaramiento renal (lo que supone mayor utilización por el tejido muscular) y un tiempo entre la toma oral y el pico plasmático más corto. La toma concomitante de glucosa también influye en su farmacocinética, pues retrasa y disminuye el pico plasmático al provocar un enlentecimiento del vaciamiento gástrico y aumentar el aclaramiento renal, con mayor tiempo de vida media. En general, el pico plasmático se produce tras 1h con la administración de 3g de HMB y tras 2h con la administración de 1g de HMB, siendo la vida media plasmática de 2,5 horas y alcanzando el nivel basal de HMB tras 9 horas desde la ingesta. El aclaramiento renal varía según la dosis, siendo del 15% con 1g de HMB y del 30% con 3g de HMB, por tanto, del 70-85% del HMB administrado es retenido para mayor metabolismo (96).

Normalmente se recomienda una suplementación oral con 3g de HMB diarios para mantener o mejorar la masa y función muscular, que se corresponde aproximadamente con una ingesta de 60g de leucina diaria. Sin embargo, el consumo de AACR basado exclusivamente en leucina puede disminuir los niveles séricos de los otros AACR (valina e isoleucina), por lo que se recomienda una suplementación 2:1:1 (leucina: isoleucina: valina). Los metabolitos de la valina son glucogénicos (capaces de generar intermediarios del ciclo de Krebs), los de la isoleucina son glucogénicos y cetogénicos mientras que los de la leucina son exclusivamente cetogénicos (capaces de generar acetil-CoA) (88).

Por otro lado, se ha demostrado que la suplementación con HMB es bien tolerado y no tiene efectos tóxicos (93).

1.6.2. EFECTOS DEL HMB

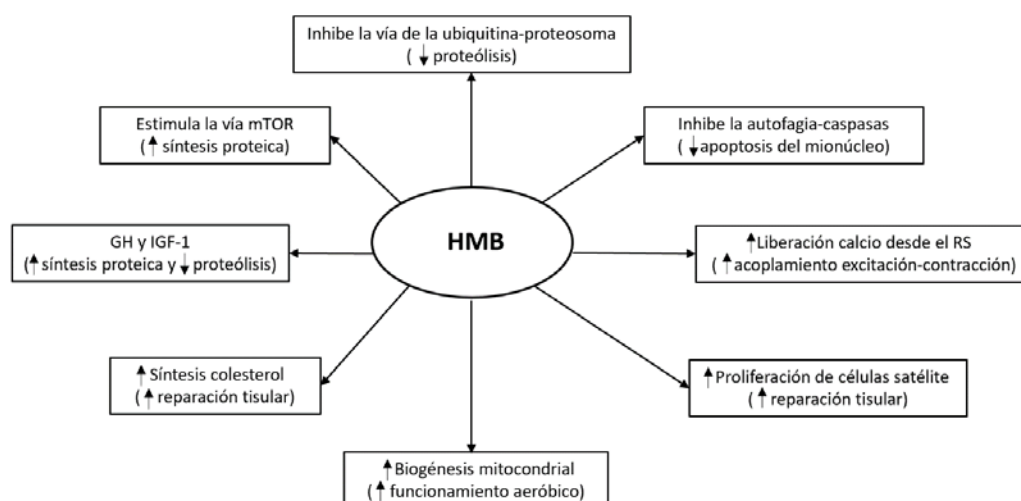
1.6.2.1. Efectos sobre el metabolismo de la leucina

Se ha planteado la hipótesis de que la administración de HMB afecta al metabolismo de sus precursores. En un estudio realizado por Holecek et al (2009) (97) con ratas sanas tratadas de forma intravenosa con HMB se observó un aumento de los niveles séricos de leucina y una disminución en su aclaramiento, no observando diferencias en la oxidación de la leucina. El aumento de los niveles séricos de leucina se asoció con concentraciones disminuidas de alanina, glutamina y glutamato. Esto podría indicar que bajo suplementación con HMB la conversión de leucina a KIC por la AACR aminotransferasa en los músculos está disminuida; como consecuencia, disminuiría la dosis requerida de leucina para promover sus efectos positivos sobre la proteostasis (98).

No se ha observado un aumento de los niveles plasmáticos de leucina con la suplementación de HMB en humanos (99), suponiendo que la diferencia en los resultados es debido a la dosis, duración y vía de administración.

1.6.2.2. Efectos del HMB en el músculo esquelético

Figura 12. Efectos del HMB en el músculo esquelético



Fuente: adaptado de Holecek, M. et al. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation and skeletal muscle in healthy and muscle-wasting conditions. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2017. (93)

mTOR: mammalian target of rapamycin, GH: hormona de crecimiento, IGF-1: factor de crecimiento insulínico tipo 1.

El HMB actúa a nivel del metabolismo proteico estimulando la síntesis proteica mediante la activación de rutas anabólicas e inhibiendo la proteólisis mediante la inhibición de rutas catabólicas (100). La Figura 12 resume los principales efectos a nivel del músculo esquelético.

El aporte exógeno de HMB aumenta la síntesis proteica a través de la activación de mTOR y del eje GH/IGF-1 (93). Se ha objetivado que en las células musculares el HMB aumenta in vitro la síntesis proteica vía mTOR de forma más efectiva que la leucina (101). La disminución de la proteólisis se consigue mediante la inhibición de la vía de la ubiquitina-proteosoma y de la autofagia, demostrando que el HMB disminuye la actividad enzimática del proteosoma y de las caspasas y la apoptosis del mionúcleo. Otros estudios señalan que el HMB incrementa la biogénesis mitocondrial y la oxidación de ácidos grasos, aumenta la liberación de calcio desde el retículo sarcoplásmico (RS), aumenta la proliferación de células satélite y aumenta la reparación tisular a través de la síntesis de colesterol (90). Asimismo, el colesterol sintetizado a partir del HMB parece que puede ser utilizado para reparar la membrana celular, especialmente durante periodos de estrés muscular. Por último, se ha objetivado que la concentración plasmática de HMB está proporcionalmente correlacionada con la MMAE y la fuerza de agarre (92).

1.6.2.3. Efectos del HMB en parámetros de inflamación y cardiovasculares

Se ha estudiado en los últimos años los efectos que presenta el HMB a otros niveles en el organismo.

En cuanto a su efecto sobre la inflamación, se ha analizado su efecto sobre la DRE con inflamación (sin ejercicio) y sobre la inflamación tras el ejercicio. En el primer caso parece que mejora la función inmune aumentando la blastogénesis linfocitaria, produciendo más anticuerpos y aumentando la producción de óxido nítrico en los macrófagos. En el segundo caso, el ejercicio agudo de alta intensidad, a diferencia del ejercicio regular que ejerce un efecto antiinflamatorio, supone una elevación de los

marcadores de inflamación que aumentan la proteólisis, por lo que se ha estudiado el efecto del HMB suplementado antes y después del ejercicio físico, ya sea administrado de forma aguda (un solo día) o de forma prolongada (hasta 3 meses), mostrando unos resultados contradictorios (94).

Se ha estudiado también el efecto sobre el estrés oxidativo realizando un ensayo clínico randomizado doble ciego (102), observando que la suplementación con HMB no mejora los marcadores de estrés oxidativo.

Por último, se ha estudiado el efecto del HMB a nivel cardiovascular en condiciones basales de no ejercicio, donde se han observado resultados contradictorios, puesto que en algunos estudios como el de Nissen et al. (2000) (103) se objetiva un descenso del nivel sérico de los triglicéridos y del LDL-colesterol (lipoproteína de baja densidad) mientras que en otros como el de Hsieh et al. (2010) (104) no observó diferencias con la suplementación oral de HMB. En un estudio realizado en ratas con resistencia insulínica suplementadas durante 3 meses parecen indicar que el HMB aumenta la sensibilidad a la insulina y disminuye la hemoglobina glicosilada (HbA1c) y el contenido de glucógeno en el hígado, así como disminuye los niveles de triglicéridos, de LDL-colesterol y de VLDL-colesterol (lipoproteína de muy baja densidad) (94, 105).

1.6.3. SUPLEMENTACIÓN CON HMB

1.6.3.1. Suplementación oral con HMB en deportistas

Los datos derivados de estudios con animales y humanos sugieren que durante el ejercicio físico la síntesis proteica disminuye o no varía y que la proteólisis aumenta o no varía en el músculo, mientras que después del ejercicio, la síntesis proteica aumenta. Si hay un ejercicio físico regular, este incremento en la síntesis proteica conduce a hipertrofia a través de la activación de la vía Akt/mTOR. Sin embargo, en condiciones de ejercicio físico sin entrenamiento previo, o ejercicio físico con entrenamiento pero sin el descanso adecuado, se puede producir fatiga con una pobre recuperación muscular y, por tanto, trauma muscular. El trauma muscular desencadenaría una respuesta inflamatoria que aclararía los detritos del área dañada. El resultado es un descenso en la fuerza, dolor

muscular e incremento en los marcadores de inflamación a nivel sanguíneo, como el lactato deshidrogenasa y la creatina quinasa (93).

El ejercicio físico aumenta el gasto energético y promueve la oxidación de los AACR. Estudios con leucina marcada muestran que esta oxidación está aumentada de dos a tres veces el límite superior a la normalidad durante el ejercicio, y sus niveles plasmáticos están disminuidos tras el ejercicio (106).

Se ha observado que la suplementación con HMB en ejercicios de resistencia en individuos no entrenados o de mayor intensidad en individuos entrenados aumenta la masa y fuerza muscular y disminuye el daño muscular (107-110), disminuyendo el tiempo de recuperación al nivel previo al ejercicio (111). Sin embargo, parece no ser efectivo en el ejercicio que no aumenta de intensidad, puesto que la inhibición de la proteólisis que desencadena el entrenamiento parece mitigar los efectos del HMB (93). Recientemente se ha realizado un estudio sobre estudiantes varones no entrenados y que realizaron un ejercicio de resistencia, y se observó que en aquellos suplementados con HMB durante 8 semanas, frente a aquellos con placebo, presentaron un descenso en el porcentaje de masa grasa, así como menores niveles de creatinquinasa, LDH y PCR (112). Puesto que el ejercicio de resistencia estimula la síntesis proteica y el crecimiento de las células musculares desde 2 horas hasta 48 horas tras el ejercicio (113), el momento oportuno para la suplementación es durante o antes del ejercicio de resistencia (114), generalmente recomendando su administración al menos 1 hora antes del ejercicio (109).

1.6.3.2. Suplementación oral con HMB en ancianos

La sarcopenia está presente en el 5-10% de las personas mayores de 65 años, y una característica en los que presentan sarcopenia es una capacidad disminuida para aumentar la síntesis proteica en respuesta a señales anabólicas como la ingesta o el ejercicio de resistencia, regulado por la vía mTOR, debido probablemente al estrés oxidativo y a la inflamación de bajo grado presente en estos individuos.

Basado en los resultados las 2 revisiones sistemáticas realizadas hasta la fecha en población > 60 años se ha observado que la suplementación oral con HMB por un tiempo limitado aumenta la masa libre de grasa sin variación sobre la masa grasa y la función muscular (115, 116). No obstante, recientemente se ha publicado un ensayo clínico doble

ciego que combina el ejercicio de resistencia en pierna en hombres sanos > 65 años con HMB-FA vs ejercicio de resistencia con placebo durante 6 semanas (117). El estudio no encontró diferencias en la fuerza y masa muscular (valorada ecográficamente) entre los grupos, salvo un aumento de la masa magra del muslo medida por DXA en el grupo de HMB-FA. En estudios realizados sobre ratas, en el primero se objetivó menores niveles de HMB plasmático y menores niveles de KIC dioxigenasa en ratas viejas respecto a ratas jóvenes (118). En el segundo se vio que ratas ancianas suplementadas con HMB-Ca eran capaces de mantener la fuerza de manera dependiente a la función de las células satélite musculares (119).

1.6.3.3. Suplementación oral con HMB en pacientes con caquexia

La caquexia es un proceso que supone la activación de la proteólisis a través del complejo ubiquitina-proteosoma, activado por varios mecanismos entre los que se incluyen las citoquinas, las especies de oxígeno reactivas y las ciclooxigenasas, así como la activación de la autofagia. En la caquexia está aumentada la oxidación de los AACR para utilizarlos como fuente de energía, habiéndose objetivado que hay un aumento de la actividad de la BCKDH, por lo que se ha hipotetizado que el aumento del flujo de KIC hacia la BCKDH disminuye el metabolismo de la KIC dioxigenasa y disminuye la producción de HMB (93).

Se han realizado estudios experimentales con suplementación con HMB en situación de sarcopenia tanto in vitro, como en animales y en humanos. Tanto en los estudios in vitro como en animales, en la mayoría se demuestra la acción del HMB a través de la disminución de la actividad del proteosoma y, en menor medida, de la autofagia, pero no sobre el aumento de la síntesis proteica (93). En los estudios sobre humanos hay resultados contradictorios según la patología estudiada, encontrando resultados positivos en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la fractura de cadera, en el cáncer y en el sida, no encontrando efecto en la enfermedad reumatológica, la insuficiencia renal y el bypass gástrico (93). No obstante, hay pocos estudios sobre humanos con suplementación exclusiva con HMB y la mayoría son mezclas con otros componentes como glutamina, arginina, leucina, etc y por tanto es difícil analizar el efecto del HMB en concreto (93). Una reciente revisión publicada en 2019 (100) en sarcopenia de la suplementación oral con HMB, de forma aislada o asociada a otros nutrientes

hipocalóricos, que incluía 15 ensayos clínicos aleatorizados, evidenciando un aumento de la masa muscular esquelética y de la fuerza muscular, aunque el tamaño del efecto fue pequeño.

1.6.3.4. Suplementación oral con HMB en pacientes con cirrosis hepática

Los estudios de suplementación con HMB en cirrosis hepática son muy recientes. En un ensayo clínico randomizado en hombres tras TOH (120) se analizó el efecto de la suplementación oral durante 12 semanas con 3g diarios de HMB, y en el grupo HMB se observó un aumento al finalizar la suplementación y mantenido a los 12 meses del MMAE, de la circunferencia media muscular del brazo y de la fuerza de agarre, no observado en el grupo control (zumo de frutas). En otro estudio de suplementación con HMB sobre ratas, sanas y cirróticas (121), se observó que la suplementación sobre ratas sanas provocaba un aumento de ATP en el músculo, y un aumento de los niveles de AACR tanto en el plasma como en el músculo, sin aumento de la masa proteica ni muscular. Sobre las ratas cirróticas se observó un efecto deletéreo: un aumento de la mortalidad, una disminución de la ganancia de peso, un descenso del ATP en el hígado, un aumento de la actividad de las catepsinas en el hígado y no encontró efecto sobre la masa proteica ni muscular; el beneficio sobre las ratas cirróticas se restringió a un aumento del ATP en el músculo, un aumento de los niveles de AACR en el plasma y no efecto sobre los marcadores de daño hepático. Recientemente se ha publicado un ensayo clínico randomizado (122) que evalúa el efecto del HMB en individuos con cirrosis hepática compensada (Child-Pugh A y B), observándose un aumento ecográfico de la masa muscular del cuádriceps así como de los test de función muscular, sin beneficio sobre la BIA ni sobre la fuerza muscular. No hay estudios hasta la fecha de suplementación oral con HMB asociado a otros nutrientes calóricos.

1.6.3.5. Suplementación oral con HMB en individuos sanos

Se ha estudiado, por último, el efecto de la suplementación de HMB sobre individuos sanos y se ha demostrado que no existe el efecto positivo observado en aquellos que realizan ejercicio de resistencia, ancianos o con caquexia. Parece que la explicación, aunque actualmente no está bien estudiado, es que el HMB modula la

proteostasis a favor de las reacciones anabólicas y que su acción ocurre cuando se dan condiciones de desgaste muscular (93).

1.6.3.6. Suplementación oral con HMB asociado a nutrientes hipercalóricos

Los estudios previamente nombrados incluyen formulaciones del HMB administrado solo o con otros nutrientes hipocalóricos como aminoácidos, en los que se evalúa su efecto sobre la masa a través de diversos métodos antropométricos (principalmente DXA o ecografía muscular), y sobre la función muscular mediante la fuerza de agarre o test de funcionalidad, y en los que el peso y la masa grasa permanecen sin variación al no asociar calorías. Sin embargo, existen formulaciones del HMB junto con otros nutrientes que aportan un componente calórico para aquellos escenarios en los que existe una malnutrición mixta, de tipo calórico-proteico. Existen estudios recientes en los que se ha evaluado el efecto del HMB bajo una formulación hipercalórica e hiperproteica en escenarios como la caquexia (especialmente por cáncer) (123) y en pacientes añosos (124, 125). En términos globales, lo que se objetivó es una ganancia de peso y de masa grasa, así como una mejoría de la masa libre de grasa y de la fuerza de agarre (126), de mayor magnitud en aquellos en los que estaba basalmente disminuida.

1.7. ENSAYO CLÍNICO

Un ensayo clínico es un estudio prospectivo realizado en humanos, que compara el efecto de una intervención (en el grupo experimental) con un grupo control. La aleatorización se define como la asignación de los sujetos de estudio al azar, con la misma oportunidad de ser elegidos en el grupo control o experimental. El enmascaramiento/ciego se define como el desconocimiento de la asignación a la cual fue sometido (grupo control o de intervención), ya sea el paciente y/o el investigador y/o analista de los datos.

El ensayo clínico aleatorizado (ECA) es el método de referencia entre los ensayos clínicos, ya que la asignación aleatoria de la intervención controla el potencial sesgo de

selección, representando la forma más rigurosa de establecer una relación causal entre una intervención sanitaria y su efecto.

Las características fundamentales son:

- La descripción detallada de los criterios de inclusión, las características de la intervención aplicada, las características basales de los sujetos participantes, el cálculo del tamaño muestral y la potencia del estudio.
- La asignación aleatoria, junto con un adecuado ocultamiento de la secuencia de aleatorización.
- El ciego de uno, de varios o de todos los participantes.
- La correcta recogida de las pérdidas y abandonos en cada grupo durante el seguimiento junto con las causas.
- El análisis de los datos con el método conocido como intención de tratar, es decir, analizados en los grupos a los que inicialmente fueron asignados.

A mediados de la década de los noventa del siglo XX un grupo de expertos elaboró la declaración CONSORT (*Consolidated Standards of Reporting Trials*), con una serie de recomendaciones para mejorar la calidad de los informes de los ECA. Por otra parte, el mismo grupo creó un diagrama de flujo que describe los cuatro estadios de un ensayo clínico (selección-reclutamiento de los participantes, asignación de la intervención, seguimiento y análisis) (Anexo I) (127).

2. HIPÓTESIS

«Si no persigues lo que quieres, nunca lo tendrás. Si no preguntas, la respuesta siempre será no. Si no das un paso adelante, siempre estarás en el mismo lugar» (Nora Roberts).

HIPÓTESIS

En la cirrosis hepática existe un estado hipercatabólico que conduce a un aumento de la oxidación de AACR al utilizarnos como fuente de energía, disminuyendo sus niveles y la producción de HMB. La suplementación con HMB actúa en el balance proteico disminuyendo la proteólisis y aumentando la síntesis proteica. Hasta el momento, se ha estudiado el papel de la suplementación con AACR en individuos con cirrosis hepática y malnutrición y/o sarcopenia, pero no existe suficiente evidencia que evalúe la eficacia de la suplementación oral con HMB en cirrosis hepática.

Las hipótesis que planteamos son las siguientes:

1. La suplementación oral con HMB asociado a otros nutrientes podría mejorar la composición corporal y la fuerza muscular en individuos con cirrosis hepática con malnutrición clínica moderada o grave.
2. Este efecto beneficioso podría ser superior al obtenido con suplementación oral a base de preparados sin HMB.
3. La suplementación oral con HMB produciría efectos nutricionales y clínicos beneficiosos en individuos con cirrosis hepática.

3. OBJETIVOS

«Si crees que puedes, ya estás a medio camino» (Theodore Roosevelt).

OBJETIVO PRINCIPAL

Estudiar el efecto de la suplementación oral con HMB asociado a otros nutrientes en la composición corporal mediante la antropometría y bioimpedancia (BIA), en la fuerza de agarre y en los parámetros analíticos nutricionales, en individuos con cirrosis hepática y malnutrición clínica moderada o grave.

OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Estudiar la farmacocinética de la suplementación oral con HMB sobre individuos sanos
- Estudiar el efecto durante la suplementación oral con HMB sobre:
 - Las escalas pronósticas de cirrosis hepática: Child-Pugh, MELD
 - Los eventos de descompensación hepática
 - Otras complicaciones de la cirrosis hepática
 - La encefalopatía hepática mínima
 - Parámetros analíticos de función hepática, riesgo cardiovascular, inflamación y remodelación ósea
 - Los niveles plasmáticos de aminoácidos y la correlación con la encefalopatía hepática mínima
- Estudiar el efecto a largo plazo de la suplementación oral con HMB sobre:
 - Las escalas pronósticas (Child-Pugh, MELD) y supervivencia
 - Los eventos de descompensación hepática
 - Otras complicaciones de la cirrosis hepática
 - Parámetros analíticos de función hepática, inflamación y metabolismo lipídico
- Estudio in vitro del efecto del acetato de amonio y del HMB sobre miotubos

4. MATERIAL Y MÉTODOS

«Si no eres terco, te rendirás de tus propios experimentos antes de tiempo. Y si no eres flexible, te darás golpes contra una pared y no verás una solución distinta al problema que intentas resolver» (Jeff Bezos).

La presente tesis doctoral abarca 4 partes, la primera un estudio preliminar de farmacocinética en voluntarios sanos con HMB, la segunda el ensayo clínico propiamente dicho, la tercera un estudio posterior de seguimiento a 1 año con los pacientes del ensayo clínico, y la cuarta un estudio in vitro con HMB.

4.1. ESTUDIO DE FARMACOCINÉTICA CON HMB

Se realizó previamente al inicio del ensayo clínico con voluntarios adultos sanos. Se administró de forma oral una botella de 220ml de Ensure® Plus Advance, que contiene 1,5 gramos de calcio HMB (calcio HMB o HMB-Ca) con otros nutrientes asociados. Se realizó en 5 personas (4 mujeres y 1 hombre) en reposo y bajo condiciones de ayuno, y se tomaron 6 determinaciones analíticas de la concentración plasmática de HMB en diferentes tiempos: basal (antes del bolo oral), y tras el bolo: a las 1h, 2h, 3h, 4h y 5,5 horas.

4.2. ENSAYO CLÍNICO

4.2.1. CONSIDERACIONES ÉTICAS DEL ESTUDIO

Este proyecto de investigación cumple con los principios de la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEIC-A) (ref. PI17/0258). El estudio está registrado en www.clinicaltrials.gov con el identificador: NCT03285217. Se han seguido las recomendaciones de la declaración CONSORT.

Todos los individuos participantes fueron informados del estudio por el investigador principal de forma verbal y escrita (Anexo II) y dieron su consentimiento por escrito a la participación en el mismo (Anexo III). Se les informó de la posibilidad de salir del ensayo clínico en cualquier momento a lo largo de su duración.

4.2.2. DISEÑO DEL ENSAYO

Se trata de un ensayo clínico controlado, aleatorizado, doble ciego, con grupos paralelos. Participaron 2 hospitales: el Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza y el Hospital Clínico Universitario de Zaragoza, que son los hospitales de referencia de los Sectores Sanitarios II y III, respectivamente, de Zaragoza. El ensayo clínico se ha llevado a cabo en el Hospital Universitario Miguel Servet.

4.2.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Los criterios de inclusión de los sujetos participantes en el estudio son:

- Edad \geq 40 años, $<$ 80 años
- Cirrosis hepática avanzada con al menos 1 descompensación previa
- Cualquier etiología, incluido alcohol
- Malnutrición clínica moderada (B) o grave (C) valorada por el cuestionario VSG (screening nutricional)
- Se incluyeron pacientes con ascitis (grado I-III), incluso refractaria

4.2.4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Cirrosis hepática sin descompensación previa
- Diabetes mellitus conocida
- Tratamiento con corticoides
- Hepatocarcinoma
- Infección no controlada
- Encefalopatía hepática manifiesta los 3 meses previos
- Hemorragia digestiva por varices los 3 meses previos
- Fallo hepático agudo sobre crónico previo

- Trasplante hepático
- No malnutrición (A) valorada por el cuestionario VSG

4.2.5. SELECCIÓN DE SUJETOS

La captación de sujetos se realizó durante el periodo comprendido entre julio del 2017 y enero del 2018, en los Servicios de Digestivo de los hospitales participantes. La selección se realizó a través de diferentes vías:

- Pacientes estables al alta tras una descompensación, siempre y cuando cumplieran todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión.

- Pacientes en régimen de paracentesis evacuadoras periódicas por ascitis refractaria.

- Paciente estables en revisión desde Consultas Externas de Hepatología del Hospital Miguel Servet, que habían presentado alguna descompensación (ascitis, hemorragia digestiva por varices o encefalopatía hepática) los 2 años previos, se les envió una carta de invitación a la participación en el estudio (Anexo IV). Se le realizó una llamada telefónica a cada uno de ellos tras 2 semanas y, en caso de acceder a participar, se incluyeron aquellos que cumplían criterios de malnutrición por VSG. Se enviaron 70 cartas.

4.2.6. INTERVENCIÓN Y GRUPO CONTROL

El ensayo clínico consistió en una suplementación nutricional oral durante **12 semanas, 2 veces al día (220ml en cada toma)**, con sabor a vainilla. Se recomendó a todos los pacientes realizar la primera toma tras el almuerzo y la segunda toma antes de acostarse.

La suplementación oral con **HMB** (GRUPO HMB) se realizó bajo la fórmula comercializada de **Ensure® Plus Advance**, con las siguientes características nutricionales (por botella de 220ml) (Anexo V):

- Proteínas: 20g (24,27%)

- Carbohidratos: 37g (46,92%)
- Grasas: 11g (28,81%)
- Densidad calórica: 1,5Kcal/ml
- **HMB-Ca: 1,5g**

El GRUPO CONTROL se realizó bajo la suplementación oral con la fórmula comercializada **Ensure® Plus High Protein**, con las siguientes características nutricionales (por botella de 220ml) (Anexo IV):

- Proteínas: 17,4g (25,32%)
- Carbohidratos: 35g (50,89%)
- Grasas: 7,3g (23,79%)
- Densidad calórica: 1,25Kcal/ml

Por tanto, el **grupo HMB recibió una dosis de 3g diarios de HMB-Ca**, con mayor dosis de vitamina D y mayor densidad calórica, mientras que el grupo control recibió mayor porcentaje relativo proteico, sin HMB.

4.2.7. ALEATORIZACIÓN Y ENMASCARAMIENTO

La aleatorización se realizó a partir de las variables: VSG, edad, sexo, etiología de la cirrosis y Child-Pugh score. La randomización por bloques permutados con un tamaño aleatorio de bloque se hizo utilizando el software estadístico R, con los participantes asignados al azar a uno de los dos grupos de estudio.

El enmascaramiento se consiguió al colocarse las asignaciones de forma independiente en sobres numerados cerrados y abrirse secuencialmente por un solo investigador (analizador) después de que los participantes dieran su consentimiento informado. El médico que evaluó a los pacientes en las 3 visitas estaba cegado a la

asignación de grupos. Se les retiró la envoltura de plástico externa a los suplementos orales para que los pacientes desconocieran el grupo al que pertenecían.

4.2.8. TAMAÑO DE LA MUESTRA Y POTENCIA ESTADÍSTICA

Asumiendo un valor α de 0,05 y un efecto bilateral, un tamaño de muestra de 21 participantes por grupo dio un poder estadístico superior al 80% para detectar cambios longitudinales específicos del tratamiento.

4.2.9. VARIABLES DEL ESTUDIO

Las variables del ensayo clínico se recogieron en 3 momentos:

- Basalmente (previo al inicio de la suplementación) (**T0**)
- A las 6 semanas del inicio de la suplementación (mitad del estudio) (**T1**)
- Al final del estudio, a las 12 semanas del inicio de la suplementación (**T2**)

Tanto las variables analíticas como las antropométricas son similares en los 3 momentos estudiados, mientras que las variables clínicas varían ligeramente en el momento basal respecto a los dos tiempos, por lo que se describen por separado.

4.2.9.1. Determinación de variables clínicas

- Basalmente

A nivel basal se recogió información de cada paciente, dividida en:

- Demográfica: edad, sexo, abstinencia/consumo de alcohol
- Etiología de la cirrosis hepática
- Estado clínico: ascitis (si/no, grados: 1,2,3), edemas (si/no), paracentesis evacuadoras periódicas (si/no), encefalopatía hepática previa (si/no),

infección previa hace menos de 3 meses (si/no), ingreso previo hace menos de 3 meses (si/no), portador de TIPS (si/no).

- Tratamientos farmacológicos: diurético (si/no), lactulosa (si/no), beta-bloqueante (si/no), estatina (si/no), vitamina D (si/no).
- Escalas pronósticas: Child Pugh, MELD
- Valoración nutricional: VSG (Anexo VI), MNA (Anexo VII)
- Mini Mental (Anexo VIII)
- PHES (Anexo IX). Los resultados se evaluaron a través de la plataforma española online *RedEH*

- A las 6 y 12 semanas

- Escalas pronósticas: Child Pugh, MELD
- Descompensaciones: ascítica, encefalopatía hepática, hemorragia digestiva variceal
- Complicaciones: infección, insuficiencia renal (AKI estadio ≥ 1), ACLF
- Necesidad de ingreso por descompensación hepática o complicación
- PHES
- Aparición de novo de HCC
- Abstinencia/consumo de alcohol
- Efectos adversos secundarios al suplemento oral
- Éxito y causa

El cuestionario PHES se explicó al inicio del estudio, en el momento basal, realizando el paciente el ejemplo correspondiente previo a la prueba de conexión numérica A y B y a la clave de números para asegurarse del entendimiento del ejercicio.

En el caso de presentar dudas en los siguientes momentos de evaluación (a las 6 y/o 12 semanas) el paciente volvió a completar los ejemplos antes de realizar el ejercicio.

4.2.9.2. Determinación de variables analíticas

Las variables analíticas se recogieron a partir de una muestra de sangre venosa y se pueden dividir en 6 grandes grupos:

1) Parámetros nutricionales: prealbúmina, albúmina, proteínas totales, metabolismo del hierro, vitamina B12, ácido fólico, glucosa.

2) Parámetros de función hepática y enzimas hepáticas: bilirrubina total, bilirrubina directa, albúmina, INR, fosfatasa alcalina (FA), gamma-glutamil transferasa (GGT), glutámico oxalacético transaminasa (GOT), glutámico-pirúvica transaminasa (GPT), amonio plasmático.

3) Parámetros de riesgo cardiovascular: triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, APO A1 (principal componente proteico del colesterol HDL), APO B (principal componente proteico del colesterol LDL), lipoproteína A, ácido úrico.

4) Parámetros de remodelado óseo: parámetros de formación ósea: fosfatasa alcalina ósea, osteocalcina intacta y propéptido C terminal de Colágeno tipo I (PICP); y parámetros de resorción ósea: Telopéptido C-terminal del colágeno tipo I (CTX).

5) Otros: proteína C reactiva (PCR), urea, creatinina, LDH, hemograma, vitamina D, niveles plasmáticos de HMB.

6) Aminoácidos en sangre: Se analizaron los niveles plasmáticos de los aminoácidos en cada visita del ensayo clínico, en ayunas. Se calcularon los siguientes valores:

- AACR: suma de leucina + isoleucina + valina

- AAA: suma de fenilalanina + tirosina + triptófano

- Índice de Fischer se calculó como la suma de leucina + isoleucina + valina, dividido entre fenilalanina + tirosina

- Índice glutamina/glutamato

4.2.9.3. Determinación de variables antropométricas

Se realizó una evaluación exhaustiva con los métodos disponibles a nuestro alcance de la antropometría de cada paciente. Se recogió información de:

- Variables antropométricas: talla, peso, pliegue bicipital, pliegue tricipital, circunferencia braquial, circunferencia de la pantorrilla. El IMC se calculó a partir de la talla y el peso, y la circunferencia muscular del brazo se calculó a partir de la circunferencia braquial y del pliegue tricipital. Los pliegues antropométricos se evaluaron con un plicómetro mecánico y las circunferencias con una cinta métrica flexible. Los pliegues cutáneos estiman la masa grasa y la circunferencia muscular del brazo la masa muscular.
- Variables de impedanciometría bioeléctrica: se tomaron las variables de R y Xc y se calcularon el resto de los valores a partir del programa estadístico *Bodygram Plus*®. La impedanciometría se evaluó con el impedanciómetro de frecuencia única Akern BIA 101 con el método mano-pie. Se analizó la “masa muscular” a partir de la “masa libre de grasa” (MLG) y del “índice de masa muscular” (IMM).
- Variable de fuerza muscular: fuerza de agarre o “hand grip” en la mano dominante, realizando 3 determinaciones y seleccionando el valor máximo (Kg). La fuerza de agarre se determinó con un dinamómetro de mano hidráulico Jamar.

Para cada determinación, el paciente acudió en ayunas (al menos 2 horas) y con la vejiga vacía. En el caso de realizarse paracentesis evacuadoras programadas, se evaluó el mismo día después de la salida máxima del volumen ascítico.

4.2.10. DETERMINACIÓN DE HMB Y AMINOÁCIDOS

Las técnicas se realizaron en el Servicio de Bioquímica del Hospital Universitario Miguel Servet.

Determinación de HMB

Se empleó una metodología de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Brevemente, se añadieron 25µl de solución estándar (ácido trópico 6 mM en MeOH) a 975 µl de plasma. La solución se extrajo 2 veces con 2ml de acetato de etilo. A continuación, la fase orgánica se transfirió a un segundo tubo y se evaporó hasta la sequedad en nitrógeno a 50°C. El residuo de evaporación se mezcló con 50µl de piridina y 50µl de BSTFA (N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide) para derivatizar. La mezcla fue incubada durante 30 minutos a 60°C y finalmente se introdujo en el cromatógrafo.

Determinación de aminoácidos

Los aminoácidos se identificaron en plasma mediante cromatografía de intercambio catiónico con derivatización post-columna con ninhidrina en el analizador Biochrom 30+ (Biochrom Ltd, UK). Se utilizaron 5 tampones de elución de citrato de litio para separar el aminoácido y una reacción post-columna de los aminoácidos con la ninhidrina formó un complejo con color. La detección ultravioleta de los aminoácidos se obtuvo a 2 longitudes de onda, 570 y 440nm, según el tipo de aminoácido determinado.

4.2.11. ANÁLISIS DE LOS DATOS

Los análisis estadísticos se hicieron utilizando el software estadístico R (versión 3.4.3) y los paquetes apropiados de acuerdo con el plan de análisis estadístico predefinido. Los datos categóricos se presentaron como número de casos y porcentajes y se compararon mediante las pruebas de χ^2 con corrección de Yates. Las variables cuantitativas normales se presentaron como la media y la desviación estándar y se compararon con las pruebas t de Student. Las variables no normales se presentaron como la mediana y el rango intercuartílico y se compararon con las pruebas U de Mann-Whitney. En los resultados, las figuras se representan a través del “diagrama de caja y bigotes” o “box plot”, en el que la “caja” incluye los cuartiles (Q1 al Q3) con la mediana (Q2), y el “bigote” del valor mínimo al máximo.

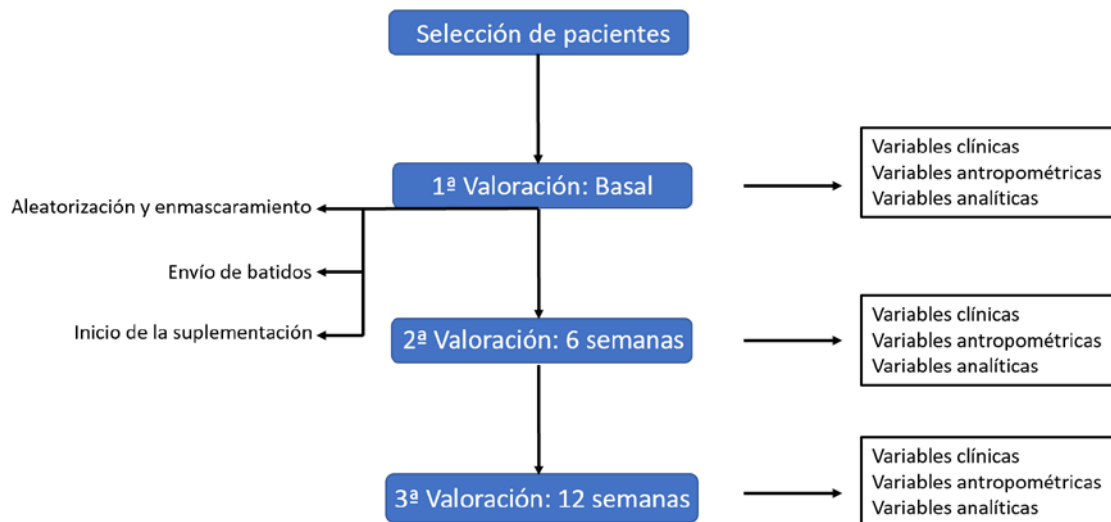
Para el análisis longitudinal se ha utilizado el análisis por intención de tratar, el cual incluye a todos los participantes aleatorizados, con independencia de si terminaron el protocolo completo del estudio. Los datos se modelaron utilizando un modelo lineal mixto para medidas repetidas para: 1) tomar en consideración la evaluación repetida de cada variable y 2) tener en cuenta los efectos de las covariables en los cambios de la variable a lo largo del tiempo. No se imputaron los valores perdidos en las variables resultado. El modelo lineal mixto produjo diferentes p-valores para la variación de cada variable sobre el tiempo (*p_{long}*) y cambios longitudinales específicos de tratamiento, es decir, resultantes de la interacción entre los cambios longitudinales y el tratamiento (*p_{int}*). La significación se estableció para $p < 0.05$.

4.2.12. PROTOCOLO DEL ESTUDIO

1. Selección por el investigador evaluador de aquellos individuos candidatos con cirrosis hepática y malnutrición que cumplieran todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión. Se les entregó el documento informativo del estudio y el documento de consentimiento informado.
2. A cada paciente incluido en el estudio se le realizó una valoración clínica, antropométrica y analítica basal y se recogió información personal (teléfono, dirección). El investigador analizador realizó la aleatorización y el ciego de los pacientes. Envío de los suplementos orales (180 a cada individuo) a domicilio.
3. Tras 6 semanas del inicio de la suplementación, se realizó una segunda visita donde se recogieron variables clínicas, antropométricas y analíticas, así como información acerca de la tolerancia a la suplementación oral.
4. Tras 12 semanas y con el fin de la suplementación, se realizó la tercera y última visita en la cual se recogieron variables clínicas, antropométricas y analíticas. Se recogió igualmente información sobre la tolerancia a la suplementación.
6. En el caso de pacientes perdidos, se informó de las causas y se realizó una valoración de estas.

Todo ello se resume en la Figura 13.

Figura 13. Protocolo del ensayo clínico



4.3. ESTUDIO DE SEGUIMIENTO LONGITUDINAL

4.3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO LONGITUDINAL

Se trata de un estudio observacional de todos aquellos individuos incluidos en el ensayo clínico, a lo largo de 12 meses desde el fin de la suplementación. Se trata, pues, de un estudio exclusivamente observacional y no se realizaron visitas adicionales ni se solicitaron analíticas complementarias a las realizadas por seguimiento habitual.

Se revisó a través de la historia clínica los eventos de descompensación o complicación y aquellos que justificaron ingreso hospitalario, así como se recogió una analítica de seguimiento, que estuvo comprendida entre los 2 y los 6 meses siguientes al fin del ensayo clínico.

4.3.2. VARIABLES DEL ESTUDIO LONGITUDINAL

4.3.2.1. Escalas pronósticas y de supervivencia

Se analizaron las principales escalas pronósticas de la cirrosis hepática: Child-Pugh y el MELD score, con la información obtenida del análisis sanguíneo recogido en

el seguimiento y la información de la historia clínica actualizada (eventos de descompensación y tratamiento).

Se calculó la supervivencia de todos los pacientes incluidos en el ensayo clínico, desde el inicio del ensayo clínico hasta 12 meses posteriores al final de este, por lo que se analizó un tiempo de supervivencia global de 15 meses.

4.3.2.2. Variables clínicas

Se recogió información de las siguientes variables, distinguiendo aquellas que habían motivado ingreso hospitalario.

- Eventos de descompensación: descompensación hidrópica, hemorragia por sangrado variceal, encefalopatía hepática.
- Complicaciones de la cirrosis hepática: insuficiencia renal, infección o ACLF (*Acute-on-Chronic Liver Failure*).
- Éxitus.
- Otros: abstinencia alcohólica, colocación de TIPS, aparición de HCC de novo.

4.3.2.3. Variables analíticas

Sobre una muestra de sangre venosa se recogió información sobre los principales parámetros de función hepática, del metabolismo lipídico y de inflamación, solicitado por analítica rutinaria desde consultas externas.

4.3.3. ANÁLISIS DE LOS DATOS

Las curvas de supervivencia se utilizaron con el método de Kaplan-Meier y los resultados se compararon con el test de log-rank. Para el análisis de las variables, los datos categóricos se presentaron como número de casos y porcentajes y se compararon mediante las pruebas de χ^2 con corrección de Yates. Las variables cuantitativas normales se presentaron como la media y la desviación estándar y se compararon con las pruebas t de Student y las variables no normales se presentaron como la mediana y el rango

intercuartílico y se compararon con las pruebas U de Mann-Whitney. La significación se estableció para $p < 0.05$.

4.4. ESTUDIO IN VITRO

Se realizó un estudio in vitro sobre la línea celular murina C2C12 para comprobar el efecto del HMB sobre la viabilidad celular de miotubos en condiciones de hiperamonemia:

- 1) Los mioblastos C2C12 crecieron hasta la confluencia en el medio DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) con 20% de suero bovino fetal (SBF).
- 2) Posteriormente se cambió al medio DMEM + 2% suero de caballo durante 10 días para la diferenciación celular.
- 3) Las células fueron expuestas a diferentes concentraciones de acetato de amonio (5, 10, 25, 50 y 100mM y control) durante 24 horas.
- 4) Se evaluó la viabilidad celular mediante el método colorimétrico con Janus Green para determinar aquella concentración de amonio que no resultase letal.
 - Brevemente, se fijaron las células a la placa con formalina al 20% y se tapó con parafina durante 24 horas. Se extrajo la formalina, se realizó la tinción con 200 μ l de Janus Green al 0,3% por pocillo y se agitó 5 minutos. Se retiró el tinte, se lavó con agua destilada y se añadió ácido clorhídrico. Por último, se midió mediante espectrofotometría con una longitud de onda de 595nm.
- 5) Se estudió el efecto del acetato de amonio sobre el ARNm (ácido ribonucleico mensajero) de diferentes genes relacionados con la viabilidad del miotubo, la síntesis proteica y la utilización de substratos.
- 6) Se estudió el efecto de diferentes concentraciones de HMB (100, 500 μ M y control) sobre el ARNm de los genes anteriormente descritos.

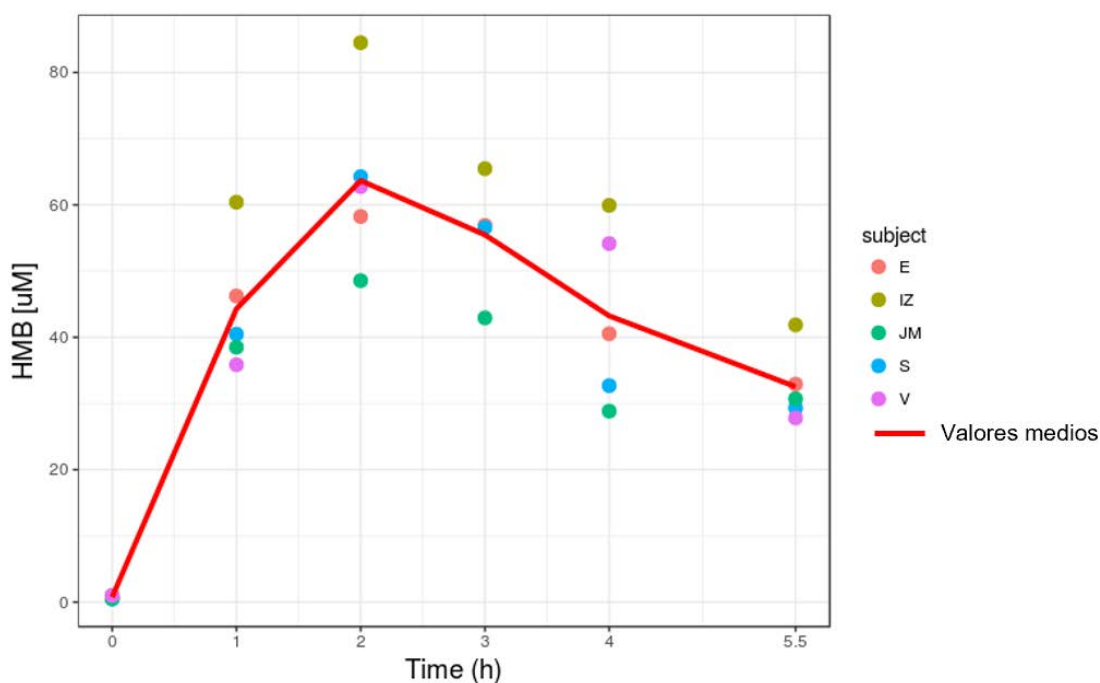
5. RESULTADOS

«Tú no eres tu currículum, eres tu trabajo» (Seth Godin).

5.1. ESTUDIO DE FARMACOCINÉTICA DEL HMB

Se realizó un estudio de farmacocinética para confirmar que el tratamiento con HMB producía un aumento de los niveles plasmáticos de HMB. Se determinó la concentración máxima plasmática (C_{max}) y el tiempo en alcanzar la C_{max} . Los resultados se muestran en la Figura 14, objetivándose una C_{max} de $60\mu\text{M}$ ($=\mu\text{mol/l}$) y siendo el tiempo en alcanzar la C_{max} de 2 horas.

Figura 14. Estudio de farmacocinética del HMB en individuos sanos adultos en reposo



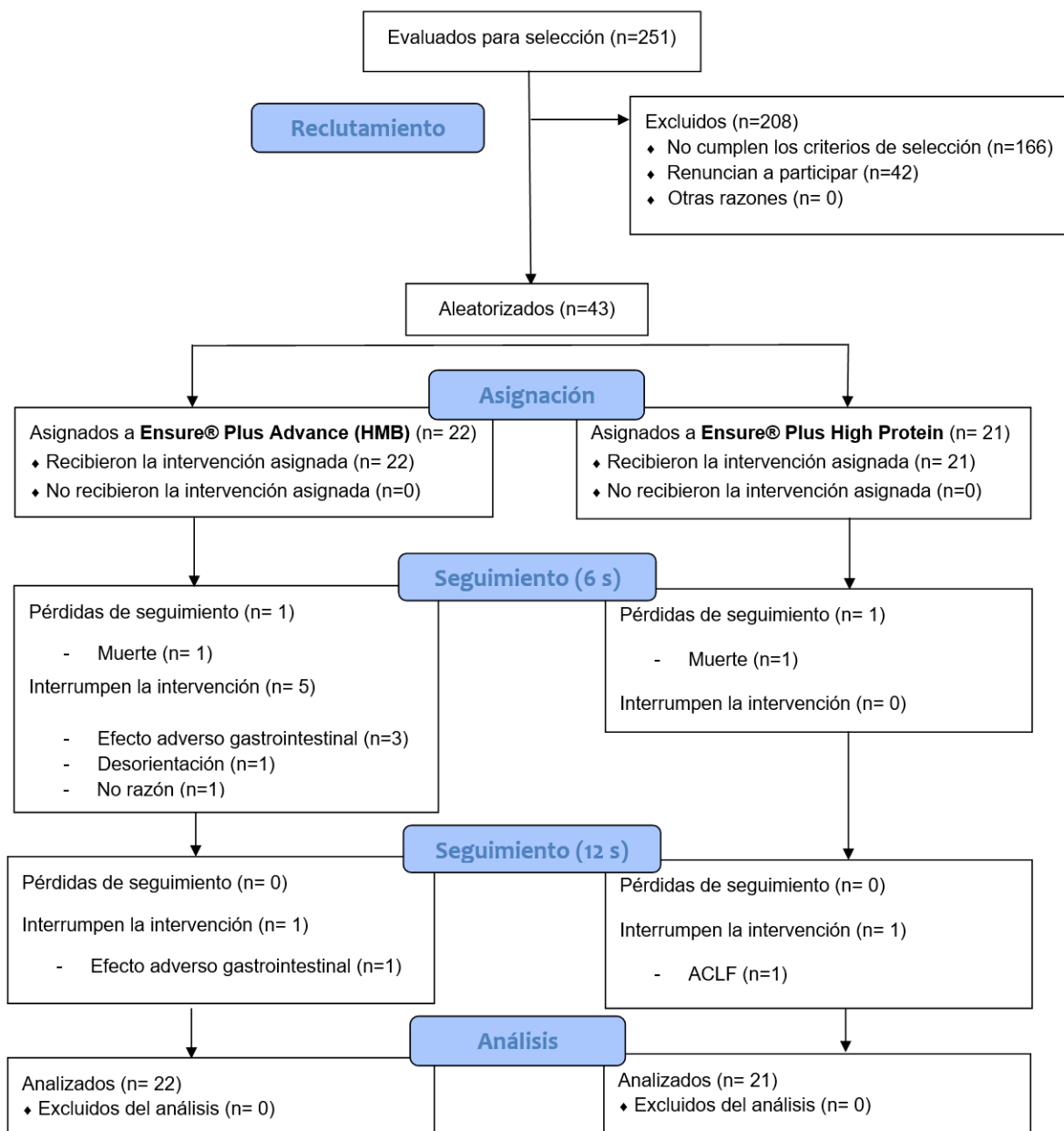
5.2. ENSAYO CLÍNICO

5.2.1. DIAGRAMA DE FLUJO

Se evaluaron todos los pacientes con cirrosis hepática que acudieron a las Consultas Externas de Hepatología y a la planta hospitalaria del Hospital Universitario Miguel Servet del Sector Sanitario Zaragoza II, realizando una primera selección de 250 pacientes. Se revisaron todas las historias clínicas, descartando aquellos que presentaban criterios de exclusión y, finalmente, se seleccionaron 86 pacientes. Tras la invitación a la

participación, renunciaron 42 individuos y 2 pacientes no fueron seleccionados finalmente por no presentar malnutrición clínica. Durante el periodo de reclutamiento, se incluyó 1 paciente del Sector Sanitario Zaragoza III que cumplía con los criterios de selección. Finalmente, el ensayo clínico incluyó un total de 43 pacientes. Se resume en la Figura 15.

Figura 15. Flujograma del ensayo tipo CONSORT



ACLF: Fallo hepático agudo sobre crónico (del inglés “*Acute-on-Chronic Liver Failure*”)

En el estudio hubo 9 pacientes perdidos, 7 antes de la segunda visita y 2 después de la segunda visita, por lo que se realizaron en total 113 valoraciones.

5.2.2. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA POBLACIÓN

5.2.2.1. Datos clínico-demográficos basales

En la Tabla 5 se muestran las principales características clínico-demográficas de la población. Los datos se expresan como la media (desviación estándar) o el número de casos (%).

No se encontraron diferencias significativas en ninguna de las variables estudiadas entre los grupos. La edad media en el grupo HMB fue de 60,4 ($\pm 8,61$) años mientras que en el grupo control fue de 61,4 ($\pm 9,27$) años. En ambos grupos predominaban los hombres (63,6% en el grupo HMB frente al 61,9% en el grupo control). En cuanto a la etiología de la cirrosis hepática, en ambos grupos el alcohol fue la principal causa. No hubo diferencias entre los grupos en el consumo activo de alcohol al inicio del estudio.

En lo referente al estado clínico, en el grupo HMB el 54,5% presentaban ascitis, el 27,3% edemas, el 18,3% recibían paracentesis evacuadoras periódicas (ascitis grado 3), el 9,09% habían presentado un episodio previo de encefalopatía hepática, el 9,09% habían tenido una infección los últimos 3 meses, el 27,3% habían tenido un ingreso los últimos 3 meses y el 4,55% eran portadores de TIPS. En el grupo control el 42,9% tenían ascitis, el 9,52% edemas, el 0% se realizaba paracentesis evacuadoras periódicas (ninguno ascitis grado 3), el 14,3% habían presentado un episodio previo de encefalopatía hepática, el 19% habían tenido una infección los últimos 3 meses, el 23,8% habían tenido un ingreso los últimos 3 meses y el 4,76% eran portadores de TIPS.

En cuanto a tratamientos farmacológicos en el momento basal, en el grupo HMB el 68,2% tomaban diuréticos, el 22,7% lactulosa, el 36,4% beta-bloqueante, el 13,6% estatinas y el 13,6% vitamina D. En el grupo control el 57,1% consumían diuréticos, el 4,76% lactulosa, el 47,6% beta-bloqueante, el 4,76% estatinas y el 23,8% vitamina D.

Para la valoración de la función hepática se utilizaron las escalas pronósticas MELD y Child-Pugh. En el grupo HMB la puntuación media del MELD fue de 12,7 y la

media del Child-Pugh de 7,18, con un 40,94% en la clase A, un 50% en la clase B y un 9,09% en la clase C. En el grupo control la puntuación media del MELD fue de 13 y la media del Child-Pugh de 6,86, con un 47,64% en la clase A, un 52,32% en la clase B y un 0% en la clase C.

Para la valoración nutricional se utilizaron las escalas VSG y MNA. En el grupo HMB, por valoración mediante VSG el 63,6% presentaba clase B o malnutrición moderada y el 36,4% restante clase C o malnutrición severa; en la valoración por MNA, la puntuación media fue de 19,5 puntos, con un 77,3% con riesgo de malnutrición (de 17 a 23,5 puntos) y un 22,7% con malnutrición (menos de 17 puntos). En el grupo control, por valoración mediante VSG el 81% presentaba clase B o malnutrición moderada y el 19% restante clase C o malnutrición severa; en la valoración por MNA, la puntuación media fue de 19,9 puntos, con un 80,96% con riesgo de malnutrición y un 19,04% con malnutrición.

Por último, se realizó una valoración neurológica mediante escala de Mini Mental previo a la realización del test PHES, en el que ningún paciente fue diagnosticado de deterioro cognitivo. El PHES se utilizó para el diagnóstico de encefalopatía hepática mínima (EHM), objetivándose en el grupo HMB en un 36,4% y en el grupo control en un 19% de EHM.

Tabla 5. Características clínico-demográficas basales

Características clínico-demográficas basales		Grupo HMB (N=22)	Grupo control (N=21)	p
Edad (media)		60.4 (8.61)	61.4 (9.27)	0.711
Sexo (Hombres/Mujeres)		14/8	13/8	1.000
Etiología cirrosis	Alcohol	17 (77.3%)	11 (52.4%)	0.624
	VHC	2 (9.09%)	3 (14.3%)	
	Autoinmune	2 (9.09%)	2 (9.52%)	
	EHGNA	1 (4.55%)	3 (14.28%)	
	Hemocromatosis	0 (0%)	1 (4.76%)	
	CBP	0 (0%)	1 (4.76%)	
Consumo de alcohol		4 (18.1%)	4 (19%)	0.683

Ascitis		12 (54.5%)	9 (42.9%)	0.645
Edemas		6 (27.3%)	2 (9.52%)	0.240
Paracentesis evacuadoras periódicas		4 (18.3%)	0 (0%)	0.108
Encefalopatía hepática previa		2 (9.09%)	3 (14.3%)	0.664
Infección previa (<3 meses)		2 (9.09%)	4 (19%)	0.412
Ingreso previo (<3 meses)		6 (27.3%)	5 (23.8%)	1.000
Portador TIPS previo		1 (4.55%)	1 (4.76%)	1.000
Diurético		15 (68.2%)	12 (57.1%)	0.665
Lactulosa		5 (22.7%)	1 (4.76%)	0.185
Beta-bloqueante		8 (36.4%)	10 (47.6%)	0.661
Estatina		3 (13.6%)	1 (4.76%)	0.607
Vitamina D		3 (13.6%)	5 (23.8%)	0.457
Child-Pugh	Global	7.18 (1.47)	6.86 (1.65)	0.398
	Clase A	9 (40.94%)	10 (47.64)	
	Clase B	11 (50%)	11 (52.32%)	
	Clase C	2 (9.09%)	0 (0%)	
MELD		12.7 (5.31)	13 (4.70)	0.835
VSG	B	14 (63.6%)	17 (81.0%)	0.355
	C	8 (36.4%)	4 (19.0%)	
MNA	Global	19.5 (3.7)	19.9 (3.47)	0.729
	Riesgo malnutrición	17 (77.3%)	17 (80.96%)	
	Malnutrición	5 (22.7%)	4 (19.04%)	
MiniMental		29.8 (0.53)	29.3 (1.02)	0.088
EHM presente (PHES)		8 (36.4%)	4 (19%)	0.355

VHC: virus de la hepatitis C, EHGNA: enfermedad de hígado graso no alcohólico, CBP: colangitis biliar primaria, MELD: *Model for end stage liver disease*, VSG: Valoración subjetiva global, MNA: *Mini Nutritional Assessment*, EHM: encefalopatía hepática mínima, PHES: *Psychometric hepatic encephalopathy score*.

5.2.2.2. Datos analíticos basales

Se determinaron basalmente los datos analíticos. En la Tabla 6 se muestran las características analíticas basales de ambos grupos expresadas como la media (desviación

estándar) o la mediana [rango]. No se encontraron diferencias significativas salvo menores niveles de GPT en el grupo HMB y menores niveles de CTX en el grupo control. Dentro de los análisis se incluye la medición de los niveles plasmáticos de HMB.

Se analiza por grupos a continuación los parámetros analíticos basales, según su normalidad o no respecto a la población general.

Dentro de los parámetros nutricionales incluidos, todos los pacientes presentaron niveles de prealbúmina bajos ($<17\text{mg/dl}$). Los valores del metabolismo del hierro, ácido fólico, albúmina y proteínas totales fueron normales respecto a la población general. La mediana de la PCR fue heterogénea, con individuos con valores normales ($<0,5\text{mg/dl}$) y otros con valores anormalmente altos ($\geq 0,5\text{mg/dl}$).

En cuanto a los parámetros de perfil hepático, todos los pacientes presentaron niveles de amonio plasmático elevado ($>35\mu\text{mol/L}$). En ambos grupos la mediana de la enzima GGT ($>55\text{UI/L}$) estaba elevada, secundario posiblemente al consumo reciente de alcohol, así como los niveles de bilirrubina total ($>1,2\text{mg/dl}$) y directa ($>0,3\text{mg/dl}$), por la propia alteración de la función hepática.

Respecto a los parámetros de riesgo cardiovascular, ambos grupos presentaron unos niveles medios de colesterol LDL en el límite normal alto ($100\text{-}129\text{mg/dl}$) y una mediana de la lipoproteína (a) (asociada a riesgo cardiovascular) en niveles bajos ($<10\text{mg/dl}$). El resto de parámetros: ácido úrico, triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL, APO A1 (principal componente proteico del colesterol HDL) y APO B (principal componente proteico del colesterol LDL) fueron normales respecto a la población general.

Dentro de los parámetros de remodelado óseo, la osteocalcina estaba disminuida basalmente ($<1\text{ng/ml}$), que es un parámetro de formación ósea, mientras que el resto fueron normales, tanto los de formación ósea (fosfatasa alcalina ósea y PICP) como los de resorción ósea (CTX). Los niveles medianos de 25-hidroxivitamina D fueron insuficientes ($<50\text{nmol/L}\approx 20\text{ng/ml}$) en ambos grupos, especialmente en el grupo HMB ($<25\text{nmol/L}$).

Tabla 6. Características analíticas basales

Características analíticas basales	Grupo HMB (N=22)	Grupo control (N=21)	p
Hierro (µg/dl)	88.5 [71.2-128.0]	96.0 [68.0-129.0]	0.743
Ferritina (ng/ml)	156.0 [60.9-523.0]	97.2 [72.4-662]	0.662
Transferrina (mg/dl)	218.0 (56.6)	217.0 (74.1)	0.960
Saturación transferrina (%)	32.2 [24.7-43.6]	30.1 [19.8-46.0]	0.961
Vitamina B12 (pg/ml)	488.0 [252-778]	599.0 [389.0-756.0]	0.161
Ácido fólico (ng/ml)	7.74 [6.42-9.88]	9.39 [6.69-11.6]	0.239
PCR (mg/dl)	0.38 [0.15-0.68]	0.66 [0.16-1.55]	0.512
Glucosa (mg/dl)	97.0 [89.5-111.0]	103.0 [91.0-114.0]	0.444
Urea (mg/dl)	29.0 [24.5-42.5]	28.0 [25.0-34.0]	0.670
Creatinina (mg/dl)	0.73 [0.58-0.91]	0.69 [0.61-0.81]	0.874
Ácido úrico (mg/dl)	6.61 (2.09)	6.1 (2.09)	0.421
Triglicéridos (mg/dl)	68.0 [51.2-93.2]	68.0 [54.0-106.0]	0.496
Colesterol total (mg/dl)	172.0 (58.9)	177.0 (50.9)	0.748
Colesterol HDL (mg/dl)	50.9 (19.6)	54.6 (16.9)	0.509
Colesterol LDL (mg/dl)	106.0 (44.6)	106.0 (41.3)	0.949
APO A1 (mg/dl)	138.0 (43.5)	143.0 (37.3)	0.694
APO B (mg/dl)	72.3 [51.3-112]	70.3 [63.8-86.1]	0.961
Lipoproteína (a) (mg/dl)	9.75 [3.21-19.9]	3.53 [2.07-9.72]	0.155
Bilirrubina total (mg/dl)	1.69 [1.05-2.46]	1.75 [1.31-2.57]	0.662
Bilirrubina directa (mg/dl)	0.60 [0.46-0.94]	0.57 [0.4-0.88]	0.895
Proteínas totales (g/dl)	7.20 [6.82-7.40]	7.20 [6.60-7.40]	0.644
Albúmina (g/dl)	3.58 (0.57)	3.56 (0.62)	0.913
Prealbúmina (mg/dl)	11.6 [6.38-15.2]	9.18 [7.62-12.8]	0.846
FA (U/L)	104.0 [93.8-140.0]	131.0 [112.0-158.0]	0.138
GGT (U/L)	64.5 [40.2-100.0]	98.0 [61.0-126.0]	0.194
GOT (U/L)	40.5 [30.8-56.5]	43.0 [32.0-88.0]	0.248
GPT (U/L)	23.0 [15.0-28.5]	30.0 [21.0-41.0]	0.018
LDH (U/L)	204.0 [179.0-238.0]	204.0 [186.0-223.0]	0.894
Amonio (µmol/L)	56.0 [40.0-83.0]	54.0 [39.8-78.0]	0.923

25-hidroxivit D (nmol/L)	17.5 [10.8-38.2]	34.1 [16.3-42.6]	0.195
Fosfatasa alcalina ósea (U/L)	24 [19.5-29.9]	26.8 [23.6-29.1]	0.325
Osteocalcina intacta (ng/ml)	7.3 [6.15-11.9]	7.0 [5.6-9.5]	0.415
PICP (ng/ml)	123.0 [97.7-175.0]	118.0 [88.4-145.0]	0.529
CTX (pg/mL)	443.0 [285.0-603.0]	289.0 [250.0-424.0]	0.033
HMB (µmol/L)	3.26 [1.54-4.47]	1.5 [1.19-3.17]	0.099

APO: apolipoproteína, FA: fosfatasa alcalina, GGT: gamma-glutamyl transferasa, GOT: glutámico oxalacético transaminasa, GPT: transaminasa glutámico-pirúvica, LDH: lactato deshidrogenasa, PICP: propéptido C terminal de Colágeno tipo I, CTX: Telopéptido C-terminal del colágeno tipo I, HMB: β-hidroxi-β-metilbutirato.

La Tabla 7 recoge los niveles de aminoácidos basales de ambos grupos, encontrando que en el grupo HMB los niveles plasmáticos en ayunas de leucina (p=0.047) y de triptófano (p=0.046) eran menores respecto al grupo control. No obstante, los niveles plasmáticos de la suma de los AACR y de los AAA eran similares entre grupos (p=0.060 y p=0.110 respectivamente).

Tabla 7. Niveles de aminoácidos basales

Aminoácidos (µmol/l)	Grupo HMB (n=22)	Grupo control (n=21)	p
Leucina	92.4 [76.7;117]	117 [95.5;137]	0.047
Isoleucina	53.3 [47.7;59.9]	62.6 [49.6;71.9]	0.163
Valina	144 [109;191]	191 [160;253]	0.051
Fenilalanina	81.5 [72.8;94.2]	102 [78.2;122]	0.070
Tirosina	101 [73.1;129]	104 [91.5;130]	0.554
Triptófano	35.6 [30.8;45.6]	51.3 [33.2;67.2]	0.046
AACR	300 [244;361]	370 [297;462]	0.060
AAA	234 [188;265]	270 [190;324]	0.110
Índice de Fischer	1.59 [1.32;2.43]	1.80 [1.43;2.21]	0.514
Glutamato	134 [118;184]	182 [151;269]	0.152
Glutamina	317 [224;390]	308 [269;372]	0.958
Índice Gln/Glu	2.16 [1.15;3.32]	1.63 [1.10;2.79]	0.267
Alanina	267 [216;340]	331 [283;442]	0.068

AACR: aminoácidos de cadena ramificada, AAA: aminoácidos aromáticos, Gln: glutamina, Glu: glutamato

5.2.2.3. Datos de composición corporal y fuerza de agarre basales

Se realizó básicamente una medición antropométrica (Tabla 8) en todos los pacientes. Los datos se expresan como la media (desviación estándar) o la mediana [rango].

En las mediciones antropométricas no hubo diferencias significativamente estadísticas entre ambos grupos salvo menor peso y talla basal en el grupo de mujeres con HMB.

Analizando básicamente los valores antropométricos de la población con cirrosis hepática y malnutrición clínica, respecto a los valores de la población general, los hombres de ambos grupos presentaban un pliegue tricípital medio indicativo de adipopenia (≤ 12 mm). Los valores de la circunferencia muscular braquial estaban por debajo de los niveles medios tanto en el grupo de hombres ($< 25,3$ cm) como en el de mujeres ($< 23,3$ cm) pero no en el rango de sarcopenia.

Tabla 8. Valores antropométricos y fuerza de agarre basales

Características antropométricas basales		Grupo HMB (N= 22)	Grupo control (N= 21)	p
Talla (cm)	Global	166 (10.3)	167 (6.88)	0.910
	Hombres	173 (5.09)	170 (5.77)	0.174
	Mujeres	155 (6.53)	162 (5.37)	0.052
Peso (Kg)	Global	71.4 (16.5)	73.1 (14.3)	0.710
	Hombres	78.9 (14.8)	76.3 (16.9)	0.672
	Mujeres	58.2 (9.82)	68.0 (7.2)	0.04
Pliegue bicipital (mm)	Global	6 [4.5-10]	8 [6-10]	0.211
	Hombres	6.09 (2.63)	7.88 (4.09)	0.199
	Mujeres	9.12 (6.29)	10.0 (4.38)	0.752
Pliegue tricípital (mm)	Global	12.9 (6.38)	14.4 (6.8)	0.468
	Hombres	10.9 (4.27)	12 (6.78)	0.638
	Mujeres	16 (8.18)	18.2 (5.13)	0.534
	Global	26 (4.76)	27.7 (3.88)	0.207

Circunferencia braquial (cm)	Hombres	27.1 (4.64)	27.7 (4.43)	0.724
	Mujeres	24.2 (4.66)	27.8 (3.06)	0.096
Circunferencia muscular braquial (cm)	Global	22.2 (4.19)	23.2 (3.51)	0.381
	Hombres	23.9 (3.89)	24.0 (3.89)	0.976
	Mujeres	19.2 (2.84)	22.0 (2.58)	0.053
Circunferencia pantorrilla (cm)	Global	35 (4.57)	36.2 (4.14)	0.385
	Hombres	36.4 (3.21)	36.8 (4.75)	0.776
	Mujeres	32.6 (5.75)	35.1 (2.86)	0.296
Fuerza de agarre (Kg)	Global	28.9 (7.48)	31.7 (7.93)	0.240
	Hombres	33.1 (5.9)	35.5 (6.5)	0.328
	Mujeres	21.5 (2.39)	25.5 (6.07)	0.117

Asimismo, se realizó una valoración basal mediante impedanciometría bioeléctrica (BIA) a todos los pacientes (Tabla 9). Se analizaron por sexo cada una de las variables, pero se han incluido aquellas de las que se dispone de bibliografía de discriminación por sexo. Los datos se expresan como la media (desviación estándar) o la mediana [rango].

Nuestra población no cumplía por BIA criterios de sarcopenia según la definición del IMM (índice de masa muscular) (<7Kg/m² en hombres y <5,5Kg/m² en mujeres) y de la MMAE (masa muscular apendicular esquelética) (<20Kg hombres y <15Kg mujeres), dado que sus valores medianos estaban dentro de los límites de la normalidad. Los valores del ángulo de fase (PhA) y de la masa libre de grasa (MLG) fueron normales desglosados por sexos, evidenciándose una diferencia basal significativamente estadística en la MLG de las mujeres, siendo mayor en el grupo control respecto al HMB, probablemente por la influencia en su cálculo de la talla y el peso.

Tabla 9. Valores de bioimpedancia basales

Características de BIA basales	Grupo HMB (N=22)	Grupo control (N=21)	p
IMC (Kg/m²)	25.6 (4.31)	26.2 (3.94)	0.625
MG (Kg)	13.4 (9.12)	13.3 (8.03)	0.958

IMG (Kg/m²)		4.8 (3.2)	4.77 (2.8)	0.979
%MG	Global	18.4 [6.15-25.6]	18.8 [8.4-26.1]	0.923
	Hombres	16.3 (9.91)	14.4 (8.47)	0.601
	Mujeres	19.6 (11.5)	22.4 (9.19)	0.609
MLG (Kg)	Global	58 (11)	59.9 (10.8)	0.571
	Hombres	64.9 (6.65)	64.4 (10.8)	0.898
	Mujeres	46.0 (4.54)	52.6 (6.04)	0.029
IMLG (Kg/m²)		20.8 (2.3)	21.4 (2.76)	0.403
%MLG		81.5 [74.5-93.8]	81.2 [73.9-91.6]	0.923
ACT (L)		44.8 (11.2)	43.5 (8.63)	0.675
LEC (%)		44.9 [37.1;48.3]	43.4 [33.6;48.1]	0.680
LIC (%)		55.1 [51.7;62.9]	56.6 [51.9;66.4]	0.680
Hidratación (%)		73.3 [72.9-73.7]	73.4 [69.3-73.7]	0.816
MCC (Kg)		34.2 (9.04)	36.5 (11.4)	0.485
PhA (°)	Global	6.15 [5.5-8.32]	6.5 [5.6-12.7]	0.724
	Hombres	6.0 [5.53-7.45]	7 [5.5-8.3]	0.544
	Mujeres	6.65 [5.33-10.7]	6.05 [5.6-12.7]	0.833
MM (Kg)		41.7 (10.2)	44.1 (12.7)	0.494
%MM		40.6 [35.5-48.4]	38.5 [33.9-42.5]	0.536
IMM (Kg/m²)	Global	10.8 [9.15-11.8]	10.0 [9.10-11.7]	0.644
	Hombres	11.5 (1.53)	11.5 (1.96)	0.982
	Mujeres	8.55 [7.78-9.57]	8.65 [7.95-9.55]	0.958
MMAE (Kg)	Global	24.4 [19.3-28.2]	22.2 [19.2-27.2]	0.715
	Hombres	26.4 (3.23)	25.4 (5.38)	0.588
	Mujeres	17.1 [15.8-19.5]	19.3 [17.2-22.4]	0.248

IMC: índice de masa corporal. MG: masa grasa. IMG: índice de masa grasa. %MG: porcentaje de masa grasa. MLG: masa libre de grasa. IMLG: índice de masa libre de grasa. ACT: agua corporal total. LEC: líquido extracelular. LIC: líquido intracelular. MCC: masa celular corporal. PhA: ángulo de fase. MM: masa muscular. %MM: porcentaje de masa muscular. IMM: índice de masa muscular. MMAE: masa muscular apendicular esquelética.

5.2.3 RESULTADOS FINALES DEL ENSAYO CLÍNICO

5.2.3.1. Análisis de resultados analíticos

La Tabla 10 presenta los valores de distintas variables determinadas en el laboratorio de bioquímica en las 3 visitas realizadas (T0: basal, T1: intermedia, T2: final). Los datos se expresan como la mediana [rango] con los p-valores para los 2 tipos de análisis realizados: longitudinal (*p_{long}*), que indica si la variable se modificó con el tiempo, y la interacción grupal (*p_{int}*), que es la prueba del efecto específico de alguno de los dos tratamientos. Estos se obtuvieron a partir de un modelo mixto.

Tabla 10. Valores de bioquímica en las 3 visitas del ensayo clínico

	Grupo HMB			Grupo control			<i>p_{long}</i>	<i>p_{int}</i>
	T0	T1	T2	T0	T1	T2		
	N=22	N=16	N=15	N=21	N=17	N=19		
Hierro (µg/dl)	88.5 [71.2;128]	68.5 [53.5;105]	101.0 [80.5;112]	96.0 [60.0;129]	81.0 [67.0;95.0]	80.0 [66.5;118]	0.689	0.812
Ferritina (ng/ml)	156 [60.9;523]	230 [53.6;471]	191 [75.1;300]	97.2 [72.4;662]	64.7 [31.3;294]	79.5 [35.0;236]	<0.001	0.961
Transferrina (mg/dl)	217 [201;259]	216 [196;281]	230 [197;316]	203 [148;252]	261 [212;303]	268 [217;308]	<0.001	0.757
Saturación transferrina (%)	32.2 [24.7;43.6]	20.5 [14.4;25.5]	22.9 [18.5;42.2]	30.1 [19.8;46.0]	26.1 [16.7;35.5]	23.3 [19.8;38.1]	0.043	0.906
PCR (mg/dl)	0.38 [0.15;0.68]	0.73 [0.28;1.71]	0.39 [0.24;1.06]	0.66 [0.17;1.55]	0.54 [0.13;0.99]	0.43 [0.16;0.62]	0.044	0.314
Glucosa (mg/dl)	97.0 [89.5;111]	104 [93.5;110]	104 [96.0;112]	106 [91.0;114]	99.0 [91.0;121]	97.0 [86.5;115]	0.486	0.526
Urea (mg/dl)	29.0 [24.5;42.5]	47.0 [28.2;66.8]	45.0 [27.5;53.0]	28.0 [25.0;34.0]	38.0 [30.0;44.0]	38.0 [25.5;41.5]	0.048	0.097
Creatinina (mg/dl)	0.73 [0.58;0.91]	0.75 [0.62;0.99]	0.80 [0.68;0.92]	0.69 [0.61;0.81]	0.75 [0.61;0.90]	0.74 [0.55;0.81]	0.608	0.672
Ácido úrico (mg/dl)	6.70 [5.75;7.77]	7.10 [6.10;9.38]	6.60 [6.20;8.40]	6.00 [5.10;7.50]	5.60 [5.10;6.10]	6.00 [5.10;7.10]	0.416	0.325
Triglicéridos (mg/dl)	68.0 [51.2;93.2]	71.0 [55.5;93.2]	80.0 [59.0;87.0]	68.0 [54.0;106]	66.0 [59.0;86.0]	68.0 [64.0;98.0]	0.858	0.679
Colesterol total (mg/dl)	166 [130;213]	162 [118;206]	170 [131;218]	168 [139;208]	170 [152;200]	171 [137;198]	0.078	0.687
cHDL (mg/dl)	50.0 [37.2;63.0]	49.0 [34.8;56.2]	50.0 [35.5;69.5]	53.0 [36.0;66.0]	59.0 [48.0;74.0]	56.0 [48.0;72.0]	0.114	0.619
cLDL (mg/dl)	100 [70.0;146]	83.5 [64.0;132]	102.0 [73.0;133]	100 [86.0;119]	94.0 [79.0;118]	95.0 [73.0;114]	0.002	0.894
Bilirrubina total (mg/dl)	1.69 [1.05;2.46]	1.42 [0.84;2.31]	1.42 [0.94;2.23]	1.75 [1.31;2.57]	1.49 [0.96;2.13]	1.38 [1.00;2.08]	0.022	0.218

Bilirrubina directa (mg/dl)	0.60 [0.46;0.94]	0.77 [0.52;1.04]	0.78 [0.58;1.29]	0.57 [0.40;0.88]	0.54 [0.43;0.71]	0.57 [0.51;0.82]	0.371	0.052
Proteínas totales (g/dl)	7.20 [6.82;7.40]	7.30 [6.77;7.82]	7.40 [6.93;7.80]	7.10 [6.60;7.43]	7.10 [6.72;7.50]	7.20 [6.45;7.40]	0.551	0.358
Albúmina (g/dl)	3.55 [3.00;4.18]	3.70 [3.27;4.12]	3.70 [3.35;4.05]	3.50 [3.20;4.00]	3.60 [3.30;4.10]	3.50 [3.35;3.85]	0.695	0.632
FA (U/L)	104 [93.8;140]	107 [93.0;134]	110 [88.5;176]	131 [112;158]	127 [101;171]	126 [98.5;146]	0.594	0.172
GGT (U/L)	64.5 [40.2;100]	91.5 [50.2;146]	80.0 [51.0;264]	94.5 [58.8;120]	84.0 [54.0;95.0]	81.0 [62.0;102]	0.01	0.023
GOT (U/L)	40.5 [30.8;56.5]	41.0 [27.5;61.5]	45.0 [29.5;81.5]	43.0 [32.0;88.0]	45.0 [32.0;64.0]	40.0 [34.0;64.0]	0.039	0.004
GPT (U/L)	23.0 [15.0;28.5]	20.5 [14.0;30.5]	23.0 [17.5;37.0]	30.0 [20.0;41.0]	28.0 [23.0;33.0]	26.0 [22.0;40.0]	0.125	0.032
LDH (U/L)	204 [179;238]	183 [160;216]	198 [166;246]	208 [182;224]	204 [166;237]	197 [186;223]	0.87	0.205
Leucocitos (10³/μL)	5.2 [4.0;7.0]	4.8 [4.0;5.8]	4.3 [3.9;5.4]	5.0 [3.5;5.7]	4.2 [3.8;5.5]	4.3 [3.3;5.3]	0.055	0.058
Hemoglobina (g/dl)	12.4 [11.1;13.5]	12.0 [10.9;14.0]	12.8 [11.1;13.8]	13.1 [11.3;13.7]	12.9 [11.5;14.1]	12.7 [11.6;13.7]	0.987	0.735
Plaquetas (10³/μL)	100 [72;132]	75 [68;101]	86 [73;101]	96 [78;112]	105 [84;121]	93 [74;120]	0.556	0.68
INR	1.21 [1.08;1.35]	1.20 [1.17;1.40]	1.19 [1.13;1.31]	1.23 [1.12;1.41]	1.21 [1.11;1.29]	1.22 [1.08;1.26]	0.561	0.914
Amonio (μmol/L)	56.0 [40.0;83.0]	59.0 [50.5;85.2]	67.0 [49.8;74.8]	54.0 [39.8;78.0]	62.0 [53.2;87.2]	67.0 [55.5;75.5]	0.11	0.689
Ácido fólico (ng/dl)	7.74 [6.42;9.88]	11.0 [8.39;12.0]	10.5 [6.86;12.9]	9.39 [6.69;11.6]	12.8 [8.34;14.7]	12.1 [10.3;15.5]	<0.001	0.816
Vitamina B12 (pg/ml)	488 [252;778]	488 [292;673]	406 [330;610]	599 [389;756]	648 [427;771]	598 [438;791]	0.942	0.432
APO A1 (mg/dl)	142 [108;168]	128 [103;174]	119 [107;171]	148 [117;170]	152 [134;185]	142 [129;177]	0.604	0.381
APO B (mg/dl)	72.3 [51.3;112]	64.2 [46.1;104]	70.9 [46.5;95.4]	70.3 [63.8;86.1]	63.8 [52.2;77.1]	65.3 [55.8;71.8]	<0.001	0.519
Lipoproteína (a) (mg/dl)	9.75 [3.21;17.1]	13.0 [3.23;23.6]	9.75 [4.22;20.8]	3.40 [2.06;7.79]	5.17 [4.13;9.93]	4.60 [3.40;10.2]	0.303	0.79
Prealbúmina (mg/dl)	11.6 [6.38;15.2]	12.8 [8.75;16.4]	14.5 [9.49;22.8]	9.18 [7.62;12.8]	11.2 [8.67;14.6]	10.9 [9.60;13.9]	<0.001	0.063
Vitamina D (nmol/L)	17.5 [10.8;38.2]	43.6 [39.1;56.5]	51.8 [39.7;71.5]	34.0 [15.9;40.6]	30.2 [23.0;43.0]	29.6 [25.1;43.0]	<0.001	<0.001
FA ósea (U/L)	24.0 [19.5;29.9]	24.1 [19.2;25.7]	32.5 [25.0;35.4]	26.6 [23.2;30.3]	24.6 [21.6;27.6]	23.6 [22.1;28.3]	0.413	0.635
Osteocalcina intacta (ng/ml)	7.30 [6.15;11.9]	9.40 [7.85;12.5]	13.4 [10.6;19.0]	6.95 [5.17;9.12]	9.75 [6.65;14.4]	11.8 [7.35;16.9]	<0.001	0.523
CTX (pg/ml)	443 [285;603]	289 [226;705]	300 [170;471]	311 [241;424]	279 [187;510]	294 [233;399]	0.376	0.342

HMB ($\mu\text{mol/L}$)	3.26 [1.54;4.47]	20.0 [6.67;28.2]	5.73 [4.06;34.2]	1.61 [1.19;4.58]	3.73 [1.58;7.51]	2.26 [1.30;5.66]	<0.001	0.003
-------------------------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	--------	-------

PCR: proteína C reactiva, cHDL: colesterol HDL, cLDL: colesterol HDL, CTHDL: colesterol total/HDL, FA: fosfatasa alcalina, GGT: gamma-glutamyl transferasa, GOT: glutámico oxalacético transaminasa, GPT: transaminasa glutámico-pirúvica, LDH: lactato deshidrogenasa, INR: International Normalized Ratio, CTX: telopéptido C-terminal del colágeno tipo I, HMB: β -hidroxi- β -metilbutirato. *p_{long}*: variación sobre el tiempo para cada variable, *p_{int}*: cambios longitudinales específicos de tratamiento

Parámetros nutricionales

Se observó un aumento longitudinal de los valores de prealbúmina ($p_{\text{long}} < 0.001$) y de ácido fólico ($p_{\text{long}} < 0.001$) para los dos grupos, pero no hubo diferencias entre los tratamientos; no obstante, la interacción estuvo cercana a la significación ($p_{\text{int}} = 0.063$) en la prealbúmina a favor del grupo HMB, con un aumento del 25% al final del estudio. No se observaron cambios en los niveles de vitamina B12, glucosa ni proteínas totales tras los tratamientos.

Figura 16. Valores de prealbúmina

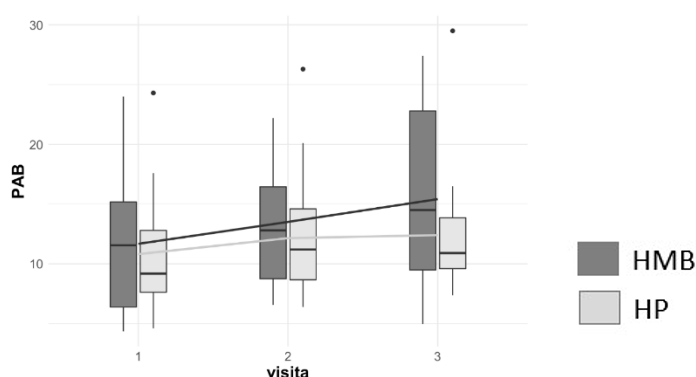
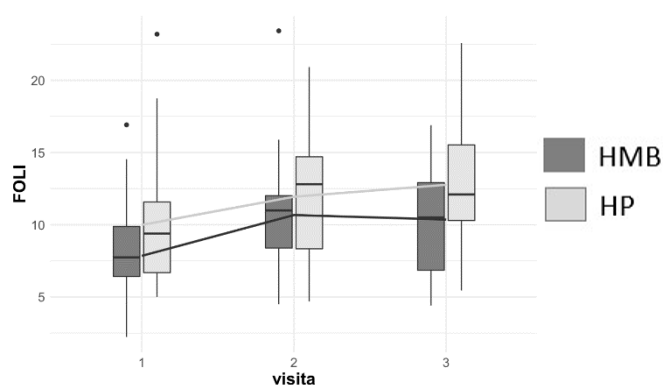


Figura 17. Valores de ácido fólico



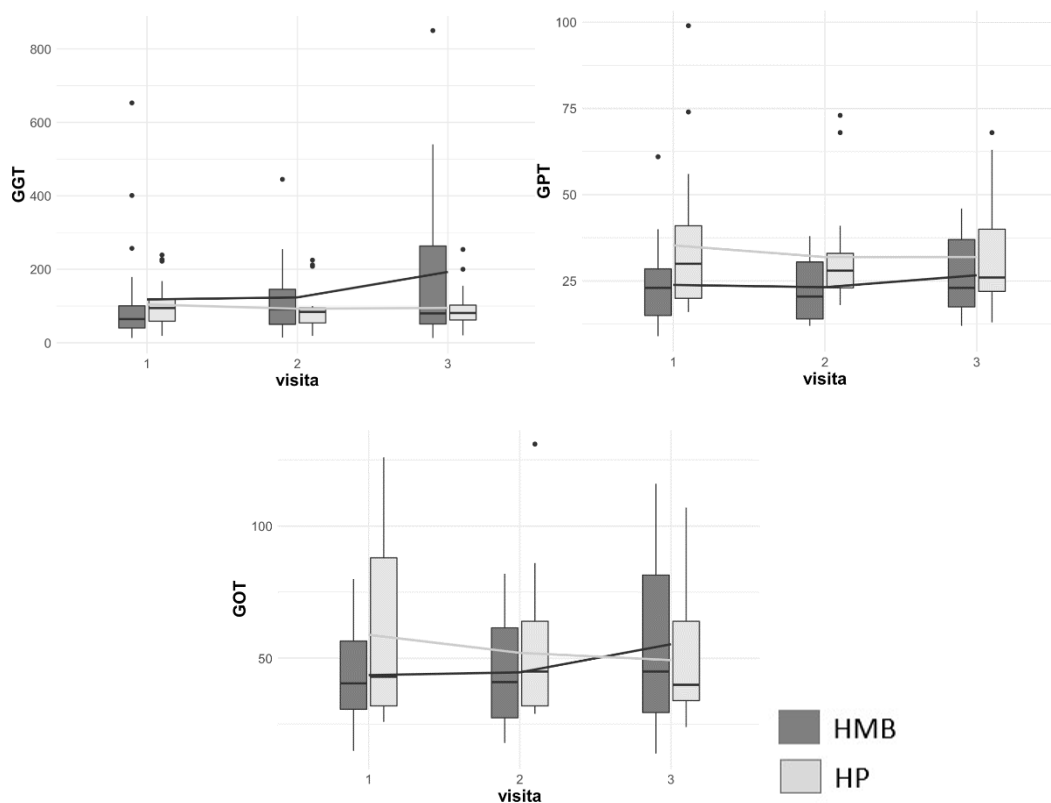
En relación a las variables relacionadas con el metabolismo del hierro, no se observaron cambios en las concentraciones de hierro circulantes después de los tratamientos. Sí que observó un aumento longitudinal de los valores de transferrina y ferritina (ambos $p_{long} < 0.001$) para los dos grupos de ensayo; sin embargo, no hubo evidencia de diferencias entre los tratamientos. No obstante, los valores de ferritina se comportaron diferente según el tratamiento, mientras que en el grupo HMB aumentó un 22,5% en el grupo control disminuyó un 18%. Por último, ambos tratamientos provocaron una disminución de la saturación de la transferrina ($p_{long} = 0.043$), pero no se observaron diferencias entre tratamientos.

Parámetros de función hepática y enzimas hepáticas

En cuanto a los parámetros de función hepática, se observó un descenso longitudinal de los valores de bilirrubina total ($p_{long} = 0.022$), sin diferencias entre tratamientos. Los niveles de amonio en sangre periférica aumentaron de forma no significativa al final del estudio, en el grupo HMB un 19,5% y en el grupo control un 24% respecto a los valores basales.

Cuando se estudiaron los niveles séricos de las enzimas hepáticas se observó un aumento longitudinal de GGT y GOT con respecto a los valores basales ($p_{long} = 0.01$ y $p_{long} = 0.039$ respectivamente), mientras que no se detectaron cambios longitudinales en GPT. En nuestro análisis, apareció una fuerte interacción entre las variaciones longitudinales y el tratamiento que indicaba la existencia de efectos específicos de los tratamientos. Así, se observó un aumento del 20% y el 10% en los valores de GGT y GOT en el grupo que recibió HMB mientras que el tratamiento control redujo en un 15%, 7% y 14% los valores de GGT, GOT y GPT respectivamente ($p_{int} = 0.023$, 0.004 y 0.032, respectivamente). Los valores de fosfatasa alcalina no presentaron variaciones al final del tratamiento.

Figura 18. Valores de enzimas hepáticas



Parámetros de riesgo cardiovascular

Los tratamientos utilizados no provocaron cambios en las concentraciones de triglicéridos, colesterol total ni colesterol HDL. Sí que provocaron una leve, aunque significativa reducción ($p_{\text{long}}=0.002$) del colesterol LDL. Como consecuencia, se observaron reducciones significativas en la concentración de colesterol no HDL y en el ratio colesterol total/HDL ($p_{\text{long}}=0.003$ y $p_{\text{long}}=0.049$ respectivamente). En todos estos cambios lipídicos no se observaron diferencias entre los grupos de tratamiento.

Además, se observó una significativa reducción ($p_{\text{long}}<0.001$) de los valores de APO B, sin diferencias entre tratamientos. No hubo variaciones en los niveles de APO A1, lipoproteína A ni ácido úrico.

Se estudió en el grupo HMB la correlación entre los niveles plasmáticos de HMB y los valores de LDL-colesterol, APO B y colesterol total, utilizando los datos de T1 y T2. Para ello se utilizó el coeficiente de correlación ρ de Spearman, obteniéndose una

correlación significativa ($p < 0.05$) y negativa entre los niveles plasmáticos de HMB y los valores de LDL-colesterol y APO B (Tabla 11).

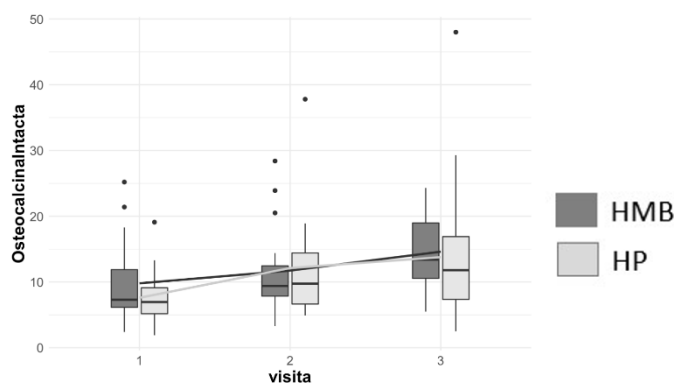
Tabla 11. Correlación entre los niveles plasmáticos de HMB y de metabolismo lipídico

VARIABLES	rho	p
LDL colesterol	-0.414	0.029
APO B	-0.395	0.037
Colesterol total	-0.355	0.064

Parámetros de remodelado óseo

Los tratamientos utilizados provocaron un aumento significativo ($p_{long} < 0.001$) de la osteocalcina intacta, sin diferencias entre los grupos de tratamiento. En el grupo HMB se incrementó un 83% su valor respecto al basal mientras que en el grupo control fue del 70%. El resto de los parámetros medidos (FA ósea, PICP, CTX) no encontraron diferencias al final del tratamiento.

Figura 19. Valores de osteocalcina intacta



Otros

La PCR disminuyó muy levemente, pero de forma significativa ($p_{long} = 0.044$) al final del tratamiento, sin diferencias entre grupos, aunque con mayor evidencia en el grupo control. Respecto a la función renal, los niveles de urea aumentaron de forma

longitudinal ($p_{\text{long}}=0.048$) con el tratamiento, sin diferencias entre tratamientos, aunque en el grupo HMB aumentó un 55% respecto al valor basal mientras que en el grupo control fue de un 35%. No se modificaron los valores de creatinina. Tampoco variaron los niveles de LDH.

Como consecuencia de la suplementación, los niveles de vitamina D y HMB aumentaron de forma longitudinal ($p_{\text{long}} < 0.001$ y $p_{\text{long}} = 0.001$ respectivamente) y fuertemente asociado al tratamiento con HMB ($p_{\text{int}} < 0.001$ y 0.003 , respectivamente), con unos niveles de vitamina D y de HMB finales del 196% y del 75% superiores al valor basal, respectivamente.

Figura 20. Valores de vitamina D

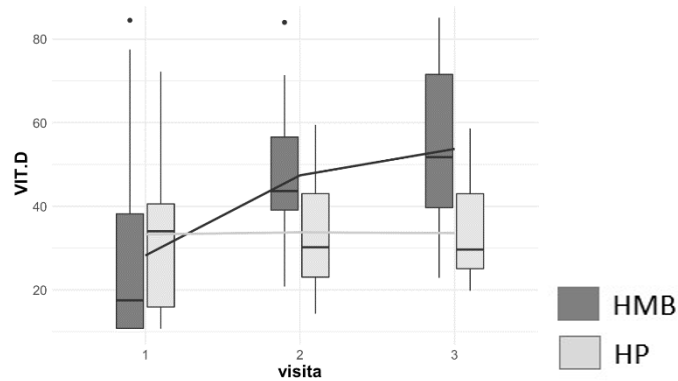
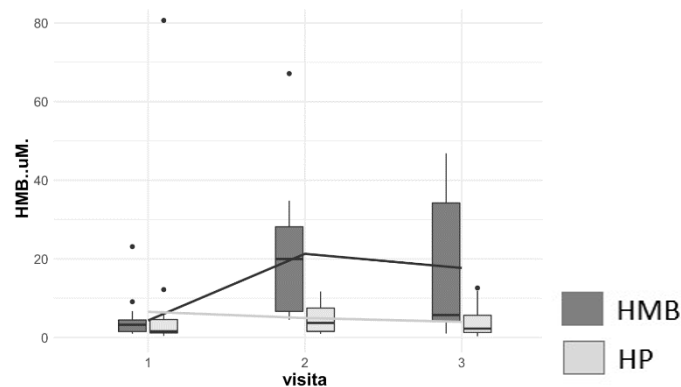


Figura 21. Valores de HMB



5.2.3.2. Análisis de resultados de antropometría y fuerza de agarre

La Tabla 12 presenta los valores de las variables de antropometría en las 3 visitas (T0: basal, T1: intermedia, T2: final) según el tratamiento recibido (HMB vs control) con los p-valores para los 2 tipos de análisis realizados: longitudinal, que indica si la variable se modificó con el tiempo, y la interacción grupal, que es la prueba del efecto específico de alguno de los dos tratamientos. Estos se obtuvieron a partir de un modelo mixto. Los datos se expresan como la mediana [rango].

Tabla 12. Valores de antropometría y fuerza de agarre según tratamiento en las 3 visitas

	Grupo HMB (N= 22)			Grupo control (N=21)			<i>p_{long}</i>	<i>p_{int}</i>
	T0	T1	T2	T0	T1	T2		
Peso (kg)	71.8 [58.5;82.9]	78.0 [57.8;88.5]	70.0 [59.5;85.5]	72.0 [64.5;79.0]	72.5 [66.9;77.8]	72.0 [66.3;76.2]	0.002	0.619
Pliegue bicipital (mm)	6.00 [4.5;10.0]	6.00 [4.62;8.38]	7.00 [4.75;11.0]	8.00 [6.00;10.0]	8.0 [6.25;8.50]	7.0 [6.0;9.50]	0.335	0.077
Pliegue tricipital (mm)	12.5 [8.5;14.5]	12.5 [10.2;19.0]	11.0 [9.00;18.0]	15.0 [8.50;20.0]	11.5 [8.75;18.0]	16.0 [9.5;20.5]	0.015	0.922
Circunferencia braquial (cm)	26.0 [23.2;29.8]	27.2 [24.1;29.6]	27.5 [23.8;29.5]	28.0 [25.0;30.0]	27.5 [25.5;30.2]	28.0 [25.5;30.8]	0.111	0.956
Circunferencia muscular braquial (cm)	21.3 [19.2;25.0]	21.2 [18.0;24.6]	21.7 [20.2;24.2]	22.8 [20.7;25.0]	23.3 [20.7;25.9]	22.4 [21.2;24.9]	0.688	0.344
Circunferencia pantorrilla (cm)	35.0 [32.9;38]	34.8 [30.4;36.8]	35.0 [31.0;37.2]	36.0 [33.0;38.0]	36.0 [33.2;38.2]	35.0 [33.8;38.0]	0.037	0.303
Fuerza de agarre (Kg)	26.5 [23.2;34.0]	29.5 [24.8;35.2]	30.0 [24.5;33.0]	32.0 [28.0;40.0]	33.0 [26.5;38.0]	33.0 [25.5;37.0]	0.095	0.608

p_{long}: variación sobre el tiempo para cada variable, *p_{int}*: cambios longitudinales específicos de tratamiento

Los tratamientos provocaron un aumento longitudinal del peso ($p_{long}=0.002$) y del pliegue tricipital ($p_{long}=0.015$), pero no hubo diferencias entre tratamientos.

La circunferencia de la pantorrilla disminuyó también de forma longitudinal ($p_{long}=0.037$) al final del tratamiento, siendo su valor final superior al límite superior de la normalidad para ambos sexos, sin diferencias entre grupos. El resto de los valores de antropometría no encontraron diferencias al final del tratamiento.

Por último, se observó un aumento de la fuerza de agarre cercana a la significación ($p_{long}=0.095$), sin encontrar diferencias entre ambos grupos. No obstante, aunque en el grupo HMB el valor inicial era inferior de forma no significativa ($p=0.228$), se consiguió

un valor final de fuerza de agarre un 13% superior al valor basal, mientras que en el grupo control el incremento fue únicamente del 3%.

5.2.3.3. Análisis de resultados de bioimpedanciometría

La Tabla 13 presenta los valores de las variables de impedanciometría bioeléctrica (BIA) en las 3 visitas (T0: basal, T1: intermedia, T2: final) según el tratamiento recibido, con los p-valores para los 2 tipos de análisis realizados: longitudinal, que indica si la variable se modificó con el tiempo, y la interacción grupal, que es la prueba del efecto específico de alguno de los dos tratamientos. Estos se obtuvieron a partir de un modelo mixto. Los datos se expresan como la mediana [rango].

Tabla 13. Valores de BIA según tratamiento en las 3 visitas del ensayo clínico

	Grupo HMB (N= 22)			Grupo control (N=21)			<i>plong</i>	<i>pint</i>
	T0	T1	T2	T0	T1	T2		
IMC (Kg/m²)	25.4 [22.5;28.8]	27.4 [22.0;30.5]	26.9 [21.4;30.6]	26.3 [23.8;28.7]	27.1 [24.4;29.0]	25.6 [25.1;28.5]	0.002	0.517
MG (Kg)	13.4 [3.45;20.8]	15.8 [12.0;23.4]	16.3 [5.65;20.5]	14.2 [6.40;19.0]	17.5 [12.9;18.8]	16.4 [10.9;21.0]	0.024	0.651
IMG (Kg/m²)	4.85 [1.25;7.15]	6.35 [3.92;8.40]	6.20 [1.95;7.50]	5.30 [2.20;7.20]	6.05 [4.67;7.47]	6.10 [3.75;8.10]	0.014	0.692
%MG	18.4 [6.15;25.6]	25.5 [15.1;27.9]	21.1 [8.45;26.6]	18.8 [8.40;26.1]	22.1 [17.1;26.8]	23.0 [13.7;28.8]	0.029	0.684
MLG (Kg)	62.1 [48.5;64.5]	56.1 [46.6;66.3]	57.9 [46.8;64.9]	56.9 [50.3;68.1]	55.8 [51.5;62.5]	55.7 [52.3;59.6]	0.841	0.963
IMLG (Kg/m²)	21.4 [19.9;22.6]	22.2 [18.5;22.9]	19.8 [19.1;22.4]	21.7 [19.2;23.4]	20.6 [19.2;21.8]	20.3 [19.2;22.8]	0.718	0.916
%MLG	81.5 [74.5;93.8]	74.5 [72.0;84.9]	78.9 [73.3;91.6]	81.2 [73.9;91.6]	77.8 [73.2;82.9]	77.0 [71.2;86.3]	0.029	0.684
ACT (L)	46.5 [35.5;50.4]	44.4 [34.5;50.1]	43.2 [34.5;49.6]	41.0 [35.6;47.2]	42.0 [37.1;47.9]	41.8 [38.9;44.9]	0.819	0.194
LEC (%)	44.9 [37.1;48.3]	47.2 [42.7;52.8]	47.1 [42.8;51.6]	43.4 [33.6;48.1]	48.0 [41.7;52.2]	49.8 [43.5;53.0]	0.01	0.569
LIC (%)	55.1 [51.7;62.9]	52.8 [47.2;57.3]	52.9 [48.4;57.2]	56.6 [51.9;66.4]	52.0 [47.8;58.3]	50.2 [47.0;56.5]	0.01	0.569
Hidratación (%)	73.3 [72.9;73.7]	73.7 [73.3;74.4]	73.6 [73.0;73.8]	73.4 [69.3;73.7]	73.7 [73.2;74.1]	73.9 [73.7;77.3]	0.051	0.089
MCC (Kg)	33.5 [27.5;37.4]	30.9 [24.3;37.8]	31.2 [23.0;38.3]	32.9 [25.1;46.1]	29.9 [23.9;40.1]	27.3 [25.5;35.5]	0.069	0.529
PhA (°)	6.15 [5.50;8.32]	5.65 [4.68;6.70]	5.70 [4.85;6.70]	6.50 [5.50;9.60]	5.50 [4.80;6.95]	5.20 [4.60;6.55]	0.026	0.667
MM (Kg)	41.3 [33.7;47.0]	38.2 [30.1;46.2]	38.5 [28.6;46.8]	41.7 [30.9;54.7]	37.5 [30.6;48.6]	34.0 [32.3;43.5]	0.081	0.566
%MM	40.6 [35.5;48.4]	38.1 [33.1;42.2]	38.4 [35.2;49.5]	38.5 [33.9;42.4]	36.6 [34.4;40.3]	39.8 [35.2;44.0]	0.267	0.279
IMM (Kg/m²)	10.8 [9.15;11.8]	10.8 [8.65;11.7]	10.7 [8.85;12.1]	10.0 [9.10;11.7]	10.1 [8.95;11.4]	10.4 [9.10;11.7]	0.548	0.268

MMAE (Kg)	24.4 [19.3;28.2]	23.4 [16.5;27.4]	23.5 [16.4;26.6]	22.2 [19.2;27.2]	21.5 [19.6;25.2]	20.8 [19.8;24.3]	0.197	0.393
----------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	-------	-------

IMC: índice de masa corporal. MG: masa grasa. IMG: índice de masa grasa. %MG: porcentaje de masa grasa. MLG: masa libre de grasa. IMLG: índice de masa libre de grasa. ACT: agua corporal total. LEC: líquido extracelular. LIC: líquido intracelular. MCC: masa celular corporal. PhA: ángulo de fase. MM: masa muscular. %MM: porcentaje de masa muscular. IMM: índice de masa muscular. MMAE: masa muscular apendicular esquelética. *plong*: variación sobre el tiempo para cada variable, *pint*: cambios longitudinales específicos de tratamiento

Como resultado de los tratamientos, se objetivó un incremento en el IMC de forma longitudinal ($p_{long}=0.002$), sin diferencias entre grupos. En todos los pacientes el IMC fue inferior a 30Kg/m².

El resultado más evidente secundario a la suplementación fue el aumento longitudinal de la masa grasa (MG) ($p_{long}=0.024$), del índice de masa grasa (IMG) ($p_{long}=0.014$) y del porcentaje de masa grasa (%MG) ($p_{long}=0.029$). No se obtuvieron diferencias en función del tipo de tratamiento.

Al finalizar el tratamiento se objetivó, asimismo, un descenso longitudinal ($p_{long}=0.029$) del porcentaje de masa libre de grasa, como consecuencia del aumento del porcentaje de masa grasa dado que la suma de ambas resulta en la masa corporal total, sin diferencias entre tratamientos. No obstante, el IMLG (Índice de Masa Libre de Grasa) no varió al final del estudio ($p_{long}=0.718$).

Se obtuvo un valor cercano a la significación ($p_{long}=0.069$) para el descenso longitudinal de la masa celular corporal que, aunque no encontró diferencias entre tratamientos, el descenso en el grupo HMB fue del 7% respecto al basal mientras que en el grupo control fue del 17%.

El agua corporal total no presentó cambios significativos, mientras que el estado de hidratación aumentó muy levemente y cercano a la significación de forma longitudinal ($p_{long}=0.051$), sin diferencias entre los grupos, aunque los resultados tienen mucha dispersión.

El ángulo de fase (PhA) se vio reducido al final del estudio de forma longitudinal ($p_{long}=0.026$), sin diferencias entre grupos. No obstante, en el grupo HMB el valor final fue 7,5% inferior al basal mientras que en el grupo control el valor final de un 20% inferior al basal. Este resultado parece estar en relación con que en ambos grupos se objetivara a

las 12 semanas un aumento significativo ($p_{long}=0.01$) del porcentaje (%) del líquido extracelular y un descenso significativo ($p_{long}=0.01$) del % del líquido intracelular.

Por último, se analizó la MMAE, estimación de la masa muscular esquelética de las 4 extremidades, y el IMM, índice de la masa muscular esquelética, no obteniendo diferencias longitudinales ni diferencias entre grupos como consecuencia de la suplementación.

5.2.3.4. Análisis de resultados clínicos

Escalas pronósticas

En el estudio se han analizado las 2 principales escalas pronósticas en la cirrosis hepática, la clasificación Child-Pugh, que evalúa la severidad de la disfunción hepática, y el MELD score, que evalúa la probabilidad de mortalidad y de descompensación hepática.

La Tabla 14 presenta los valores de las escalas pronósticas (Child-Pugh, MELD) en las 3 visitas (T0: basal, T1: intermedia, T2: final) según el tratamiento recibido, con los p-valores para los 2 tipos de análisis realizados: longitudinal, que indica si la variable se modificó con el tiempo, y la interacción grupal, que es la prueba del efecto específico de alguno de los dos tratamientos.

Tabla 14. Valores de las escalas pronósticas según tratamiento

	Grupo HMB (N= 22)			Grupo control (N=21)			<i>p_{long}</i>	<i>p_{int}</i>
	T0	T1	T2	T0	T1	T2		
Child-Pugh	7.00 [6.00;9.00]	7.00 [6.00;8.00]	7.00 [6.00;8.00]	7.00 [6.00;8.00]	6.00 [6.00;7.00]	6.00 [5.50;7.00]	0.081	0.619
MELD	11.5 [7.75-15.8]	11.0 [8.00;16.0]	10.5 [9.00;18.0]	12.0 [9.00;17.0]	10.0 [7.25;12.8]	10.0 [8.00;13.0]	0.02	0.078

HMB: β -hidroxi- β -metilbutirato, MELD: *Model for end stage liver disease*. *p_{long}*: variación sobre el tiempo para cada variable, *p_{int}*: cambios longitudinales específicos de tratamiento

La Tabla 15 presenta los valores de las escalas pronósticas en las 3 visitas de forma global (grupo HMB + grupo control) para las 3 visitas del ensayo clínico (T0: basal, T1: intermedia, T2: final). Los datos se expresan como la mediana [rango] y el número de

casos (%) incluyendo el número de individuos con un MELD igual o superior a 15 (MELD15).

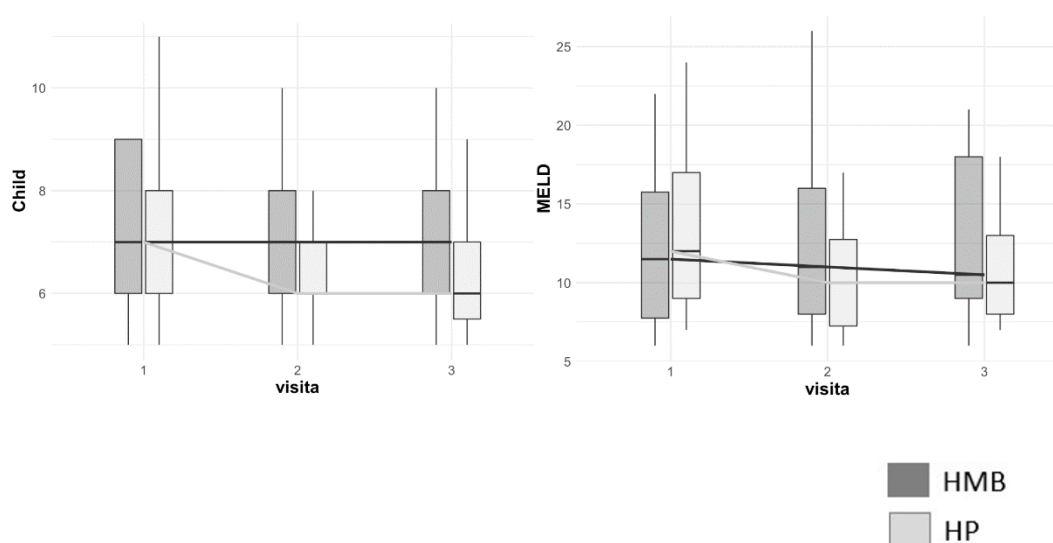
Tabla 15. Valores de las escalas pronósticas en las 3 visitas del ensayo clínico

	T0	T1	T2
	N=43	N=35	N=33
Child-Pugh	7.00 [6.00;8.50]	7.00 [6.00;7.75]	6.00 [6.00;8.00]
MELD	12.0 [8.50;16.5]	10.0 [13.5]	10.0 [8.00;14.0]
MELD15	17 (39.5%)	7 (20.0%)	8 (24.2%)

MELD: *Model for end stage liver disease*, MELD15: número de individuos con MELD ≥ 15 .

Como podemos ver, a lo largo de las 3 visitas del ensayo clínico se analizaron las escalas pronósticas de la cirrosis hepática. Se observó un descenso longitudinal significativo ($p_{long}=0.02$) de la escala MELD, sin diferencias entre tratamientos ($p_{int}=0.078$). No se observó un descenso longitudinal significativo para la escala Child-Pugh, aunque estuvo también cercana a la significación ($p_{long}=0.081$), no encontrando diferencias entre tratamientos ($p_{int}=0.619$).

Figura 22. Valores de las escalas pronósticas



Por otra parte, al final del ensayo clínico y considerando el conjunto de individuos (HMB+control), se evidenció un MELD ≥ 15 en 8 individuos (24,2%) mientras que al inicio del ensayo clínico el número de individuos era 17 (39,5% del total).

Eventos de descompensación

En la Tabla 16 se analizan los eventos de descompensación y/o complicación de la cirrosis hepática que precisaron hospitalización durante el ensayo clínico. Los resultados se expresan como número de casos (%), es decir, el número de pacientes que precisaron hospitalización por ese evento. No obstante, en una misma hospitalización un paciente podía presentar varios eventos de descompensación y/o complicación. Se estudiaron los eventos de todos los pacientes aleatorizados, tanto los que terminaron el ensayo clínico como los perdidos.

No se observó entre los grupos ninguna diferencia estadísticamente significativa en la aparición de eventos que motivaran ingreso hospitalario. Se produjeron 2 éxitos durante el ensayo clínico por coexistencia de varios eventos de descompensación y/o complicación, uno en cada grupo, sin diferencias significativas.

Tabla 16. Análisis de los eventos de descompensación durante el ensayo clínico

	HMB	Control	p
	N=22	N=21	
Encefalopatía hepática	3 (13.6%)	2 (9.52%)	1.000
Ascitis	3 (13.6%)	4 (19.0%)	1.000
Hemorragia digestiva	2 (9.09%)	1 (4.76%)	0.606
Infección	2 (9.09%)	2 (9.52%)	1.000
Insuficiencia renal	2 (9.09%)	2 (9.52%)	1.000
ACLF	0 (0.00%)	1 (4.76%)	1.000
Hepatocarcinoma	0 (0.00%)	0 (0.00%)	1.000
Éxitus	1 (4.54%)	1 (4.76%)	1.000

ACLF: Acute-on-Chronic Liver Failure

Encefalopatía hepática mínima

La encefalopatía hepática mínima (EHM) se testó con el test PHES (*Psychometric Hepatic Encephalopathy Score*) en las 3 visitas del ensayo clínico, y los resultados se evaluaron a través de la plataforma española online RedEH. Se realizó en una fase de estabilidad clínica y sin evidencia de encefalopatía hepática abierta. En la Tabla 17 se expresan el número de casos (%).

Globalmente, el 29% de los pacientes presentaban EHM basalmente, y al final del tratamiento la presencia de EHM se redujo al 21% ($p=0.32$). No hubo diferencias estadísticamente significativas entre grupos. En el grupo HMB se objetivó una reducción no significativa de la proporción de EHM del 36,4% (8/22) basal al 20% (3/15) al final del tratamiento ($p=0.16$), mientras que en el grupo control no se observó reducción del porcentaje de EHM, del 19% (4/21) basal al 21% (4/19) tras el tratamiento ($p=1$).

Tabla 17. Encefalopatía hepática mínima

	HMB	Control	p	N
	N=22	N=21		
			0.355	43
EHM T0				
no	14 (63.6%)	17 (81.0%)		
si	8 (36.4%)	4 (19.0%)		
EHM T1			1.000	34
no	11 (73.3%)	15 (78.9%)		
si	4 (26.7%)	4 (21.1%)		
EHM T2			1.000	34
no	12 (80.0%)	15 (78.9%)		
si	3 (20.0%)	4 (21.1%)		

EHM: encefalopatía hepática mínima

5.2.3.5. Análisis de aminoácidos

Los niveles de los aminoácidos se determinaron en cada visita del ensayo clínico (T0: basal previo al inicio, T1: a las 6 semanas del tratamiento, T2: al final del tratamiento). En total se obtuvieron 108 determinaciones. Los valores se expresan como la mediana [rango] y su cálculo se realizó excluyendo los valores dispersos (± 2 veces el valor de la mediana). La N refleja el número total de determinaciones (1+2+3) para cada aminoácido excluyendo los valores dispersos. Por último, se calculó su variación porcentual entre la primera y la última visita del ensayo clínico. En la Tabla 18 se resumen los valores de los aminoácidos de relevancia clínica para nuestro ensayo clínico, con los p-valores para los 2 tipos de análisis realizados: longitudinal, que indica si la variable se modificó con el tiempo, y la interacción grupal, que es la prueba del efecto específico de alguno de los dos tratamientos. Estos se obtuvieron a partir del análisis de Modelos Mixtos. En el Anexo X aparecen los niveles plasmáticos de los 29 aminoácidos analizados, en el grupo HMB y en el grupo control.

Tabla 18. Aminoácidos: niveles plasmáticos y variación porcentual

Aminoácido ($\mu\text{mol/l}$)		T0	T1	T2	N	% Δ	<i>plong</i>	<i>pint</i>
Leucina	HMB	92.4 [76.7;117]	120 [106;134]	117 [105;130]	51	127	0.01	0.035
	Control	117 [91.2;130]	116 [103;135]	118 [93.9;140]	56	101		
Isoleucina	HMB	53.3 [47.7;59.9]	63.1 [56.8;75.5]	61.9 [52.8;70.9]	51	116	0.532	0.084
	Control	62.6 [49.6;71.9]	57.9 [51.1;70.7]	56.3 [50.1;75.6]	55	90		
Valina	HMB	144 [109;191]	199 [180;245]	194 [161;210]	52	135	0.004	0.055
	Control	191 [160;253]	220 [173;244]	215 [167;237]	58	113		
AACR	HMB	300 [244;361]	382 [348;428]	376 [320;404]	51	125	0.012	0.046
	Control	370 [297;462]	385 [325;425]	380 [306;456]	54	103		
Fenilalanina	HMB	81.5 [72.8;94.2]	118 [81.4;128]	111 [96.6;118]	52	136	0.001	0.057
	Control	102 [78.2;122]	115 [86.9;135]	102 [92.6;119]	57	100		
Triptófano	HMB	35.6 [30.8;45.6]	47.7 [45.7;81.3]	48.2 [36.9;61.8]	49	135	0.012	0.066
	Control	51.3 [33.2;67.2]	59.1 [46.4;64.0]	56.7 [40.8;65.8]	56	111		

Tirosina	HMB	101 [73.1;129]	119 [74.8;170]	118 [80.5;137]	50	117	0.001	0.408
	Control	104 [91.5;130]	131 [110;158]	106 [98.5;130]	57	102		
AAA	HMB	234 [188;265]	264 [196;342]	284 [226;310]	48	121	0.003	0.103
	Control	270 [190;324]	316 [229;344]	266 [247;304]	54	99		
Índice de Fischer	HMB	1.59 [1.32;2.43]	1.58 [1.37;2.11]	1.70 [1.39;2.29]	49	107	0.013	0.586
	Control	1.80 [1.43;2.21]	1.57 [1.25;1.84]	1.64 [1.39;2.03]	52	91		
Glutamato	HMB	134 [120;191]	223 [179;352]	180 [145;337]	48	134	0.214	0.164
	Control	182 [151;332]	190 [127;261]	212 [178;249]	55	116		
Glutamina	HMB	317 [224;390]	284 [227;348]	322 [215;344]	52	102	0.932	0.862
	Control	308 [269;393]	315 [264;400]	332 [275;381]	57	116		
Índice Gln/Glu	HMB	2.16 [1.15;3.32]	1.78 [0.72;2.24]	1.69 [1.31;2.46]	48	78	0.31	0.586
	Control	1.63 [1.10;2.79]	2.07 [1.17;2.64]	1.52 [1.24;2.18]	54	93		
Alanina	HMB	267 [216;340]	371 [268;464]	360 [332;427]	52	135	0.004	0.093
	Control	331 [283;442]	392 [332;476]	391 [302;428]	58	118		

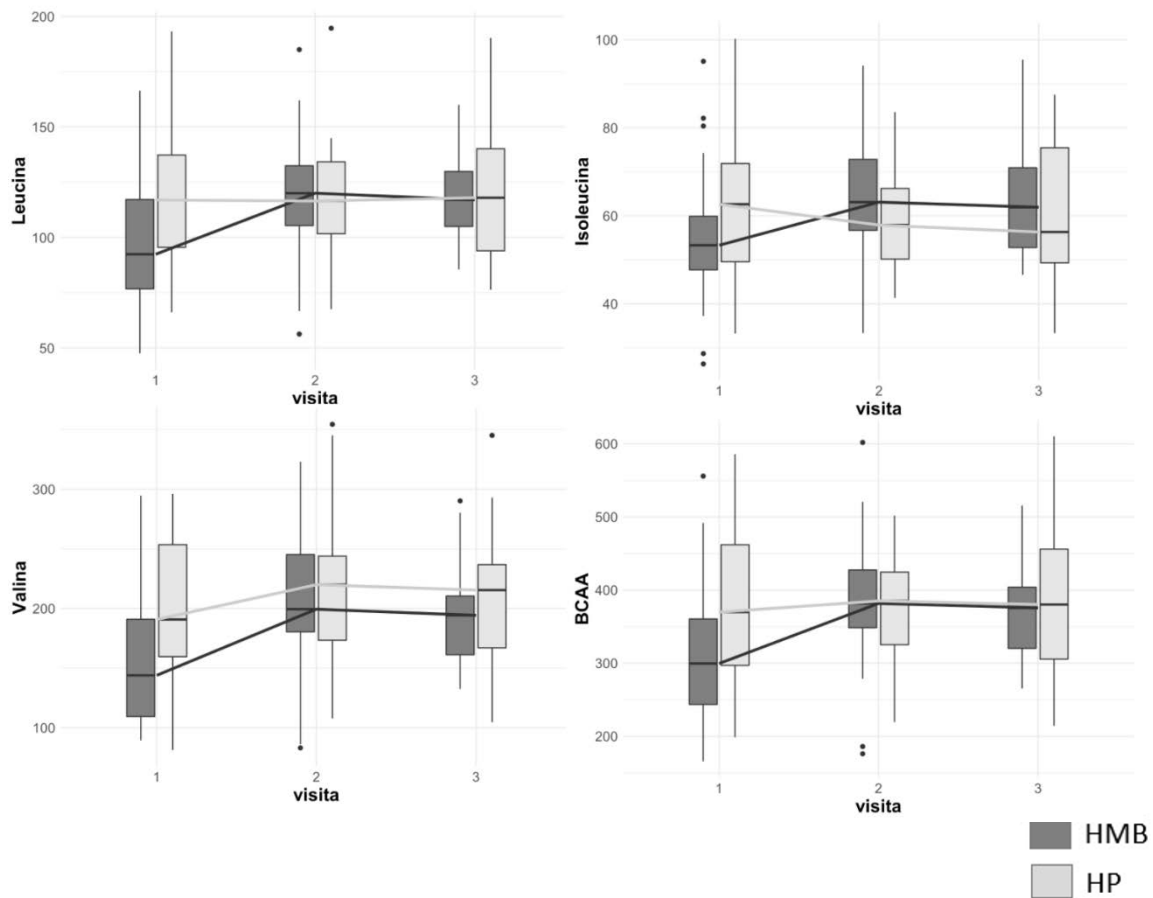
N: número de determinaciones. %Δ: variación porcentual. AACR: aminoácidos de cadena ramificada (leucina + isoleucina + valina). AAA: aminoácidos aromáticos (fenilalanina + tirosina). Gln: glutamina, Glu: glutamato. *plong*: variación sobre el tiempo para cada variable, *pint*: cambios longitudinales específicos de tratamiento

Los niveles de leucina aumentaron de forma longitudinal ($p_{long}=0.01$) y de forma exclusiva en el grupo con HMB ($p_{int}=0.035$). Los valores finales de leucina al final del tratamiento en el grupo HMB fue un 27% superior respecto al valor basal.

Respecto a los niveles de los otros 2 aminoácidos de cadena ramificada, los niveles de valina aumentaron de forma significativa ($p_{long}=0.004$) y, aunque no alcanzó significación ($p_{int}=0.055$), fue mayor en el grupo HMB vs control (aumento respecto valores basales del 35% vs 13%, respectivamente). Los niveles de isoleucina no aumentaron de forma significativa al final del estudio para ninguno de los 2 grupos ($p_{long}=0.532$), tampoco hubo significación en la interacción ($p_{int}=0.084$), aunque en el grupo HMB sus valores finales aumentaron un 16% mientras que en el grupo control disminuyeron un 10%.

Los niveles de AACR (suma de leucina + isoleucina + valina) aumentaron de forma longitudinal ($p_{long}=0.012$) y de forma exclusiva en el grupo con HMB ($p_{int}=0.046$), siendo sus niveles finales un 25% superiores a los basales.

Figura 23. Niveles de leucina, valina, isoleucina y AACR



Los niveles de los aminoácidos aromáticos aumentaron de forma longitudinal al final del tratamiento, tanto para la fenilalanina, como para el triptófano como la tirosina ($p_{\text{long}}=0.001$, 0.012 y 0.001 , respectivamente). Aunque el aumento no estuvo asociado significativamente a un tratamiento concreto ($p_{\text{int}}=0.057$, 0.066 y 0.408 respectivamente), fue mayor en el grupo HMB en los 3 aminoácidos. La fenilalanina aumentó sus niveles finales un 36% en el grupo HMB vs un 0% en el grupo control. El triptófano aumentó sus niveles finales un 35% en el grupo HMB vs un 11% en el grupo control. Por último, la tirosina aumentó sus niveles finales un 17% en el grupo HMB vs un 2% en el grupo control. Los niveles de AAA (suma de fenilalanina + tirosina + triptófano) aumentaron longitudinalmente a las 12 semanas ($p_{\text{long}}=0.003$), sin diferencias entre tratamientos ($p_{\text{int}}=0.103$), siendo un 20% mayor en el grupo HMB.

El índice de Fischer (leucina + isoleucina + valina/ fenilalanina + tirosina) aumentó longitudinalmente al final del estudio ($p_{\text{long}}=0.013$), y aunque no se observaron diferencias entre tratamientos ($p_{\text{int}}=0.586$), sólo aumentó en el grupo HMB en un 7%.

Los niveles de glutamato aumentaron de forma no significativa al final del estudio ($p_{\text{long}}=0.214$) y no hubo diferencias entre grupos ($p_{\text{int}}=0.164$). No obstante, los niveles finales de glutamato en el grupo HMB aumentaron un 34% vs un 16% en el grupo control. Los niveles de glutamina no variaron de forma significativa al final del estudio ($p_{\text{long}}=0.932$) y no se observaron diferencias entre grupos ($p_{\text{int}}=0.862$). Los valores finales de glutamina aumentaron un 2% en el grupo HMB vs un 16% en el grupo control. El índice glutamina/glutamato no varió significativamente al final del estudio ($p_{\text{long}}=0.31$) en ningún tratamiento ($p_{\text{int}}=0.272$). Los niveles de alanina aumentaron significativamente al final del estudio ($p_{\text{long}}=0.004$) y aunque no se asoció a ningún tratamiento ($p_{\text{int}}=0.093$), en el grupo HMB aumentaron un 35% vs un 18% en el grupo control, con la misma proporcionalidad que el aumento de glutamato.

Por último, se estudió la correlación entre los niveles plasmáticos de aminoácidos de ambos grupos (HMB+control) y la EHM, según su presencia (+) o ausencia (-) La Tabla 19 recoge los resultados obtenidos, los valores se expresan como la mediana [rango].

Tabla 19. Correlación entre la presencia de EHM y aminoácidos plasmáticos

	EHM – (N=82)	EHM + (N=26)	p
Aminoácidos totales (µmol/l)	3.2mM [2.9;3.6]	2.9mM [2.6;3.2]	0.011
Leucina	118 [103;139]	91.2 [68.0;104]	<0.001
Isoleucina	62.1 [52.6;73.6]	48.5 [44.1;59.9]	0.001
Valina	202 [171;246]	146 [114;181]	<0.001
Fenilalanina	105 [88.9;125]	86.7 [76.7;113]	0.045
Tirosina	113 [87.8;138]	112 [91.5;141]	0.735
Triptófano	51.9 [38.2;63.4]	45.4 [27.3;56.9]	0.089
AACR	383 [325;457]	289 [220;336]	<0.001
AAA	269 [220;320]	237 [193;297]	0.211
Índice de Fischer	1.80 [1.38;2.42]	1.45 [1.18;1.60]	0.001

Glutamato	209 [161;270]	135 [95.5;177]	<0.001
Glutamina	319 [242;382]	309 [287;419]	0.722
Índice Gln/Glu	1.72 [1.11;2.19]	2.38 [1.48;3.93]	0.022
Alanina	377 [311;468]	267 [246;353]	<0.001

EHM: encefalopatía hepática mínima, AACR: aminoácidos de cadena ramificada, AAA: aminoácidos aromáticos, Gln: glutamina, Glu: glutamato. N: número total de determinaciones.

La presencia de EHM se correlacionó con: 1) una concentración reducida de aminoácidos totales: 2.9mM [2.6;3.2] EHM+ vs 3.2mM [2.9;3.6] EHM – (p=0.011), 2) un menor nivel de cada uno de los 3 aminoácidos de cadena ramificada (leucina, isoleucina y valina) (p<0.001), así como menores niveles de la suma de ellos (AACR) (p<0.001) (24% menos que sin EHM) y menor índice de Fischer (p=0.001) (19,5% menos que sin EHM) y 3) Además, se correlacionó con mayor índice de glutamina/glutamato (p=0.022) (38,3% más que sin EHM).

5.2.3.6. Análisis de pacientes perdidos

Se perdieron un total de 9 pacientes a lo largo del ensayo clínico, 7 de ellos no completaron la segunda (a las 6 semanas) ni tercera visita (a las 12 semanas), mientras que 2 de ellos completaron la segunda, pero no la tercera visita. De los 9 pacientes perdidos:

- Hubo 2 éxitos, 1 en cada grupo, por complicaciones de la cirrosis hepática.
- 1 paciente abandonó el estudio sin motivo justificado, del grupo HMB.
- 1 paciente abandonó tras ingresar por complicación de la cirrosis hepática, del grupo control.
- 5 pacientes abandonaron por intolerancia a batidos:
 - 4 por síntomas digestivos: náuseas, vómitos o dolor abdominal, todos del grupo HMB (18,1% de pacientes del grupo HMB)
 - 1 por síntomas neurológicos: desorientación (sin ingreso), del grupo HMB

Se realizó un análisis adicional para comparar las principales características clínicas y de composición corporal entre pacientes que cumplieron el estudio y aquellos que lo abandonaron (Tabla 20). Los datos se muestran como la media (desviación estándar) o mediana [rango]. No se encontraron diferencias significativas en ningún parámetro.

Tabla 20. Diferencias clínicas y en la composición corporal entre cumplidores y abandonos

	Cumplidores (n=34)	Abandonos (n=9)	p
Edad (años)	61.1 (9.09)	60.1 (8.31)	0.756
Hombres (%)	13 (38.2%)	3 (33.3%)	1.000
Etiología de la cirrosis n (%)			0.624
Alcohol	21 (61.8%)	7 (77.8%)	
Otras	13 (38.2.8%)	2 (22.2%)	
Ascitis	18 (52.9%)	3 (33.3%)	0.457
Child-Pugh	7.00 [6.00;8.75]	6.00 [6.00;8.00]	0.581
MELD	11.5 [9.25;15.8]	15.0 [7.00;18.0]	0.787
VSG	9.75 [3.21-19.9]	3.53 [2.07-9.72]	0.155
Clase B	1.69 [1.05-2.46]	1.75 [1.31-2.57]	0.662
Clase C	7.20 [6.82-7.40]	7.20 [6.60-7.40]	0.644
IMC	25.7 (4.32)	26.5 (3.24)	0.557
IMG	5.20 [1.03;7.27]	4.60 [3.30;6.40]	0.846
IMLG	21.0 (2.51)	21.5 (2.70)	0.589

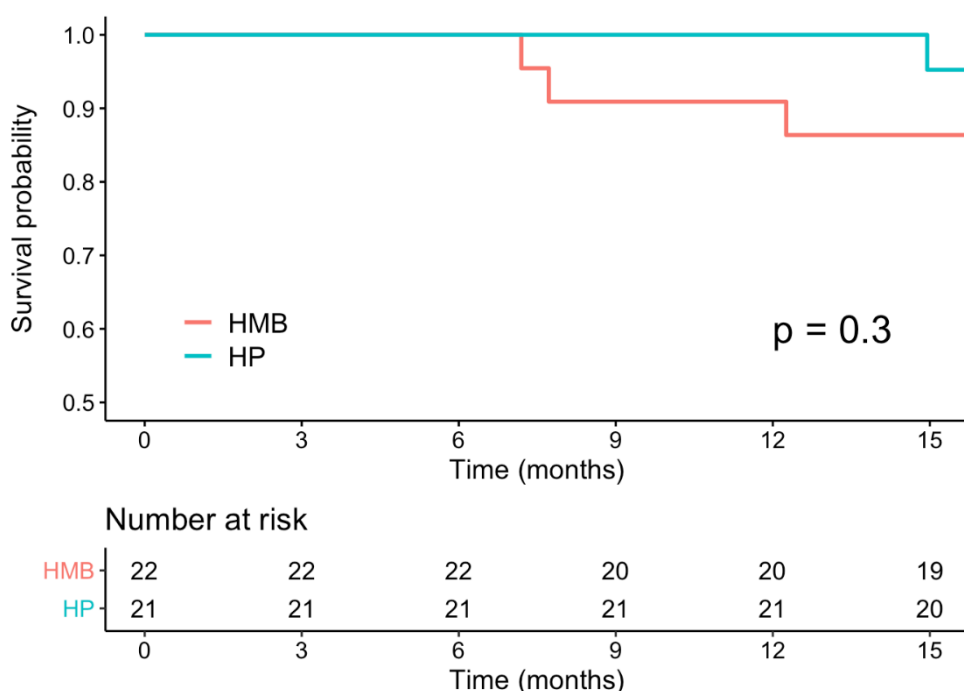
MELD: *Model for end stage liver disease*, VSG: valoración subjetiva global, IMC: índice de masa corporal, IMG: índice de masa grasas, IMLG: índice de masa libre de grasa. p= estudio de diferencias significativas

5.3. ESTUDIO DE SEGUIMIENTO

5.3.1. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

Se realizó un análisis de supervivencia de 15 meses: los 3 meses del ensayo clínico y 12 meses de seguimiento. Hubo 3 éxitos del grupo HMB y 1 éxito del grupo control. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.3$) en el tiempo de supervivencia.

Figura 24. Análisis de supervivencia



HMB: β -hidroxi- β -metilbutirato, HP (grupo control): Ensure® Plus High Protein.

5.3.2. VARIABLES CLÍNICAS

En la Tabla 21 se analizan los eventos de descompensación y/o complicación de la cirrosis hepática que precisaron hospitalización durante el seguimiento. Los resultados se expresan como número de casos (%), es decir, el número de pacientes que precisaron hospitalización por ese evento. No obstante, en una misma hospitalización un paciente podía presentar varios eventos de descompensación y/o complicación. Se estudiaron los

eventos de todos los pacientes aleatorizados, tanto los que terminaron el ensayo clínico como los perdidos no fallecidos (41 casos).

Tabla 21. Análisis de las variables clínicas en el estudio de seguimiento

	HMB	Control	p
	N=21	N=20	
Hospitalización	7 (33.3%)	5 (26.3%)	0.650
Encefalopatía	4 (19.0%)	2 (10.5%)	0.496
Ascitis	3 (14.3%)	2 (10.5%)	0.753
Hemorragia variceal	2 (9.52%)	3 (15.8%)	0.592
Descompensación	6 (28.6%)	5 (26.3%)	0.883
Infección	3 (14.3%)	0 (0.00%)	.
Insuficiencia renal	3 (14.3%)	0 (0.00%)	.
ACLF	2 (9.52%)	1 (5.26%)	0.673
Complicación	4 (19.0%)	1 (5.26%)	0.235
TIPS	1 (5.76%)	1 (5.00%)	0.976
HCC	0 (0.00%)	1 (5.26%)	.
Consumo de alcohol	6 (28.6%)	2 (10.0%)	0.161

ACLF: Acute-on-Chronic Liver Failure, TIPS: shunt portosistémico intrahepático transyugular, HCC: hepatocarcinoma.

Aunque no se encontró significación estadística para ninguna de las variables, se puede observar que en el grupo control se evidenció un menor porcentaje de eventos de descompensación y de complicación de la cirrosis hepática respecto al grupo HMB. Así, en el grupo control 5 pacientes (26,3%) sufrieron 1 ó varias descompensaciones (encefalopatía hepática, ascitis y/o hemorragia variceal) mientras que en el grupo HMB 6 pacientes (28,6%) tuvieron 1 ó varias descompensaciones. La diferencia es más evidente en el número de pacientes que sufrieron alguna complicación (infección, insuficiencia renal y/o ACLF), puesto que en el grupo control fue 1 individuo (5,26%) mientras que en el grupo HMB hubo 4 pacientes (19,0%). En el grupo HMB 7 pacientes (33,3%) requirieron hospitalización mientras que en el grupo control 5 individuos (26,3%) precisaron ser ingresados, sin diferencias significativas ($p=0.650$). El consumo

de alcohol no fue diferente significativamente entre grupos ($p=0.161$), pero se observó que en el grupo HMB el 28,6% consumían alcohol activamente durante el seguimiento mientras que en el grupo control lo hacían el 10% de los pacientes. Por último, no se evidenciaron diferencias significativas entre los individuos a los que se colocó un TIPS durante el seguimiento ni los que desarrollaron HCC durante el mismo. Como hallazgo, ningún paciente en el grupo HMB desarrolló HCC durante los 15 meses de seguimiento pese al mayor consumo alcohólico.

5.3.3. ESCALAS PRONÓSTICAS

Se analizaron las escalas pronósticas de la cirrosis hepática (MELD, Child-Pugh) a partir de las variables analíticas y clínicas durante el seguimiento a un año. Los resultados se expresan en la Tabla 22 con los valores de la mediana [rango]. Se incluyeron todos los pacientes aleatorizados no fallecidos. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Tabla 22. Escalas pronósticas en el estudio de seguimiento

	HMB	Control	p	N
MELD	10.0 [7.00;12.2]	10.0 [8.00;12.0]	0.654	40
Child	6.00 [6.00;7.00]	6.50 [5.75;8.00]	0.845	40

5.3.4. VARIABLES ANALÍTICAS

En la Tabla 23 se recogen las principales variables analíticas del seguimiento. Los datos se expresan en media (desviación estándar) o mediana [rango]. Se incluyeron todos los pacientes aleatorizados, en la N se recoge el número de pacientes con la determinación del valor. No se encontraron diferencias significativas en el seguimiento en las variables analíticas entre los grupos, incluidas las enzimas hepáticas (GOT, GPT, GGT) o parámetros de metabolismo lipídico.

Tabla 23. Variables analíticas en el estudio de seguimiento

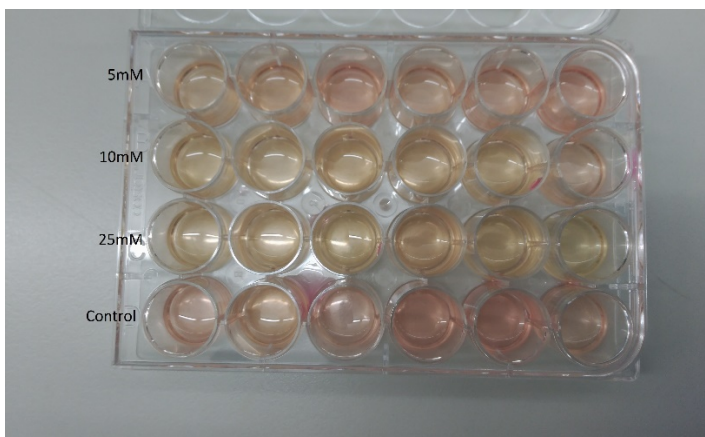
	Grupo HMB	Grupo control	p	N
	N=22	N=21		
Hierro (µg/dl)	73.0 [70.8;121]	88.5 [70.8;114]	0.871	28
Ferritina (ng/ml)	66.3 [44.4;504]	144 [44.3;299]	0.844	27
Glucosa (mg/dl)	91.0 [82.0]	92.5 [84.8;115]	0.372	40
Urea (mg/dl)	34.0 [25.0;38.2]	31.0 [25.2;37.8]	0.942	38
Creatinina (mg/dl)	0.77 [0.57;0.85]	0.78 [0.68;0.94]	0.297	41
Ácido úrico (mg/dl)	6.63 (2.38)	6.32 (1.85)	0.646	40
Triglicéridos (mg/dl)	87.5 [60.0;114]	74.0 [56.0;80.5]	0.172	31
Colesterol total (mg/dl)	189 [146;222]	183 [136;210]	0.482	40
HDL colesterol (mg/dl)	62.7 (17.3)	59.1 (23.2)	0.689	21
LDL colesterol (mg/dl)	110 (35.9)	103 (28.1)	0.670	21
Bilirrubina total (mg/dl)	1.23 [0.94;1.82]	1.25 [0.97;2.06]	0.636	40
Proteínas totales (g/dl)	7.30 (0.81)	7.07 (0.75)	0.368	39
Albúmina (g/dl)	3.61 (0.53)	3.57 (0.60)	0.830	40
Sodio (mEq/l)	139 [136;141]	138 [137;140]	0.969	41
Potasio (mEq/l)	4.20 [4.00;4.60]	4.55 [3.90;4.73]	0.425	41
FA (U/L)	110 [96.8;170]	126 [100;176]	0.402	40
GGT (U/L)	68.5 [38.2;192]	80.5 [52.5;105]	0.839	40
GOT (U/L)	43.5 [31.0;64.8]	44.0 [30.8;60.0]	0.957	40
GPT (U/L)	21.5 [14.0;32.8]	26.0 [18.0;33.8]	0.297	40
LDH (U/L)	208 (73.7)	210 (56.1)	0.889	40
Leucocitos (10³/µL)	5.2 (1.7)	4.5 (1.6)	0.200	40
Hemoglobina (g/dl)	13.1 [11.8;14.5]	12.9 [12.4;14.1]	0.754	41
Plaquetas (10³/µL)	87 [74;112]	96 [76;129]	0.734	41
INR	1.14 [1.08;1.44]	1.20 [1.10;1.27]	0.948	41
Fibrinógeno (g/L)	3.60 [2.80;4.60]	3.00 [2.80;3.90]	0.385	40

FA: fosfatasa alcalina, GGT: gamma-glutamyl transferasa, GOT: glutámico oxalacético transaminasa, GPT: transaminasa glutámico-pirúvica, LDH: lactato deshidrogenasa

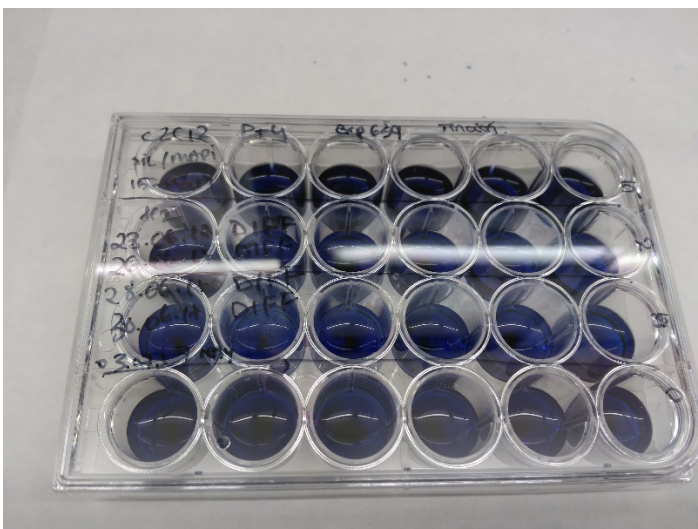
5.4. ESTUDIO IN VITRO

El estudio de viabilidad celular con la línea celular murina C2C12 diferenciada, sometida a diferentes concentraciones de acetato de amonio (5, 10, 25, 50 y 100mM y control), determinó que la concentración de amonio que no resultaba tóxica era la de 5mM. Concentraciones superiores provocaban una disminución de la viabilidad celular.

1. Acetato de amonio sobre miotubos C2C12 diferenciados, a diferentes concentraciones durante 24 horas

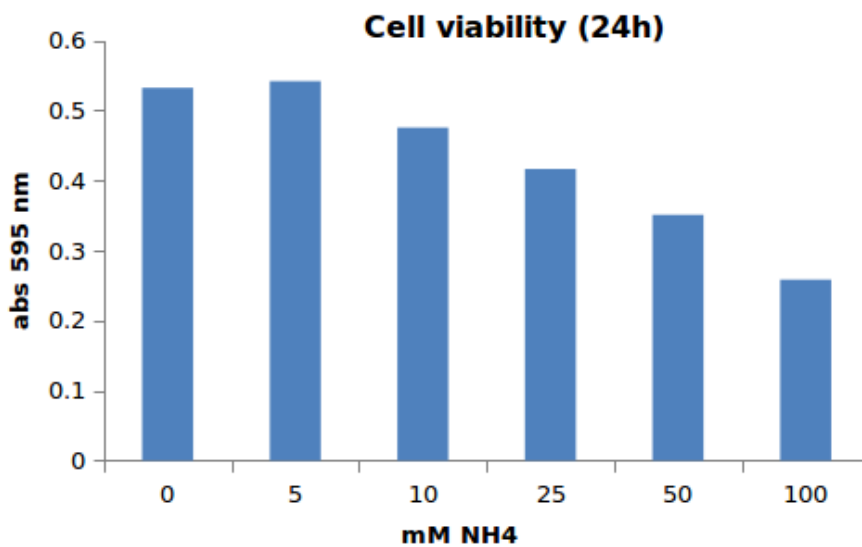


2. Tinción con Janus Green



3. Estudio de la viabilidad celular

Figura 25. Viabilidad celular de los miotubos C2C12 tras acetato de amonio



4. Estudio del efecto del amonio sobre el nivel de ARNm de genes implicados en la viabilidad celular: Se estudió el efecto de 5mM de amonio, frente a control (0mM), sobre la expresión de ARNm de GLUT4 (del inglés “*glucosa transporter type 4*”) y de CK (creatinquinasa). Se observó que con 5mM de amonio disminuía el nivel de ARNm de ambos genes, frente al control.

Figura 26. Efecto del acetato de amonio sobre el nivel de ARNm de GLUT-4

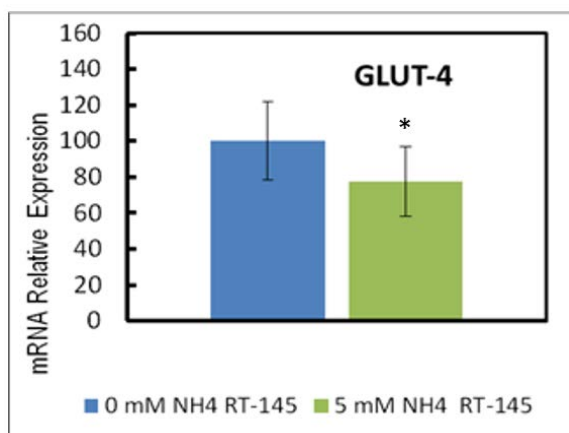
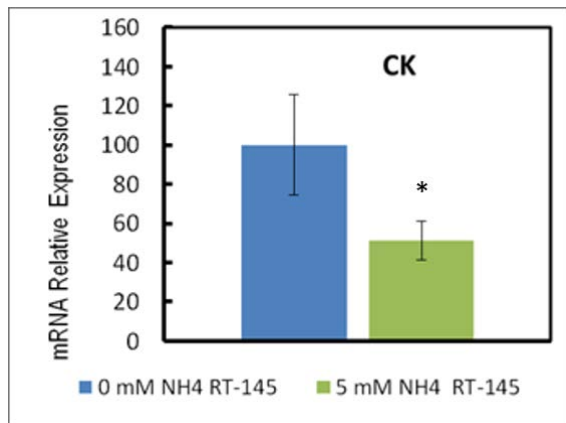


Figura 27. Efecto del acetato de amonio sobre el nivel de ARNm de CK



5. Estudio del efecto de HMB sobre la viabilidad celular. Se estudió el efecto de diferentes concentraciones de HMB (100 y 500 μ M, control -0 μ M-) sobre el nivel de ARNm de GLUT4 y CK, y se observó un aumento del nivel de ARNm de ambos con la concentración de 500 μ M frente al control, no observado con 100 μ M de HMB.

Figura 28. Efecto del HMB sobre la expresión de GLUT-4 en miotubos

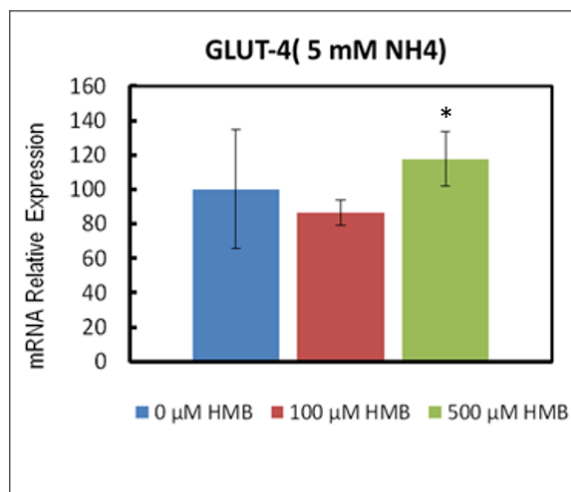
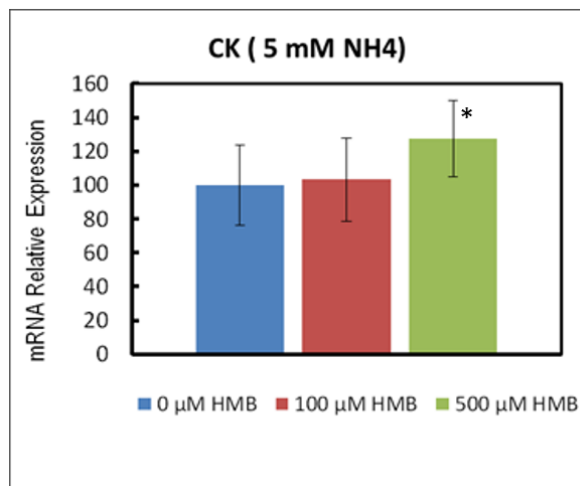


Figura 29. Efecto del HMB sobre la expresión de CK en miotubos



6. DISCUSIÓN

«Nunca te compares con nadie en este mundo. Si lo haces, estarás insultándote a ti mismo» (Bill Gates).

6.1. ESTUDIO DE FARMACOCINÉTICA DEL HMB

El estudio de farmacocinética se realizó con la suplementación de 1,5g de HMB cálcico asociado a nutrientes hipercalóricos en una población adulta sana en ayunas y bajo reposo. Vukovich et al (2001) (96) objetivaron que tanto la concentración máxima como el tiempo en alcanzarla dependía tanto de la dosis como de la administración conjunta de nutrientes. Establecieron que, en general, el tiempo en alcanzar la concentración máxima se produce tras 1h con la administración de 3g de HMB y tras 2h con la administración de 1g de HMB sin glucosa, siendo además la concentración máxima sin nutrientes mayor que bajo la administración concomitante de glucosa. La toma concomitante de glucosa retrasa y disminuye el pico plasmático al provocar un enlentecimiento del vaciamiento gástrico y aumentar el aclaramiento renal.

En nuestra población, en ayunas y con la administración de 1,5g de HMB cálcico, junto con nutrientes como carbohidratos (sacarosa 33%, jarabe de maíz 62%, fructooligosacáridos 5%), se produjo el pico plasmático a las 2h de la ingesta. Aunque la suplementación conjunta con nutrientes retrasa el pico plasmático, este se produjo a las 2h, similar al alcanzado con la suplementación de HMB a dosis de 1g sin nutrientes en la bibliografía; esto se debe probablemente al ligero aumento de la dosis (0,5g de HMB cálcico), que acorta el tiempo de pico plasmático. En cuanto a la concentración plasmática máxima, en nuestro estudio la concentración máxima a las 2h con la administración conjunta de nutrientes fue de 60 μ mol/l. En la bibliografía existente (96, 128) aparece descrita sobre todo la concentración plasmática tras la ingesta aislada de 1g de HMB en cápsula o en agua, siendo la concentración plasmática máxima aproximada de 115-150 μ mol/l. Debido a que se administró conjuntamente con nutrientes, nuestro pico plasmático fue menor.

6.2. ENSAYO CLÍNICO

6.2.1 CARACTERÍSTICAS BASALES

6.2.1.1. Características clínico-demográficas basales

En nuestro estudio la edad media de los individuos fue de 60,4 años en el grupo HMB y de 61,4 años en el grupo control, con una mayoría del género masculino. No se

conoce bien el impacto de la edad sobre la cirrosis y la malnutrición, aunque se estima que se pierde un 1% de masa muscular por año a partir de los 50 años (64). Respecto al género, los hombres tienden a perder mayor masa muscular mientras que las mujeres suelen perder mayor tejido adiposo (54).

En nuestro grupo la etiología predominante fue el alcohol con un 65% del total (28/43). Según la bibliografía, en los alcohólicos con cirrosis hepática la malnutrición es más prevalente y de mayor gravedad, pero parece deberse a factores adicionales como estilos de vida poco saludables y factores socioeconómicos (59).

Todos los pacientes presentaban algún evento de descompensación previo, ya sea por descompensación hidrópica, encefalopatía hepática o hemorragia digestiva, y en el momento del ensayo clínico el 48,8% (21/43) presentaban algún grado de ascitis y el 18,6% (8/43) edemas periféricos. El 25,5% (11/43) de los individuos del estudio habían ingresado en un tiempo inferior a 3 meses al inicio del ensayo clínico, ya sea por una descompensación o por una complicación. Según la bibliografía, la malnutrición y la sarcopenia son factores predictores de mortalidad y aumentan el riesgo de infección, de encefalopatía hepática y de ascitis y prolongan la estancia de hospitalización (61). Por último, el 4,6% (2/43) de los pacientes tenían TIPS al inicio del ensayo clínico. Hay pocos datos al respecto, pero parece que tras la colocación del mismo aumenta la masa libre de grasa y disminuye el agua corporal extracelular (129); tampoco se conoce la estabilidad de los cambios con el tiempo.

Al inicio del ensayo clínico, el 44,1% (19/43) de los individuos eran Child-Pugh A, el 51,1% (22) Child-Pugh B y el 4,6% (2) Child-Pugh C. Según la bibliografía, a mayor Child-Pugh mayor grado de malnutrición y sarcopenia. Así, en estadio Child-Pugh clase A la prevalencia de la malnutrición calórico-proteica es del 21%, en estadio Child-Pugh clase B del 40% y en estadio Child-Pugh clase C es hasta del 90% (34). Nuestro estudio incluyó principalmente pacientes en estadio Child-Pugh A/B debido a los criterios de exclusión estrictos con una descompensación o complicación reciente o no controlada, respectivamente, que limitaron la entrada de pacientes Child-Pugh C en los que estos criterios de exclusión son frecuentes. En relación al MELD, al inicio del ensayo clínico los individuos tenían un MELD medio de 13, próximo al punto de corte para entrar en lista de espera de trasplante hepático (que es de 15); según la bibliografía, todos los pacientes con cirrosis descompensada que son candidatos a trasplante hepático presentan algún grado de malnutrición (58).

En cuanto a los tratamientos que recibían los pacientes antes de comenzar el estudio, destacar la vitamina D y los beta-bloqueantes. La etiología de la deficiencia de la vitamina D en la cirrosis hepática es multifactorial y se relaciona con mayor disfunción hepática y enfermedades colestásicas (130), no obstante la bibliografía actual es imprecisa a la hora de indicar si la suplementación disminuye los eventos adversos, la mortalidad de causa hepática o la mortalidad global (131). Los beta-bloqueantes se utilizan como profilaxis primaria o secundaria del sangrado variceal y se han propuesto como estrategia para frenar la progresión en pacientes con cirrosis hepática descompensada (19).

Los individuos incluidos en el ensayo clínico debían cumplir una VSG moderada (B) o grave (C). En nuestro estudio el 72% (31/43) presentaban una VSG moderada (B) y el 28% (12/43) una VSG grave (C). Por otra parte, se aplicó el MNA evidenciando según este test un riesgo de malnutrición (17 a 23,5 puntos) en el 79% (34/43) de los individuos y una malnutrición establecida (<17 puntos) en el 21% restante (9/43). El test de VSG es el más ampliamente utilizado para evaluar el riesgo de malnutrición en individuos con cirrosis hepática, aunque parece que infraestima la malnutrición y la sarcopenia (62, 132). En nuestro estudio, parece existir una cierta concordancia entre ambos test, puesto que el VSG clasificó como malnutrición moderada al 72% y el MNA al 79% de los pacientes.

Por último, se realizó una valoración neurológica de forma basal a todos los pacientes. Se testó la escala “Mini Mental”, que descartó demencia en todos los individuos. Posteriormente, se aplicó el test PHES para la valoración de la encefalopatía mínima. El 11,6% (5/43) de los individuos habían presentado un episodio previo de encefalopatía hepática, por lo que resultaba de especial interés. En el momento de iniciar el ensayo clínico ningún paciente presentaba encefalopatía hepática abierta, pero se objetivó a través del test PHES encefalopatía hepática mínima en el 27,9% (12/43) de los individuos. Como se ha mencionado antes, la sarcopenia aumenta el riesgo de desarrollar encefalopatía hepática en individuos con cirrosis hepática (61).

6.2.1.2. Características analíticas basales

En los individuos con cirrosis hepática suele existir una sobrecarga férrica, especialmente aquellos de etiología alcohólica, enfermedad del hígado graso no alcohólica y virus de la hepatitis C, secundario a la disminución de la producción de

hepcidina. Esto se refleja analíticamente a través de un aumento de la ferritina, de la saturación de la transferrina y generalmente del aumento de la sideremia (133). En nuestra población los valores de la media o mediana de sideremia, transferrina y saturación de la transferrina fueron normales, mientras que la ferritina sérica presentaba una mediana normal con un rango amplio, con valores superiores al límite de la normalidad, probablemente en aquellos individuos de etiología alcohólica.

En relación a los niveles de vitamina B12 y ácido fólico en la cirrosis hepática, parece que unos niveles de vitamina B12 superiores a 500pg/ml y unos niveles de ácido fólico disminuidos sugieren etiología alcohólica (134). Los niveles de vitamina B12 en la cirrosis hepática están “falsamente” elevados dado que es secundario a una citólisis hepática, y esto se ha asociado a peor pronóstico, aunque no existe mucha evidencia al respecto (135). En nuestro estudio los niveles de ácido fólico fueron normales, mientras que la mediana de la vitamina B12 fue normal, pero con un amplio rango, con individuos con niveles superiores a 500pg/ml en ambos grupos.

Los índices bioquímicos no son buenos marcadores de estatus nutricional pero sí que se utilizan para monitorizar la terapia nutricional. Sin embargo, hay que tener en cuenta que las variaciones reflejan tanto el grado de catabolismo/inflamación como de recuperación nutricional. Bajo condiciones de catabolismo o inflamación disminuyen sus niveles por disminución de su síntesis y en la inflamación además se suma el aumento de la permeabilidad capilar (136). Así, teniendo en cuenta la vida media ($t_{1/2}$) de cada proteína, los niveles de albúmina plasmática ($t_{1/2}$ de 21 días) y de transtiretina (prealbúmina) ($t_{1/2}$ de 3 días) monitorizan los efectos de la terapia nutricional a largo y corto plazo respectivamente (27). Las concentraciones séricas de PCR se utilizan para monitorizar la actividad inflamatoria. En nuestro estudio se evidenciaron unos niveles de prealbúmina disminuidos (<17mg/dl) con respecto a los valores de referencia de la población en todos los individuos y una mediana de PCR aumentada (>0,5mg/dl) en una proporción de individuos. En cuanto a los niveles de vitamina D, básicamente los datos eran heterogéneos, pero los niveles fueron insuficientes (<50nmol/L) en todos los individuos.

En la cirrosis hepática existe una hiperamonemia debido a la alteración en el ciclo de la urea como consecuencia de la disfunción celular hepática y al shunt portosistémico (68). En nuestro estudio los niveles de amonio estaban básicamente altos (>35 μ mol/l). También secundario a la disfunción celular hepática se objetivaron unos niveles de la

bilirrubina total superiores a la normalidad. En cuanto a las enzimas hepáticas, las transaminasas (GOT/GPT) suelen estar elevadas en individuos con cirrosis hepática pero no en todos los casos, y la GPT es más hepato-específica (137). Un ratio GOT/GPT > 2 o una elevación de GGT puede sugerir etiología alcohólica (138). En nuestro grupo de pacientes, la GPT fue normal, mientras que presentaban un ratio GOT/GPT entre 1 y 2, con unos niveles de GGT ligeramente superiores al rango normal. Los niveles aumentados de ácido úrico se han asociado con mayor riesgo de hospitalización y muerte, así como mayores niveles de GPT y GGT (139). El ácido úrico se ha investigado como factor independiente de riesgo cardiovascular, aunque actualmente solo hay evidencia como factor independiente de daño renal (140). En nuestro grupo el valor medio fue superior a 6mg/dl, que corresponde a valores normales.

Con respecto al perfil lipídico, a mayor disfunción hepática menores niveles de lipoproteínas (LDL colesterol y HDL colesterol) y, con menor evidencia, menores niveles de triglicéridos, especialmente disminuidos ambos en los individuos con Child-Pugh clase C (141). En nuestro estudio los valores de la media de los parámetros del perfil lipídico estaban dentro del rango normal, con un colesterol LDL en el límite alto de la normalidad. En la cirrosis hepática existen niveles disminuidos de APO A1, APO B y lipoproteína (a), de mayor intensidad a mayor disfunción hepática (142, 143). En nuestro estudio se evidenciaron unos niveles bajos de lipoproteína (a) para ambos grupos (<10mg/dl), mientras que las apolipoproteínas estaban dentro de los valores normales.

Dentro de los parámetros de formación ósea se encuentra la fosfatasa alcalina ósea, la osteocalcina y el PICP, y en los de resorción ósea el CTX. Pietschmann et al (1990) (144) objetivaron menores niveles de osteocalcina en individuos con cirrosis hepática respecto a la población general. Por otra parte, parece que en los individuos con hepatitis crónica y cirrosis hepáticas existen niveles elevados de PICP como marcador de fibrosis hepática, aunque la evidencia no es sólida (145). Los niveles de CTX también están elevados en la cirrosis hepática (146). Los niveles de fosfatasa alcalina ósea no parecen verse alterados en la cirrosis hepática, aunque no hay suficiente bibliografía. En nuestro grupo, los valores de la mediana de todos los parámetros estaban dentro del rango de la normalidad salvo la osteocalcina, que estaba basalmente disminuida, probablemente en relación con los niveles disminuidos de vitamina D (147).

Por último, se analizaron los valores basales de HMB, con un rango de 1,19-4,47 μ mol/l. No se dispone hasta la fecha de información sobre los valores basales de HMB

en individuos con cirrosis hepática. En la población general adulta sana la concentración plasmática basal disminuye con la edad y son menores en el sexo femenino (92).

6.2.1.3. Características antropométricas y fuerza de agarre basales

La composición corporal se estimó a través de la antropometría y la BIA y la fuerza muscular con la fuerza de agarre mediante un dinamómetro.

En la cirrosis hepática la masa muscular se evalúa a través de los mismos métodos que en otros grupos de individuos, a través de la antropometría, la BIA, la DXA, la ecografía (grosor del muslo) y la TC/RM. Hay que tener en cuenta que las fluctuaciones del estado de hidratación condicionan los resultados de la antropometría, de la BIA y de la DXA. No obstante, la evaluación de la masa muscular se inicia generalmente con la antropometría y la BIA puesto que son métodos diagnósticos baratos, ampliamente disponibles y utilizados en la práctica. La DXA y la TC se utilizan como diagnóstico definitivo de malnutrición/sarcopenia (73).

Los índices antropométricos no están bien validados en los individuos con cirrosis hepática, no habiendo puntos de corte específicos del pliegue tricípital (estimador de la masa grasa), de la circunferencia media muscular del brazo (estimador de la masa muscular), de la circunferencia del brazo o de la circunferencia de la pantorrilla. Utilizando percentiles basados en la población general, se ha objetivado que, en individuos con cirrosis hepática, el pliegue tricípital y, sobre todo, la circunferencia media muscular del brazo tiene un valor pronóstico en la mortalidad (79). Para la población general, un pliegue tricípital ≤ 12 mm indica malnutrición (47). Para la población general, una circunferencia media del brazo ≤ 21 cm (48) y un perímetro de pantorrilla < 31 cm indica malnutrición (50). Por último, parece que el valor de la circunferencia media muscular del brazo (cm) indica sarcopenia cuando es inferior en hombres a 21,1cm y en mujeres a 19,2cm (49).

Como medida de la función muscular se usa la fuerza de agarre o test específicos como el SPPB. En los individuos con cirrosis hepática no hay un punto de corte específico en la fuerza de agarre debido a la gran variabilidad del IMC secundario a los cambios de composición de agua corporal (80). Para la población general, el EWGSOP2 estableció

el punto de corte para sarcopenia en la mano dominante en 27 Kg para hombres y 16 Kg para mujeres (31, 53).

Con respecto a la BIA, los indicadores de “masa muscular” son la masa libre de grasa (MLG), el ángulo de fase (PhA) y la masa muscular apendicular esquelética (MMAE) junto con el índice de masa muscular (IMM). La MLG es muy sensible a variaciones de la hidratación por lo que en individuos con cirrosis hepática cada vez se está dando mayor importancia a parámetros “crudos” como el PhA, que se ha relacionado con la cantidad total de proteínas corporales y de masa muscular así como con la fuerza de agarre, por lo que es un buen marcador de índice muscular. Por último, también se le ha considerado como predictor de mortalidad (42). El valor de corte para la cirrosis hepática es de $5,4^\circ$ (43), no obstante, sobre su resultado influye la celularidad y la hidratación. Para la población general se define sarcopenia si la MMAE es $<20\text{Kg}$ en hombres o $<15\text{Kg}$ en mujeres, así como si el IMM es $<7\text{ Kg/m}^2$ en hombres o $<5,5\text{ Kg/m}^2$ en mujeres (31).

Peng S et al (2007) (54) realizaron un estudio de la composición corporal de individuos con cirrosis hepática según estadío de Child-Pugh a través de la DXA y la dinamometría, y observaron una MLG (Kg) de $60,3\pm 0,7$, un %MG de $23,5\pm 0,6$ y una fuerza de agarre (Kg) de $37,7\pm 0,8$.

En nuestro estudio, la antropometría basal indicaba adipopenia en los hombres a través de unos niveles medios del pliegue tricípital disminuidos ($\leq 12\text{mm}$). No se evidenció una masa muscular globalmente disminuida, puesto que los valores medios de la circunferencia de la pantorrilla y los niveles medios de la circunferencia muscular braquial estaban por encima de los valores para definir sarcopenia. La fuerza de agarre media fue normal para los valores de referencia de la EWGSOP2 para la población general, con un valor medio global superior a la definición de sarcopenia.

Nuestra población no cumplía por BIA criterios de sarcopenia según la definición para la población general del IMM y de la MMAE. Ningún paciente tuvo un IMC $\geq 30\text{Kg/m}^2$. Los valores del ángulo de fase y de la MLG fueron normales, tanto globalmente como desglosados por sexos.

6.2.2. RESULTADOS FINALES DEL ENSAYO CLÍNICO

La bibliografía de la que se dispone hasta la fecha sobre el efecto del HMB en la antropometría de individuos con cirrosis hepática es escasa y muy reciente. Se ha publicado un ensayo clínico que estudia su efecto en hombres en un escenario postquirúrgico tras trasplante ortotópico hepático (120). Recientemente se ha publicado un ensayo clínico randomizado piloto que evalúa el efecto de la suplementación con 12 semanas de HMB sobre la antropometría en cirrosis hepática compensada, predominantemente Child-Pugh clase A (122). Sin embargo, se debe tener en cuenta que en ambos ensayos clínicos la dilución de HMB es en agua o en soluciones hipocalóricas (zumo), mientras que en nuestro ensayo clínico utilización una solución hiperproteica e hipercalórica suplementada con HMB.

Existe mucha mayor bibliografía de la suplementación con AACR en cirrosis hepática, tanto a nivel antropométrico, analítico y clínico. Los resultados son relevantes, puesto que la suplementación con HMB en ratas cirróticas aumenta los niveles plasmáticos de AACR (121). En la última revisión sistemática (91) se observa que la suplementación con AACR a nivel antropométrico aumenta levemente la fuerza muscular sin modificar el peso, la masa grasa o la masa muscular. Analíticamente, no altera la función hepática, los niveles de enzimas hepáticas o los niveles de amonio. Clínicamente, la última revisión realizada por la Cochrane (2017) (86) establece que la suplementación con AACR en individuos con cirrosis hepática y encefalopatía hepática (mínima o abierta) mejora la sintomatología de los pacientes; sin embargo, no impacta sobre la mortalidad ni la calidad de vida (86).

Hay que tener en cuenta para la interpretación de los resultados de nuestro estudio que los 2 suplementos orales utilizados tienen una composición nutricional parecida pero no idéntica (Anexo IV), uno de ellos suplementado con HMB (grupo HMB) y el otro sin HMB (grupo control). Ambos suplementos son hiperproteicos e hipercalóricos. En el grupo HMB la aportación calórica fue un 16% superior al grupo control; sin embargo, esto supone 110Kcal más al día con respecto a las 1800-2000 Kcal diarias, por lo que no lo consideramos relevante.

6.2.2.1. Efectos a nivel analítico

La bibliografía de los cambios analíticos con HMB en cirrosis hepática es reciente. En el ensayo clínico que evalúa su efecto en un escenario postquirúrgico tras trasplante ortotópico hepático (120), con la administración de 3g diarios de HMB junto con zumo durante 12 semanas no hubo incremento en los niveles de transaminasas, urea, creatinina, colesterol, triglicéridos ni glucosa. En el ensayo clínico reciente sobre cirrosis hepática compensada (122) la administración aislada de HMB no produjo alteración en los niveles de las enzimas hepáticas (GOT, GPT, GGT) ni en los niveles de la bilirrubina. En un estudio realizado sobre ratas cirróticas (121), no se objetivó cambios analíticos sobre las transaminasas, la bilirrubina ni el amonio plasmático en aquellas tratadas con HMB.

En otro estudio reciente en jóvenes varones que se sometieron a un ejercicio de resistencia, no previamente entrenados, aquellos suplementados con HMB tuvieron menores niveles de creatinquinasa, LDH y PCR que aquellos que no fueron suplementados al finalizar el estudio (112).

Hay que tener en cuenta que en nuestro estudio la administración de HMB se realizó asociada a otros nutrientes hipercalóricos e hiperproteicos, lo que conllevó la variación en los parámetros bioquímicos nutricionales basales. Además, la composición nutricional del suplemento oral de cada grupo era muy similar pero no idéntica. Al final del estudio observamos un aumento de la transferrina ($p_{\text{long}} < 0.001$) y una disminución de la saturación de la transferrina ($p_{\text{long}} = 0.043$), sin diferencias entre tratamientos, lo que indica que la sobrecarga férrica fue menor al fin del tratamiento. La prealbúmina, disminuida basalmente en ambos grupos, aumentó de forma significativa ($p_{\text{long}} < 0.001$) al finalizar el estudio, sin diferencias significativas entre tratamientos, aunque cercano a la significación ($p_{\text{int}} = 0.063$) a favor del grupo HMB, aumentando en el grupo HMB un 25% y en el grupo control un 18% respecto al valor basal. El ácido fólico también aumentó de forma significativa ($p_{\text{long}} < 0.001$) al finalizar el tratamiento, sin diferencias entre tratamientos, con un aumento del 35,5% en el grupo HMB y del 28,8% en el grupo control. La albúmina, las proteínas totales y la vitamina B12 no variaron al finalizar el estudio.

Respecto a los parámetros hepáticos, se produjo un descenso significativo ($p_{\text{long}} = 0.022$) de la bilirrubina total; aunque no hubo diferencias entre los tratamientos, en el grupo HMB disminuyó un 16% y en el grupo control un 21% al finalizar el estudio.

No hubo variación de la albúmina plasmática ni en el INR. Cuando se estudiaron los niveles séricos de las enzimas hepáticas se observó un aumento longitudinal de GGT y GOT con respecto a los valores basales ($p_{\text{long}}=0.01$ y $p_{\text{long}}=0.039$ respectivamente). En nuestro análisis, apareció una fuerte interacción entre las variaciones longitudinales y el tratamiento que indicaba la existencia de efectos específicos de los tratamientos. Así, se observó un aumento del 20% y el 10% en los valores de GGT y GOT en el grupo que recibió HMB mientras que el tratamiento control redujo en un 15%, 7% y 14% los valores de GGT, GOT y GPT respectivamente ($p_{\text{int}}=0.023$, 0.004 y 0.032, respectivamente). Los valores de fosfatasa alcalina no presentaron variaciones al final del tratamiento. Este aumento de las enzimas hepáticas puede estar en relación con la interacción del HMB con el alcohol y otros nutrientes asociados del suplemento, pero no hay bibliografía al respecto. En cualquier caso, las variables analíticas que se elevaron de forma estadísticamente significativa (GOT y GGT) en el grupo con HMB son características del consumo de alcohol y no se asociaron a un deterioro de la función hepática ni a rango de hepatotoxicidad ($<2 \times \text{LSN}$) (148).

Dam et al (2011) (149) evidenciaron que tras la administración de AACR aumentaban los niveles plasmáticos de amonio tras 1h tanto en individuos con cirrosis hepática (un 30%) como en sanos (un 50%). En la bibliografía no hay consenso sobre el efecto de los AACR en los niveles de amonio plasmático, pues en el músculo parece aumentar la detoxificación de amonio a glutamina mientras que en el enterocito y en el riñón se cree que estimula el catabolismo de glutamina a amonio (88). En nuestro estudio no hubo una variación significativa del amonio en sangre periférica al finalizar el mismo, pero sus niveles basales en ayunas aumentaron un 19,5% en el grupo HMB y un 24% en el grupo control. En relación a lo anterior, aumentaron los niveles finales de urea de forma longitudinal ($p_{\text{long}}=0.048$), sin diferencias entre tratamientos, en el grupo HMB aumentó un 55% respecto al valor basal mientras que en el grupo control fue de un 35%. No se encontraron variaciones sin embargo en los niveles finales de creatinina ni de ácido úrico.

Respecto a parámetros de citólisis e inflamación, se observó un descenso significativo ($p_{\text{long}}=0.044$) de la PCR, sin diferencias entre grupos, aunque mientras que en el grupo HMB no varió al final del estudio en el grupo control disminuyó sus niveles un 35%. Esto parece coincidir con el aumento longitudinal significativo ($p_{\text{long}}=0.001$) de la ferritina, que en el grupo HMB aumentó un 22,5% mientras que en el grupo control

disminuyó un 18%. No se encontraron variaciones significativas en los niveles finales de LDH.

Respecto a los parámetros de remodelado óseo, el grupo de HMB presentaba mayor suplementación de vitamina D y calcio, aunque ambos lo contenían. Al finalizar el estudio se observó un aumento significativo de los niveles de vitamina D ($p_{\text{long}} < 0.001$) a favor del grupo HMB de forma significativa ($p_{\text{int}} < 0.001$), con todos los pacientes de este grupo con un nivel plasmático final $> 40 \text{ nmol/L}$. Los tratamientos utilizados provocaron un aumento significativo ($p_{\text{long}} < 0.001$), sin diferencias entre tratamientos, de la osteocalcina intacta, un parámetro de formación ósea basalmente disminuido. Este aumento parece guardar relación con el aumento de los niveles de vitamina D (147). En el grupo HMB se incrementó un 83% su valor respecto al basal mientras que en el grupo control fue del 70%. Se ha visto que niveles adecuados de osteocalcina aumentan la sensibilidad a la insulina del músculo y el tejido adiposo (28). El resto de los parámetros medidos no encontraron diferencias al final del tratamiento. A destacar que en el grupo HMB basalmente se encontraron unos niveles de CTX (indicador de resorción ósea) significativamente más altos, y al finalizar el estudio, aunque no hubo diferencias significativas, en el grupo HMB disminuyeron un 32,5% y en el grupo control un 5,5%.

Se produjo un aumento significativo de los niveles plasmáticos post-tratamiento de HMB ($p_{\text{long}} = 0.003$) a favor del grupo HMB de forma significativa ($p_{\text{int}} = 0.001$), que presentó un rango amplio ($4.06\text{-}34.2 \mu\text{mol/l}$), mientras que en el grupo control los valores del rango fueron inferiores ($1.30\text{-}5.66 \mu\text{mol/l}$). Es evidente que los valores plasmáticos de HMB fueron mayores en T1 (a las 6 semanas) que en T2 (a las 12 semanas) en el grupo HMB; durante la entrevista clínica a lo largo del ensayo clínico se comprobó la adherencia a los tratamientos, y aunque se intentó que la extracción analítica se ajustase al día de finalización de la suplementación (T2), algún paciente se realizó el análisis sanguíneo unos días después, lo que pudo influenciar en el nivel plasmático de HMB dada su corta vida media (96).

Por último, con respecto a los parámetros de metabolismo lipídico, se produjo un descenso significativo del colesterol LDL ($p_{\text{long}} = 0.002$) y de la APO B ($p_{\text{long}} < 0.001$), sin diferencias entre los tratamientos. Se estudió mediante el coeficiente *rho* de Spearman la correlación entre los niveles de HMB y los niveles de colesterol LDL y APO B en el grupo HMB utilizando los datos de T1 y T2, objetivándose unos p-valores significativos para una correlación negativa, tanto para el colesterol LDL (coeficiente *rho* -0.414) como

para APO B (coeficiente *rho* -0.467), lo que quiere decir que a mayor nivel plasmático de HMB menores niveles de LDL colesterol y APO B. Esto podría ser secundario al propio metabolismo del HMB y del colesterol (93), pero desconocemos el motivo por el cual el aumento de los niveles de HMB plasmático influye únicamente en los niveles de LDL colesterol y no en los del HDL colesterol. Con respecto al resto de parámetros de metabolismo lipídico, el colesterol total y el colesterol HDL no variaron sus niveles. Aunque el HDL se mantuvo estable, se produjo un descenso final no significativo de la APO A1 en ambos grupos, del 17% en el grupo HMB frente al 4% en el grupo control. No se encontraron diferencias en los niveles finales de triglicéridos ni de lipoproteína (a).

6.2.2.2. Efectos en la composición corporal y fuerza de agarre

En lo relativo a la suplementación oral con HMB en ancianos, Hongmei Wu et al (2015) (115) publicaron un metaanálisis con 7 ensayos clínicos aleatorizados para evaluar el efecto de la suplementación de HMB sobre individuos con edad >65 años, evidenciando un aumento de la MLG sin variación en la MG. Oktaviana J et al (2019) (116) publicaron una revisión sistemática evaluando el efecto del HMB sobre una población ≥60 años que incluyó 3 estudios y nuevamente objetivaron un aumento de la MLG sin variación en la función muscular, medida mediante la fuerza de agarre y la SPPB. Sin embargo, recientemente se ha publicado un ensayo clínico aleatorizado doble ciego que combina el ejercicio de resistencia en pierna en hombres sanos > 65 años con HMB-FA vs ejercicio de resistencia con placebo durante 6 semanas (117). El ensayo clínico no encontró diferencias en la fuerza y masa muscular (valorada ecográficamente) entre los grupos, salvo un aumento de la masa magra del muslo medida por DXA en el grupo de HMB-FA.

En lo relativo a la suplementación oral con HMB en la caquexia, Bear DE et al (2019) (100) publicaron la última revisión sistemática realizada hasta el momento de la suplementación oral con HMB, de forma aislada o asociada a otros nutrientes, que incluía 15 ensayos clínicos aleatorizados, evidenciando una mejoría de la masa muscular esquelética y de la fuerza muscular, sin cambios en la grasa corporal, aunque el tamaño del efecto fue pequeño. En 2017 Holeček M (93) realizó una revisión de la bibliografía de todos los estudios publicados hasta ese momento con suplementación oral con HMB en individuos con caquexia; de los estudios publicados, se encontraron resultados

positivos sobre la antropometría en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la fractura de cadera, el cáncer y el sida, no encontrando efecto en la enfermedad reumatológica, la insuficiencia renal y el bypass gástrico. En un estudio realizado sobre humanos tras hospitalización prolongada, principalmente por proceso quirúrgico, la suplementación durante 3 meses con HMB mejoró los parámetros nutricionales y antropométricos, con una excelente tolerancia (150).

Sin embargo, los estudios previos mencionados incluyen una formulación de HMB solo o asociado a componentes no calóricos como otros aminoácidos. Los estudios que evalúan el efecto sobre la composición corporal de la suplementación de HMB asociado a otros nutrientes hipercalóricos como el empleado en nuestro estudio, en pacientes malnutridos (123) o en mayores de 65 años (124, 125), observan una ganancia de peso y de masa grasa.

En lo relativo a la suplementación con HMB en cirrosis hepática, se dispone de escasa y muy reciente bibliografía. En un ensayo clínico randomizado realizado con suplementación oral durante 12 semanas con 3g diarios de HMB diluido en zumo, en hombres tras trasplante hepático, se observó en el grupo HMB un aumento al finalizar la suplementación y mantenido a los 12 meses del MMAE, de la circunferencia media muscular del brazo y de la fuerza de agarre, no observado en el grupo control (placebo) (120). Por último, se ha publicado recientemente un ensayo clínico randomizado piloto (24 pacientes) en cirrosis hepática compensada (87,5% Child-Pugh A y 12,5% Child-Pugh B) con 12 semanas de suplementación con 3g diarios de HMB (no asociado a otros nutrientes), observándose un aumento del grosor muscular del cuádriceps medido ecográficamente en el grupo HMB comparado con placebo al final del estudio (T1) y mantenido a las 12 semanas (T2), así como una mejoría del índice de fragilidad hepática (LFI) y otros test de función muscular en T1 y T2; sin embargo, no hubo variación de la BIA ni de la fuerza muscular medida por fuerza de agarre.

Respecto a la antropometría en nuestro estudio, se observó en ambos grupos un incremento longitudinal del peso ($p_{\text{long}}=0.002$) y del pliegue tricípital ($p_{\text{long}}=0.015$), similar a otros estudios con suplementación con HMB asociada a nutrientes hipercalóricos (123). Se objetivó una disminución longitudinal de la circunferencia de la pantorrilla ($p_{\text{long}}=0.037$), sin diferencias según tratamientos ni según sexo, que pudiera estar en relación con la fluctuación de la hidratación en la cirrosis hepática (edemas). Como medida de la masa muscular, los valores finales de la circunferencia muscular

braquial no encontraron diferencias significativas al final del estudio ($p_{\text{long}}=0.688$). Todo ello indica que en la antropometría tras la suplementación se observó un aumento de la masa grasa (pliegue tricípital) y del peso a costa de la grasa, sin variación en la masa muscular (circunferencia muscular braquial). Para la evaluación de la función muscular se utilizó la fuerza de agarre, que no evidenció diferencias al final del tratamiento ($p_{\text{long}}=0.095$), con un aumento de sus valores al final del estudio del 13% en el grupo HMB y del 3% en el grupo control, por lo que queda por determinar si con un tamaño muestral más grande o con un tratamiento más prolongado se hubiera alcanzado la significación.

Respecto al resultado de la BIA tras el ensayo clínico, se observó un aumento longitudinal del IMC ($p_{\text{long}}=0.002$), de la masa grasa ($p_{\text{long}}=0.024$), del índice de la masa grasa ($p_{\text{long}}=0.013$) y del porcentaje de la masa grasa ($p_{\text{long}}=0.029$). Ningún paciente al final del estudio tuvo un IMC $\geq 30\text{Kg/m}^2$. Al final del ensayo clínico, la mediana del porcentaje de masa grasa fue: globalmente del 22,1%, en los hombres del 19,9% (valor normal $<25\%$) y en las mujeres del 27,6% (valor normal $<30\%$). No hubo diferencias significativas entre tratamientos ni entre sexos. Por tanto, la suplementación oral aumentó la masa grasa, tanto en el grupo HMB como en el control sin HMB; estos resultados son similares a otros estudios que utilizaron la suplementación con HMB asociado a nutrientes hipercalóricos (123, 124), en el que igualmente aumentó el peso y la masa grasa. Con respecto a los parámetros que evaluaron la masa muscular, el IMLG no varió significativamente al final del estudio ($p_{\text{long}}=0.718$). Igualmente, los índices de masa muscular (IMM y MMAE), dentro de la normalidad basalmente, no aumentaron de forma significativa al final del estudio ($p_{\text{long}}=0.548$ y $p_{\text{long}}=0.197$ respectivamente). Por tanto, en nuestro estudio no obtuvimos una mejoría de los parámetros de masa muscular, aunque basalmente no estaban dentro del rango de sarcopenia. Por último, el ángulo de fase disminuyó de forma significativa al final del estudio ($p_{\text{long}}=0.026$), sin diferencias entre tratamientos, pero esto no parece indicar un descenso de la masa muscular si no que es el resultado de un paso significativo ($p_{\text{long}}=0.01$) en ambos grupos de líquido intracelular a extracelular, posiblemente por las fluctuaciones del líquido ascítico.

Por todo ello, como resultado de la suplementación oral se produjo un aumento en la masa grasa sin variación de la masa muscular. En el grupo HMB se produjo un aumento de la fuerza muscular, pero no alcanzó la significación. En la fase inicial de la cirrosis hepática existe un aumento de la oxidación de los ácidos grasos (60), y parece que la

suplementación oral en cualquiera de sus formulaciones es capaz de recuperar la masa grasa. Sin embargo, no hubo variaciones de la “masa muscular”, estimada a través de la antropometría manual y de la BIA. Queda pendiente de validar si un tamaño muestral mayor es capaz de encontrar diferencias significativas a favor del HMB en la variación de la fuerza muscular y si seleccionando aquellos pacientes con masa muscular disminuida los suplementos con HMB son capaces de aumentar la masa muscular.

6.2.2.3. Efectos a nivel clínico

La bibliografía existente sobre el efecto clínico del HMB en la cirrosis hepática es muy reciente (122), y es sobre individuos compensados sin datos de EHM en los que la terapia con HMB no modificó las puntuaciones de los test psicométricos como PHES. Sin embargo, se dispone de revisiones sistemáticas realizadas por la Cochrane en 2012 (83), en 2017 (86) y la ESPEN en 2018 (91) en las que se estudia el efecto clínico de la suplementación con AACR en cirrosis hepática, encontrando efectos beneficiosos sobre la encefalopatía hepática frente a otras terapias nutricionales, aunque sin ventaja sobre las terapias de primera línea (lactulosa) (86). La suplementación oral mejora también la incidencia de ascitis y la tasa de infecciones (83). Por tanto, la suplementación oral con AACR ofrece la ventaja de mejorar la clínica de encefalopatía hepática, disminuir la incidencia de ascitis y de infecciones, aunque no parece mejorar la mortalidad ni la calidad de vida (86).

El ensayo clínico con la suplementación oral provocó en nuestra población una mejoría significativa ($p_{\text{long}}=0.02$) del valor del MELD, que disminuyó 2 puntos respecto al valor basal, siendo el valor final de 10 [8.00;14.0], sin diferencias entre tratamientos. Globalmente (grupo HMB + control), tras el estudio el número de individuos con MELD ≥ 15 y, por tanto, candidatos a trasplante hepático disminuyó un 15,3%. En cuanto al estadio de Child-Pugh, no varió significativamente al final del estudio ($p_{\text{long}}=0.081$).

Respecto al número de eventos de descompensación (ascitis, hemorragia variceal, encefalopatía hepática), no hay diferencias significativas entre grupos. Tampoco lo hay entre los eventos de complicación (insuficiencia renal, infección, ACLF). No hubo ningún paciente que desarrollase hepatocarcinoma. Fallecieron 2 pacientes durante el ensayo clínico, uno en cada grupo.

En la revisión bibliográfica de la Cochrane (86) la suplementación con AACR disminuyó la EHM. En nuestro estudio se estudió a los pacientes en los 3 momentos del ensayo clínico (T0, T1 y T2) mediante el test psicométrico PHES y se calculó la presencia o ausencia de la EHM. No se observaron globalmente diferencias estadísticamente significativas en la reducción de la EHM con la suplementación oral ($p=0.32$). Aunque no se observaron diferencias entre grupos al final del estudio, en el grupo con HMB disminuyó la proporción de EHM un 16,4% ($p=0.16$) mientras que en el grupo control aumentó un 2,1% ($p=1$).

6.2.3. AMINOÁCIDOS PLASMÁTICOS

En fase inicial de la cirrosis hepática existe un aumento de la gluconeogénesis, siendo los aminoácidos el principal sustrato mediante proteólisis en el músculo esquelético. Como resultado se generan AACR y AAA, siendo los primeros metabolizados en el músculo esquelético y los segundos en el hígado. Además, el músculo esquelético es el principal detoxificador de amonio en la cirrosis hepática, y la formación de glutamato y glutamina consume AACR (60). Como consecuencia de lo anterior, en la cirrosis hepática están disminuidos los niveles séricos de AACR al utilizarlos de fuente de energía y están aumentados los niveles de AAA como consecuencia de la disfunción hepática y el shunt portosistémico (67, 151). En individuos con cirrosis hepática y encefalopatía hepática se han objetivado menores niveles de AACR que aquellos sin encefalopatía hepática (152).

En condiciones normales, el glutamato se desamina en la mayoría de tejidos a través de la “glutamato deshidrogenasa” a α -cetoglutarato, reacción que se cataboliza bidireccionalmente. En la cirrosis hepática, el exceso de amonio se detoxifica en el músculo esquelético a través de la enzima “glutamina sintetasa”, produciendo glutamina a partir de glutamato y amonio (60). La mayoría de la glutamina producida es liberada a la sangre y catabolizada en los enterocitos y en los riñones a amonio (153). Por tanto, en la cirrosis hepática la síntesis y el catabolismo de la glutamina supone un círculo vicioso que conduce a hiperamonemia (154).

La suplementación oral con AACR escapa al catabolismo del primer paso hepático y su disposición catabólica ocurre principalmente en el músculo esquelético (155). Según lo reportado por Holecek et al (2016) (156) la suplementación oral en ratas sanas con

AACR (leucina, isoleucina y valina) aumenta la concentración plasmática y muscular de AACR, alanina y glutamina; sin embargo, se objetivó que el ayuno normalizaba la cifra de aminoácidos. Dam et al (157) demostraron que la suplementación con AACR en cirrosis aumenta los niveles plasmáticos de AACR, pero en una menor proporción que en individuos sanos. Parece que la mejor proporción hasta el momento para la suplementación es 2:1:1 (leucina : isoleucina : valina) en la regulación de los niveles de amonio y glutamina en la cirrosis hepática (88). Fischer et al (1976) (151) demostraron que la infusión de AACR aumentaba el índice de Fischer en correlación con la mejoría de los síntomas de encefalopatía hepática en individuos con cirrosis hepática.

De los estudios que disponemos del metabolismo de los aminoácidos bajo suplementación con HMB, Holecek et al (2009) (97) observaron sobre ratas sanas un aumento en sangre periférica de leucina como consecuencia de la infusión intravenosa de HMB asociada a una disminución de las concentraciones plasmáticas de alanina, glutamina y glutamato. Holecek et al (2019) (121) demostró que la suplementación con HMB aumentaba los niveles de AACR de ratas cirróticas.

La suplementación oral con HMB bajo la fórmula de Ensure® Plus Advance en individuos con cirrosis hepática aumentó a las 12 semanas los niveles plasmáticos de leucina en ayunas de forma significativa ($p_{\text{long}}=0.01$) y de forma exclusiva en este grupo ($p_{\text{int}}=0.035$). En el grupo control, pese a estar suplementado con leucina (a una dosis ligeramente inferior al grupo HMB), sus niveles no variaron al final del estudio, por lo que parece que la suplementación con HMB cálcico es la responsable del aumento significativo de leucina en el grupo HMB. Igualmente, se observó un aumento significativo en los niveles de AACR al final del estudio (T2) exclusivamente en el grupo HMB ($p_{\text{int}}=0.046$). Aunque la suplementación con Ensure® Plus Advance tenía una dosis ligeramente superior de aminoácidos que Ensure® Plus High Protein, la magnitud de los incrementos (25-27%) fue superior a las diferencias en la composición.

Los niveles de AAA aumentaron significativamente a las 12 semanas ($p_{\text{long}}=0.003$) y, aunque no alcanzó la significación, fue proporcionalmente mayor en el grupo con HMB. El índice de Fischer aumentó al final del estudio ($p_{\text{long}}=0.013$) e igualmente, aunque no alcanzó la significación, este aumento fue superior en el grupo con HMB.

Los niveles de glutamato y glutamina no variaron significativamente al final del ensayo clínico en ningún grupo. Se calculó el índice de glutamina/glutamato, por estar

relacionado con la aparición de síntomas neurológicos (158) y porque niveles elevados de glutamina se relacionan con la encefalopatía hepática (159), pero no se halló una diferencia al final del tratamiento ($p_{\text{long}}=0.31$). Por último, los niveles de alanina aumentaron significativamente al final del estudio ($p_{\text{long}}=0.004$) y en mayor proporción, aunque de forma no significativa en el grupo HMB, y en la misma proporcionalidad para ambos grupos que el aumento de los niveles plasmáticos de glutamato.

Se estudió la correlación de los niveles de aminoácidos plasmáticos en ayunas con la presencia o ausencia de EHM, unificando ambos grupos. Se observó una correlación negativa entre la presencia de EHM y la concentración total de aminoácidos, probablemente debido al estado nutricional deteriorado de los pacientes incluidos en el estudio. La presencia de EHM se asoció a unos niveles disminuidos de AACR ($p<0.001$) y de cada uno de los AACR por separado (leucina, isoleucina y valina) así como con el índice de Fischer ($p=0.001$). Estos resultados están en relación con los previos de Fischer et al (151).

Por último, se objetivó una correlación positiva de la EHM con el índice de glutamina/glutamato ($p=0.022$) y negativa con los niveles de glutamato ($p<0.001$) y alanina ($p<0.001$). Los niveles plasmáticos disminuidos de glutamato y alanina en la EHM estarían en relación con el aumento de la detoxificación de amonio en el músculo esquelético hacia la formación de glutamina, disminuyendo así los niveles de glutamato y secundariamente la formación de alanina.

6.2.4. PACIENTES PERDIDOS

Durante el ensayo clínico abandonaron 9 pacientes, 7 del grupo HMB y 2 del grupo control. Entre las 9 pérdidas hubo 2 éxitus, 1 de cada grupo ($p=1.000$). De los 7 pacientes restantes, 1 fue del grupo control tras complicación con ingreso de la cirrosis hepática y 6 fueron del grupo HMB: 4 por intolerancia digestiva, 1 por desorientación sin ingreso y 1 sin motivo justificado. Se realizó un análisis comparativo con las principales características clínicas y de composición corporal entre los pacientes que completaron el estudio ($n=34$) y aquellos que abandonaron ($n=9$), sin evidenciar significación en ninguna de ellas.

Entre los pacientes aleatorizados al grupo HMB (n=22), el 18,1% desarrollaron síntomas de intolerancia digestiva (náuseas, vómitos, dolor abdominal) que obligaron a abandonar el ensayo clínico. Esto contrasta con los otros 2 ensayos clínicos en cirrosis hepática, con 100% de tolerabilidad, en el que se administraron las mismas concentraciones de HMB (3g/día), en 2 tomas, durante el mismo periodo de tiempo (12 semanas), pero diluida cada toma en 200ml de zumo de frutas (120) o como polvo en sobres (122). Además, en un estudio con pacientes mayores en el que emplearon el mismo tipo de suplementos orales enriquecidos con HMB, el 14% presentó efectos adversos y globalmente el 9% síntomas digestivos (124), por lo que la peor tolerabilidad parece estar asociada a la asociación con otros nutrientes calóricos y no al propio HMB. Sin embargo, en nuestro estudio el grupo HMB pese a tener una composición parecida al grupo control toleró peor los suplementos; aunque es una suposición, esto podría ser debido a que basalmente en el grupo HMB había una proporción mayor no significativa de ascitis en cualquiera de sus grados, incluida ascitis refractaria.

6.3. ESTUDIO DE SEGUIMIENTO

La malnutrición y la sarcopenia en la cirrosis hepática están asociados con un mayor número de complicaciones como susceptibilidad a infecciones, encefalopatía hepática y ascitis, así como son predictores independientes de menor supervivencia en cirrosis hepática (62). De ahí la importancia de evaluar el impacto del tratamiento oral tanto a corto como a largo plazo.

La bibliografía existente de los efectos a largo plazo del tratamiento con HMB en individuos con cirrosis hepática es inexistente. El único estudio que evalúa el efecto de la suplementación oral con HMB sobre la antropometría a los 12 meses (tras 9 meses del fin del tratamiento) es un estudio postrasplante hepático, en el que el efecto específico del HMB está muy mermado por el propio efecto del trasplante hepático (120).

Se dispone de mayor bibliografía del efecto tanto antropométrico como clínico de la suplementación con AACR en cirrosis hepática; no obstante, la mayoría de los estudios reportan sus resultados al final del tratamiento, por lo general corto (menor de 3 meses), sin realizar un seguimiento clínico o antropométrico posterior (83, 86, 91). La revisión sistemática de 2017 de la Cochrane estableció que la suplementación con AACR no

mejoraba la mortalidad ni la calidad de vida en individuos con cirrosis hepática y encefalopatía hepática (86). Es de destacar que la mayoría de los estudios son antiguos. En uno de los más recientes llevado a cabo por Muto et al (2005) (85) (N=622 pacientes con cirrosis hepática descompensada) aleatorizados a recibir suplementación con AACR vs dieta durante 2 años, la suplementación con AACR a los 2 años (fin del estudio) disminuyó la mortalidad global y la mortalidad por insuficiencia hepática, no habiendo diferencias en el desarrollo de cáncer hepático o rotura de varices esofágicas.

En nuestro análisis de supervivencia a 15 meses (3 meses de tratamiento + 12 meses de seguimiento), no se evidenciaron diferencias significativas ($p=0.3$) entre ambos grupos de tratamiento. Tampoco hubo diferencias significativas en las escalas pronósticas (Child-Pugh, MELD). Aunque no hubo diferencias significativas en el número de eventos de descompensación y/o complicación que motivaran hospitalización, en el grupo HMB el porcentaje de eventos de complicación fue superior respecto al control (19% vs 5,26%, respectivamente), así como el consumo de alcohol (28,6% vs 10% respectivamente).

Con respecto a las variables analíticas, no se encontraron diferencias significativas entre grupos en ninguna de ellas, incluidas las enzimas hepáticas, por lo que el aumento significativo de las enzimas GGT y GOT en el grupo HMB no se mantuvo durante el seguimiento. Respecto a los parámetros de metabolismo lipídico, no hubo diferencias entre grupos en los niveles de LDL-colesterol, HDL-colesterol ni colesterol total.

6.4. ESTUDIO IN VITRO

El crecimiento y diferenciación de la línea celular murina C2C12 se realizó de acuerdo a la bibliografía existente (72, 160). El Janus Green-B es un colorante catiónico lipofílico, por lo que solo es captado por las mitocondrias metabólicamente activas. Debido a esta propiedad, este colorante ha sido utilizado ampliamente para evaluar la pureza, integridad y actividad metabólica de las mitocondrias en métodos basados en la microscopía. En su forma oxidada, tiene un color azul verdoso y se absorbe al máximo a 595nm (161). En nuestro estudio, el resultado colorimétrico se basó en la detección de cambios en la concentración de colorante absorbido a 595nm.

Estudiamos el efecto de diferentes concentraciones de acetato de amonio sobre los miotubos tras fijar y teñir las células con Janus Green, observando a una longitud de onda

de 595nm una disminución de la viabilidad celular con concentraciones $\geq 10\text{mM}$ de acetato de amonio.

Nuestros miotubos, tras exponerlos a 5mM de acetato de amonio durante 24 horas, disminuyeron frente al control sin acetato de amonio, la expresión del ARNm de genes implicados en la viabilidad celular. Se estudió el efecto sobre el ARNm de GLUT4, una proteína transportadora de glucosa al interior de la célula muscular, y de CK, implicado en la reserva energética del músculo esquelético. En la literatura, la concentración de 10mM de acetato de amonio aumenta la expresión de genes implicados en la autofagia (LC3, Atg5, Atg7, beclin-1) (72).

Kumar et al (2017) (162) demostró que tras 24 horas de la retirada del acetato de amonio se recuperaba la síntesis proteica y el tamaño del miotubo. Hemos querido estudiar el efecto del HMB sobre la expresión del ARNm de los genes anteriormente implicados en la viabilidad celular, observando que la exposición a 500 μM de HMB aumentaba el nivel de ARNm de ambos genes, efecto no observado con 100 μM de HMB. En estudios previos con HMB sobre la célula muscular, Girón et al (2015) (163) demostraron que el HMB atenuaba la proteólisis lisosomal y el sistema de ubiquitina-proteasoma inducida por la dexametasona. Aunque en nuestro estudio observamos un efecto beneficioso del HMB sobre la viabilidad del miotubo, en nuestros análisis in vivo no hemos encontrado ese “beneficio” a nivel de la masa muscular, probablemente debido a que las dosis de HMB utilizadas in vitro para encontrar beneficio eran muy altas (500 μM) frente a la concentración plasmática de HMB en nuestros pacientes (inferior a 35 μM).

7. CONCLUSIONES

«Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo, y no en el resultado. Un esfuerzo total es una victoria completa» (Mahatma Gandhi).

CONCLUSIONES

1. Como resultado de la suplementación se observó en ambos grupos un aumento significativo del peso corporal y de la masa grasa, sin variaciones en la masa muscular.
2. Al final del ensayo clínico no hubo diferencias significativas entre los suplementos orales, con o sin HMB, en la variación de la composición corporal medida por antropometría y por bioimpedancia.
3. En el grupo con HMB se produjo un aumento de la fuerza muscular, que no alcanzó la significación, mientras que no hubo variación en el grupo control.
4. En el grupo con HMB aumentó significativamente los niveles plasmáticos de vitamina D, de HMB y de las enzimas hepáticas GOT y GGT.
5. Al final del ensayo clínico se observó un descenso significativo, sin diferencias entre grupos, del MELD score. No hubo diferencias entre grupos en el número de eventos de descompensación y/o complicación de la cirrosis hepática que motivaran hospitalización o éxitus.
6. El número de pacientes con encefalopatía hepática mínima disminuyó exclusivamente en el grupo con HMB, aunque de forma no significativa.
7. Los niveles plasmáticos de los aminoácidos de cadena ramificada aumentaron de forma significativa únicamente en el grupo suplementado con HMB y la presencia de encefalopatía hepática mínima se correlacionó con menor índice de Fischer y mayor índice de glutamina/glutamato.
8. Durante el seguimiento a un año, no se encontraron diferencias significativas entre grupos en el tiempo de supervivencia ni en las escalas pronósticas (Child-Pugh, MELD score).

8. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Historia natural de la cirrosis hepática según Baveno IV: probabilidad anual...	4
Figura 2. Fisiopatología de la circulación hiperdinámica.....	7
Figura 3. Clasificación de la malnutrición según la etiología.....	11
Figura 4. Definición y diagnóstico de la sarcopenia.....	15
Figura 5. Bioimpedancia con método mano-pie.....	17
Figura 6. Posición de la mano en la fuerza de agarre mediante dinamómetro Jamar.....	21
Figura 7. Regulación del crecimiento del músculo esquelético.....	27
Figura 8. Valoración nutricional en la cirrosis hepática.....	30
Figura 9. Estrategias terapéuticas para la sarcopenia en la cirrosis hepática.....	33
Figura 10. Mecanismos fisiopatológicos de mejoría de la encefalopatía hepática con suplementación oral de AACR.....	35
Figura 11. Ruta metabólica del HMB.....	36
Figura 12. Efectos del HMB en el músculo esquelético.....	38
Figura 13. Protocolo del ensayo clínico.....	67
Figura 14. Estudio de farmacocinética del HMB en individuos sanos adultos en reposo..	73
Figura 15. Flujograma del ensayo tipo CONSORT.....	74
Figura 16. Valores de prealbúmina.....	86
Figura 17. Valores de ácido fólico.....	86
Figura 18. Valores de enzimas hepáticas.....	88
Figura 19. Valores de osteocalcina intacta.....	89
Figura 20. Valores de vitamina D.....	90
Figura 21. Valores de HMB.....	90
Figura 22. Valores de las escalas pronósticas.....	95
Figura 23. Niveles de leucina, valina, isoleucina y AACR.....	100
Figura 24. Análisis de supervivencia.....	104

Figura 25. Viabilidad celular de los miotubos C2C12 tras acetato de amonio.....109

Figura 26. Efecto del acetato de amonio sobre el nivel de ARNm de GLUT-4.....109

Figura 27. Efecto del acetato de amonio sobre el nivel de ARNm de CK.....110

Figura 28. Efecto. del HMB sobre la expresión de GLUT-4 en miotubos.....110

Figura 29. Efecto del HMB sobre la expresión de CK en miotubos.....111

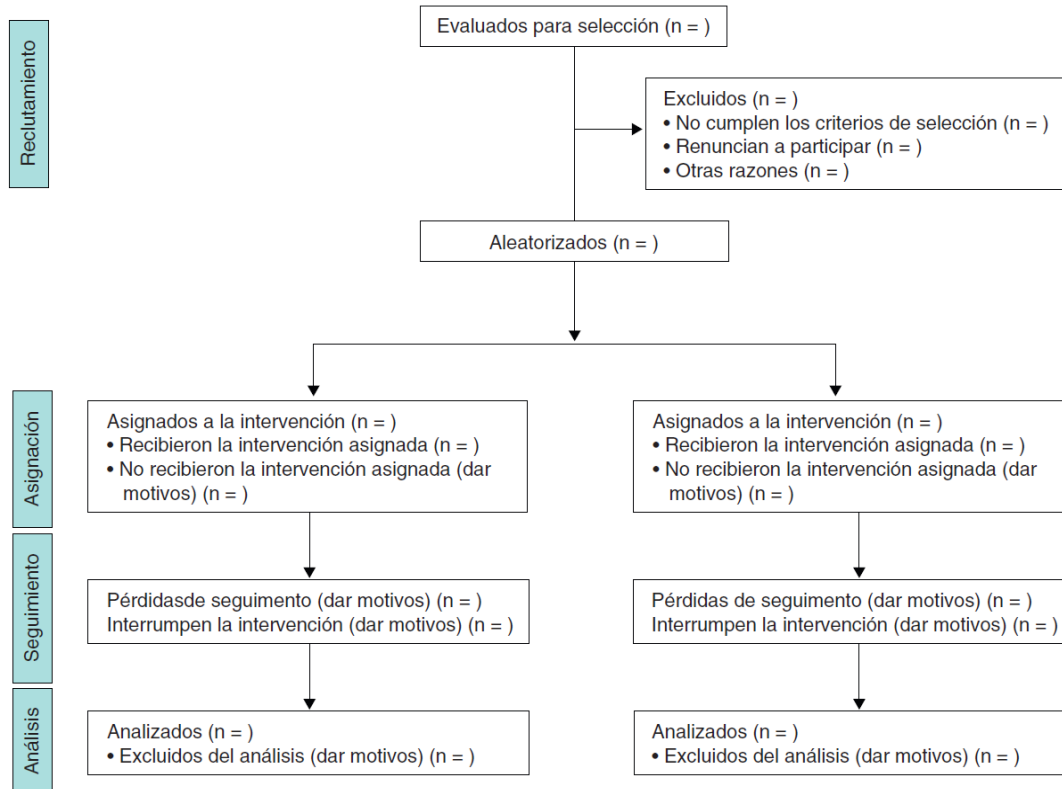
9. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de Child-Pugh.....	6
Tabla 2. Métodos de evaluación de la sarcopenia.....	14
Tabla 3. Ventajas e inconvenientes de los métodos antropométricos.....	20
Tabla 4. Factores asociados a la malnutrición en la cirrosis hepática.....	24
Tabla 5. Características clínico-demográficas basales.....	76
Tabla 6. Características analíticas basales.....	79
Tabla 7. Niveles de aminoácidos basales.....	80
Tabla 8. Valores antropométricos y fuerza de agarre basales.....	81
Tabla 9. Valores de bioimpedancia basales.....	82
Tabla 10. Valores de bioquímica en las 3 visitas del ensayo clínico.....	84
Tabla 11. Correlación entre los niveles plasmáticos de HMB y de metabolismo lipídico.....	89
Tabla 12. Valores de antropometría y fuerza de agarre según tratamiento en las 3 visitas.....	91
Tabla 13. Valores de BIA según tratamiento en las 3 visitas del ensayo clínico.....	92
Tabla 14. Valores de las escalas pronósticas según tratamiento.....	94
Tabla 15. Valores de las escalas pronósticas en las 3 visitas del ensayo clínico.....	95
Tabla 16. Análisis de los eventos de descompensación durante el ensayo clínico.....	96
Tabla 17. Encefalopatía hepática mínima.....	97
Tabla 18. Aminoácidos: niveles plasmáticos y variación porcentual.....	98
Tabla 19. Correlación entre la presencia de EHM y aminoácidos plasmáticos.....	101
Tabla 20. Diferencias clínicas y en la composición corporal entre cumplidores y abandonos.....	103
Tabla 21. Análisis de las variables clínicas en el estudio de seguimiento.....	105
Tabla 22. Escalas pronósticas en el estudio de seguimiento.....	106

Tabla 23. Variables analíticas en el estudio de seguimiento.....107

10. ANEXOS

Anexo I. DIAGRAMA DE FLUJO SEGÚN RECOMENDACIONES CONSORT



Anexo II. DOCUMENTO DE INFORMACIÓN PARA EL PARTICIPANTE

Título de la investigación: HYDROXYMETHYLIBUTYRATE (HMB) FOR DESNUTRITION IN PATIENTS WITH CIRRHOSIS (HEPATIC)

1. Introducción:

Nos dirigimos a usted para invitarle a participar en un proyecto de investigación que estamos realizando en el Hospital Universitario Miguel Servet. Su participación es importante para obtener el conocimiento que necesitamos, pero antes de tomar una decisión debe:

- Leer este documento entero
- Entender la información que contiene el documento
- Hacer todas las preguntas que considere necesarias
- Consultar con su médico-persona de confianza
- Tomar una decisión meditada
- Firmar el consentimiento informado, si finalmente desea participar.

Si decide participar se le entregará una copia de este documento y del consentimiento firmado. Por favor, consérvelos por si lo necesitara en un futuro.

2. ¿Por qué se le pide participar?

Se le solicita su colaboración porque padece usted cirrosis hepática y los especialistas que le tratan han estimado que tiene riesgo de desnutrición. En total en el estudio participarán 60 pacientes de estas características.

3. ¿Cuál es el objeto de este estudio?

Este estudio evaluará el efecto de un suplemento nutricional ya comercializado (no medicamento) enriquecido en β -hidroximetilbutirato sobre la desnutrición y la debilidad muscular.

4. ¿Qué tengo que hacer si decido participar?

Recuerde que su participación es voluntaria y si decide no participar esto no afectará a su asistencia o a su relación con el investigador y su equipo.

Su participación estaría incluida dentro del protocolo habitual del tratamiento de pacientes con cirrosis y riesgo de desnutrición. Tras una visita inicial al Especialista de Nutrición se le entregarían unos suplementos nutricionales de los cuales tendría que tomar 2 cada día acompañando las comidas habituales (por ejemplo, junto al desayuno y cena) durante 3 meses. Estos suplementos se le entregarían en el Hospital y no suponen ningún desembolso económico. Aprovechando las analíticas que se le realizaran durante el proceso asistencial al que va a ser sometido, solicitamos su autorización para extraerle 10 ml de sangre adicionales. También recogeremos 2 muestras de heces; al principio y al final del estudio. Durante los 3 meses del estudio tendrá que venir a una revisión intermedia donde se le realizaran diversas encuestas y mediciones no invasivas (peso, altura y determinación fuerza y masa muscular). El tiempo estimado para esta revisión intermedia es de 20-30 min. Como intervención específica se realizará una prueba de absorción oral en la que usted tendrá que venir en ayunas al Hospital e ingerirá uno de los suplementos nutricionales del estudio. Tras la ingestión tendrá que permanecer en reposo durante 5 horas y se le extraerán muestras de sangre a diversos tiempos. También se le solicitaran muestras de orina durante ese periodo de tiempo. Usted puede elegir participar en el estudio nutricional y no participar en la prueba de absorción.

5. ¿Qué riesgos o molestias supone?

Dado que las pruebas se realizarán en el marco de su proceso asistencial su participación en el estudio no supondrá ningún riesgo adicional al de las pruebas médicas que se le van a realizar. La realización (opcional) de participar en la prueba de absorción oral tampoco supone un riesgo de salud, si bien por su prolongada duración (5-6 horas) podría suponer alguna incomodidad.

6. ¿Obtendré algún beneficio por mi participación?

Usted no recibirá ninguna compensación económica por su participación. Al tratarse de un estudio de investigación orientado a generar conocimiento es probable que no obtenga ningún beneficio por su participación si bien usted contribuirá al avance del conocimiento y al beneficio social.

7. ¿Cómo se van a gestionar mis datos personales?

Requerimos su autorización para recoger la información contenida en su historia clínica, incorporarla al estudio y utilizarla en nuestras investigaciones. Sólo el equipo investigador tendrá acceso a los datos de su historia clínica y nadie ajeno al centro podrá consultar su historial. Toda la información recogida se tratará conforme a lo establecido en la Ley Orgánica 15/99, de protección de datos de carácter personal. En la base de datos del estudio no se incluirán datos personales: ni su nombre, ni su nº de historia clínica ni ningún dato que le pueda identificar. Se le identificará por un código que sólo el equipo investigador podrá relacionar con su nombre. Para ejercer su derecho de acceso, rectificación, cancelación y oposición respecto a sus datos obtenidos durante el estudio debe ponerse en contacto con el investigador principal. Las conclusiones del estudio se presentarán en congresos y publicaciones científicas pero se harán siempre con datos agrupados y nunca se divulgará nada que le pueda identificar.

8. ¿Cómo se van a tratar mis muestras biológicas?

Como ya le hemos explicado en el apartado 4, dentro de este estudio vamos a recoger las siguientes muestras biológicas: sangre, heces y orina. Dichas muestras serán analizadas por los miembros del proyecto o sus colaboradores y se estudiarán distintos parámetros bioquímicos y hematológicos. También analizaremos su flora intestinal. Una vez terminado el proyecto se destruirán sus muestras o el material sobrante.

9. ¿Quién financia el estudio?

Este proyecto se financia con fondos procedentes de la Red Transfronteriza de Investigación Biomédica de los Pirineos (Refbio2). El conocimiento derivado de este estudio puede generar en un futuro beneficios comerciales que pertenecerán al equipo investigador. Los participantes no tendrán derecho a reclamar parte de ese beneficio.

10. ¿Se me informará de los resultados del estudio?

Usted tiene derecho a conocer los resultados del presente estudio, tanto los resultados generales como los derivados de sus datos específicos. También tiene derecho a no conocer dichos resultados si así lo desea. Por este motivo en el documento de consentimiento informado le preguntaremos qué opción prefiere. En caso de que desee conocer los resultados, el investigador le hará llegar los resultados. En ocasiones al realizar un proyecto de investigación se encuentran hallazgos inesperados que pueden ser

relevantes para la salud del participante. En el caso de que esto ocurra nos pondremos en contacto con usted para que pueda acudir a su médico habitual.

¿Puedo cambiar de opinión?

Tal como se ha señalado, su participación es totalmente voluntaria, puede decidir no participar o retirarse del estudio en cualquier momento sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en su atención sanitaria (sólo para proyectos en el ámbito asistencial). Basta con que le manifieste su intención al investigador principal del estudio. Si usted desea retirarse del estudio se eliminarán los datos recogidos y las muestras biológicas no utilizadas en ese momento.

¿Qué pasa si me surge alguna duda durante mi participación?

En caso de duda o para cualquier consulta relacionada con su participación puede ponerse en contacto con el investigador responsable, Dr. Jose Miguel Arbonés Mainar en el teléfono 976 769 565 de 9 AM a 3PM o por correo electrónico en la dirección jmarbones.iacs@aragon.es. Muchas gracias por su atención, si finalmente desea participar le rogamos que firme el documento de consentimiento que se adjunta.

Anexo III. DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del PROYECTO: β -HYDROXYMETHYLIBUTYRATE (HMB) FOR DESNUTRITION IN PATIENTS WITH CIRRHOSIS (HEPATIC)

Yo, (nombre y apellidos del participante)

He leído el documento de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio y he recibido suficiente información sobre el mismo.

He hablado con:(nombre del investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1) cuando quiera
- 2) sin tener que dar explicaciones
- 3) sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Deseo ser informado sobre los resultados del estudio: sí no (marque lo que proceda)

He recibido una copia firmada de este Consentimiento Informado.

Firma del participante:

Fecha:

He explicado la naturaleza y el propósito del estudio al paciente mencionado

Firma del Investigador:

Fecha:

Anexo IV. INVITACION PARA PARTICIPACIÓN EN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN:

β-HYDROXYMETHYLIBUTYRATE (HMB) FOR DESNUTRITION IN PATIENTS WITH CIRRHOSIS (HEPATIC)

1. Introducción

Nos dirigimos a usted para invitarle a participar en un proyecto de investigación que estamos realizando en el Hospital Universitario Miguel Servet en pacientes con cirrosis hepática con riesgo de desnutrición o con desnutrición establecida.

2. ¿Cuál es el objetivo de este estudio?

Con este estudio pretendemos mejorar su estado nutricional y su función hepática añadiendo a su dieta habitual durante 3 meses un suplemento nutricional enriquecido en HMB.

3. ¿En qué consiste el estudio?

El estudio consta de 3 visitas al médico especialista de Digestivo en el Hospital Miguel Servet.

Tras una primera visita se realizará un análisis de sangre en el Hospital Miguel Servet. Posteriormente, se entregarán en su domicilio los batidos necesarios para los 3 meses de tratamiento.

A las 6 semanas de iniciada la toma de los batidos tendrá que acudir a una revisión para responder a unos cuestionarios y se le medirá la cantidad de grasa y musculo mediante bioimpedancia.

Finalmente, tras los 3 meses de toma de los suplementos se realizará un análisis de sangre y la última consulta médica. En cada consulta se le informará sobre los resultados de las pruebas realizadas.

4. ¿Qué riesgos supone?

Su participación en el estudio no supondrá ningún riesgo. El suplemento nutricional (batidos sabor vainilla) ya está comercializado y ha demostrado ser seguro y eficaz para prevenir estados de desnutrición.

Usted ha sido seleccionado conjuntamente con su Hepatólogo (Dr. Fuentes/Dra. Bernal/Dra. Fernández) porque creemos que puede beneficiarse de participar en este estudio llevado a cabo por profesionales sanitarios, para mejorar su estado nutricional y su calidad de vida.

5. ¿Qué tengo que hacer si decido participar?

Recibirá una llamada telefónica en aproximadamente 1-2 semanas. Se le explicará cualquier duda que desee resolver. Si está interesado en participar, se acordará una fecha para la primera visita médica. Recuerde que su participación es voluntaria y si decide no participar esto no afectará a su asistencia o a su relación con el investigador y su equipo.

ANEXO V. COMPOSICIÓN SUPLEMENTOS

Ensure® Plus Advance

Análisis aproximado*	Unidad	Por 100ml	Por 220ml
Energía	kcal/kJ	150/631	330/1,388
Proteínas	g	9,10	20
Proteínas de leche (45%)			
Caseinato de sodio (40%)			
Proteínas de soja (15%)			
Carbohidratos	g	16,80	37
Sacarosa (33%)			
Jarabe de maíz (62%)			
FOS (5%)			
Grasas	g	4,80	11
Ácidos grasos saturados	g	0,45	0,99
Ácidos grasos monoinsaturados	g	2,35	5,17
Ácidos grasos poliinsaturados	g	1,70	3,74
CaHMB	g	0,68	1,50
Agua	mg	76,50	168
Carnitina	mg	18	40
Colina	mg	70	154
Minerales			
Sodio	mg	150	330
Potasio	mg	270	594
Cloro	mg	63	139
Calcio	mg	227	499
Fósforo	mg	118	260
Magnesio	mg	25	55
Hierro	mg	2,1	4,6
Zinc	mg	1,75	3,9
Manganeso	mg	0,45	0,99
Cobre	mcg	245	539
Yodo	mcg	22	48
Selenio	mcg	9,0	20
Cromo	mcg	8,5	19
Molibdeno	mcg	15	33
Vitaminas			
Vitamina A (palmitato)	mcg FE	60	132
Vitamina A (β-caroteno)	mcg FE	60	132
Vitamina D ₃	mcg	5,7	13
Vitamina E	mg α-TE	2,5	5,5
Vitamina K ₁	mcg	15	33
Vitamina C	mg	16	35
Ácido fólico	mcg	35	77
Vitamina B ₁	mg	0,26	0,57
Vitamina B ₂	mg	0,32	0,70
Vitamina B ₆	mg	0,30	0,66
Vitamina B ₁₂	mcg	0,65	1,4
Niacina	mg NE	3,0	6,6
Ácido pantoténico	mg	1,1	2,4
Biotina	mcg	6,0	1,3

PROTEIN & AMINO ACIDS			
	g/100 g protein	g/100 ml	g/220 ml
Protein source			
Sodium caseinate	40	3.64	8.01
Milk protein concentrate / isolate	35	3.19	7.02
Soy protein isolate	15	1.37	3.01
Whey protein concentrate	10	0.91	2.00
Amino acids			
- Essential			
Histidine	2.47	0.22	0.48
Isoleucine	4.89	0.45	0.99
Leucine	8.94	0.81	1.78
Lysine	7.46	0.68	1.50
Methionine	2.36	0.21	0.46
Phenylalanine	4.68	0.43	0.95
Threonine	4.52	0.41	0.90
Tryptophan	1.31	0.12	0.26
Valine	5.74	0.52	1.14
Arginine	3.88	0.35	0.77
- Non-essential			
Alanine	3.36	0.31	0.68
Aspartic acid	3.79	0.34	0.75
Cystine	0.81	0.07	0.15
Glutamic acid	10.45	0.95	2.09
Glycine	2.21	0.20	0.44
Proline	9.01	0.82	1.80
Serine	5.35	0.49	1.08
Tyrosine	4.65	0.42	0.92
Asparagine	4.34	0.40	0.88
Glutamine	9.85	0.90	1.98
Non-protein calorie: N	78:1		

Ensure® Plus High Protein

Análisis aproximado	Unidades	por 100 ml	por 220 ml
Energía	kcal/kJ	125/526	275/1158
Proteínas	g	7,9	17,4
Carbohidratos	g	15,88	35
Grasas	g	3,30	7,3
Agua	g	80,7	177
Colina	mg	42	92
Minerales			
Sodio	mg	128	282
Potasio	mg	220	484
Cloro	mg	115	253
Calcio	mg	125	275
Fósforo	mg	88	194
Magnesio	mg	25	55
Hierro	mg	1,2	2,6
Zinc	mg	1,1	2,4
Manganeso	mg	0,28	0,62
Cobre	mcg	130	286
Yodo	mcg	16	35
Selenio	mcg	5,2	11
Cromo	mcg	5,0	11
Molibdeno	mg	11	24
Vitaminas			
Vitamina A (palmitato)	mcg FE	105	231
Vitamina D ₃	mcg	1,1	2,4
Vitamina E	mg α-TE	2,0	4,4
Vitamina K ₁	mcg	9,5	21
Vitamina C	mg	13	29
Ácido fólico	mcg	32	70
Vitamina B ₁	mg	0,21	0,46
Vitamina B ₂	mg	0,24	0,53
Vitamina B ₆	mg	0,30	0,66
Vitamina B ₁₂	mcg	0,40	0,88
Niacina	mg NE	2,5	5,5
Ácido pantoténico	mg	0,90	2,0
Biotina	mcg	5,0	11
Osmolaridad		523 mOsm/l	

PROTEIN & AMINO ACIDS			
	g/100 g protein	g/100 ml	g/200 ml
Protein source			
Sodium caseinate	50.0	3.95	7.9
Milk protein isolate	20.0	1.58	3.16
Calcium caseinate	15.0	1.18	2.37
Soy protein isolate	15.0	1.18	2.37
Amino acids			
- Essential			
Histidine	2.55	0.20	0.40
Isoleucine	4.70	0.37	0.74
Leucine	8.83	0.70	1.4
Lysine	7.22	0.57	1.14
Methionine	2.35	0.19	0.38
Phenylalanine	4.85	0.38	0.76
Threonine	4.19	0.33	0.66
Tryptophan	1.24	0.10	0.20
Valine	5.81	0.46	0.92
Arginine	3.99	0.32	0.64
- Non-essential			
Alanine	3.13	0.25	0.50
Aspartic acid	3.41	0.27	0.54
Cystine	0.57	0.04	0.08
Glutamic acid	10.7	0.84	1.68
Glycine	2.19	0.17	0.34
Proline	9.55	0.75	1.5
Serine	5.51	0.44	0.88
Tyrosine	4.91	0.39	0.78
Asparagine	4.33	0.34	0.68
Glutamine	9.99	0.79	1.58
Non-protein calorie: N ratio	75:1		

Anexo VI. CUESTIONARIO “VALORACIÓN SUBJETIVA GLOBAL” (VSG)

A) Antecedentes

1. Cambio de peso

Pérdida general en los pasados seis meses: cantidad = # _____ kg:

porcentaje de pérdida = # _____

Cambios en las últimas dos semanas: _____ incremento _____ sin cambio
_____ disminución.

2. Cambio en la ingesta dietética (relativo a lo normal)

_____ sin cambios

_____ cambios _____ duración = # _____ semanas

_____ tipo: _____ dieta sólida subóptima _____ dieta líquida,
_____ líquidos hipocalóricos, _____ inanición.

3. Síntomas gastrointestinales (que duran más de dos semanas)

_____ ninguno _____ náuseas _____ vómito

_____ diarrea, anorexia

4. Capacidad funcional

_____ sin disfunción (p. ej., a toda capacidad)

_____ disfunción _____ duración = # _____ semanas

_____ tipo: _____ trabajando subóptimamente

_____ ambulatorio

_____ en cama

5. Enfermedad y su relación con requerimientos nutricionales

Diagnóstico primario (especificar)

Demandas metabólicas (estrés): _____ sin estrés _____ estrés bajo

_____ estrés moderado _____ estrés alto

B) Física (especifique: 0 = normal, 1+ = leve, 2+ = moderada, 3+ = intensa).

_____ pérdida de grasa subcutánea (tríceps, tórax)

_____ atrofia muscular (cuádriceps, deltoides)

_____ edema en tobillo

_____ edema sacro

_____ ascitis

C) Clasificación VGS (seleccione una)

_____ a) Bien nutrido

_____ b) Moderado (o sospecha de estar desnutrido)

_____ c) Gravemente desnutrido

Anexo VII. CUESTIONARIO “MINI NUTRITIONAL ASSESSMENT” (MNA)

Responda a la primera parte del cuestionario indicando la puntuación adecuada para cada pregunta. Sume los puntos correspondientes al cribaje y si la suma es igual o inferior a 11, complete el cuestionario para obtener una apreciación precisa del estado nutricional.

Cribaje	
A Ha perdido el apetito? Ha comido menos por faltade apetito, problemas digestivos, dificultades de masticación deglución en los últimos 3 meses? 0 = ha comido mucho menos 1 = ha comido menos 2 = ha comido igual	<input type="checkbox"/>
B Pérdida reciente de peso (<3 meses) 0 = pérdida de peso > 3 kg 1 = no lo sabe 2 = pérdida de peso entre 1 y 3 kg 3 = no ha habido pérdida de peso	<input type="checkbox"/>
C Movilidad 0 = de la cama al sillón 1 = autonomía en el interior 2 = sale del domicilio	<input type="checkbox"/>
D Ha tenido una enfermedad aguda o situación de estrés psicológico en los últimos 3 meses? 0 = sí 2 = no	<input type="checkbox"/>
E Problemas neuropsicológicos 0 = demencia o depresión grave 1 = demencia moderada 2 = sin problemas psicológicos	<input type="checkbox"/>
F Índice de masa corporal (IMC) = peso en kg / (talla en m) ² 0 = IMC <19 1 = 19 ≤ IMC < 21 2 = 21 ≤ IMC < 23. 3 = IMC ≥ 23.	<input type="checkbox"/>
Evaluación del cribaje (subtotal máx. 14 puntos)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
12-14 puntos: estado nutricional normal 8-11 puntos: riesgo de malnutrición 0-7 puntos: malnutrición	
Para una evaluación más detallada, continúe con las preguntas G-R	
Evaluación	
G El paciente vive independiente en su domicilio? 1 = sí 0 = no	<input type="checkbox"/>
H Toma más de 3 medicamentos al día? 0 = sí 1 = no	<input type="checkbox"/>
I Úlceras o lesiones cutáneas? 0 = sí 1 = no	<input type="checkbox"/>
J. Cuántas comidas completas toma al día? 0 = 1 comida 1 = 2 comidas 2 = 3 comidas	<input type="checkbox"/>
K Consume el paciente • productos lácteos al menos una vez al día? sí <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> • huevos o legumbres 1 o 2 veces a la semana? sí <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> • carne, pescado o aves, diariamente? sí <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> 0.0 = 0 o 1 síes 0.5 = 2 síes 1.0 = 3 síes	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
L Consume frutas o verduras al menos 2 veces al día? 0 = no 1 = sí	<input type="checkbox"/>
M Cuántos vasos de agua u otros líquidos toma al día? (agua, zumo, café, té, leche, vino, cerveza...) 0.0 = menos de 3 vasos 0.5 = de 3 a 5 vasos 1.0 = más de 5 vasos	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
N Forma de alimentarse 0 = necesita ayuda 1 = se alimenta solo con dificultad 2 = se alimenta solo sin dificultad	<input type="checkbox"/>
O Se considera el paciente que está bien nutrido? 0 = malnutrición grave 1 = no lo sabe o malnutrición moderada 2 = sin problemas de nutrición	<input type="checkbox"/>
P En comparación con las personas de su edad, cómo encuentra el paciente su estado de salud? 0.0 = peor 0.5 = no lo sabe 1.0 = igual 2.0 = mejor	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Q Circunferencia braquial (CB en cm) 0.0 = CB < 21 0.5 = 21 ≤ CB ≤ 22 1.0 = CB > 22	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
R Circunferencia de la pantorrilla (CP en cm) 0 = CP < 31 1 = CP ≥ 31	<input type="checkbox"/>
Evaluación (máx. 16 puntos)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Cribaje	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Evaluación global (máx. 30 puntos)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Evaluación del estado nutricional	
De 24 a 30 puntos <input type="checkbox"/>	estado nutricional normal
De 17 a 23.5 puntos <input type="checkbox"/>	riesgo de malnutrición
Menos de 17 puntos <input type="checkbox"/>	malnutrición

Anexo VIII. CUESTIONARIO “MINI MENTAL”

MINI MENTAL STATE EXAMINATION (MMSE)*Basado en Folstein et al. (1975), Lobo et al. (1979)*

Nombre: _____ Varón [] Mujer []
 Fecha: _____ F. nacimiento: _____ Edad: _____
 Estudios/Profesión: _____ Núm. Historia: _____
 Observaciones: _____

¿En qué año estamos? 0-1 ¿En qué estación? 0-1 ¿En qué día (fecha)? 0-1 ¿En qué mes? 0-1 ¿En qué día de la semana? 0-1	ORIENTACIÓN TEMPORAL (máx. 5)	
¿En qué hospital (o lugar) estamos? 0-1 ¿En qué piso (o planta, sala, servicio)? 0-1 ¿En qué pueblo (ciudad)? 0-1 ¿En qué provincia estamos? 0-1 ¿En qué país (o nación, autonomía)? 0-1	ORIENTACIÓN ESPACIAL (máx. 5)	
Nombre tres palabras peseta-caballo-manzana (o balón-bandera-árbol) a razón de 1 por segundo. Luego se pide al paciente que las repita. Esta primera repetición otorga la puntuación. Otorgue 1 punto por cada palabra correcta, pero continúe diciéndolas hasta que el sujeto repita las 3, hasta un máximo de 6 veces. Peseta 0-1 Caballo 0-1 Manzana 0-1 (Balón 0-1 Bandera 0-1 Árbol 0-1)	Núm. de repeticiones necesarias FIJACIÓN RECUERDO inmediato (máx. 3)	
Si tiene 30 euros y me va dando de tres en tres, ¿Cuántos le van quedando?. Detenga la prueba tras 5 sustracciones. Si el sujeto no puede realizar esta prueba, pídale que deletree la palabra MUNDO al revés. 30 0-1 27 0-1 24 0-1 21 0-1 18 0-1 (0 0-1 D 0-1 N 0-1 U 0-1 M 0-1)	ATENCIÓN CÁLCULO (máx. 5)	
Preguntar por las tres palabras mencionadas anteriormente. Peseta 0-1 Caballo 0-1 Manzana 0-1 (Balón 0-1 Bandera 0-1 Árbol 0-1)	RECUERDO DIFERIDO (máx. 3)	
DENOMINACIÓN. Mostrarle un lápiz o un bolígrafo y preguntar ¿qué es esto?. Hacer lo mismo con un reloj de pulsera, lápiz 0-1, reloj 0-1. REPETICIÓN. Pedirle que repita la frase: "ni sí, ni no, ni pero" (o "en un trigal había 5 perros") 0-1. ÓRDENES. Pedirle que siga la orden: "coja un papel con la mano derecha, dóblelo por la mitad, y póngalo en el suelo". Coge con la mano derecha 0-1 dobla por la mitad 0-1 pone en suelo 0-1. LECTURA. Escriba legiblemente en un papel "cierre los ojos". Pídale que lo lea y haga lo que dice la frase 0-1. ESCRITURA. Que escriba una frase (con sujeto y predicado) 0-1. COPIA. Dibuje 2 pentágonos intersectados y pida al sujeto que los copie tal cual. Para otorgar un punto deben estar presentes los 10 ángulos y la intersección 0-1.	LENGUAJE (máx. 9)	
Puntuaciones de referencia: 27 ó más: normal 24 ó menos: sospecha patológica 12-24: deterioro 9-12: demencia	PUNTUACIÓN TOTAL (máx. 30 puntos)	

a.e.g.(1999)

Anexo IX. **PSYCHOMETRIC HEPATIC ENCEPHALOPATHY SCORE (PHES)****A. TEST DE SÍMBOLOS Y NÚMEROS****Pretest:**

Por favor, mire la primera línea de este papel. Verá nueve cuadrados. Cada uno de ellos muestra un número en la parte superior y un símbolo en la parte inferior. Cada símbolo pertenece a un número. Podrá ver que, en la línea de ejercicios de abajo, en los primeros cinco cuadrados, los símbolos que pertenecen a los números están ya rellenos. Por favor, complete la fila rellenando con los símbolos que faltan los cuadrados vacíos.

Test:

En la parte inferior de la página verá más cuadrados vacíos. No le daré la señal de comienzo para rellenar los símbolos correspondientes a los números como previamente hizo. Por favor, rellene uno tras otro en el orden preestablecido y hágalo lo más rápidamente posible sin cometer errores. No se salte ningún cuadrado. Tan pronto como acabe con una fila, comience con la siguiente. Continúe hasta que, pasados exactamente 90 segundos, le diré “pare”. ¿Lo ha comprendido? Por favor, comience ahora.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
V	□	÷	Λ	X	⌈	□	÷	Γ

2	1	3	1	2	1	3	1	4	2	4	2	5	1	4	3	5	3	6	2
□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□

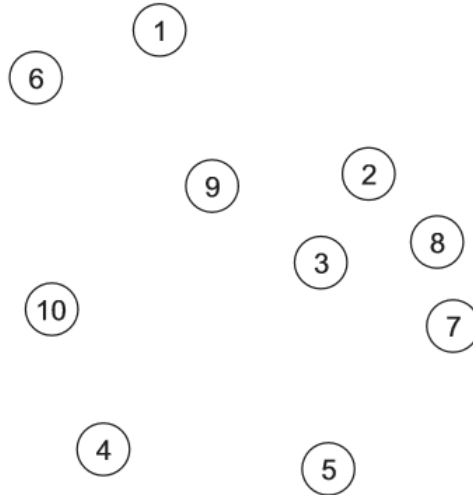
1	6	5	2	4	7	3	5	1	7	6	3	8	5	3	6	4	2	1	8
□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□

9	2	7	6	3	5	8	3	6	5	4	9	7	1	8	5	3	6	8	2
□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□

7	1	9	3	8	2	5	7	4	1	6	7	4	5	8	2	9	6	4	3
□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□

B. CONEXIÓN NUMÉRICA A**Pretest:**

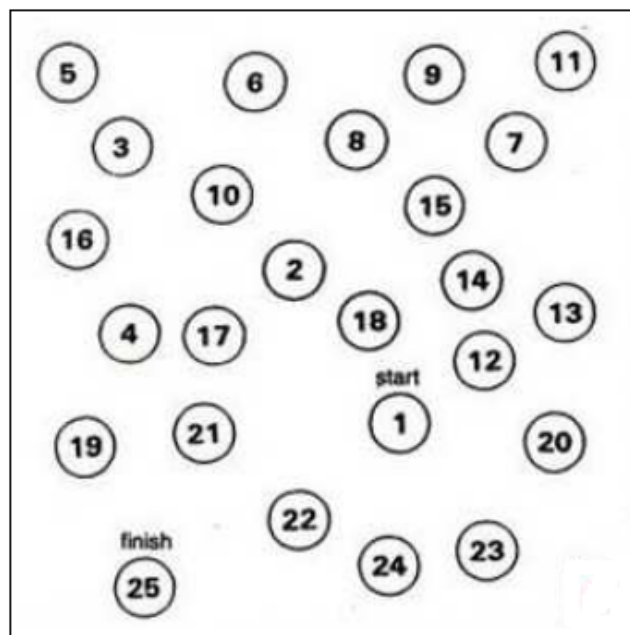
En esta hoja, puede ver números desde 1 al 25 dispersos por el papel. Deberá unir los número tan rápido como pueda en el mismo orden que si estuviera contando. Escoja siempre el camino más corto. Inténtelo para practicar.

**Test:**

En esta hoja puede ver de nuevo los números del 1 al 25, aunque en un orden diferente al de la hoja de entrenamiento. De nuevo deberá unir los número en el orden correcto, pero ahora mediremos el tiempo que necesita para hacerlo. Comience cuando yo le dé la señal y no se salte ningún número. ¿Lo ha comprendido? Por favor, comience ahora.

NOTAS:

Si el paciente se salta uno de los números, deberá interrumpirlo inmediatamente. El deberá corregir el error, y luego continuar. el tiempo para esta corrección entra dentro del tiempo total. No olvide para el reloj cuando se alcance el número 25, y anotar el tiempo en la hoja de test. Encontrará un cuadrado para esto en la hoja (T=).



C. CONEXIÓN NUMÉRICA B

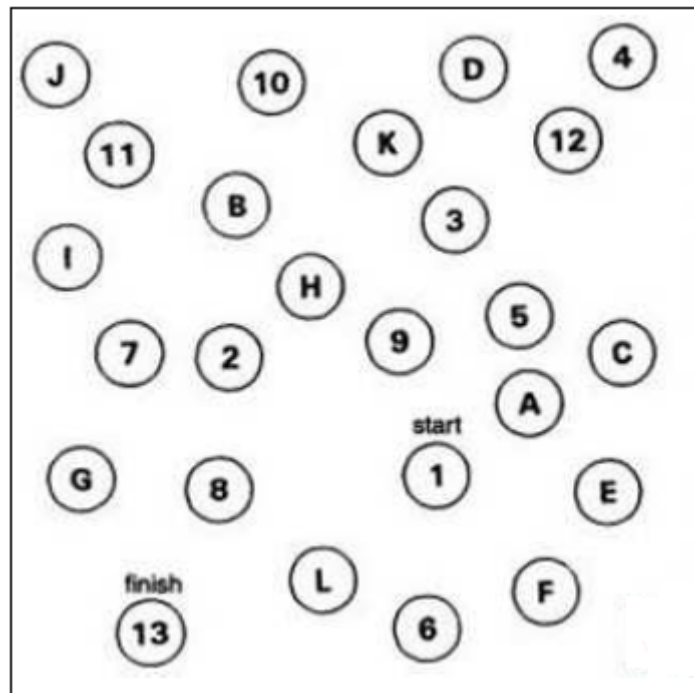
Este test deberá ser realizado inmediatamente después de TCN A. No requiere demostración previa.

Test:

En esta hoja verá los números del 1 al 13, y las letras de la A a la L. Ahora, su tarea es conectar números y letras alternándolos; esto quiere decir del 1 a la A, del 2 a la B y así hasta el final. Este test lo deberá realizar tan rápido como sea posible. El tiempo que necesite para completar la prueba será medido de nuevo. ¿Lo ha comprendido? Por favor, comience ahora.

NOTAS:

Si el paciente se salta un número o una letra, interrúmpalo inmediatamente. El paciente deberá corregir el error y luego continuar. El tiempo que necesite para la corrección entra dentro del tiempo total de la prueba. No se olvide de parar el reloj cuando se alcance el número 13, y de anotarlo en el cuadrado preparado para ello en la hoja de test.



D. SERIE DE PUNTOS**Pretest:**

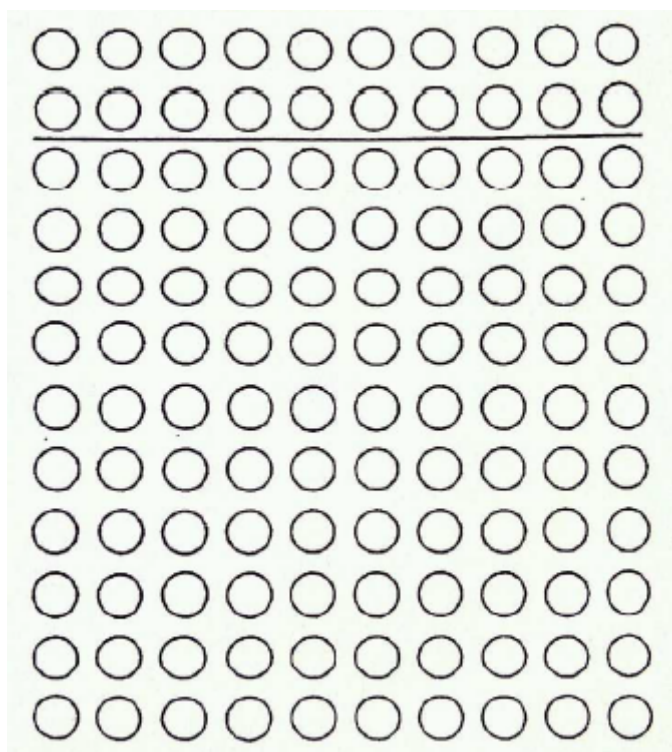
En esta hoja puede ver 10 filas de círculos. Su prueba es poner un punto en el centro de cada círculo, tan preciso como sea posible, comenzando siempre por la parte izquierda de la fila. Comience con las dos filas de prueba.

Test:

Cuando diga “ahora”, coloque un punto tan rápidamente como pueda en los círculos vacíos de las filas que no se han rellenado. El tiempo que necesite también será medido. ¿Ha comprendido todo? Por favor, comience ahora.

NOTAS:

Asegúrese que el paciente comienza cada fila después de la línea. El tiempo comienza cuando ponen el primer punto en la primera fila, y termina cuando se completa el último círculo de la última fila. Anote el tiempo en la hoja de test.



E. TEST DE LÍNEA QUEBRADA

Pretest:

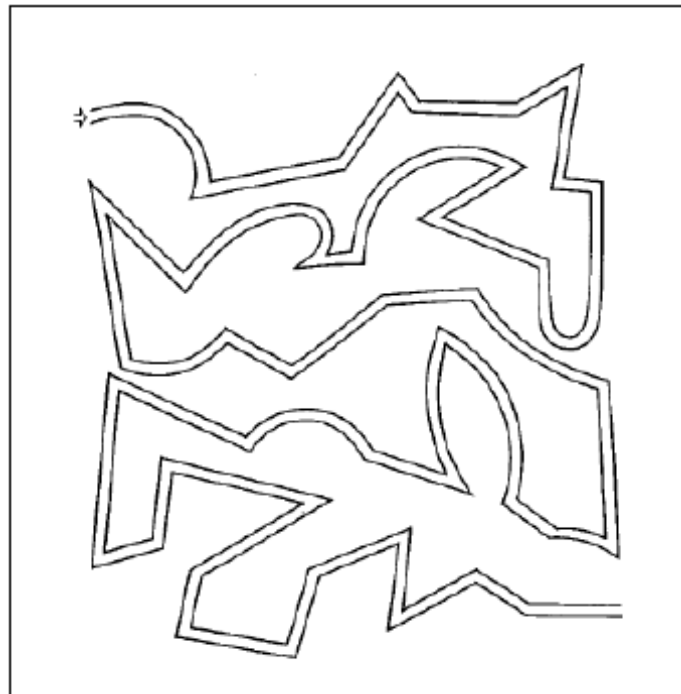
En este test, deberá dibujar una línea continua entre las dos líneas dadas. Al hacerlo, no deberá tocar ni cruzar las líneas pintadas. Por favor, no mueva el papel y no despegue el rotulador del papel. Inténtelo en la fila de entrenamiento.

Test:

Ahora, haga lo mismo en la parte inferior de la página. Se medirá el tiempo que necesite. Sobre todo, es importante cometer pocos errores y permanecer entre las líneas dibujadas. ¿Lo ha comprendido? Por favor, comience ahora.

NOTAS:

Asegúrese que el paciente no levante el bolígrafo y que no mueve la hoja. El tiempo comienza cuando el paciente pone el rotulador sobre el papel en el punto inicial, y acaba cuando se llega al final. No olvide anotar el tiempo medido (T=).



Anexo X. VALORES PLASMÁTICOS DE LOS AMINOÁCIDOS

Tabla. Valores plasmáticos de los aminoácidos

AMINOÁCIDOS		1	2	3	N	Variación porcentual
Fosfoserina	HMB+control	2.96	3.41	3.25	105	110
	HMB	2.50	3.29	3.26	48	130
	Control	3.21	3.52	3.23	57	101
Taurina	HMB+control	64.40	67.50	82.10	99	127
	HMB	64.10	57.10	79.00	47	123
	Control	72.70	75.00	85.00	52	117
Ácido aspártico	HMB+control	27.20	38.90	33.50	110	123
	HMB	26.00	37.10	32.00	52	123
	Control	30.30	40.20	35.80	58	118
Treonina	HMB+control	132.00	146.00	146.00	107	111
	HMB	132.00	120.00	144.00	51	109
	Control	133.00	156.00	171.00	56	129
Serina	HMB+control	152.00	161.00	169.00	107	111
	HMB	147.00	152.00	166.00	49	113
	Control	161.00	165.00	171.00	58	106
Asparragina	HMB+control	74.50	74.30	79.00	107	106
	HMB	72.90	66.70	70.20	51	96
	Control	74.60	77.20	82.00	56	110
Glutamato	HMB+control	161.00	196.00	209.00	103	130
	HMB	134.00	223.00	180.00	48	134
	Control	182.00	190.00	212.00	55	116
Glutamina	HMB+control	316.00	303.00	327.00	109	103
	HMB	317.00	284.00	322.00	52	102
	Control	308.00	315.00	332.00	57	116
Ácido amino adípico	HMB+control	3.66	3.58	4.58	99	125
	HMB	3.42	3.56	4.60	48	135
	Control	4.08	3.90	4.45	51	109
Glicina	HMB+control	277.00	288.00	296.00	104	107
	HMB	275.00	280.00	300.00	48	109
	Control	277.00	292.00	289.00	56	104
Alanina	HMB+control	305.00	386.00	374.00	110	123
	HMB	267.00	371.00	360.00	52	135
	Control	331.00	392.00	391.00	58	118
Citrulina	HMB+control	42.30	47.00	47.30	101	112

	HMB	41.00	43.50	44.00	50	107
	Control	42.50	49.70	50.70	51	119
Acido-α-aminobutírico	HMB+control	15.20	15.70	15.30	103	101
	HMB	14.70	16.00	16.30	52	111
	Control	15.40	14.10	14.80	51	96
Valina	HMB+control	166.00	208.00	194.00	110	117
	HMB	144.00	199.00	194.00	52	135
	Control	191.00	220.00	215.00	58	113
Cistina	HMB+control	1.58	1.40	0.89	98	56
	HMB	1.64	2.30	1.25	45	76
	Control	1.54	1.03	0.65	53	42
Metionina	HMB+control	34.30	39.60	36.00	103	105
	HMB	30.80	32.50	36.50	47	119
	Control	36.80	41.50	35.50	56	96
Isoleucina	HMB+control	55.50	61.90	57.80	106	104
	HMB	53.30	63.10	61.90	51	116
	Control	62.60	57.90	56.30	55	90
Leucina	HMB+control	103.00	118.00	117.00	107	114
	HMB	92.40	120.00	117.00	51	127
	Control	117.00	116.00	118.00	56	101
Tirosina	HMB+control	104.00	124.00	108.00	107	104
	HMB	101.00	119.00	118.00	50	117
	Control	104.00	131.00	106.00	57	102
Beta-alanina	HMB+control	2.98	3.85	4.55	109	153
	HMB	3.49	3.85	4.29	52	123
	Control	2.60	3.65	5.06	57	195
Fenilalanina	HMB+control	91.00	116.00	105.00	109	115
	HMB	81.50	118.00	111.00	52	136
	Control	102.00	115.00	102.00	57	100
Etanolamina	HMB+control	18.00	18.10	19.00	108	106
	HMB	15.50	15.10	15.80	52	102
	Control	20.10	19.20	20.90	56	104
Ornitina	HMB+control	96.20	102.00	107.00	109	111
	HMB	99.00	113.00	105.00	52	106
	Control	89.20	98.70	108.00	57	121
Lisina	HMB+control	164.00	175.00	179.00	110	109
	HMB	150.00	171.00	173.00	52	115
	Control	180.00	181.00	179.00	58	99
X1-Metil-Histidina	HMB+control	11.90	12.90	13.90	106	117
	HMB	12.30	9.38	11.80	49	96

	Control	11.70	15.00	16.90	57	144
Histidina	HMB+control	89.30	87.80	87.50	103	98
	HMB	87.10	82.20	83.70	47	96
	Control	90.30	89.00	87.50	56	97
Triptófano	HMB+control	44.50	54.70	52.20	105	117
	HMB	35.60	47.70	48.20	49	135
	Control	51.30	59.10	56.70	56	111
X3-Metil-Histidina	HMB+control	5.83	7.37	7.44	106	128
	HMB	5.38	8.57	8.80	48	164
	Control	6.51	7.15	6.61	58	102
Arginina	HMB+control	123.00	130.00	129.00	108	105
	HMB	114.00	134.00	133.00	50	117
	Control	133.00	130.00	129.00	58	97

1: basal, 2: a las 6 semanas, 3: al final del ensayo clínico, N: número total de determinaciones
Unidades: $\mu\text{mol/L}$

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet* (London, England). 2008;371(9615):838-51.
2. Tsochatzis EA, Bosch J, Burroughs AK. Liver cirrhosis. *Lancet* (London, England). 2014;383(9930):1749-61.
3. Ripoll C, Groszmann R, Garcia-Tsao G, Grace N, Burroughs A, Planas R, et al. Hepatic venous pressure gradient predicts clinical decompensation in patients with compensated cirrhosis. *Gastroenterology*. 2007;133(2):481-8.
4. Albillos A, Garcia-Tsao G. Classification of cirrhosis: the clinical use of HVPG measurements. *Disease markers*. 2011;31(3):121-8.
5. de Franchis R. Evolving consensus in portal hypertension. Report of the Baveno IV consensus workshop on methodology of diagnosis and therapy in portal hypertension. *Journal of hepatology*. 2005;43(1):167-76.
6. D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *Journal of hepatology*. 2006;44(1):217-31.
7. The global, regional, and national burden of cirrhosis by cause in 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The lancet Gastroenterology & hepatology*. 2020;5(3):245-66.
8. Gómez Ayala A-E. Cirrosis hepática. Actualización. *Farmacia Profesional*. 2012;26(4):45-51.
9. Asrani SK, Devarbhavi H, Eaton J, Kamath PS. Burden of liver diseases in the world. *Journal of hepatology*. 2019;70(1):151-71.
10. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* (London, England). 2012;380(9859):2095-128.
11. Garcia-Tsao G. The Child-Turcotte Classification: From Gestalt to Sophisticated Statistics and Back. *Digestive diseases and sciences*. 2016;61(11):3102-4.
12. Peng Y, Qi X, Guo X. Child-Pugh Versus MELD Score for the Assessment of Prognosis in Liver Cirrhosis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Medicine*. 2016;95(8):e2877.
13. Colle I, Geerts AM, Van Steenkiste C, Van Vlierberghe H. Hemodynamic changes in splanchnic blood vessels in portal hypertension. *Anatomical record* (Hoboken, NJ : 2007). 2008;291(6):699-713.

14. Iwakiri Y, Groszmann RJ. The hyperdynamic circulation of chronic liver diseases: from the patient to the molecule. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2006;43(2 Suppl 1):S121-31.
15. Mansour D, McPherson S. Management of decompensated cirrhosis. *Clinical medicine (London, England)*. 2018;18(Suppl 2):s60-s5.
16. García-Martínez R. Ascitis, insuficiencia renal aguda y encefalopatía hepática. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. 2016;12(11):617-26.
17. Ferenci P, Lockwood A, Mullen K, Tarter R, Weissenborn K, Blei AT. Hepatic encephalopathy--definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: final report of the working party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2002;35(3):716-21.
18. Weissenborn K. Diagnosis of Minimal Hepatic Encephalopathy. *Journal of clinical and experimental hepatology*. 2015;5:S54-S9.
19. EASL Clinical Practice Guidelines for the management of patients with decompensated cirrhosis. *Journal of hepatology*. 2018;69(2):406-60.
20. Cederholm T, Barazzoni R, Austin P, Ballmer P, Biolo G, Bischoff SC, et al. ESPEN guidelines on definitions and terminology of clinical nutrition. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*. 2017;36(1):49-64.
21. Cederholm T, Jensen GL, Correia M, Gonzalez MC, Fukushima R, Higashiguchi T, et al. GLIM criteria for the diagnosis of malnutrition - A consensus report from the global clinical nutrition community. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*. 2019;38(1):1-9.
22. White JV, Guenter P, Jensen G, Malone A, Schofield M. Consensus statement: Academy of Nutrition and Dietetics and American Society for Parenteral and Enteral Nutrition: characteristics recommended for the identification and documentation of adult malnutrition (undernutrition). *JPEN Journal of parenteral and enteral nutrition*. 2012;36(3):275-83.
23. Jensen GL. Inflammation as the key interface of the medical and nutrition universes: a provocative examination of the future of clinical nutrition and medicine. *JPEN Journal of parenteral and enteral nutrition*. 2006;30(5):453-63.
24. Roy M, Gaudreau P, Payette H. A scoping review of anorexia of aging correlates and their relevance to population health interventions. *Appetite*. 2016;105:688-99.

25. Jeejeebhoy KN, Keller H, Gramlich L, Allard JP, Laporte M, Duerksen DR, et al. Nutritional assessment: comparison of clinical assessment and objective variables for the prediction of length of hospital stay and readmission. *The American journal of clinical nutrition*. 2015;101(5):956-65.
26. Bhattacharya A, Pal B, Mukherjee S, Roy SK. Assessment of nutritional status using anthropometric variables by multivariate analysis. *BMC Public Health*. 2019;19(1):1045-.
27. Lee JL, Oh ES, Lee RW, Finucane TE. Serum Albumin and Prealbumin in Calorically Restricted, Nondiseased Individuals: A Systematic Review. *The American journal of medicine*. 2015;128(9):1023.e1-22.
28. Zoch ML, Clemens TL, Riddle RC. New insights into the biology of osteocalcin. *Bone*. 2016;82:42-9.
29. Guralnik JM, Simonsick EM, Ferrucci L, Glynn RJ, Berkman LF, Blazer DG, et al. A short physical performance battery assessing lower extremity function: association with self-reported disability and prediction of mortality and nursing home admission. *Journal of gerontology*. 1994;49(2):M85-94.
30. Stam SP, Eisenga MF, Gomes-Neto AW, van Londen M, de Meijer VE, van Beek AP, et al. Muscle mass determined from urinary creatinine excretion rate, and muscle performance in renal transplant recipients. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*. 2019;10(3):621-9.
31. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyere O, Cederholm T, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age and ageing*. 2019;48(1):16-31.
32. Marra M, Sammarco R, De Lorenzo A, Iellamo F, Siervo M, Pietrobelli A, et al. Assessment of Body Composition in Health and Disease Using Bioelectrical Impedance Analysis (BIA) and Dual Energy X-Ray Absorptiometry (DXA): A Critical Overview. *Contrast Media & Molecular Imaging*. 2019.
33. Coëffier M, Gâté M, Rimbart A, Petit A, Folope V, Grigioni S, et al. Validity of Bioimpedance Equations to Evaluate Fat-Free Mass and Muscle Mass in Severely Malnourished Anorectic Patients. *Journal of clinical medicine*. 2020;9(11).
34. Moctezuma-Velazquez C, Garcia-Juarez I, Soto-Solis R, Hernandez-Cortes J, Torre A. Nutritional assessment and treatment of patients with liver cirrhosis. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)*. 2013;29(11-12):1279-85.

35. Khalil SF, Mohktar MS, Ibrahim F. The theory and fundamentals of bioimpedance analysis in clinical status monitoring and diagnosis of diseases. *Sensors (Basel, Switzerland)*. 2014;14(6):10895-928.
36. Pichard C, Kyle UG, Bracco D, Slosman DO, Morabia A, Schutz Y. Reference values of fat-free and fat masses by bioelectrical impedance analysis in 3393 healthy subjects. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)*. 2000;16(4):245-54.
37. Kyle UG, Genton L, Slosman DO, Pichard C. Fat-free and fat mass percentiles in 5225 healthy subjects aged 15 to 98 years. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)*. 2001;17(7-8):534-41.
38. Zhu S, Wang Z, Shen W, Heymsfield SB, Heshka S. Percentage body fat ranges associated with metabolic syndrome risk: results based on the third National Health and Nutrition Examination Survey (1988-1994). *The American journal of clinical nutrition*. 2003;78(2):228-35.
39. Diaz EO, Villar J, Immink M, Gonzales T. Bioimpedance or anthropometry? *European journal of clinical nutrition*. 1989;43(2):129-37.
40. Gonzalez MC, Heymsfield SB. Bioelectrical impedance analysis for diagnosing sarcopenia and cachexia: what are we really estimating? *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*. 2017;8(2):187-9.
41. Janssen I, Heymsfield SB, Baumgartner RN, Ross R. Estimation of skeletal muscle mass by bioelectrical impedance analysis. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2000;89(2):465-71.
42. Norman K, Stobaus N, Pirlich M, Bösby-Westphal A. Bioelectrical phase angle and impedance vector analysis--clinical relevance and applicability of impedance parameters. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*. 2012;31(6):854-61.
43. Selberg O, Selberg D. Norms and correlates of bioimpedance phase angle in healthy human subjects, hospitalized patients, and patients with liver cirrhosis. *European journal of applied physiology*. 2002;86(6):509-16.
44. Shizgal HM. The effect of malnutrition on body composition. *Surgery, gynecology & obstetrics*. 1981;152(1):22-6.
45. Prado CM, Birdsell LA, Baracos VE. The emerging role of computerized tomography in assessing cancer cachexia. *Current opinion in supportive and palliative care*. 2009;3(4):269-75.
46. Montano-Loza AJ, Meza-Junco J, Prado CM, Lieffers JR, Baracos VE, Bain VG, et al. Muscle wasting is associated with mortality in patients with cirrhosis. *Clinical*

gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association. 2012;10(2):166-73, 73.e1.

47. Kouassi K, Bagny A, Kaaga L, Bouglouga O, Lawson Anani-Soh L, Lamboni C, et al. [Prevalence of protein-energy undernutrition evaluated by the measurement of triceps skinfold thickness and mid-arm muscle circumference of 103 adults with cirrhosis of the liver hospitalized in the department of hepatology and gastroenterology of the Lome Campus University Hospital (Togo)]. *Medecine et sante tropicales*. 2014;24(2):208-13.

48. Akin S, Mucuk S, Ozturk A, Mazicioglu M, Gocer S, Arguvanli S, et al. Muscle function-dependent sarcopenia and cut-off values of possible predictors in community-dwelling Turkish elderly: calf circumference, midarm muscle circumference and walking speed. *European journal of clinical nutrition*. 2015;69(10):1087-90.

49. Nishikawa H, Asai A, Fukunishi S, Takeuchi T, Goto M, Ogura T, et al. Screening Tools for Sarcopenia. *In vivo (Athens, Greece)*. 2021;35(6):3001-9.

50. Cuervo M, Ansorena D, García A, González Martínez MA, Astiasarán I, Martínez JA. Valoración de la circunferencia de la pantorrilla como indicador de riesgo de desnutrición en personas mayores %J *Nutrición Hospitalaria*. 2009;24:63-7.

51. Lai JC, Tandon P, Bernal W, Tapper EB, Ekong U, Dasarathy S, et al. Malnutrition, Frailty, and Sarcopenia in Patients With Cirrhosis: 2021 Practice Guidance by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2021;74(3):1611-44.

52. Spruit MA, Sillen MJ, Groenen MT, Wouters EF, Franssen FM. New normative values for handgrip strength: results from the UK Biobank. *Journal of the American Medical Directors Association*. 2013;14(10):775.e5-11.

53. Dodds RM, Syddall HE, Cooper R, Benzeval M, Deary IJ, Dennison EM, et al. Grip strength across the life course: normative data from twelve British studies. *PloS one*. 2014;9(12):e113637.

54. Peng S, Plank LD, McCall JL, Gillanders LK, McIlroy K, Gane EJ. Body composition, muscle function, and energy expenditure in patients with liver cirrhosis: a comprehensive study. *The American journal of clinical nutrition*. 2007;85(5):1257-66.

55. Cañamares-Orbis P, Bernal-Monterde V, Sierra-Gabarda O, Casas-Deza D, Garcia-Rayado G, Cortes L, et al. Impact of Liver and Pancreas Diseases on Nutritional Status. *Nutrients*. 2021;13(5).

56. Dasarathy S. Cause and management of muscle wasting in chronic liver disease. *Current opinion in gastroenterology*. 2016;32(3):159-65.
57. Vasques J, Guerreiro CS, Sousa J, Pinto M, Cortez-Pinto H. Nutritional support in cirrhotic patients with sarcopenia. *Clinical nutrition ESPEN*. 2019;33:12-7.
58. Nutritional status in cirrhosis. Italian Multicentre Cooperative Project on Nutrition in Liver Cirrhosis. *Journal of hepatology*. 1994;21(3):317-25.
59. Plauth M, Bernal W, Dasarathy S, Merli M, Plank LD, Schutz T, et al. ESPEN guideline on clinical nutrition in liver disease. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*. 2019;38(2):485-521.
60. Dasarathy S, Merli M. Sarcopenia from mechanism to diagnosis and treatment in liver disease. *Journal of hepatology*. 2016;65(6):1232-44.
61. Kim G, Kang SH, Kim MY, Baik SK. Prognostic value of sarcopenia in patients with liver cirrhosis: A systematic review and meta-analysis. *PloS one*. 2017;12(10):e0186990.
62. EASL Clinical Practice Guidelines on nutrition in chronic liver disease. *Journal of hepatology*. 2019;70(1):172-93.
63. Reuter B, Shaw J, Hanson J, Tate V, Acharya C, Bajaj JS. Nutritional Assessment in Inpatients With Cirrhosis Can Be Improved After Training and Is Associated With Lower Readmissions. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2019;25(12):1790-9.
64. Periyalwar P, Dasarathy S. Malnutrition in cirrhosis: contribution and consequences of sarcopenia on metabolic and clinical responses. *Clinics in liver disease*. 2012;16(1):95-131.
65. Aqel BA, Scolapio JS, Dickson RC, Burton DD, Bouras EP. Contribution of ascites to impaired gastric function and nutritional intake in patients with cirrhosis and ascites. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2005;3(11):1095-100.
66. Bahat G, Tufan A, Tufan F, Kilic C, Akpınar TS, Kose M, et al. Cut-off points to identify sarcopenia according to European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) definition. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*. 2016;35(6):1557-63.
67. Campollo O, Sprengers D, McIntyre N. The BCAA/AAA ratio of plasma amino acids in three different groups of cirrhotics. *Revista de investigación clínica; organo del Hospital de Enfermedades de la Nutrición*. 1992;44:513-8.

68. Lockwood AH, McDonald JM, Reiman RE, Gelbard AS, Laughlin JS, Duffy TE, et al. The dynamics of ammonia metabolism in man. Effects of liver disease and hyperammonemia. *The Journal of clinical investigation*. 1979;63(3):449-60.
69. Schliess F, Görg B, Fischer R, Desjardins P, Bidmon HJ, Herrmann A, et al. Ammonia induces MK-801-sensitive nitration and phosphorylation of protein tyrosine residues in rat astrocytes. 2002;16(7):739-41.
70. Wang YY, Lin SY, Chuang YH, Mao CH, Tung KC, Sheu WH. Protein nitration is associated with increased proteolysis in skeletal muscle of bile duct ligation-induced cirrhotic rats. *Metabolism: clinical and experimental*. 2010;59(4):468-72.
71. Qiu J, Tsien C, Thapalaya S, Narayanan A, Wehl CC, Ching JK, et al. Hyperammonemia-mediated autophagy in skeletal muscle contributes to sarcopenia of cirrhosis. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2012;303(8):E983-93.
72. Qiu J, Thapaliya S, Runkana A, Yang Y, Tsien C, Mohan ML, et al. Hyperammonemia in cirrhosis induces transcriptional regulation of myostatin by an NF-kappaB-mediated mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013;110(45):18162-7.
73. Bunchorntavakul C, Reddy KR. Review article: malnutrition/sarcopenia and frailty in patients with cirrhosis. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2020;51(1):64-77.
74. Borhofen SM, Gerner C, Lehmann J, Fimmers R, Gortzen J, Hey B, et al. The Royal Free Hospital-Nutritional Prioritizing Tool Is an Independent Predictor of Deterioration of Liver Function and Survival in Cirrhosis. *Digestive diseases and sciences*. 2016;61(6):1735-43.
75. Booi AN, Menendez J, Norton HJ, Anderson WE, Ellis AC. Validation of a Screening Tool to Identify Undernutrition in Ambulatory Patients With Liver Cirrhosis. *Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*. 2015;30(5):683-9.
76. Yasutake K, Koga S, Hokko Y, Ikemoto M, Yaguchi Y, Sakai H, et al. Relevance of the Mini Nutritional Assessment in cirrhotic liver disease patients. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 2018;27(2):300-5.
77. Casas Deza D, Betoré Glaria ME, Sanz-París A, Lafuente Blasco M, Fernández Bonilla EM, Bernal Monterde V, et al. Mini Nutritional Assessment - Short Form Is a Useful Malnutrition Screening Tool in Patients with Liver Cirrhosis, Using the Global

Leadership Initiative for Malnutrition Criteria as the Gold Standard. *Nutrition in clinical practice* : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition. 2021;36(5):1003-10.

78. Son SW, Song DS, Chang UI, Yang JM. Definition of Sarcopenia in Chronic Liver Disease. *Life* (Basel, Switzerland). 2021;11(4).

79. Carey EJ, Lai JC, Wang CW, Dasarathy S, Lobach I, Montano-Loza AJ, et al. A multicenter study to define sarcopenia in patients with end-stage liver disease. *Liver transplantation* : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society. 2017;23(5):625-33.

80. Sinclair M, Chapman B, Hoermann R, Angus PW, Testro A, Scodellaro T, et al. Handgrip Strength Adds More Prognostic Value to the Model for End-Stage Liver Disease Score Than Imaging-Based Measures of Muscle Mass in Men With Cirrhosis. *Liver transplantation* : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society. 2019;25(10):1480-7.

81. Anand AC. Nutrition and Muscle in Cirrhosis. *Journal of clinical and experimental hepatology*. 2017;7(4):340-57.

82. Nagasue N, Yukaya H, Chang YC, Ogawa Y, Kohno H, Ito A. Active uptake of testosterone by androgen receptors of hepatocellular carcinoma in humans. *Cancer*. 1986;57(11):2162-7.

83. Koretz RL, Avenell A, Lipman TO. Nutritional support for liver disease. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2012(5):Cd008344.

84. Marchesini G, Bianchi G, Merli M, Amodio P, Panella C, Loguercio C, et al. Nutritional supplementation with branched-chain amino acids in advanced cirrhosis: a double-blind, randomized trial. *Gastroenterology*. 2003;124(7):1792-801.

85. Muto Y, Sato S, Watanabe A, Moriwaki H, Suzuki K, Kato A, et al. Effects of oral branched-chain amino acid granules on event-free survival in patients with liver cirrhosis. *Clinical gastroenterology and hepatology* : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association. 2005;3(7):705-13.

86. Gluud LL, Dam G, Les I, Marchesini G, Borre M, Aagaard NK, et al. Branched-chain amino acids for people with hepatic encephalopathy. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2017;5(5):CD001939-CD.

87. Les I, Doval E, Garcia-Martinez R, Planas M, Cardenas G, Gomez P, et al. Effects of branched-chain amino acids supplementation in patients with cirrhosis and a previous

episode of hepatic encephalopathy: a randomized study. *The American journal of gastroenterology*. 2011;106(6):1081-8.

88. Holecek M. Branched-chain amino acid supplementation in treatment of liver cirrhosis: Updated views on how to attenuate their harmful effects on cataplerosis and ammonia formation. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)*. 2017;41:80-5.

89. Kawaguchi T, Taniguchi E, Sata M. Effects of oral branched-chain amino acids on hepatic encephalopathy and outcome in patients with liver cirrhosis. *Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*. 2013;28(5):580-8.

90. Vasques J, Guerreiro CS, Sousa J, Pinto M, Cortez-Pinto H. Nutritional support in cirrhotic patients with sarcopenia. *Clinical nutrition ESPEN*. 2019;33:12-7.

91. Ooi PH, Gilmour SM, Yap J, Mager DR. Effects of branched chain amino acid supplementation on patient care outcomes in adults and children with liver cirrhosis: A systematic review. *Clinical nutrition ESPEN*. 2018;28:41-51.

92. Kuriyan R, Lokesh DP, Selvam S, Jayakumar J, Philip MG, Shreeram S, et al. The relationship of endogenous plasma concentrations of β -Hydroxy β -Methyl Butyrate (HMB) to age and total appendicular lean mass in humans. *Experimental gerontology*. 2016;81:13-8.

93. Holecek M. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation and skeletal muscle in healthy and muscle-wasting conditions. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*. 2017;8(4):529-41.

94. Arazi H, Taati B, Suzuki K. A Review of the Effects of Leucine Metabolite (beta-Hydroxy-beta-methylbutyrate) Supplementation and Resistance Training on Inflammatory Markers: A New Approach to Oxidative Stress and Cardiovascular Risk Factors. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2018;7(10).

95. Shreeram S, Johns PW, Subramaniam S, Ramesh S, Vaidyanathan V, Puthan JK, et al. The relative bioavailability of the calcium salt of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate is greater than that of the free fatty acid form in rats. *The Journal of nutrition*. 2014;144(10):1549-55.

96. Vukovich MD, Slater G, Macchi MB, Turner MJ, Fallon K, Boston T, et al. beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) kinetics and the influence of glucose ingestion in humans. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2001;12(11):631-9.

97. Holecek M, Muthny T, Kovarik M, Sispera L. Effect of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on protein metabolism in whole body and in selected tissues. *Food and Chemical Toxicology*. 2009;47(1):255-9.
98. Holecek M, Muthny T, Kovarik M, Sispera L. Effect of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on protein metabolism in whole body and in selected tissues. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. 2009;47(1):255-9.
99. Wilkinson DJ, Hossain T, Hill DS, Phillips BE, Crossland H, Williams J, et al. Effects of leucine and its metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on human skeletal muscle protein metabolism. *The Journal of physiology*. 2013;591(11):2911-23.
100. Bear DE, Langan A, Dimidi E, Wandrag L, Harridge SDR, Hart N, et al. beta-Hydroxy-beta-methylbutyrate and its impact on skeletal muscle mass and physical function in clinical practice: a systematic review and meta-analysis. *The American journal of clinical nutrition*. 2019;109(4):1119-32.
101. Girón MD, Vílchez JD, Salto R, Manzano M, Sevillano N, Campos N, et al. Conversion of leucine to β -hydroxy- β -methylbutyrate by α -keto isocaproate dioxygenase is required for a potent stimulation of protein synthesis in L6 rat myotubes. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*. 2016;7(1):68-78.
102. Arazi H, Asadi A, Suzuki K. The Effects of Beta-Hydroxy-Beta-Methylbutyrate-Free Acid Supplementation and Resistance Training on Oxidative Stress Markers: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2018;7(6).
103. Nissen S, Sharp RL, Panton L, Vukovich M, Trappe S, Fuller JC, Jr. beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation in humans is safe and may decrease cardiovascular risk factors. *The Journal of nutrition*. 2000;130(8):1937-45.
104. Hsieh LC, Chow CJ, Chang WC, Liu TH, Chang CK. Effect of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on protein metabolism in bed-ridden elderly receiving tube feeding. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 2010;19(2):200-8.
105. Sharawy MH, El-Awady MS, Megahed N, Gameil NM. The ergogenic supplement beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) attenuates insulin resistance through suppressing GLUT-2 in rat liver. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2016;94(5):488-97.
106. Norton LE, Layman DK. Leucine regulates translation initiation of protein synthesis in skeletal muscle after exercise. *The Journal of nutrition*. 2006;136(2):533s-7s.

107. Silva VR, Belozo FL, Micheletti TO, Conrado M, Stout JR, Pimentel GD, et al. β -hydroxy- β -methylbutyrate free acid supplementation may improve recovery and muscle adaptations after resistance training: a systematic review. *Nutrition Research*. 2017;45:1-9.
108. Sanchez-Martinez J, Santos-Lozano A, Garcia-Hermoso A, Sadarangani KP, Cristi-Montero C. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on strength and body composition in trained and competitive athletes: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Science and Medicine in Sport*. 2018;21(7):727-35.
109. Gepner Y, Varanoske AN, Boffey D, Hoffman JR. Benefits of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation in trained and untrained individuals. *Research in sports medicine (Print)*. 2019;27(2):204-18.
110. Portal S, Zadik Z, Rabinowitz J, Pilz-Burstein R, Adler-Portal D, Meckel Y, et al. The effect of HMB supplementation on body composition, fitness, hormonal and inflammatory mediators in elite adolescent volleyball players: a prospective randomized, double-blind, placebo-controlled study. *European journal of applied physiology*. 2011;111(9):2261-9.
111. Correia ALM, de Lima FD, Bottaro M, Vieira A, da Fonseca AC, Lima RM. Pre-exercise beta-hydroxy-beta-methylbutyrate free-acid supplementation improves work capacity recovery: a randomized, double-blinded, placebo-controlled study. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2018;43(7):691-6.
112. Asjodi F, Izadi A. The Effects of 8 weeks beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation on body composition, inflammatory response and muscle damage after eccentric exercise in untrained males. *Prog Nutr*. 2019;21:184-90.
113. Dreyer HC, Fujita S, Cadenas JG, Chinkes DL, Volpi E, Rasmussen BB. Resistance exercise increases AMPK activity and reduces 4E-BP1 phosphorylation and protein synthesis in human skeletal muscle. *The Journal of physiology*. 2006;576(Pt 2):613-24.
114. Fuller JC, Jr., Sharp RL, Angus HF, Baier SM, Rathmacher JA. Free acid gel form of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) improves HMB clearance from plasma in human subjects compared with the calcium HMB salt. *The British journal of nutrition*. 2011;105(3):367-72.

115. Wu H, Xia Y, Jiang J, Du H, Guo X, Liu X, et al. Effect of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on muscle loss in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Archives of gerontology and geriatrics*. 2015;61(2):168-75.
116. Oktaviana J, Zanker J, Vogrin S, Duque G. The Effect of β -Hydroxy- β -Methylbutyrate (HMB) on Sarcopenia and Functional Frailty in Older Persons: A Systematic Review. *J Nutr Health Aging*. 2019;23(2):145-50.
117. Din USU, Brook MS, Selby A, Quinlan J, Boereboom C, Abdullah H, et al. A double-blind placebo controlled trial into the impacts of HMB supplementation and exercise on free-living muscle protein synthesis, muscle mass and function, in older adults. *Clinical Nutrition*. 2019;38(5):2071-8.
118. Shreeram S, Ramesh S, Puthan JK, Balakrishnan G, Subramanian R, Reddy MT, et al. Age associated decline in the conversion of leucine to beta-Hydroxy-beta-Methylbutyrate in rats. *Experimental gerontology*. 2016;80:6-11.
119. Munroe M, Pincu Y, Merritt J, Cobert A, Brander R, Jensen T, et al. Impact of β -hydroxy β -methylbutyrate (HMB) on age-related functional deficits in mice. *Experimental gerontology*. 2017;87:57-66.
120. Lattanzi B, Giusto M, Albanese C, Mennini G, D'Ambrosio D, Farcomeni A, et al. The Effect of 12 Weeks of β -Hydroxy- β -Methyl-Butyrate Supplementation after Liver Transplantation: A Pilot Randomized Controlled Study. *Nutrients*. 2019;11(9):2259.
121. Holecek M, Vodenicarovova M. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on skeletal muscle in healthy and cirrhotic rats. *International journal of experimental pathology*. 2019;100(3):175-83.
122. Lattanzi B, Bruni A, Di Cola S, Molfino A, De Santis A, Muscaritoli M, et al. The Effects of 12-Week Beta-Hydroxy-Beta-Methylbutyrate Supplementation in Patients with Liver Cirrhosis: Results from a Randomized Controlled Single-Blind Pilot Study. 2021;13(7):2296.
123. Cornejo-Pareja I, Ramirez M, Camprubi-Robles M, Rueda R, Vegas-Aguilar IM, Garcia-Almeida JM. Effect on an Oral Nutritional Supplement with β -Hydroxy- β -methylbutyrate and Vitamin D on Morphofunctional Aspects, Body Composition, and Phase Angle in Malnourished Patients. 2021;13(12):4355.
124. Chew STH, Tan NC, Cheong M, Oliver J, Baggs G, Choe Y, et al. Impact of specialized oral nutritional supplement on clinical, nutritional, and functional outcomes: A randomized, placebo-controlled trial in community-dwelling older adults at risk of malnutrition. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*. 2021;40(4):1879-92.

125. Peng LN, Cheng YC, Yu PC, Lee WJ, Lin MH, Chen LK. Oral Nutritional Supplement with β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) Improves Nutrition, Physical Performance and Ameliorates Intramuscular Adiposity in Pre-Frail Older Adults: A Randomized Controlled Trial. *The journal of nutrition, health & aging*. 2021;25(6):767-73.
126. Matheson EM, Nelson JL, Baggs GE, Luo M, Deutz NE. Specialized oral nutritional supplement (ONS) improves handgrip strength in hospitalized, malnourished older patients with cardiovascular and pulmonary disease: A randomized clinical trial. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*. 2021;40(3):844-9.
127. Manríquez Moreno JJ, Silva Valenzuela S. Ensayos clínicos aleatorizados: definición y análisis crítico. *Piel*. 2006;21(6):275-80.
128. Fuller JC, Sharp RL, Angus HF, Khoo PY, Rathmacher JA. Comparison of availability and plasma clearance rates of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate delivery in the free acid and calcium salt forms. *The British journal of nutrition*. 2015;114(9):1403-9.
129. Dasarathy J, Alkhouri N, Dasarathy S. Changes in body composition after transjugular intrahepatic portosystemic stent in cirrhosis: a critical review of literature. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2011;31(9):1250-8.
130. Koop AH, Mousa OY, Pham LE, Corral-Hurtado JE, Pungpapong S, Keaveny AP. An Argument for Vitamin D, A, and Zinc Monitoring in Cirrhosis. *Annals of Hepatology*. 2018;17(6):920-32.
131. Bjelakovic G, Nikolova D, Bjelakovic M, Glud C. Vitamin D supplementation for chronic liver diseases in adults. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2017;11:Cd011564.
132. Georgiou A, Papatheodoridis GV, Alexopoulou A, Deutsch M, Vlachogiannakos I, Ioannidou P, et al. Evaluation of the effectiveness of eight screening tools in detecting risk of malnutrition in cirrhotic patients: the KIRRHOS study. *The British journal of nutrition*. 2019;122(12):1368-76.
133. Milic S, Mikolasevic I, Orlic L, Devcic E, Starcevic-Cizmarevic N, Stimac D, et al. The Role of Iron and Iron Overload in Chronic Liver Disease. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2016;22:2144-51.

134. Muro N, Bujanda L, Sarasqueta C, Gil I, Hijona E, Cosme Á, et al. Niveles plasmáticos de la vitamina B₁₂ y ácido fólico en pacientes con hepatopatía crónica. *Gastroenterología y Hepatología*. 2010;33(4):280-7.
135. Sugihara T, Koda M, Okamoto T, Miyoshi K, Matono T, Oyama K, et al. Falsely Elevated Serum Vitamin B12 Levels Were Associated with the Severity and Prognosis of Chronic Viral Liver Disease. *Yonago acta medica*. 2017;60(1):31-9.
136. Kaysen GA, Dubin JA, Muller HG, Rosales L, Levin NW, Mitch WE. Inflammation and reduced albumin synthesis associated with stable decline in serum albumin in hemodialysis patients. *Kidney international*. 2004;65(4):1408-15.
137. Ahmed Z, Ahmed U, Walayat S, Ren J, Martin DK, Moole H, et al. Liver function tests in identifying patients with liver disease. *Clinical and experimental gastroenterology*. 2018;11:301-7.
138. Rosalki SB. 7 - The Clinical Biochemistry of Alcohol. In: Williams DL, Marks V, editors. *Scientific Foundations of Biochemistry in Clinical Practice (Second Edition)*: Butterworth-Heinemann; 1994. p. 121-43.
139. Afzali A, Weiss NS, Boyko EJ, Ioannou GN. Association between serum uric acid level and chronic liver disease in the United States. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2010;52(2):578-89.
140. Ndrepepa G. Uric acid and cardiovascular disease. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2018;484:150-63.
141. Ghadir MR, Riahin AA, Havaspour A, Nooranipour M, Habibinejad AA. The relationship between lipid profile and severity of liver damage in cirrhotic patients. *Hepatitis monthly*. 2010;10(4):285-8.
142. Sposito AC, Vinagre CG, Pandullo FL, Mies S, Raia S, Ramires JA. Apolipoprotein and lipid abnormalities in chronic liver failure. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*. 1997;30(11):1287-90.
143. Uccello M, Malaguarnera G, Pelligra EM, Biondi A, Basile F, Motta M. Lipoprotein(a) as a potential marker of residual liver function in hepatocellular carcinoma. *Indian journal of medical and paediatric oncology : official journal of Indian Society of Medical & Paediatric Oncology*. 2011;32(2):71-5.
144. Pietschmann P, Resch H, Muller C, Woloszczuk W, Willvonseder R. Decreased serum osteocalcin levels in patients with liver cirrhosis. *Bone and mineral*. 1990;8(2):103-8.

145. Lin DY, Chu CM, Sheen IS, Liaw YF. Serum carboxy terminal propeptide of type I procollagen to amino terminal propeptide of type III procollagen ratio is a better indicator than each single propeptide and 7S domain type IV collagen for progressive fibrogenesis in chronic viral liver diseases. *Digestive diseases and sciences*. 1995;40(1):21-7.
146. Guanabens N, Pares A, Alvarez L, Martinez de Osaba MJ, Monegal A, Peris P, et al. Collagen-related markers of bone turnover reflect the severity of liver fibrosis in patients with primary biliary cirrhosis. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1998;13(4):731-8.
147. Jha A, Tanwar AS, Bhargava M, Raj A, Raman S, Patil V. Prevalence of vitamin D inadequacy and bone turnover markers concerning bone mineral density in older persons. *Journal of medicine and life*. 2021;14(3):397-401.
148. EASL Clinical Practice Guidelines: Drug-induced liver injury. *Journal of hepatology*. 2019;70(6):1222-61.
149. Dam G, Keiding S, Munk OL, Ott P, Buhl M, Vilstrup H, et al. Branched-chain amino acids increase arterial blood ammonia in spite of enhanced intrinsic muscle ammonia metabolism in patients with cirrhosis and healthy subjects. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*. 2011;301(2):G269-77.
150. Garcia-Almeida JM, Vegas-Aguilar I, Rioja-Vazquez R, Lopez-Medina JA, Cardona-Diaz F, Alcaide J, et al. MON-PP112: Effects on Nutritional and Functional Recovery in Patients with Protein-Energy Malnutrition after Prolonged Hospitalization: Effects of a Specific Protein-Calorie Supplementation Enriched in Calcium Hydroxymethyl Butyrate (HMB). *Clinical Nutrition*. 2015;34:S169-S70.
151. Fischer JE, Rosen HM, Ebeid AM, James JH, Keane JM, Soeters PB. The effect of normalization of plasma amino acids on hepatic encephalopathy in man. *Surgery*. 1976;80(1):77-91.
152. Fischer JE, Yoshimura N, Aguirre A, James JH, Cummings MG, Abel RM, et al. Plasma amino acids in patients with hepatic encephalopathy. Effects of amino acid infusions. *American journal of surgery*. 1974;127(1):40-7.
153. Holecek M. Evidence of a vicious cycle in glutamine synthesis and breakdown in pathogenesis of hepatic encephalopathy-therapeutic perspectives. *Metabolic brain disease*. 2014;29(1):9-17.

-
154. Holecek M. Ammonia and amino acid profiles in liver cirrhosis: effects of variables leading to hepatic encephalopathy. *Nutrition* (Burbank, Los Angeles County, Calif). 2015;31(1):14-20.
155. Brosnan JT, Brosnan ME. Branched-chain amino acids: enzyme and substrate regulation. *The Journal of nutrition*. 2006;136(1 Suppl):207s-11s.
156. Holecek M, Siman P, Vodenicarovova M, Kandar R. Alterations in protein and amino acid metabolism in rats fed a branched-chain amino acid- or leucine-enriched diet during postprandial and postabsorptive states. *Nutrition & metabolism*. 2016;13:12.
157. Dam G, Keiding S, Munk OL, Ott P, Buhl M, Vilstrup H, et al. Branched-chain amino acids increase arterial blood ammonia in spite of enhanced intrinsic muscle ammonia metabolism in patients with cirrhosis and healthy subjects. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*. 2011;301(2):G269-77.
158. Madeira C, Alheira FV, Calcia MA, Silva TCS, Tannos FM, Vargas-Lopes C, et al. Blood Levels of Glutamate and Glutamine in Recent Onset and Chronic Schizophrenia. 2018;9(713).
159. Rama Rao KV, Jayakumar AR, Norenberg MD. Glutamine in the pathogenesis of acute hepatic encephalopathy. *Neurochemistry International*. 2012;61(4):575-80.
160. Murphy SM, Kiely M, Jakeman PM, Kiely PA, Carson BP. Optimization of an in vitro bioassay to monitor growth and formation of myotubes in real time. *Bioscience reports*. 2016;36(3).
161. Ahmad F, Alamoudi W, Haque S, Salahuddin M, Alsamman K. Simple, reliable, and time-efficient colorimetric method for the assessment of mitochondrial function and toxicity. *Bosn J Basic Med Sci*. 2018;18(4):367-74.
162. Kumar A, Davuluri G, Silva RNE, Engelen M, Ten Have GAM, Prayson R, et al. Ammonia lowering reverses sarcopenia of cirrhosis by restoring skeletal muscle proteostasis. *Hepatology* (Baltimore, Md). 2017;65(6):2045-58.
163. Girón MD, Vilchez JD, Shreeram S, Salto R, Manzano M, Cabrera E, et al. β -Hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) normalizes dexamethasone-induced autophagy-lysosomal pathway in skeletal muscle. *PloS one*. 2015;10(2):e0117520.

