

XXXI Congreso Nacional de la Asociación Española para el Estudio del Hígado

Madrid, 15-17 de febrero de 2006

**Comunicaciones presentadas
en el Congreso**

COMUNICACIONES ORALES

Sesión general 1

Moderadores: Dr. Ramón Charco (Barcelona). Dr. Santiago Tomé (Santiago de Compostela)

TRATAMIENTO ANTIVIRAL DE LA HEPATITIS C EN PACIENTES EN LISTA DE ESPERA DE TRASPLANTE HEPÁTICO

E. Martínez-Bauer^a, J. A. Carrión^a, S. Ramírez^a, A. Massaguer^a, J.C. García-Valdecasas^b, J.M. Sánchez-Tapias^a y X. Forns^a
Servicios de Hepatología^a y Cirugía^b, Hospital Clinic, Barcelona.

La recurrencia de la hepatitis C en el injerto es el principal problema médico del trasplante de hígado (TH). El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia y la seguridad del tratamiento antiviral previo al trasplante para prevenir la recurrencia de la hepatitis C en el injerto. Desde Enero de 2004 hasta Junio de 2005 se han tratado 50 pacientes con interferón pegilado alfa-2a y ribavirina en lista de espera de TH. En el momento de la inclusión la mediana del índice MELD era 13 (6-25). El genotipo infectante era 1b en 44 (88%) pacientes. El tratamiento se iniciaba cuando el tiempo esperado para el TH era inferior a 6 meses y se mantenía hasta el día del trasplante. En 23 casos (46%) se alcanzó la negativización del ARN-VHC durante el tratamiento. De los 32 pacientes que ya han recibido un TH, 12 (38%) eran ARN-VHC negativos en el momento del TH y, tras un seguimiento mínimo de 6 meses, el ARN-VHC permanece indetectable en 9 (28%). Los efectos adversos fueron muy frecuentes: anemia 66%, neutropenia 20%, trombocitopenia 38%, descompensación 32%, infección 32%. El índice MELD en el momento del TH (15) había aumentado significativamente respecto al basal (13) ($p = 0,004$). Dos pacientes (MELD > 17) fallecieron durante el tratamiento debido a una peritonitis bacteriana espontánea (los dos habían alcanzado respuesta virológica). Los efectos adversos obligaron a ajustar las dosis de antivirales en 30 pacientes (60%) y a la interrupción del tratamiento en 15 (30%). En conclusión, el tratamiento de la hepatitis C en pacientes en lista de espera de TH previene la recurrencia de la infección en un 25-30% de los casos. Los efectos adversos (a veces graves) obligan a un seguimiento muy estricto de estos pacientes y limitan su aplicabilidad en individuos con mala función hepática.

INFORME DE UN REGISTRO MULTICÉNTRICO, PROSPECTIVO, DE TUMORES MALIGNOS DE NUEVO COMIENZO DESPUÉS DEL TRASPLANTE HEPÁTICO, EN POBLACIÓN ADULTA ESPAÑOLA

V. Cuervas-Mons^a, C. Jiménez^b, I. Herrero^c, J.C. García-Valdecasas^d, F. Suárez^e, M.A. Gómez^f, M. Prieto^g, E. Fraga^h, M. Salcedoⁱ, P. Ramírez^j, F. Casafont^k, B. Sánchez^l y M. Rodríguez^m

Hospitales ^aPuerta de Hierro. Madrid, ^bDoce de Octubre. Madrid, ^cClínica Universitaria de Navarra. Pamplona, ^dClínica. Barcelona, ^eJuan Canalejo. La Coruña, ^fVirgen del Rocío. Sevilla, ^gLa Fe. Valencia, ^hReina Sofía. Córdoba, ⁱGregorio Marañón. Madrid, ^jVirgen de Arrixaca. Murcia, ^kMarqués de Valdecilla. Santander, ^lCarlos Haya. Málaga, ^mCentral de Asturias. Oviedo.

Objetivo: Estudiar incidencia, tipo de tumor, factores de riesgo y evolución de los tumores malignos *de novo* después del TH.

Pacientes y métodos: Estudio prospectivo, multicéntrico, de los tumores malignos *de novo* después del TH en pacientes trasplantados

enero/1986 - diciembre/2003. Se utilizaron como controles pacientes que no desarrollaron tumor y que fueron trasplantados inmediatamente antes o después del caso.

Resultados: Después de un seguimiento medio post-TH de 30,4 meses (SD 24,3), 451 pacientes (78,7% varones) (incidencia 6,33%) desarrollaron 492 tumores malignos *de novo*. La enfermedad que indicó el TH fue cirrosis (Ci) alcohólica 46,8%; Ci. virus C 22,1%; hepatocarcinoma 8,2%; Ci. colestáticas 6,8%; Ci. virus B 5,3%; y otras 10,8%. Los 5 tumores más frecuentes fueron cáncer (Ca.) no melanótico de piel (31,5%); enfermedad linfoproliferativa postrasplante (PTLD) (14,2%); Ca. pulmón (10,2%); Ca. epidermoide boca/lengua (6,3%) y adenoCa. vejiga/uréter (5,9%). La edad de los pacientes (años) en el momento del diagnóstico del tumor fue de 57 (DT 10) sin diferencias entre los distintos tipos de tumor. La mediana de tiempo (meses) entre trasplante y diagnóstico del tumor fue 38 (media 46,18; DT 37,58; intervalo 1-199), sin diferencias significativas entre los distintos tipos de tumor. Se observaron dos patrones de presentación temporal de los tumores: precoces (< 2 años, 63% de los PTLD y 75% de los Kaposi) y tardíos (> 5 años postTH) (42,7% de los adenoCa y 47% de los Ca. de piel) $p = 0,001$. El riesgo de desarrollar un tumor aumentó con el tiempo de seguimiento después del TH. Los tumores fueron más frecuentes en hombres ($p < 0,01$), en mayores de 50 años ($p = 0,032$), en pacientes con Ci. etílica ($p < 0,01$), con consumo activo o pasado de tabaco ($p < 0,0001$) y alcohol ($p < 0,025$), o con utilización de azatioprina después del primer año del TH ($p < 0,001$). La utilización de micofenolato mofetil al año y a los 2 años del TH protegió contra el desarrollo de neoplasia (RR 0,741; intervalo de confianza al 95% 0,615-0,892). La supervivencia actuarial desde el diagnóstico del tumor fue 70% a los 5 años y 53% a los 10 años (mediana de supervivencia 11 años). La causa de muerte estuvo relacionada con el tumor en el 88% de los casos. La supervivencia de los pacientes que desarrollaron tumor fue significativamente que la de los controles ($p < 0,001$). La supervivencia tras PTLD, adenoCa y Ca. epidermoides fue mayor que tras sarcoma de Kaposi, pero significativamente menor que tras Ca. piel $p < 0,001$.

Conclusiones: El sexo masculino, la etiología etílica de la cirrosis, el consumo de tabaco, la edad mayor de 50 años y la utilización prolongada de azatioprina identifica un subgrupo de pacientes de alto riesgo de desarrollar una neoplasia maligna *de novo* después del trasplante, grupo en el que debiera extremarse la vigilancia.

EVALUACIÓN DE LA GRAVEDAD DE LA RECIDIVA DE LA HEPATITIS C TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO MEDIANTE LA MEDICIÓN DE LA ELASTICIDAD HEPÁTICA

J.A. Carrión, M. Navasa, J. Bosch, M. Bruguera, R. Gilibert y X. Forns

Unidad de Hepatología, Hospital Clinic, Barcelona.

La recidiva de la hepatitis C tras el trasplante hepático (TH) es un problema médico de gran magnitud. Su diagnóstico y seguimiento

requieren de biopsias hepáticas seriadas, con el fin de identificar a aquellos pacientes con una recidiva severa o con el riesgo de desarrollarla. El objetivo de este estudio fue analizar la capacidad diagnóstica de un método no invasivo (elastografía) para evaluar la gravedad de la recurrencia de la hepatitis C tras el TH. Desde Agosto 2004 hasta Septiembre 2005 se incluyeron 118 receptores de TH (sometidos a 147 biopsias hepáticas). Tras la biopsia hepática se realizaba una determinación de elasticidad hepática mediante un elastografía por ultrasonidos (Fibroscan®). En 104 pacientes se procedió también a la medición simultánea del gradiente de presión portal (GPP) (108 determinaciones). Entre las 147 biopsias el estadio de fibrosis era: F0-F1 en 87 (59%), F2 en 36 (24%), F3 en 10 (7%), F4 o hepatitis colestásica fibrosante en 14 (10%). Utilizando como punto de corte una elasticidad hepática > 8.74 kPa (Ziol et al, *Hepatology* 2005), la sensibilidad (S), especificidad (Sp), valor predictivo positivo (VVP) y valor predictivo negativo (VPN) para el diagnóstico de fibrosis ≥ F2 fueron de 0,90, 0,78, 0,74 y 0,92 respectivamente, con un área bajo la curva (AUC) de 0,89. El AUC para el diagnóstico de fibrosis ≥ F3 y fibrosis ≥ F4 fueron de 0,96 y 0,98, respectivamente. La correlación entre el valor de elasticidad hepática y el GPP fue excelente ($r = 0,83$). Utilizando el mismo punto de corte (elasticidad hepática > 8.74 kPa), la S, Sp, VVP y VPN para el diagnóstico de hipertensión portal (GPP ≥ 6 mmHg) fueron de 0,89, 0,75, 0,71 y 0,91, respectivamente, con un AUC de 0,90. Estos datos demuestran que la elastografía es una técnica muy fiable para el diagnóstico de la gravedad de la recidiva de la hepatitis C en receptores de TH. Al tratarse de una técnica no invasiva, rápida y dinámica su implementación en el área del trasplante hepático podría reducir de forma significativa la necesidad de biopsias hepáticas y/o estudios hemodinámicos.

ESTUDIO PROSPECTIVO CONTROLADO SOBRE LA EFICACIA DE UN RÉGIMEN INMUNOSUPRESOR SIN CORTICOIDES EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO. RESULTADOS FINALES

B. Verdura, X. Xiol, L. Lladó, J. Figueras y grupo de estudio THOSIN

El tratamiento inmunosupresor después del trasplante hepático (THO) debe ser eficaz para evitar el rechazo y a la vez presentar los mínimos efectos secundarios posibles. El objetivo de nuestro estudio fue evaluar la seguridad y eficacia de un régimen inmunosupresor sin corticoides.

Método: Desde abril del 2001 hasta septiembre del 2004, todos los pacientes candidatos a THO, excepto aquellos con hepatitis fulminante, hepatopatía autoinmune, trasplante renal o retrasplante, se randomizaron a recibir inmunosupresión con basiliximab y ciclosporina, con corticoides (St) o sin corticoides (NoSt), estratificándose según VHC. Los pacientes de grupo St recibieron: bolus de 500 mg intraoperatorio, 0,5 mg/kg los días 1-5, 0,25 mg/kg los días 6-30 y 0,15 mg/Kg los días 31-90. La variable principal estudiada fue la tasa de rechazo a los 6 meses posttrasplante y las secundarias, las complicaciones infecciosas y metabólicas. Los resultados fueron evaluados en un análisis por intención de tratar.

Resultados: Se incluyeron 198 pacientes en el estudio, 102 en el grupo corticoides y 96 en el grupo no corticoides. El 45% de pacientes tenían hepatitis C. La tasa de rechazo fue del 15% a los 6 meses, sin diferencias entre los grupos (St 13% vs. NoSt 18% $p = 0,33$). 22 (70%) de los casos de rechazo se resolvieron con bolus de corticoides, y 8 (23%) se convirtieron a tacrolimus. Presentaron fracaso del tratamiento (rechazo, éxitos o retrasplante) el 23% del grupo St y el 25% del grupo NoSt ($p = 0,68$). Las tasas de infección fueron similares en ambos grupos (St 51% vs NoSt 47% $p = 0,56$), pero los pacientes diabéticos en el grupo St tuvieron una tasa significativamente mas alta de infecciones bacterianas (St 54% vs. NoSt 14% $p = 0,005$). La biopsia protocolizada a los 6 meses mostró recidiva del VHC en el 90% de los pacientes, sin diferencias entre los

grupos. La hipertensión arterial (44% vs. 25% $p = 0,006$) y la diabetes de novo 29% vs. 18%; $p = 0,06$) fueron mas frecuentes en el grupo St en el período postoperatorio. A los 6 meses las diferencias habían desaparecido.

Conclusión: La inmunosupresión sin corticoides es segura y reduce el riesgo de complicaciones infecciosas y metabólicas.

FACTORES DE RIESGO PARA EL DESARROLLO CLÍNICO DE HEPATITIS AUTOINMUNE DE NOVO ASOCIADA A AUTOANTICUERPOS ATÍPICOS COMPATIBLES CON ANTIGLUTATION-S-TRANSFERASA T1 TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO

M. Salcedo, M. Rodríguez-Mahou, E. Álvarez, D. Rincón, C. Ripoll, G. Clemente, C. Rodríguez-Sanz, J.L. Vicario, M.V. Catalina, J.L. García-Sabrido y R. Bañares

Sección de Hepatología y Unidad de Trasplante Hepático. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

La hepatitis autoinmune de Novo (HAIN) tras el trasplante hepático (TH) es una forma infrecuente de disfunción del injerto (DI); algunos casos asocian autanticuerpos (Ac) atípicos. De ellos, se han identificado Ac. AntiGlutación Transferasa T1 (GSTT1) en relación a discordancia para el genotipo GSTT1 entre donante y receptor; sin embargo, no todos los pacientes con Ac. AntiGSTT1 desarrollan HAIN.

Objetivo: Analizar la aparición de anticuerpos compatibles con antiGSTT1, el desarrollo de HAIN tras el TH, y sus factores condicionantes.

Pacientes y método: La detección de Ac. compatibles con AntiGSTT1 se realizó por el patrón de Inmunofluorescencia Indirecta (sustratos de riñón e hígado de rata) y mediante Western Blot (26KD) en suero; en los casos con Ac. AntiGSTT1 se realizó estudio genotípico de donante y receptor (PCR multiplex). Se detectó antiGSTT1 en 29 de 419 (6,9%, CI 95%, 4,9-9,8) pacientes trasplantados entre 1990 y 2005. La indicación de TH fue cirrosis VHC (9 casos, 31%), etílica (14 casos, 48%) y otras causas, en 6 (20%). Los criterios diagnósticos de HAIN asociada a Ac. antiGSTT1 fueron: DI con datos histológicos de hepatitis autoinmune (descartando otras causas de DI), hipergammaglobulinemia, y respuesta a esteroides. Se analizaron datos epidemiológicos y del sistema HLA I y II de donante y receptor, y se valoraron antecedentes clínicos (inmunosupresión, autoanticuerpos clásicos, rechazo e infecciones) como desencadenantes del desarrollo de HAIN. Se construyeron curvas de Kaplan-Meier y modelos de Cox uni y multivariados.

Resultados: Veinte de los 29 pacientes con AntiGSTT1 (69%) desarrollaron HAIN tras una mediana de seguimiento de 26 meses (IC 95%, 9,2-32,8). En todos los casos se confirmó la discordancia genotípica para GSTT1 entre donante y receptor. La probabilidad acumulada de HAIN fue 11, 44, y 60% a 1, 2, y 3 años tras el TH. El desarrollo de HAIN no se relaciona con: edad del donante o receptor, sexo del receptor, régimen inmunosupresor, antecedente de rechazo, o infección viral previa, incluyendo CMV. La distribución de Haplotipos I y II fue similar en pacientes con y sin HAIN. La probabilidad de desarrollo de HAIN fue mayor en trasplantados con injertos de donantes masculinos (20, 60, 66% vs 8, 25, 50% a 1, 2, y 3 años respectivamente; $p = 0,038$) y en trasplantados por hepatopatía no alcohólica (22, 65, 79% vs. 8, 23, 39% a 1, 2, y 3 años; $p = 0,011$). En el análisis multivariado ambas variables fueron predictores independientes para el desarrollo de HAIN (donante masculino HR: 3,4; 95% CI 1,3-9,2, etiología no alcohólica HR: 3,3; 95% CI 1,3-8,4).

Conclusiones: La presencia de Ac compatibles con antiGSTT1 se asocia a discordancia entre el genotipo del donante y receptor para GSTT1; la mayoría de los paciente con estos AntiGSTT1 desarrollan HAIN a medio plazo tras el TH. El injerto de donante masculino y la indicación de TH por etiología no alcohólica parecen incrementar el riesgo de desarrollo de HAIN.

CARACTERIZACIÓN INMUNOLÓGICA DEL ESTADO DE TOLERANCIA TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO

M. Martínez Llordella^a, I. Puig-Pey^a, M. Ramoni^b, G. Orlando^c, J. Lerut^d, A. Rimola^a, C. Margarit^e, G. Tisone^c y A. Sánchez-Fueyo^a

^aUnidad de Trasplante Hepático, Hospital Clínic Barcelona, IDIBAPS, Universidad de Barcelona. ^bChildren's Hospital Informatics Program, Harvard Medical School, Boston, USA. ^cUnidad de Trasplante Hepático, Universidad Tor Vergata, Roma. ^dUnidad de Trasplante Hepático, Hospital Universitario St-Luc, Universidad Católica de Lovaina, Bruselas, Bélgica. ^eUnidad de Trasplante Hepático, Hospital Vall d'Hebró, Universidad Autónoma de Barcelona.

En el trasplante hepático hasta un 25% de los pacientes pueden abandonar definitivamente el tratamiento inmunosupresor sin sufrir rechazo, y estos pacientes son considerados tolerantes. Sin embargo, hasta la fecha carecemos de marcadores que nos permitan identificar el estado de tolerancia en el trasplante hepático, por lo cual no es posible predecir el éxito o fracaso de la retirada de la inmunosupresión. En el presente estudio hemos comparado 2 cohortes de receptores de un trasplante hepático: *a*) pacientes a los que se ha retirado de manera exitosa toda la medicación inmunosupresora (Tol; n = 13); y *b*) pacientes que han sufrido rechazo agudo al intentar retirar esta medicación y que por tanto requieren el uso continuado de fármacos inmunosupresores (No-Tol; n = 15). La metodología utilizada incluye el inmunofenotipaje de las subpoblaciones celulares en sangre periférica por citometría de flujo, y la cuantificación de la expresión genética linfocitaria en sangre periférica por PCR cuantitativa y *microarrays* de ADN (*Affymetrix*). Nuestros resultados muestran que, en comparación con pacientes No-Tol o con controles sanos, los pacientes Tol presentan un incremento estadísticamente significativo en la proporción de linfocitos T con fenotipo inmunoregulador (CD4+CD25+ y γ madelta). Por otra parte la comparación de la expresión genética entre pacientes Tol y No-Tol indica que en los pacientes Tol existe una infraexpresión de genes proinflamatorios (IL-1, TNF- α , ICAM1, IL23, CD83). En conjunto, los resultados de este estudio sugieren que en los pacientes tolerantes tras un trasplante hepático existen mecanismos inmunoreguladores activos que contribuyen a la aceptación del injerto. Estos datos pueden servir de base para diseñar un algoritmo diagnóstico del estado de tolerancia tras el trasplante hepático.

PREDICCIÓN DE FIBROSIS SIGNIFICATIVA EN PACIENTES TRASPLANTADOS POR VHC A PARTIR DE FACTORES CLÍNICOS MEDIANTE UNA RED NEURAL ARTIFICIAL

S. Benlloch^a, M. Berenguer^a, F. Piscaglia^b, A. Cucchetti^b, M. Vivarelli^b, M. Prieto^a, M. Bolondi^b y J. Berenguer^a

^aServicio de Medicina Digestiva. Hospital Universitario La Fe. Valencia, España. ^bDipartimento di Medicina Interna e Gastroenterologia e Dipartimento di Discipline Chirurgiche, Rianimatorie e dei Trapianti University of Bologna, S. Orsola Hospital, Bologna, Italy.

Introducción: Las biopsias hepáticas periódicas siguen siendo consideradas como la mejor forma de monitorizar la evolución de la hepatitis C recurrente, así como evaluar tratamiento antiviral y/o re-trasplante si procede. Debido a que se trata de una técnica invasiva, existe un interés creciente en investigar marcadores no invasivos de fibrosis hepática. Recientemente nuestro grupo ha creado un índice no invasivo capaz de predecir ausencia de fibrosis significativa con buena fiabilidad. El análisis multivariante (modelo logit) identificó 4 variables que se correlacionaron con el grado de fibrosis: tiempo de protrombina, GOT, porcentaje de albúmina respecto a proteínas totales y tiempo desde el trasplante hepático.

Objetivo: Comparar la capacidad de predicción de nuestro modelo logit con un modelo creado mediante redes neurales artificiales (RNA) por un grupo italiano (Bologna, Italia).

Métodos: El modelo RNA fue creado con los datos de nuestro grupo de estudio (n = 414) que se utilizó para crear la fórmula matemática inicial (modelo logit) y fue validado en el grupo de validación (n = 96). Los resultados del modelo RNA se compararon con los de nuestro modelo mediante curvas ROC.

Resultados: La RNA proporcionó un modelo matemático predictivo con las variables sodio, tiempo de protrombina, porcentaje de albúmina, GOT, fosfatasa alcalina, colesterol y plaquetas. Utilizando un valor de corte > 0,4 para predecir fibrosis significativa, el modelo RNA tenía una sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo de 100%, 79,5%, 60,5% y 100%, respectivamente, en el grupo de validación. El área bajo la curva ROC del modelo RNA fue mayor que la del modelo logit, tanto en el grupo de estudio (0,87 vs. 0,8, p < 0,01), como en el grupo de validación (0,93 vs. 0,84, p < 0,05).

Conclusiones: Aunque el modelo predictivo basado en una red neural artificial arroja resultados superiores que el modelo predictivo logit creado inicialmente, la predicción de presencia o ausencia de fibrosis significativa es buena con ambos métodos, y el modelo logit es más sencillo de aplicar.

Sesión general 2

Moderadores: Dr. José Aguilar (Sevilla). Dr. Matías Ávila (Pamplona)

ESTUDIO ALEATORIZADO, DOBLE CIEGO Y CONTROLADO COMPARANDO NORFLOXACINO VS. PLACEBO EN LA PROFILAXIS PRIMARIA DE LA PERITONITIS BACTERIANA ESPONTÁNEA EN PACIENTES CIRRÓTICOS CON INSUFICIENCIA RENAL, HIPONATREMIA O INSUFICIENCIA HEPÁTICA AVANZADA

M. Navasa¹, J. Fernández¹, S. Montoliu², R. Planas², D. Monfort, G. Soriano³, C. Vila⁴, E. Quintero⁵, V. Vargas⁶, J. Such⁷, P. Ginès¹ y V. Arroyo¹

IMD, Hospital Clínic Barcelona¹; Servicio de Digestivo, Hospital Germans Trias i Pujol, Barcelona²; Servicio de Digestivo, Hospital Santa Creu i Sant Pau, Barcelona³; Servicio de Digestivo, Hospital del Mar, Barcelona⁴; Servicio de Digestivo, Hospital Universitario de Canarias, Tenerife⁵; Servicio de Digestivo, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona⁶; Servicio de Digestivo, Hospital Universitario de Alicante⁷.

La insuficiencia hepática avanzada y una concentración baja de proteínas en líquido ascítico han sido identificados como factores de riesgo de desarrollo de PBE. Por otra parte, la insuficiencia renal y la hiponatremia aumentan su mortalidad.

Objetivos: Investigar si la administración oral de norfloxacin reduce la incidencia de episodios de PBE, el desarrollo de síndrome hepatorenal y mejora la supervivencia en pacientes cirróticos de alto riesgo sin historia previa de PBE.

Métodos: Estudio multicéntrico, prospectivo, doble ciego y controlado comparando la administración oral de norfloxacin (400 mg/d; n = 37) con la de placebo (n = 33) en 70 pacientes cirróticos con proteínas bajas en líquido ascítico (< 15 g/L) y al menos uno de los siguientes factores de riesgo: insuficiencia renal funcional (creatinina sérica \geq ,2 mg/dl o BUN \geq 25 mg/dl), hiponatremia (sodio plasmático \leq 130 mEq/L) o insuficiencia hepática avanzada (Child: 9 puntos o más con bilirrubina \geq 3 mg/dl).

Resultados: Un 51% de los pacientes presentaron más de un factor de riesgo a la inclusión, un 23% insuficiencia renal, un 20% insuficiencia hepática y un 6% hiponatremia. No existieron diferencias significativas en las características basales de los pacientes entre ambos grupos de tratamiento. La administración de norfloxacin redujo de manera significativa la probabilidad de desarrollar episodios de PBE (5% vs. 31%, p = 0,0007), síndrome hepatorenal (14% vs. 28%, p = 0,02) y mejoró la supervivencia de los pacientes tanto a los 6 meses (81% vs. 64%, p = 0,025), como a lo largo de todo el seguimiento (70% vs. 61%, p = 0,046). El análisis multivariado identificó el tratamiento profiláctico recibido como factor predictor independiente de desarrollo de PBE (RR: 8,8), de síndrome hepatorenal (RR: 3,3) y de mortalidad (RR: 2,3).

Conclusiones: La profilaxis primaria con norfloxacin disminuye de forma significativa la incidencia de PBE, previene el desarrollo de síndrome hepatorenal y mejora la supervivencia en pacientes cirróticos con insuficiencia renal funcional, hiponatremia o insuficiencia hepatocelular avanzada.

LA CURACIÓN DE LA HEPATITIS C REDUCE EL RIESGO DE DESARROLLO DE HIPERGLUCEMIA Y DIABETES MELLITUS TIPO 2

M. Romero Gómez^a, C. Trabadelá^a, S. Alonso^b, M. Diago^c, J.A. Pons^d, P. López-Serrano^b, C. Pérez^c, P. García^a, M.L. Gutiérrez^b, L. Grande^a, R. Temiño^b y C.M. Fernández-Rodríguez^b

^aUnidad de Hepatología. UGCED. Hospital Universitario de Valme.

^bUnidad de Digestivo. Fundación Hospital Alcorcón. Madrid.

^cSección de Hepatología. Hospital General de Valencia. Valencia.

^dServicio de Digestivo. Hospital de la Arrixaca. Murcia.

Introducción: Recientes datos epidemiológicos y moleculares avallan el papel de la hepatitis C en la aparición de diabetes mellitus

tipo 2 (DM2) (Aliment Pharmacol Ther 2005;22:56). Así también, la resistencia a la insulina disminuye en los pacientes con respuesta sostenida (Gastroenterology 2005;128:636).

Propósito: Conocer la incidencia de glucemia basal alterada (GBA) y diabetes mellitus tipo 2 (DM2) en pacientes con hepatitis C tratados con peginterferon y ribavirina.

Pacientes y métodos: Incluimos 525 pacientes consecutivos de 4 hospitales españoles con hepatitis C tratados con peginterferon y ribavirina. En todos los pacientes se valoró la existencia de respuesta sostenida (RS) comprobando ARNVHC negativo (Cobas[®]) 6 meses después de finalizar el tratamiento. Analizamos la existencia de antecedentes familiares de diabetes mellitus tipo 2 (AFDM2), la edad, el sexo, peso, talla e índice de masa corporal (IMC = peso/talla²), factor de riesgo de infección, la presencia de esteatosis (en cuatro grados: E0: ausencia, E1: < 33%, E2: > 33% y < 66% y E3: > 66%) y el estadio de fibrosis según Scheuer (de F0 a F4). Diagnosticamos la presencia de DM2 y GBA antes y del tratamiento y al final del estudio mediante anamnesis y análisis de dos determinaciones de glucemia. Se realizó seguimiento hasta Octubre 2005.

Resultados: Las características de la cohorte son: presentaban DM2 52 (9,9%) y GBA 26 pacientes (4,9%), referían AFDM2 el 32,1%, mujeres el 35,8%, genotipo 1 el 64,2%, presentaban esteatosis 41,8% y fibrosis avanzada (F3-F4) el 23,1%. Edad media 45 \pm 10 años, glucemia 93 \pm 11 mg/dl, IMC: 26,1 \pm 4,7 Kg/m². En el grupo de 447 pacientes con glucemia basal normal alcanzaron respuesta sostenida 247 pacientes (55,3%). En un seguimiento medio de 36 \pm 20 meses, desarrollaron GBA o DM2 13 de 247 (5,2%) en el grupo de respuesta sostenida frente a 21 de 200 (10,5%) en el grupo de no respondedores; log-rank: 5,9; p < 0,01. En la regresión de Cox, las variables independientes predictoras del desarrollo de GBA o DM fueron la ausencia de respuesta sostenida [O.R. = 3,2 (1,01-10,4)] y el índice de masa corporal aumentado [O.R. = 1,1 (1,01-1,16)], mientras que AFDM2, la fibrosis, el sexo y la edad quedaron excluidas.

Conclusiones: La curación de la hepatitis C disminuye el riesgo de desarrollo posterior de GBA y diabetes mellitus tipo 2.

Agradecimiento: Grupo PAI CTS-532. Junta de Andalucía.

LA GHRELINA, UNA HORMONA GASTROINTESTINAL, SE EXPRESA EN EL HÍGADO Y EJERCE ACCIONES HEPATOPROTECTORAS Y ANTIFIBROGÉNICAS

M. Moreno^a, R. Bataller^a, P. Sancho-Bru^a, E. Juez^a, M. Morales^a, X. Gasull^b, M. Domínguez^a, L. Ramalho^a, V. Arroyo^a, J. Caballería^a y P. Ginès^a

^aServei d'Hepatologia, Hospital Clinic, ^bLaboratori d'Electrofisiologia, ICMDIM, Hospital Clinic, IDIBAPS, Barcelona.

Introducción y objetivo: La ghrelina es una hormona de producción gástrica que estimula la secreción de hormona de crecimiento y regula la ingesta calórica. La secreción gástrica de ghrelina aumenta en ayunas, estimulando a nivel central la ingesta de alimentos. Datos recientes indican que la ghrelina posee también acciones periféricas como la regulación de la muerte celular en el corazón o la modulación del tono vascular. Se desconoce, sin embargo, si la ghrelina se expresa en el hígado y ejerce acciones fisiopatológicas en enfermedades hepáticas. El objetivo del presente estudio es determinar si el hígado humano expresa ghrelina y si ésta ejerce acciones fisiopatológicas *in vitro* e *in vivo*.

Métodos: La expresión de ghrelina se estudió mediante RT-PCR cuantitativa e inmunohistoquímica. Se estudió si la ghrelina regula

los efectos biológicos de las células estrelladas hepáticas (CEH). Se estudió los cambios en el calcio intracelular (microscopio de epifluorescencia), proliferación (timidina-3H), secreción de citoquinas (ELISA), activación de NFkB (test luciferasa) y expresión de genes profibrogénicos (PCR cuantitativa). En la línea celular de hepatocitos HepG2 se estudió el grado de apoptosis (ensayo MTT). In vivo, se estudió si la ghrelina recombinante modula la respuesta hepática a un daño hepatocelular agudo (inyección única de CCl4) en ratas Wistar.

Resultados: La ghrelina se expresa en el hígado humano, especialmente en hepatocitos. La ghrelina recombinante humana (10^{-7} M) disminuye en un 50% el aumento de calcio intracelular inducido por la angiotensina II (10^{-7} M) y la bradiquinina (10^{-7} M). Además, la ghrelina disminuye la expresión de procolágeno I y TGFb1 en un 35 y 20%, respectivamente. Estos efectos fueron bloqueados por un antagonista del receptor de la ghrelina GHS-R1a. Por el contrario, la ghrelina no modificó la proliferación celular, la secreción de citoquinas inflamatorias o la activación del NFkB. En células HepG2, la ghrelina no reguló la muerte celular inducida por TNF α o H $_2$ O $_2$. In vivo, la administración de ghrelina recombinante redujo marcadamente la necrosis hepatocelular inducida por una inyección única de CCl4, así como la infiltración por células inflamatorias.

Conclusiones: La ghrelina se expresa en el hígado y ejerce una acción vasodilatadora y antifibrogénica en las CEH, así como un efecto hepatoprotector in vivo. Estos resultados sugieren que la ghrelina podría ser un nuevo instrumento terapéutico para las enfermedades hepáticas.

LA PRESENCIA DE ADN BACTERIANO ES UN PREDICTOR PRONÓSTICO A CORTO PLAZO EN PACIENTES CON CIRROSIS Y ASCITIS. RESULTADOS DE UN ESTUDIO MULTICÉNTRICO NACIONAL

P. Zapater^a, R. Francés^a, J.M. González^a, M.A. de la Hoz^a, R. Moreu^a, S. Pascual^a, D. Monfort^b, S. Montoliu^c, C. Vila^d, A. Escudero^c, X. Torras^b, I Cirera^d, J.M. Palazón^a, F. Carnicer^a, C. Guarner^b, R. Planas^c, R. Solá^d, M.A. Serra^c, C. Muñoz^a, M. Pérez-Mateo^a y J. Such^a

^aUnidad de Hepatología, Hospital General Universitario de Alicante, ^bSección de Hepatología, Hospital de la Sta. Creu i St. Pau de Barcelona, ^cSección de Hepatología, Hospital Germans Trias i Pujol de Badalona, ^dSección de Hepatología, Hospital del Mar de Barcelona, ^eServicio de Hepatología, Hospital Clínico Universitario de Valencia.

Estudios previos de nuestro grupo han demostrado la existencia de ADN bacteriano (ADNbact) en suero y líquido ascítico (LA) en el 30-40% de los pacientes cirróticos con ascitis no neutrocítica con cultivo negativo. Datos previos indican que la presencia de ADNbact puede ser un indicador de mal pronóstico en estos pacientes.

Objetivo: Analizar el significado pronóstico de la presencia de ADNbact en suero y LA de pacientes cirróticos con ascitis no neutrocítica con cultivo negativo.

Métodos: En un estudio multicéntrico, prospectivo hemos incluido 123 pacientes entre Diciembre 2003 y Enero 2005 tras un episodio de descompensación ascítica en el que se determinó la presencia de ADNbact en suero y LA mediante PCR. Se excluyó a pacientes con PBE o bacterioascitis, infecciones, HDA, toma de antibióticos en las 2 semanas previas (incluida DIS), carcinoma hepatocelular, trombosis portal y hepatitis alcohólica. Se analizó la supervivencia de los pacientes mediante curvas de Kaplan-Meier y el test de Breslow.

Resultados: La edad media de los pacientes fue de 61,6 años y el 65% eran varones. En el 57% de los pacientes la cirrosis fue de etiología alcohólica. Un 53,2% de los pacientes fueron Child-Pugh B y los restantes fueron Child-Pugh C. El 70% de los pacientes tuvieron una puntuación Meld < 15. El 60% de los pacientes se incluyeron durante su primera descompensación ascítica. Cuarenta y cin-

co pacientes (36,5%) presentaron fragmentos de ADNbact en suero y LA (Grupo 1) que no se evidenciaron en los restantes (Grupo 2). Las características basales de los dos grupos fueron similares. Todos los pacientes tuvieron un seguimiento superior a 1 mes, período durante el cual murieron 6 pacientes del Grupo 1 (13%) frente a ninguno del Grupo 2 (p = 0,002). Cinco de los 6 fallecidos tuvieron un Meld < 15. La probabilidad de supervivencia a 1, 3 y 6 meses fue respectivamente de 87, 84 y 79% para los pacientes del Grupo 1 y de 100, 96 y 89% para los pacientes del Grupo 2 (p = 0,07). En este tiempo desarrollaron una PBE 4 pacientes sin ADNbact (5%) y 1 con ADNbact (2%).

Conclusiones: La presencia de ADNbact en líquido ascítico/suero de cirróticos con ascitis no neutrocítica con cultivo negativo se asocia a una supervivencia significativamente menor a corto plazo (1 mes).

LA DETECCIÓN DE ADN BACTERIANO EN LÍQUIDOS BIOLÓGICOS CONSTITUYE UN MARCADOR INDIRECTO DE TRASLOCACIÓN BACTERIANA EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE CIRROSIS Y ASCITIS

E. Sánchez^a, J.M. González^b, G. Soriano^a, R. Francés^b, M. Chiva^a, P. Zapater^b, S. Pascual^b, J. Balanzó^a, M. Pérez-Mateo^b, C. Guarner^a y J. Such^b

^aUnidad de Hepatología, Servicio de Patología Digestiva del Hospital de Sant Pau de Barcelona, ^bUnidad de Hepatología del Hospital General Universitario de Alicante.

Estudios previos de nuestro grupo han demostrado la existencia de fragmentos genómicos bacterianos (ADNbact) en suero y ascitis de aproximadamente el 30-40% de los pacientes cirróticos con ascitis. Sin embargo, desconocemos si este hecho se asocia a la presencia simultánea de las mismas bacterias en ganglios linfáticos mesentéricos (GLM).

Objetivos: 1) Determinar la relación entre la traslocación bacteriana (TB), representada por la existencia de cultivos positivos de GLM en un modelo experimental de cirrosis, y la presencia de ADNbact en líquidos biológicos. 2) Estudiar la respuesta inflamatoria en GLM relacionada con la presencia de ADNbact.

Método: Se ha estudiado un grupo de 19 ratas Sprague-Dawley con cirrosis y ascitis inducida por la administración de CCl $_4$. En el curso de la laparotomía se cultivó GLM, ascitis y líquido pleural. Se determinó la existencia de ADNbact en estos medios y en suero mediante PCR, y se identificó la bacteria origen de los fragmentos detectados mediante secuenciación de nucleótidos (Hepatology 2002;36:135-141). Se determinó TNF α en GLM de las ratas estudiadas.

Resultados: Hemos establecido dos conceptos en base a los resultados obtenidos: TB viable (cultivo positivo de GLM, presencia de ADNbact); TB no viable: (cultivo negativo de GLM, presencia de ADNbact) y ausencia de TB (cultivo negativo de GLM, ausencia de ADNbact). Se observó TB viable en 7 de 19 animales (36,8%) y TB no viable en 5/19 (26,3%). Se detectó ADNbact en líquidos biológicos en 11 animales, y en el 100% de los casos se comprobó la presencia simultánea de la misma bacteria en GLM, siendo viable en 7 casos y no viable en 4. La síntesis de TNF α fue similar en GLM con TB viable o no viable ($105,3 \pm 9,3$ vs. $97,7 \pm 4,8$ pg/mL, p NS) y significativamente superior con respecto a los niveles observados en ratas en ausencia de TB ($66,5 \pm 8,7$, p < 0,05 en ambos casos).

Conclusiones: La detección de ADNbact de una determinada bacteria en líquidos biológicos de ratas cirróticas con ascitis coincide con su presencia en GLM, y la determinación de su secuencia de nucleótidos indica que se trata de la misma bacteria, por lo que puede considerarse un marcador fiable indirecto de TB. La reacción inflamatoria local representada por la síntesis de TNF α es similar en casos de TB viable o no viable, pero significativamente mayor a la de las ratas sin TB. Consideramos que es necesario modificar el concepto actual de TB para referirla a la presencia de material genómico bacteriano en GLM.

ALTERACIONES DE LA PERMEABILIDAD VASCULAR EN TEJIDOS DE RATAS CIRRÓTICAS CON ASCITIS. POSIBLE IMPLICACIÓN DE LA ANGIOPOYETINA-2

P. Melgar-Lesmes^a, S. Tugues^a, M. Morales-Ruiz^a, J. Ros^a, G. Fernández-Varo^a, V. Arroyo^b, J. Rodés^b y W. Jiménez^a

^aLaboratorio de Hormonal-Centre de Diagnòstic Biomèdic y

^bUnidad de Hepatología-Institut de Malalties Digestives i Metabòliques, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Universidad de Barcelona, Barcelona.

Introducción: La ascitis es el trastorno más importante y frecuente que presentan los pacientes cirróticos. La formación de ascitis y edema ocurre de forma secundaria a alteraciones en la permeabilidad endotelial que están mediadas principalmente por el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF-A) y la Angiopoyetina-2 (ANG-2). Sin embargo, se desconoce si la disfunción endotelial causante de la hiperpermeabilidad vascular en la cirrosis ocurre de forma generalizada y cual es el papel que juegan VEGF-A y ANG-2 en este fenómeno.

Objetivos: 1) Cuantificar la permeabilidad vascular en hígado, mesenterio, bazo, intestino delgado y riñón de ratas cirróticas con ascitis. 2) Visualizar la extravasación vascular en aquellos tejidos en que ésta se encuentre incrementada y 3) Analizar la expresión de VEGF-A y ANG-2 en cortes histológicos de estos mismos tejidos.

Métodos: El protocolo se llevó a cabo en ratas control y en ratas cirróticas con ascitis. La permeabilidad vascular se valoró mediante la inyección i.v. de Azul de Evans (30 mg/kg) y la posterior cuantificación del compuesto retenido en los tejidos analizados. La extravasación vascular se estimó mediante la inyección i.v. de carbono coloidal (2 ml/kg) y su posterior visualización en cortes histológicos de los tejidos afectados. El análisis de la expresión tisular de ANG-2 y VEGF-A se determinó mediante inmunohistoquímica utilizando anticuerpos anti-ANG-2 específicos de rata y anticuerpos anti-VEGF-A respectivamente.

Resultados: El escape transvascular de Azul de Evans fue significativamente superior en el hígado y el mesenterio de las ratas cirróticas con ascitis ($165,70 \pm 25,56$ ng/mg tejido, $p < 0,001$ y $17,82 \pm 3,02$ ng/mg tejido, $p < 0,01$) que en las ratas control ($24,88 \pm 4,91$ ng/mg tejido y $8,36 \pm 0,83$ ng/mg tejido, respectivamente), no observándose diferencias significativas entre los dos grupos de animales en el resto de territorios estudiados. La extravasación vascular hepática en las ratas cirróticas se localizó en las zonas adyacentes a los tractos fibrosos, donde la desestructuración de la arquitectura tisular fue más marcada. No se observaron diferencias significativas en la expresión de VEGF-A entre animales cirróticos y control. Por el contrario, el tejido hepático de los animales cirróticos con ascitis mostró una marcada sobreexpresión de ANG-2 en relación a los animales control, la cual se localizó preferentemente en epitelio biliar.

Conclusión: Estos resultados indican que las alteraciones en la permeabilidad endotelial en la cirrosis se producen fundamentalmente en el lecho vascular hepático y el mesentérico y sugieren que la ANG-2 podría jugar un papel fundamental en la patogénesis de este fenómeno.

LA LIBERACIÓN ESPECÍFICA DE LOSARTAN A LAS CÉLULAS ESTRELLADAS ES MÁS EFECTIVO QUE EL LOSARTAN ORAL EN EL TRATAMIENTO DE LA FIBROSIS HEPÁTICA AVANZADA: UNA NUEVA ESTRATEGIA PARA EL TRATAMIENTO DE LA FIBROSIS HEPÁTICA

T. Gonzalo^a, R. Bataller^b, P. Sancho-Bru^b, C. Fondevila^b, J. Swart^a, D.F. Meijer^a, L. Beljaars^a, Lacombe^c, P.V. Hoeven^c, V. Arroyo^b, K. Poelstra^a, R. Kok^a y P. Ginès^b

^aDepartment of Pharmacokinetics and Drug Delivery, University of Groningen, The Netherlands, ^bServicio de Hepatología, Hospital Clínic, IDIBAPS, Barcelona, ^cKreatech Biotechnology B.V., Amsterdam, The Netherlands.

Estudios recientes indican que el sistema renina-angiotensina (SRA) juega un papel importante en la patogenia de la fibrosis hepática. La angiotensina II ejerce un efecto fibrogénico y pro-inflamatorio en las células estrelladas hepáticas, que son las principales efectoras de la fibrosis hepática. Los antagonistas del receptor tipo I de la angiotensina II (ARA-II), como el losartan, están siendo evaluados como terapia antifibrogénica en pacientes con hepatopatías crónicas. El presente estudio pretende utilizar una nueva tecnología que permite liberar selectivamente fármacos a las células estrelladas activadas mediante la utilización del transportador M6PHSA, que está constituido por la albúmina humana modificada con un azúcar que se une al receptor M6P/IGFII. Mediante esta tecnología, 6 moléculas de losartan fueron acopladas al transportador M6PHSA. Se pretende investigar si la administración del complejo losartan-M6PHSA es más efectiva que el losartan administrado vía oral en el tratamiento de la fibrosis hepática experimental. La fibrosis hepática se indujo a ratas Wistar macho mediante ligadura del conducto biliar durante 15 días. Los dos últimos días las ratas recibieron una dosis diaria de: suero salino, losartan-M6PHSA o M6PHSA intravenosos, o bien losartan vía oral mediante una cánula intragástrica. El grado de inflamación y de fibrosis hepática se estimó mediante un análisis morfométrico y estudio de expresión génica hepática. La selectividad del M6PHSA para liberar losartan a las células estrelladas fue comprobada por doble marcaje mediante inmunohistoquímica. Las ratas con ligadura biliar tratadas con suero salino o losartan oral, pero no las que fueron tratadas con losartan-M6PHSA, presentaron una fibrosis marcada con numerosos puentes entre los espacios porta. El acúmulo de colágeno, medido mediante cuantificación del área teñida con Sirius Red, fue marcadamente menor en las ratas tratadas con losartan-M6PHSA que en las ratas tratadas con suero salino, losartan oral o M6PHSA sólo ($3,1 \pm 0,8\%$, $10,6 \pm 3,2\%$, $8,3 \pm 1,1\%$ y $7,3 \pm 2,5\%$ de área positiva, respectivamente; $p < 0,05$). La cuantificación de células miofibroblásticas (SMA positivas) mostró resultados similares. La infiltración por células inflamatorias, medida mediante la cuantificación de células CD43 positivas, disminuyó tanto en las ratas tratadas con losartan oral así como con losartan-M6PHSA. Finalmente, el tratamiento con losartan-M6PHSA, pero no el losartan oral, redujo la expresión hepática de procollageno $\alpha 1$ y TGF- $\beta 1$ en un 60 y 30%, según la técnica de PCR cuantitativa. En conclusión, el tratamiento por corto plazo con un compuesto que libera losartan a las células estrelladas es más potente que el losartan oral en el tratamiento de la fibrosis hepática avanzada. Estos resultados abren una nueva perspectiva terapéutica en el tratamiento de la fibrosis hepática.

Sesión general 3

Moderadores: Dra. Miriam Romero (Madrid). Dr. Miguel Angel Simón (Zaragoza)

TERAPIA GÉNICA DE LA HEPATITIS B CRÓNICA MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE ADENOVIRUS DE ALTA CAPACIDAD EXPRESANDO INTERLEUKINA 12 DE FORMA HEPATO-ESPECÍFICA Y REGULABLE EN MODELOS DE RATÓN Y MARMOTA

J. Crettaz^a, L. Ochoa^a, A. Pañeda^a, C. Olagüe^a, A. Vales^a, S. Kochanek^b, J. Prieto^a y G. González-Aseguinolaza^a

^aTerapia Génica y Hepatología, Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA), Universidad de Navarra, Pamplona, España.

^bDivisión de Terapia Génica, Universidad de Ulm, Ulm, Alemania.

Actualmente 350 millones de personas en el mundo están crónicamente infectadas por el virus de la hepatitis B (VHB) y alrededor de 87 millones de ellos desarrollarán carcinoma hepatocelular o cirrosis. En este estudio hemos desarrollado un adenovirus de alta capacidad (High capacity, HC), caracterizado por su baja toxicidad y larga expresión, que codifica la interleukina 12 murina (mIL12) bajo un promotor específico de hígado y regulable mediante la administración de mifepristona (HC-RU-mIL12). Hemos comprobado su capacidad antiviral utilizando dos modelos animales de hepatitis B crónica, ratones transgénicos para el VHB y marmotas infectadas crónicamente por el virus de la hepatitis de las marmotas (WHV). Los ratones recibieron 2×10^8 unidades infectivas (ui) de HC-RU-mIL12. Tras dos semanas, recibieron cinco dosis diarias de 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de inductor (mifepristona). Grupos control recibieron el virus sin inductor e inductor sin virus. En aquellos animales tratados los niveles de virus en sangre desaparecieron por completo tras la inducción. Los antígenos virales (HBsAg y HBeAg) disminuyeron significativamente mientras la viremia de los grupos control permaneció estable. Tres marmotas fueron incluidas en el segundo estudio. Dos de ellas (173 y 762) recibieron 9×10^9 ui de HC-RU-mIL12. La tercera marmota (752) no recibió virus pero sí inductor y se utilizó como control de viremia. Las tres marmotas recibieron una inducción diaria durante once días de 500 μg de mifepristona por kg de peso. La marmota 762 la cual presentaba una viremia basal de $7,4 \times 10^{10}$ (copias/ml), presentó niveles bajos de mIL12 y la viremia permaneció constante durante todo el tratamiento. Sin embargo, la marmota cuya viremia basal era de $3,93 \times 10^9$ copias/ml (173), presentó altos niveles de mIL12 en sangre periférica y experimentó un espectacular descenso de su viremia de más de 6 logaritmos. Tras la finalización del tratamiento la viremia permaneció constante durante más de un año por debajo de $3,8 \times 10^3$ copias/ml, nuestro límite de detección. En ambas marmotas el tratamiento con el HC-RU-mIL12 indujo una significativa activación de la respuesta inmune celular frente al antígeno del core (WHcAg). No se detectó modificación en la viremia ni respuesta inmune en la marmota control. No se detectó toxicidad alguna debida al virus o a la IL12. Estos ensayos demuestran la eficacia de nuestro tratamiento mediante adenovirus de alta capacidad con mIL12. Validamos el HC-RU-mIL12 como vector seguro e inocuo, al producir baja toxicidad y restringir su expresión en hígado de manera regulable exógenamente. Además demuestra la validez de la eficacia antiviral de la IL12 en ratones transgénicos y en el difícil modelo de la marmota. Produciendo la citoquina a nivel local, nos permite evitar sus severos efectos secundarios.

EL INGRESO HOSPITALARIO ES EL ÚNICO FACTOR DE RIESGO EPIDEMIOLÓGICO EN LA MAYORÍA DE CASOS DE HEPATITIS AGUDA C

E. Martínez-Bauer^a, X. Forns^a, M. Armelles^b, R. Planas^c, R. Solà^d, M. Vergara^e, S. Fàbregas^f, R. Vega^f, J. Salmeron^g, J.M. Sánchez-Tapias^a y M. Bruguera^a

^aHospital Clínic, Barcelona ^bDepartament de Salut, Generalitat de Catalunya, ^cHospital Germans Trias i Pujol, Badalona, ^dHospital del Mar, Barcelona, ^eCorporació Parc Taulí, Sabadell, ^fHospital de Figueres, ^gHospital Universitario San Cecilio, Granada.

Hasta hace poco se ha asumido que la adicción a drogas por vía parenteral es el principal factor de riesgo implicado en la adquisición de hepatitis C. En los últimos años, la aparición de brotes y casos aislados de hepatitis C en relación a actos sanitarios ha hecho tomar conciencia de la relevancia de la hepatitis C de origen nosocomial. Por dicho motivo realizamos un análisis epidemiológico retrospectivo de los casos de hepatitis aguda C registrados en diversos hospitales de Cataluña y Andalucía desde 1998 hasta la actualidad. Durante este periodo se diagnosticaron 103 casos de hepatitis aguda C; 55 (53%) eran varones y la edad mediana de los pacientes fue de 46 años (21-87). En el momento del diagnóstico la mediana de los valores de GOT y GPT fue de 471 UI/L y 942 UI/L, respectivamente. Los factores de riesgo registrados en los 6 meses previos al diagnóstico fueron: ingreso hospitalario 67 (65%), adicción a drogas por vía parenteral 10 (10%), relaciones sexuales de riesgo 8 (8%), pinchazo accidental 6 (6%), manipulación odontológica 4 (4%), hemodiálisis 1 (1%), acupuntura 1 (1%), inhalación de cocaína 1 (1%) y sin factor aparente 5 (5%). Entre los 67 pacientes con antecedente de ingreso hospitalario, 30 fueron sometidos a cirugía, 16 a una prueba diagnóstica i 9 formaban parte de un brote relacionado con el uso de un vial multidosis. En 45 pacientes no se realizó tratamiento antiviral (en 21 por resolución espontánea y en el resto por contraindicación al tratamiento), mientras que 58 recibieron tratamiento. De éstos, 49 (84%) alcanzaron una respuesta virológica sostenida. En conclusión, en la gran mayoría de pacientes con hepatitis aguda C se constata como a único factor de riesgo para la adquisición de la infección un ingreso hospitalario (apuntando a su origen nosocomial). Ello sugiere que se deberían extremar las medidas de prevención universal. Afortunadamente, una gran proporción de casos se resuelven de forma espontánea o mediante tratamiento antiviral.

β -BLOQUEANTES ASOCIADOS A PRAZOSÍN O A LIGADURA ENDOSCÓPICA COMO TRATAMIENTO DE RESCATE EN NO-RESPONDEDORES HEMODINÁMICOS A β -BLOQUEANTES ± NITRATOS

C. Aracil, A. Colomo, M. Casas, D. Busquets, E. Pérez-Rabasco, J.M. López-Balaguer, A. Gallego, X. Torras, C. Villanueva y J. Balanzo

Unidad de Sangrantes. Servicio de Patología Digestiva. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

La monitorización hemodinámica proporciona una adecuada estratificación del riesgo de hemorragia. Sin embargo, está por clarificar el manejo de los no-respondedores al tratamiento de primera línea.

La combinación de β -bloqueantes + prazosín consigue una tasa de respuesta > 80% de los casos, aunque induce una excesiva hipotensión y retención de sodio. La ligadura endoscópica (LEV) puede ser una alternativa válida.

Objetivos: Evaluar la asociación de nadolol con prazosín o con LEV, como tratamiento de rescate en no-respondedores a nadolol \pm mononitrato de isosorbide (MNI) para la prevención de recidiva por varices.

Métodos: En 59 pacientes cirróticos con un episodio de hemorragia por varices esofágicas se efectuó un estudio hemodinámico basal. Posteriormente, fueron aleatorizados a recibir tratamiento según la respuesta hemodinámica (grupo HDC, N = 30) o tratamiento con nadolol + LEV (grupo N+LEV, N = 29). En el grupo HDC, los pacientes recibieron nadolol + MNI. Al mes, se realizó estudio hemodinámico de control en ambos grupos. Se definió respuesta al descenso del GPSH > 20% respecto al basal o < 12 mmHg. En el grupo HDC, los no-respondedores recibieron nadolol + prazosín (dosis máxima de 4 mg/12 h) y al cabo de un mes se realizó un tercer estudio para evaluar la respuesta.

Resultados: En 10 pacientes no se pudo practicar el estudio hemodinámico de control (3 del grupo HDC). 7/22 pacientes (32%) tratados con N+LEV fueron respondedores vs. 10/27 (37%) del grupo HDC (P = 0,7). 13 no-respondedores del grupo HDC fueron rescatados con nadolol + prazosín. En estos pacientes, el GPSH disminuyó de $20,1 \pm 3$ (basal) a $18,6 \pm 2$ mmHg con nadolol + MNI y a $15,2 \pm 2$ con nadolol + prazosín (P < 0,01). Finalmente, 20/27 pacientes (74%) fueron respondedores en el grupo HDC (P < 0,01 vs. N + LEV). En el grupo N + LEV, 0/7 respondedores vs. 3/15 (20%) no-respondedores presentaron recidiva (P NS). En el grupo HDC estas tasas fueron 1/20 (5%) vs. 4/7 (57%) (P < 0,01). La tensión arterial media disminuyó de forma significativa en los pacientes con nadolol + prazosín, aunque su valor final fue similar al del grupo N + LEV. La función renal, así como el riesgo de desarrollar ascitis, no variaron significativamente entre ambos grupos.

Conclusiones: El tratamiento mediante monitorización hemodinámica, rescatando con nadolol + prazosín a los no-respondedores a nadolol + MNI, aumenta significativamente la tasa de respuesta observada con nadolol + LEV, sin incrementar las complicaciones. Nuestros resultados también sugieren que la ligadura puede ser eficaz como tratamiento de rescate.

LOS CANALES DE POTASIO CALCIO-DEPENDIENTES MODULAN EL TONO VASCULAR DE HÍGADOS CIRRÓTICOS POR UN MECANISMO NO-DEPENDIENTE

A. Rodríguez-Vilarrupla, V. Matei, J. González-Abraldes, R. Bataller, J. Bosch y J.C. García-Pagán

Laboratorio de Hemodinámica Hepática. Hospital Clínic. IDIBAPS. Barcelona.

Antecedentes: Los canales de potasio calcio-dependientes (BKCa) modulan el tono vascular de distintos sistemas vasculares. Diferentes vasodilatadores, incluyendo el óxido nítrico (NO), ejercen parte de su efecto vaso relajante mediante la apertura de estos canales. Los BKCa regulan la contractilidad de las células hepáticas estrelladas (CHE) activadas, pero todavía no se ha investigado qué papel pueden tener en las alteraciones vasculares en la cirrosis.

Objetivos: Evaluar el papel de los BKCa modulando el tono vascular hepático en hígados de ratas controles y cirróticas.

Métodos: En hígados aislados de ratas controles y cirróticas, se realizaron curvas dosis-respuesta a metoxamina (Mtx) de la presión de perfusión portal (PP) después de preincubar con vehículo (n = 15), con el bloqueante de BKCa, iberiotoxina (Ibtx: 10^{-7} M; n = 13), con el abridor de BKCa, NS1619 ($3 \cdot 10^{-3}$ M; n = 8) y con el bloqueante de óxido nítrico, NNA (10^{-3} M), solo (n = 14) o, asociado a Ibtx (n = 14). El RNAm del BKCa (homogenizado tisular: real time PCR) y la expresión proteica de BKCa en CHE aisladas (Western blot) fueron evaluados en hígados controles y cirróticos.

Resultados: En hígados cirróticos, el pretratamiento con Ibtx aumentó significativamente la PP basal y también magnificó la hipere-

respuesta a Mtx, mientras que el pretratamiento con NS1619 atenuó la hiperrespuesta a Mtx, indicando que los BKCa intervienen en el aumento del tono vascular hepático en la cirrosis. Por contra, en hígados controles ninguno de los dos tratamientos modificó significativamente la PP basal ni la respuesta a Mtx. El pretratamiento con NNA acentuó la respuesta de la PP a Mtx de los hígados cirróticos. Este aumento fue similar al observado después del tratamiento conjunto con NNA+Ibtx, indicando que la apertura de BKCa en el hígado cirrótico es dependiente de NO. El RNAm y la expresión proteica de BKCa en CHE fueron significativamente superiores en los hígados cirróticos (10 y 2,1 veces respectivamente, p < 0,05) vs. los hígados controles.

Conclusiones: En la cirrosis, los BKCa se encuentran sobreexpresados y están implicados en la modulación del tono vascular hepático, probablemente alterando la contracción de las células hepáticas estrelladas. La apertura de estos canales es mediada mayoritariamente por óxido nítrico.

VALOR PRONÓSTICO DEL GPVH EN LA HEMORRAGIA AGUDA POR VARICES. COMPARACIÓN CON INDICADORES CLÍNICOS

J.G. Abraldes^a, C. Aracil^b, M.V. Catalina^c, A. Monescillo^d, R. Bañares^c, C. Villanueva^b, J.C. García-Pagán^a y J. Bosch^a

^aServicio de Hepatología, Hospital Clínic, Barcelona.

^bServicio de Gastroenterología, Hospital de Sant Pau, Barcelona.

^cServicio de Digestivo, Hospital Gregorio Marañón, Madrid.

^dServicio de Digestivo, Hospital Insular, Gran Canaria.

Introducción: En pacientes con hemorragia aguda por varices un gradiente de presión venosa hepática (GPVH) > 20 mmHg medido en las primeras 48 horas se asocia con un mal pronóstico (Moitinho 1999). Se ha sugerido que el GPVH podría ser utilizado para seleccionar a los pacientes con peor pronóstico para tratamientos más agresivos (Monescillo 2004). Sin embargo, su valor no ha sido evaluado en pacientes tratados con el estándar actual (fármacos vasoactivos desde el ingreso + tratamiento endoscópico). Los objetivos de este estudio fueron: 1) evaluar de forma multicéntrica el rendimiento de la medición precoz del GPVH como factor pronóstico en una cohorte de pacientes con hemorragia por varices tratados con tratamiento combinado con fármacos vasoactivos + tratamiento endoscópico, y 2) determinar si la medición del GPVH mejora la capacidad predictiva de variables clínicas fácilmente obtenibles.

Métodos: Se incluyeron en el estudio 117 pacientes (Child A: 27, B: 65, C: 25) con hemorragia por varices esofágicas de 4 centros españoles en los que el GPVH se midió en las primeras 48 horas tras la hemorragia. El evento analizado fue "fracaso a los 5 días", definido como fallo en el control de la hemorragia o recidiva precoz o muerte. Las variables pronósticas se registraron al ingreso.

Resultados: 18 pacientes (15%) desarrollaron fracaso a los 5 días. El mejor punto de corte del GPVH para predecir el pronóstico fue, confirmando los anteriores estudios, 20 mmHg (sensibilidad 83%, especificidad 48%). El análisis multivariado identificó 3 variables asociadas de forma independiente con el riesgo de fracaso: GPVH > 20 mmHg [OR: 5,2 (1,3-21,2)], presión sistólica al ingreso < 100 mmHg [OR: 3,6 (1,2-10,9)] y causa no alcohólica de la cirrosis [OR: 4,0 (1,3-12,8)]. La puntuación MELD no se asoció de forma independiente con el pronóstico. La capacidad discriminativa de este modelo fue buena (estadístico-C: 0,79). La presencia de HVP > 20 mmHg estaba fuertemente asociada al Child-Pugh (A: 33%, B: 57% y C: 84%; p = 0,0002), de forma que incluyendo el GVPH, el Child-Pugh no tenía valor predictivo independiente. Limitando el análisis a variables clínicas se obtuvo un modelo que incluía al Child-Pugh, presión sistólica 100 y etiología, con una capacidad discriminativa similar al anterior (estadístico-C: 0,80). De este modelo se derivó un score en el que se asignando un punto a Child B, 2 a Child C y 1 punto a cada una de las otras variables, identifica dos grupos con diferente pronóstico: bajo riesgo (0-2 puntos) y alto riesgo (3-4 puntos), con 8% y 39% de fracaso respectivamente (p = 0,00006).

Conclusión: En pacientes con hemorragia aguda por varices tratados con fármacos vasoactivos + endoscopia la presencia de un

GPVH > 20 mmHg en las primeras 48 horas se asocia de forma independiente con el riesgo de fracaso a los 5 días. Sin embargo, la medición del GPVH no mejora la capacidad discriminativa de variables clínicas.

NUEVO ÍNDICE SIMPLIFICADO PARA EL DIAGNÓSTICO DE HEPATITIS AUTOINMUNE

A. Parés, E.M. Hennes, M. Zeniya, A.J. Czaja, G. Dalekos, E. Krawitt, P.L. Bittencourt, K.M. Boberg, H. Hofer, F.B. Bianchi, A. Victor, H.P. Dienes, B. Eisenmann de Torres, P.R. Galle, A.W. Lohse y Grupo Internacional de Hepatitis Autoinmune.

Introducción y objetivos: El diagnóstico actual de hepatitis autoinmune (HAI) se basa en la utilización de un sistema complejo que utiliza un número elevado de variables clínicas y analíticas. Esta complejidad comporta que el sistema actual tenga poca aplicabilidad práctica. Debido a esta complejidad el objetivo del presente estudio ha sido definir y validar unos criterios simples para el diagnóstico de HAI.

Pacientes y métodos: Como criterios candidatos para el nuevo sistema se han evaluado la positividad y títulos de anticuerpos antinucleares (ANA, SMA, LKM, y SLA/LP), las concentraciones séricas de gamma-globulinas y de IgG, la ausencia de hepatitis viral y la histología hepática. Se ha obtenido información de 238 pacientes con HAI diagnosticados según criterios establecidos y de 192 controles (45 con hepatitis crónica de origen viral, 22 con colangitis esclerosante primaria (CEP), 125 con cirrosis biliar primaria (CBP)). Los pacientes y controles procedían de distintos países distribuidos en cuatro partes del mundo. El modelo predictivo de HAI se estableció tras el análisis univariante y se construyeron distintos índices a partir de este análisis. El valor diagnóstico de cada índice se estableció mediante el cálculo del área bajo la curva ROC (receiver operating characteristic). El mejor índice obtenido en el conjunto de pacientes del estudio se validó con los datos procedentes de 61 pacientes con HAI y 156 controles (34 CBP, 44 esteatohepatitis no alcohólica, 78 hepatitis crónica de origen viral).

Resultados: El índice óptimo fueron los títulos de ANA y SMA, los niveles de IgG, la histología hepática y la ausencia de hepatitis viral, con lo cual se establecieron puntuaciones para cada variable. Se fijaron 2 puntos para unos niveles de ANA o SMA > 1/80, niveles de IgG o gammaglobulinas superiores a 1.156 veces la normalidad, histología hepática típica, y ausencia de hepatitis viral, y 1 punto para títulos de ANA o SMA > 1/40, aumento de gammaglobulinas o de IgG, e histología hepática compatible. La presencia de marcadores de hepatitis viral se puntuó en 0. El área bajo la curva fue de 0,946 en el grupo de estudio y de 0,991 en la validación. Las curvas ROC permitieron establecer dos niveles de corte: ≥ 6 puntos, y ≥ 5 puntos, con unas sensibilidades diagnósticas de 86% y 96%, y unas especificidades diagnósticas de 86% y 73%, respectivamente. La sensibilidad diagnóstica de este índice en el proceso de validación fue de 97% (95% IC: 89-100%) y una especificidad diagnóstica de 97% (93-99%) para un nivel de corte igual o superior a 5 puntos, y una sensibilidad de 85% (74-93%) y especificidad de 98% (94-100%) para un índice igual o superior a 6 puntos.

Conclusión: El nuevo índice simplificado permite establecer el diagnóstico fiable de HAI. Se proponen un nivel de corte de 5 puntos para el diagnóstico probable y de 6 puntos para el diagnóstico definitivo.

AUSENCIA DE RESPUESTA Y RESISTENCIA AL TRATAMIENTO CON ADEFOVIR-DIPIVOXIL EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA B Y RESISTENCIA A LAMIVUDINA

A. Valdés^a, M. Buti^a, F. Rodríguez-Frías^b, R. Jardí^b, M. Schaper^b, G. Romero y R. Esteban^a

^aHospital General Universitari Vall d'Hebron Servei de Hepatologia.

^bLaboratorio de Bioquímica. Barcelona.

El adefovir dipivoxil (ADV) se ha demostrado eficaz y seguro en el tratamiento de los pacientes con hepatitis B crónica tanto naïves como resistentes a lamivudina. Sin embargo, algunos pacientes desarrollan resistencias al adefovir, oscilando desde el 0% al año hasta el 25% a los 5 años. El porcentaje de resistencias a ADV en pacientes previamente tratados con lamivudina no está bien establecido.

Objetivo: Determinar los porcentajes de ausencia de respuesta y resistencia al tratamiento con ADV en pacientes con hepatitis crónica B resistente a lamivudina.

Pacientes y métodos: Se ha estudiado 39 pacientes afectados de Hepatitis crónica B con resistencia a lamivudina tratados con ADV durante un periodo medio de 3 años. La no respuesta y resistencia primaria se ha definido por la ausencia en el descenso en los niveles de DNA-VHB de más de 1 log comparado con el valor basal y la resistencia "asociada al tratamiento" por el incremento de más de 1 log en los valores DNA-VHB después de una respuesta inicial al fármaco. El DNA-VHB se determinó por Real Time PCR (límite inferior de detección 1000 copias/ml). En los casos positivos se analizó la presencia de resistencia al adefovir por PCR y secuenciación directa.

Resultados: De los 39 pacientes tratados, 31 eran varones, con una edad media 42 años. El HBeAg se detectó en 26 casos y la distribución de genotipos del VHB fue la siguiente, A en 17, D en 12, A/D en 1, C en 1, F en 1 y no se realizó en 7 casos. Todos recibieron 10 mg de ADV en monoterapia. Ocho pacientes (21%) demostraron una ausencia de respuesta primaria durante los primeros 12 semanas que persistió a pesar de la prolongación del tratamiento y 3 (8%) una resistencia "asociada al tratamiento", en estos 11 casos, la secuenciación directa demostró la presencia de mutaciones asociadas a resistencia ADV en dos casos, N236T en un caso con resistencia secundaria y A181V en el otro con resistencia primaria. Los dos eran genotipo D y HBeAg positivo. La resistencia al ADV desapareció al cambiar el ADV por lamivudina en un caso y persistió durante más de 9 meses en el paciente que continuó con ADV. En ambos casos existía un patrón fenotípico de resistencia (ALT elevadas y DNA-VHB positivo).

Conclusiones: Un 29% de los casos tratados con ADV presentan ausencia de respuesta o resistencia al mismo. La presencia de mutaciones asociadas a resistencia al ADV se detecta en 5% de los casos a los 3 años. La determinación seriada del DNA-VHB durante el tratamiento permite la identificación de los fallos terapéuticos.

Sesión general 4

Moderadores: Dra. Sonia Pascual (Alicante). Dra. Lourdes Grande (Sevilla)

DIAGNÓSTICO DE TUMORES HEPÁTICOS CON MICROPET Y TRATAMIENTO CON INTERLEUQUINA 12 DE CARCINOMA HEPATOCELULAR DESARROLLADO EN RATONES TRANSGÉNICOS L-PK/CMYC

M. Zabala¹, I. Peñuelas², M. Ecay², C. Perret³, J. Prieto^{1,4} y M. Gabriela Kramer¹

¹División de Hepatología y Terapia Génica, Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA), Pamplona, Navarra. ²Departamentos de Medicina Nuclear, ³Institut Cochin, Institut de la Santé et de la Recherche Medicale U5KL, Paris, Francia, ⁴Medicina Interna, Clínica Universitaria de Navarra.

La interleuquina 12 (IL-12) tiene un potente efecto terapéutico frente a tumores hepáticos, pero es tóxica en dosis elevadas. Con el fin de minimizar los efectos secundarios de la terapia génica basada en la síntesis de IL-12 en el hígado hemos generado un plásmido que permite controlar los niveles de expresión de IL-12 con doxiciclina (Dox). El efecto de la citoquina se evaluó en un modelo murino de carcinoma hepatocelular (HCC) desarrollado en ratones transgénicos que sobre-expresan el oncogen c-myc bajo el promotor de la piruvato quinasa hepática (L-PK/c-myc). En estos ratones los tumores se establecen al cabo de 6-8 meses y presentan características genómicas e histo-patológicas muy similares a los HCC de pacientes (grado 1-2). El plásmido se transfirió al hígado utilizando la técnica de inyección hidrodinámica. Tras varias rondas de inducción de IL-12 con Dox (2 mg/ml administrada en el agua de bebida) y períodos de descanso, se observó al cabo de seis meses una clara inhibición del crecimiento tumoral y un incremento de la supervivencia en 40% de los animales tratados (respondedores). La tasa de crecimiento en el 60% restante (no respondedores) al igual que los controles fue similar (2 mm/mes). No se observó correlación alguna entre la respuesta al tratamiento y los niveles de IL-12 e IFN- γ en suero o el grado de infiltrado linfocitario en muestras histológicas. Sin embargo, el nivel de expresión de citoquinas inmunosupresoras como IL-10 fue mayor en los HCC extraídos de animales no respondedores. En todos los casos, el tratamiento con IL-12 redujo levemente la expresión de AFP y VEGF en el tejido tumoral. Para visualizar los tumores en ratones L-PK/c-myc y optimizar la detección de HCC por PET ensayamos distintos trazadores (¹⁸FDG, ¹⁸FDOPA y ¹¹C-Colina) usando un Philips Mosaic microPET scanner. Con ¹⁸FDG o ¹¹C-Colina se detectaron aproximadamente 60% de los nódulos tumorales, mientras que ¹⁸FDOPA permitió la detección únicamente del 25% de las lesiones. El análisis combinado de las medidas con ¹⁸FDG y ¹¹C-Colina permitió detectar el 78% de las lesiones tumorales. Los datos de cuantificación de radiactividad ex vivo de los órganos con PET y en contador gamma confirmaron los datos de imágenes obtenidas in vivo. Concluimos que la terapia génica basada en la expresión intrahepática de IL-12 es capaz de inhibir el crecimiento tumoral y mejorar el pronóstico de la enfermedad en un modelo murino de HCC similar a tumores humanos bien diferenciados. Sin embargo, la respuesta al tratamiento podría verse limitada por la síntesis de citoquinas inmunosupresoras en los tumores. El análisis combinado de imágenes obtenidas con ¹⁸FDG y ¹¹C-Colina podría utilizarse como herramienta para incrementar el diagnóstico de HCC en pacientes.

FARMACOCINÉTICA DE DOSIS DE INDUCCIÓN DE PEGINTERFERON ALFA-2A (40KD) Y SU FARMACODINAMIA, EN COMBINACIÓN CON RIBAVIRINA, EN PACIENTES INFECTADOS POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C (HCC) GENOTIPO 1 QUE NO RESPONDIERON A INTERFERÓN ALFA (IFN) Y RIBAVIRINA

M. Diago^a, M. Romero-Gómez^b, J. Crespo^c, A. Oliveira^d, R. Pérez^e, R. Bárcena^f, J.M. Sánchez-Tapias^g y M. Muñoz-Sánchez^h

^aHospital General. Valencia, ^bHospital Universitario de Valme. Sevilla, ^cH. Marqués Valdecilla. Santander, ^dHospital La Paz. Madrid, ^eHospital Central de Asturias. Oviedo, ^fHospital Ramón y Cajal. Madrid, ^gH. Clinic i Provincial. Barcelona, ^hRoche, Madrid.

Introducción: Los pacientes con hepatitis C crónica (HCC) genotipo 1 que no responden al tratamiento con IFN y ribavirina pertenecen al grupo de pacientes difíciles de tratar, estos no tienen un régimen de tratamiento efectivo establecido.

Objetivo: Evaluamos las tasas de respuesta viral sostenida (RVS), 24 semanas postratamiento, de dosis de inducción de peginterferon alfa-2a (40KD) 180, 270 o 360 μ g/sem en combinación con ribavirina de 1.000/1.200 mg/día, en pacientes que no respondieron al tratamiento con IFN y ribavirina.

Métodos: Pacientes de edad \geq 18 años, con HCC y genotipo 1, sin cirrosis, RNA cuantificable y que no habían respondido a \geq 22 semanas de tratamiento con IFN/ribavirina. Los pacientes fueron randomizados a tres brazos de tratamiento de 12 semanas de peginterferon alfa-2a (40KD) 180, 270 o 360 μ g/sem. y ribavirina; después recibieron peginterferon alfa-2a (40KD) 180 μ g/sem y ribavirina durante 36 semanas. Las muestras seriadas de suero fueron analizadas centralizadamente para determinación de la concentración de peginterferon alfa-2a (40KD) (desde el día -1 al día 420) y de la carga viral de RNA VHC (desde el día -1 al día 84).

Resultados: La tasa de RVS fue de 5/28 (18%) en los pacientes tratados con 180 μ g/sem, 6/20 (30%) en el grupo que recibió 270 μ g/sem y 9/24 (38%) en los que recibieron 360 μ g/sem. La tasa de recaídas fue menor en los pacientes que recibieron 360 μ g/sem [6/11 (54%) vs. 50% (6/12) vs. 1/10 (10%); $\chi^2 = 7,47$; $p = 0,02$]. Se observó una caída de la carga viral en las primeras 36 horas de tratamiento de $0,62 \pm 0,75 \log_{10}$ en los no respondedores, frente a $0,83 \pm 0,41 \log_{10}$ en los que obtuvieron RVS ($p = 0,08$). La caída viral a partir de ese momento hasta el día 29 de tratamiento fue de $0,88 \pm 0,87 \log_{10}$ en no-respondedores y $1,45 \pm 0,55 \log_{10}$ en los que obtuvieron RVS ($p = 0,006$). El área bajo la curva de la concentración sérica de peginterferon alfa-2a (40KD) durante el tratamiento se relacionó con la dosis administrada: $7,13 \mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1} \mu\text{g} \cdot \text{d} / \text{ml}$, $9,59^1 / \text{ml}$ y $10,89 \mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1} / \text{ml}$ en pacientes tratados con 180, 270 y 360 μ g/sem (ANOVA; $p = 0,0041$). La concentración sérica máxima de peginterferon alfa-2a (40KD) fue superior en pacientes tratados con 360 μ g/sem: $61.774 \pm 21.560 \text{ pg/ml}$ vs. $51101 \pm 24919 \text{ pg/ml}$ vs. $32248 \pm 14685 \text{ pg/ml}$; ($p = 0,001$) y también en aquellos pacientes con RVS (54348 ± 16964 vs. $44870 \pm 25600 \text{ pg/ml}$ (U-Mann-Whitney; $p = 0,049$). No se reportaron acontecimientos adversos inesperados. 10 pacientes abandonaron prematuramente, 5 por falta de respuesta en la semana 12, según se establecía en el protocolo.

Conclusiones: Peginterferon alfa-2a (40KD), en combinación con ribavirina, puede eliminar los niveles séricos de RNA del virus C por debajo de 50 IU/mL en pacientes con HCC genotipo 1 que no respondieron al tratamiento previo con interferón convencional en combinación con ribavirina. La dosis de inducción afecta al nivel de respuesta.

REFLUJO DE ÁCIDOS BILIARES DE LOS HEPATOCITOS A LA SANGRE EN SITUACIONES DE COLESTASIS A TRAVÉS DE OATP8/1B3 MEDIANTE COTRANSPORTE CON GLUTATION

O. Briz¹, M.R. Romero¹, P. Martínez-Becerra¹, R.I.R. Macías¹, M.J. Pérez², M.A. Serrano¹, A.G. Blázquez¹, F. Jiménez³, F. González San Martín³ y J.J.G. Marín¹

¹Grupo de Hepatología Experimental y Vectorización de Fármacos. Universidad de Salamanca. ²Unidad de Investigación y ³Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Universitario. Salamanca.

Antecedentes: La acumulación hepática de ácidos biliares, bilirrubina y otros aniones orgánicos colefilicos (AOC), por déficit en su eliminación biliar, produce un reflujo que los dirige hacia otras vías de excreción y que previene su toxicidad sobre los hepatocitos. A medio plazo, este proceso requiere la expresión de proteínas de la familia MRP, cuyos niveles en hígados sanos son muy bajos.

Objetivo: Investigar si proteínas de la familia OATP, que se cree sólo intervienen en los procesos de captación sinusoidal de AOC, también pueden mediar su reflujo hacia la sangre, ayudando así a reducir su acumulación intrahepatocitaria en casos de colestasis.

Métodos: Mediante RT-PCR cuantitativa a tiempo real se determinó la expresión de OATP-A/1A2, OATP-C/1B1 y OATP8/1B3 en biopsias hepáticas recogidas de 30 pacientes con fines diagnósticos relacionados con distintas hepatopatías asociadas o no a colestasis. Para los estudios "in vitro" se utilizó la expresión heteróloga de proteínas en oocitos de rana *Xenopus laevis* por inyección de su ARNm, que se sintetizó a partir de plásmidos recombinantes que contenían el ADNc adecuado en cada caso.

Resultados: La expresión de OATP-A/1A2 en hígado humano sano fue muy baja y no aumentó en pacientes con colestasis, mientras que la de OATP-C/1B1 y OATP8/1B3 fue mucho más elevada (> 100 veces), y no disminuyó en colestasis. Para valorar el papel de estas dos isoformas en el reflujo de AOC se utilizaron oocitos en los que se expresaba una de ellas y la carboxi-esterasa humana I (CE-I). Las células se incubaron con el éster metílico del ácido cólico (AC), que era eficazmente acumulado por difusión. El AC, resultante de la hidrólisis catalizada por la CE-I, fue expulsado más eficazmente de los oocitos que expresaban OATP-C/1B1 o OATP8/1B3, y este proceso fue trans-estimulado por ácido taurocólico, lo que sugiere que estos transportadores son reversibles. La salida de AC desde el interior de oocitos que expresaban OATP8/1B3, pero no OATP-C/1B1, no fue trans-estimulada, sino inhibida, por glutatión reducido (GSH) y oxidado (GSSG). De forma inversa, la captación de diferentes ácidos biliares por oocitos que expresaban OATP8/1B3, pero no OATP-C/1B1, fue cis-activada por GSH y GSSG, lo que se debía a un aumento de la velocidad máxima (V_{max}) sin cambio en la afinidad del transportador (KM). El estudio cinético reveló que se trataba de un sistema de cotransporte de GSH y ácidos biliares con una estequiometría de 2:1.

Conclusión: Aunque el OATP-C/1B1 y el OATP8/1B3 son capaces de transportar AOC, el mecanismo y su papel fisiológico es diferente: mientras que el OATP-C/1B1 es un intercambiador implicado en la salida de GSH y la entrada de AOC en el hepatocito, el OATP8/1B3 es un cotransportador activado por GSH que puede constituir una vía de reflujo de AOC hacia la sangre, para prevenir la toxicidad causada por su acumulación intracelular, en casos de déficit de su transferencia vectorial hacia el canalículo biliar.

FACTORES PRONÓSTICOS DE MORTALIDAD POSTRASPLANTE DEL FALLO HEPÁTICO AGUDO DE CAUSA INDETERMINADA

J.L. Domínguez, E. Iglesias, J.L. Montero, P. Barrera, E. Fraga, G. Costán, P. López-Cillero, J. Muntané, A. Rodríguez Ariza y M. de la Mata

Introducción: El Fallo hepático Agudo (FHA) es un proceso poco frecuente pero con alta mortalidad. Gran parte de los enfermos no presentan ninguna causa conocida (causa indeterminada) y presentan características clínicas diferentes de los de etiología conocida.

Objetivos: Comparar características clínico-analíticas y evolutivas del FHA de causa indeterminada con el de etiología conocida. Determinar factores de riesgo de mortalidad postrasplante del FHA de causa indeterminada.

Pacientes y métodos: En nuestro Programa de Trasplante Hepático han sido trasplantados 56 (10,4%) pacientes adultos por FHA: 17 (30,4%) hombres y 39 (59,6%) mujeres, con edad media de 36,43 ± 12,4, con evolución hiperaguda en 16 (28,6%), aguda en 24 (42,9%) y subaguda en 16 (28,6%) casos. La etiología fue conocida en 26 enfermos y de causa indeterminada en 30 (53,6%). Se procedió a la comparación de 72 variables clínico-analíticas y evolutivas en los dos grupos a estudiar (FHA de causa indeterminada y conocida) así como a un análisis uni- y multivariante (regresión logística) para determinar los factores de riesgo de mortalidad postrasplante.

Resultados: De los 56 enfermos trasplantados por FHA, 24 (42,9%) fallecieron, 21 (87,5%) de ellos en los 3 meses inmediatos al trasplante. Los enfermos con FHA de causa indeterminada, presentaron en comparación con los de etiología conocida, más frecuentemente evolución subaguda, atrofia hepática, disfunción renal pre- y postrasplante, infecciones bacterianas y fúngicas (p < 0,05). Necesitaron mayor tiempo de ingreso en UCI, ventilación mecánica y consumo de hemoderivados (p < 0,05). La mortalidad en los dos grupos no fue diferente. Al realizar el estudio uni- y multivariante para determinar los factores de riesgo de mortalidad postrasplante adquirieron significación estadística como factores predictivos independientes: Actividad de protrombina (p < 0,0068; OR 0,9173, IC 95%: 0,8617-0,9765) y la creatinina postrasplante (p < 0,0347; OR 2,1398, IC 95% 1,0564-4,3341). Se realizó el mismo estudio, incluyendo sólo variables extraídas del periodo pretrasplante y adquirieron significación estadística con carácter independiente el Na al ingreso (p < 0,03; OR 0,78, IC 0,62-0,97) y la GGT pretrasplante (p < 0,03, OR 1,02, IC 1,01-1,12).

Conclusiones: Los enfermos trasplantados por FHA presentan una mortalidad postrasplante inmediata más alta que los trasplantados por cirrosis hepática. El FHA de causa indeterminada se asocia a mayor incidencia de evolución subaguda, disfunción renal e infecciones. La mortalidad postrasplante de estos enfermos se relaciona de forma independiente con la función precoz del injerto (Actividad de Protrombina) y la insuficiencia renal postrasplante (creatinina). Como factores de riesgo de mortalidad de aparición precoz se identificaron la hiponatremia al ingreso y los valores alto de GGT inmediatamente pretrasplante.

MEDICIÓN DE LA FRECUENCIA CRÍTICA DE PARPADEO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA MÍNIMA

M. Ramírez^a, J. Córdoba^a, R. Jover^c, J.A. del Olmo^d, D. Núñez^a, M. Flavia^b, L. Compañy^c, J.M. Rodrigo^d y M. Romero Gómez^a

^aUnidad de Hepatología. UGCED. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. ^bServicio de Medicina Interna – Hepatología. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. ^cServicio de Aparato Digestivo. Hospital General de Alicante. Alicante. ^dServicio de Hepatología. Hospital Clínico Universitario de Valencia.

Introducción: La encefalopatía hepática mínima (EHM) se diagnostica básicamente mediante test psicométricos. Una combinación de cinco tests [Psychometric hepatic encephalopathy score (PHES)] se ha propuesto como batería diagnóstica de la EHM. A pesar de la relevancia clínica (riesgo de desarrollar encefalopatía hepática) y social (accidente de tráfico y disminución de la calidad de vida) más del 60% de los hepatólogos no investigan EHM; en sus pacientes con cirrosis en la práctica clínica habitual. La medición de la frecuencia crítica de parpadeo (FCP) se ha propuesto como un método simple, seguro y reproducible para el diagnóstico de la EHM.

Propósito: Conocer la utilidad de la medición de la FCP en el diagnóstico de la EHM.

Pacientes y métodos: Incluimos 114 cirróticos y 103 controles sanos que realizaron los test psicométricos (PHES) y medimos la FCP. Diagnosticamos EHM en pacientes con PHES < 4 puntos.

Resultados: En el grupo control, la media de la FCP fue similar en hombre ($43,2 \pm 3,7$ Hz) y mujeres ($42,1 \pm 3,5$ Hz; $p = ns$) y no correlacionó con la edad ($r = -0,078$; $p = ns$) ni con los años de escolarización ($r = 0,056$; $p = ns$). La media de la FCP correlacionó con la puntuación PHES ($r = 0,54$; $p < 0,001$) y con cada uno de los test psicométricos por separado (TCN-A ($r = -0,51$; $p = 0,0001$), TLQ ($r = -0,56$; $p = 0,001$), TCN-B ($r = -0,45$; $p = 0,001$), TSN ($r = 0,31$; $p = 0,001$) y TPS ($r = -0,30$; $p = 0,001$). Así también, encontramos correlación con el Child-Pugh ($r = -0,22$; $p = 0,018$) pero no con la puntuación MELD ($r = 0,11$; $p = ns$). En cirróticos, la media de FCP fue más baja en pacientes con EHM ($35,6 \pm 4,1$ Hz) que en cirróticos sin EHM ($40,5 \pm 3,7$ Hz) o en controles sanos ($42,7 \pm 3,6$ Hz); $p = 0,001$. El área bajo la curva de la FCP en el diagnóstico de EHM fue de 0,79 (95% CI: 0,7-0,88). La sensibilidad fue del 72% y especificidad del 77% cuando utilizamos como punto de corte 38 Hz. La FCP estaba alterada en el 77% (27 de 35) de los pacientes con EHM frente al 26% (21/79) en cirróticos sin EHM; $p < 0,001$.

Conclusiones: La medición de la FCP es un método sencillo, fiable y seguro para el diagnóstico de la EHM y no está influido por la edad ni el nivel de educación.

Agradecimiento: Red nacional EH G03/155

CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS DEL DAÑO HEPÁTICO CRÓNICO INDUCIDO POR FÁRMACOS

Y. Borraz^a, M.I. Lucena^a, K. Pachkoria^a, R.J. Andrade^a, B. García-Muñoz^a, M. García-Cortés^a, M.C. Fernández^b, G. Peláez^b, L. Rodrigo^c, J.A. Durán^d, R. Planas^e, A. Soler^e, C. Guarner^f, M. Romero-Gómez^g, F.J. Salmerón^h y R. Hidalgoⁱ

^aServ. Farmacología Clínica y Hepatología. H. Virgen de la Victoria, Málaga. ^bS. Ap. Digestivo. H. Torrecárdenas, Almería. ^cS. Ap. Digestivo. H. Central de Asturias, Oviedo. ^dS. Ap. Digestivo. H. Virgen de la Macarena, Sevilla. ^eS. Ap. Digestivo. H. Germans Trias i Pujol, Barcelona. ^fS. Ap. Digestivo. H. S. Pau, Barcelona. ^gS. Ap. Digestivo. H. Valme, Sevilla. ^hS. Ap. Digestivo. H. Clínico S. Cecilio, Granada; ⁱCentro de Cálculo, Universidad de Málaga. Málaga.

Introducción: La noción general es que tras un episodio agudo de hepatitis tóxica el daño es reversible y la recuperación completa. Ocasionalmente, la hepatopatía tóxica resulta en una lesión crónica e incluso cirrosis, a pesar de la interrupción precoz del tratamiento, pero la información sobre este tipo evolutivo es muy escasa y errática.

Objetivo: Analizar los casos de hepatotoxicidad idiosincrásica recogidos en el Registro Español de Hepatotoxicidad que mostraban una alteración persistente del perfil hepático, la expresión lesional que conduce más fácilmente a la cronicidad, el tipo de fármacos y otros factores que podrían estar involucrados.

Pacientes y métodos: La metodología de recogida de información y la estructura operativa del Registro han sido publicadas recientemente (Andrade, Gastroenterology 2005). Se definió el daño hepático como crónico cuando tras el cese del tratamiento la bioquímica hepática persistía alterada durante más de 3 meses para la lesión de tipo hepatocelular y durante más de 6 meses para el daño colestásico/mixto. Sólo casos definidos o probables en la escala de CIOMS fueron incluidos. Se excluyeron aquellos pacientes con evidencia de enfermedad hepática subyacente.

Resultados: Se identificaron 28 casos (5,7%) (18 mujeres, edad media 55 años) con evolución a la cronicidad del total de casos de daño hepático idiosincrásico (493) remitidos al Registro de Hepato-

toxicidad (promedio seguimiento 25 meses). El principal grupo terapéutico implicado fue el cardiovascular (25%) que, sin embargo, ocupa un lugar secundario entre los causantes de lesión aguda (9%). Los principios activos más frecuentemente involucrados y su tasa de cronicidad respectiva fueron amoxicilina-clavulanico (4 casos, 5,8%), bentazepam (3, 43%), atorvastatina (2, 25%), captopril (2, 45%) y ebrotidina (2, 9%). La frecuencia de evolución a la cronicidad fue mayor entre los casos agudos colestásicos/mixtos (10%) que entre los hepatocelulares (4%). De hecho, la proporción de casos hepatocelulares entre los crónicos fue del 36%, e inferior a la observada en el grupo que normalizó el perfil hepático (57%). No se ha identificado ningún parámetro demográfico, clínico ó analítico predictivo de evolución crónica. Sólo tres pacientes (11%) normalizaron el perfil hepático en un promedio de 12,7 meses.

Conclusiones: La evolución a la cronicidad de una reacción hepatotóxica idiosincrásica tras la retirada del medicamento no es un hecho excepcional y ocurre más frecuentemente cuando la expresión de la lesión hepática es colestásica/mixta y en el grupo cardiovascular (hipolipemiantes y IECAs/ARA II). Las consecuencias a largo plazo de esta forma evolutiva de reacción hepatotóxica y el mecanismo patogénico subyacente permanecen por dilucidar.

LA HIPONATREMIA Y LA ANEMIA SON FACTORES DE RIESGO DE DESARROLLO DE ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA EN LA CIRROSIS

M.E. Baccaro^a, A. Torre^a, M. Guevara^a, L. Rami^b, M. Martín-Llahí^a, C. Terra^a, V. Arroyo^a y P. Ginès^a

^aServicio de Hepatología. IDIBAPS. Barcelona. ^bDepartamento de Neurología. Hospital Clínic de Barcelona. Barcelona.

A pesar de que la encefalopatía hepática es una complicación muy frecuente, no se dispone de información sobre si determinadas situaciones habituales en la cirrosis que pueden afectar teóricamente la función cerebral (hiponatremia, anemia) aumentan el riesgo de desarrollo de encefalopatía hepática. Con el objetivo de investigar la posible relación entre estas alteraciones y la encefalopatía, se realizó un estudio prospectivo que incluyó 50 pacientes con cirrosis, sin encefalopatía hepática clínica. El estudio constó de dos partes. En una primera parte, se investigaron los factores relacionados con la existencia de encefalopatía hepática mínima (EHM). Veintiuno de los 50 pacientes (42%) presentaban EHM. Después de ajustar por la edad y años de escolarización, las únicas variables que se relacionaron de forma independiente con la presencia de EHM fueron el hematocrito y la puntuación de Child-Pugh. De las variables que componen la clasificación de Child-Pugh, únicamente la albúmina sérica se correlacionó con la presencia de EHM. En la segunda parte del estudio, se investigó los factores predictivos de desarrollo de encefalopatía hepática clínica (EHC). Durante un período de seguimiento de un año, 22 de los 50 pacientes (44%) desarrollaron EHC. Las únicas variables con valor predictivo independiente de desarrollo de EHC durante el seguimiento fueron el sodio y la albúmina séricos. Ni la puntuación de Child-Pugh, ni el antecedente de EHC, ni la presencia de EHM tuvieron valor predictivo independiente de desarrollo de EHC. La probabilidad de desarrollo de EHC al año de seguimiento en los pacientes con hiponatremia fue de 100% en comparación con 35% en los pacientes sin hiponatremia ($p < 0,0001$). En conclusión, la hiponatremia y la anemia, se asocian a un elevado riesgo de desarrollo de encefalopatía. Estos resultados abren nuevas expectativas con respecto a la prevención y tratamiento de la encefalopatía hepática en la cirrosis.

Sesión general 5

Moderadores: Dr. Miguel Montoro (Huesca). Dra. Montse Marin (Barcelona)

RECLUTAMIENTO Y DIFERENCIACIÓN ENDOTELIAL IN VIVO DE CÉLULAS MADRE ADULTAS MULTIPOTENTES DE RATA EN UN MODELO DE CÁNCER HEPÁTICO

F. Franchi^{a,b}, M.A. Barajas^a, X.L. Aranguren^a, C. Clavel^a, G. Abizanda^a, C. Moreno^a, G. Yang^b, V. Fernández^b, C. Qian^b, F. Prosper^a y J. Prieto^b

^aÁrea de Terapia Celular y ^bDivisión de Hepatología y Terapia Génica. Clínica Universitaria y Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA). Universidad de Navarra. Pamplona.

Introducción y objetivos: El hepatocarcinoma avanzado carece de tratamiento eficaz. Este tumor posee una marcada actividad angiogénica y la formación de nuevos vasos implica un continuo reclutamiento de células progenitoras procedentes de médula ósea. Para evaluar el posible uso de células madre adultas procedentes de médula ósea para el tratamiento del hepatocarcinoma, nos hemos planteado en este estudio los siguientes objetivos: *a*) aislar y caracterizar un tipo de células madre adultas – las Células Madre Adultas Multipotentes (MAPCs); *b*) marcar las MAPCs mediante vectores lentivirales codificantes para eGFP; *c*) verificar si las MAPCs son reclutadas en un modelo de hepatocarcinoma de rata y, *d*) evaluar su diferenciación *in vivo*.

Métodos: Las MAPCs de rata fueron obtenidas de la médula ósea de 6 ratas Buffalo macho y expandidas a $0,1-0,5 \times 10^3$ células/cm². Las MAPCs fueron luego transducidas con un lentivirus codificante para eGFP y fueron inyectadas por vía intravenosa en ratas 7 días después del implante intra-hepático de la línea celular de hepatocarcinoma de rata McARH7777. Los animales fueron sacrificados tras 7 días, procesándose el tejido hepático mediante técnicas de inmuno-histoquímica e inmuno-fluorescencia para detectar las células reclutadas y para evaluar su diferenciación *in vivo*.

Resultados: Hemos sido capaces de aislar MAPCs de 6 ratas Buffalo macho. Estas células eran positivas por CD90 (80%), negativas por MHC I y CD44. La eficiencia de transducción de las MAPCs con el vector lentiviral fue del 65%. Ensayos de inmuno-histoquímica e inmuno-fluorescencia nos permitieron detectar el reclutamiento de las eGFP-MAPCs en la periferia del tumor. Además se realizó una doble inmuno-tinción con anticuerpos frente a eGFP y frente al antígeno de macrófago: las células resultaron positivas por eGFP pero negativas para el antígeno de macrófago. Por otro lado, mediante ensayos de inmuno-fluorescencia se observó una señal doble positiva empleando la lectina específica de endotelio, *Phaseolus vulgaris*, y el anticuerpo frente a eGFP.

Conclusiones: Las MAPCs son reclutadas eficientemente por el hepatocarcinoma en progresión. *In vivo* las células reclutadas se diferencian a la línea endotelial. Los vectores lentivirales infectan bien a las MAPCs y pueden ser utilizados para convertir a estas células en vehículos capaces de llevar la expresión de los genes deseados al seno de la masa tumoral. Nuestros datos revelan el potencial de un nuevo sistema para tratar el hepatocarcinoma combinando terapia génica y terapia celular.

CICLOOXIGENASA-1, ÁCIDO ARAQUIDÓNICO Y CÉLULA ENDOTELIAL SINUSOIDAL: FACTORES CLAVES EN LA MODULACIÓN DE LA RESISTENCIA INTRAHEPÁTICA EN EL HÍGADO CIRRÓTICO

J. Gracia-Sancho, B. Laviña-Siensen, A. Rodríguez-Vilarrupla, J. Bosch y J.C. García-Pagán

Lab. de Hemodinámica Hepática. Hospital Clínic. IDIBAPS. Barcelona.

Antecedentes: En el hígado cirrótico, la hiperrespuesta al agonista alfa-adrenérgico metoxamina y la disfunción endotelial se han rela-

cionado con un incremento de prostanoideos vasoconstrictores (TXA₂) dependientes de la isoenzima ciclooxigenasa-1 (COX-1), la expresión de la cual está aumentada en las células endoteliales del sinusoide (CES). Diferentes compuestos vasoactivos promueven un aumento en la biodisponibilidad de ácido araquidónico (AA, sustrato de COX-1) procedente de la membrana celular por la activación de la fosfolipasa A-2.

Objetivos: Evaluar los efectos de la administración de AA sobre: *a*) producción de prostanoideos en CES, y *b*) sobre la resistencia vascular intrahepática en la cirrosis.

Metodología: *a*) La síntesis de TXA₂, PGI₂ i PGF_{2α} fue determinada en sobrenadantes de CES en cultivo primario aisladas de hígados de ratas control (n = 7) y cirróticas (n = 7) incubadas con vehículo o estimuladas con AA (40mM) por ensayo inmunoenzimático; *b*) Se realizaron curvas dosis-respuesta a AA de presión de perfusión portal (PP) en hígados aislados de ratas control y cirróticas preincubados con vehículo o con el inhibidor selectivo de COX-1 (SC-560).

Resultados: *a*) La incubación con AA promovió un aumento de la concentración de TXA₂ en CES de hígados cirróticos significativamente superior al observado en CES de ratas control. Por contra, el aumento de PGF_{2α} y PGI₂ fue similar en CES aisladas de hígados control y cirróticos. *b*) Tanto los hígados controles como los cirróticos presentaron un aumento dosis-dependiente de la presión de perfusión portal a la administración de AA que se acompañó de un marcado aumento en la producción de TXA₂. No obstante, el aumento de presión de perfusión portal fue significativamente superior en los hígados cirróticos en comparación a los controles (2·10⁻⁵M: 2,3 ± 0,5 vs. 0,6 ± 0,2 mmHg; 2·10⁻⁴M: 7,5 ± 0,9 vs. 2,9 ± 0,6 mmHg; 2·10⁻³M: 14,5 ± 1,4 vs. 6,4 ± 1,0 mmHg, todos p < 0,05). La hiperrespuesta a AA y la hiperproducción de TXA₂ de los hígados cirróticos fue totalmente corregida al inhibir selectivamente COX-1.

Conclusiones: EL aumento en la biodisponibilidad de AA incrementa de forma exagerada la resistencia intrahepática de hígados cirróticos por un mecanismo dependiente de COX-1, posiblemente a causa de la mayor producción de TXA₂ observada en las CES de hígados cirróticos.

LAS CÉLULAS DERIVADAS DE HEPATOCARCINOMA INDUCEN PROLIFERACIÓN Y MIGRACIÓN EN CÉLULAS ESTRELLADAS HEPÁTICAS: REGULACIÓN POR LAS PROTEÍNAS DEL VIRUS C DE LA HEPATITIS

P. Sancho-Bru^a, R. Bataller^a, E. Juez^a, V. Khurdayan^a, M. Moreno^a, J. Colmenero^a, V. Arroyo^a, D.A. Brenner^b y P. Ginès^a

^aHepatología, Institut Clínic de Malalties Digestives i Metabòliques, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Catalonia, Spain. ^bDepartment of Medicine, Columbia University College of Physicians and Surgeons, New York, NY.

Introducción y objetivo: Las células estrelladas hepáticas (CEH) se acumulan alrededor de los focos de carcinoma hepatocelular (CHC). Debido a sus propiedades biológicas, se ha sugerido que las CEH podrían favorecer el desarrollo y progresión del CHC. El virus de la hepatitis C (VHC) infecta primariamente a los hepatocitos y es la causa más frecuente de CHC. El presente estudio investiga si las células del CHC inducen acciones biológicas en las CEH y si éstas están reguladas por las proteínas del VCH.

Métodos: Se utilizó células de hepatocarcinoma humano (huh7) que expresan un vector vacío o el replicón que expresa las proteínas no estructurales (NS3-NS5) del VHC. La proteína core se expresó en células Huh7 mediante un adenovirus acoplado a GFP. Las células Huh7 se co-cultivaron con CEH humanas primarias mediante un

transwell semipermeable. Se estudió el efecto de las células Huh7 sobre la proliferación (timidita tritiada), migración (ensayo con cámara de Boyden), activación de NFkB (ensayo luciferasa), secreción de interleuquina-8 (ELISA) y expresión de genes inflamatorios y fibrogénicos (PCR cuantitativa) en CEH.

Resultados: El co-cultivo de células Huh7 con CEH por 24 horas indujo una marcada proliferación de las CEH, de similar magnitud que el PDGF-BB. Además, el medio condicionado de células Huh7 indujo una marcada migración de las CEH. Por el contrario, las células Huh7 no indujeron acciones inflamatorias en las CEH (activación del NFkB, expresión de ICAM-1 y secreción de interleuquina-8). Por último, las células Huh7 disminuyeron significativamente la expresión de genes implicados en la fibrogénesis (procolágeno 1 y TGFb1). La expresión de la proteína core y NS3-NS5 potenció el efecto inhibitorio de las células Huh7 sobre los genes fibrogénicos, pero no reguló el efecto sobre la proliferación y la migración celular.

Conclusiones: Las células derivadas del CHC inducen el acúmulo de las CEH mediante la estimulación de la proliferación y migración celular. Estos efectos no son regulados directamente por las proteínas del VHC. Estos resultados sugieren que existe una comunicación potente intercelular entre las células cancerosas y las CEH, que podría participar en la patogénia y progresión del CHC.

PROGRESIÓN A FIBROSIS EN HEPATITIS CRÓNICA POR VHC. INFLUENCIA DE POLIMORFISMOS DEL GEN CASP7

A. Álvarez Márquez^a, J. Aguilar Reina^a, L. Gómez Izquierdo^a, M. Dana Jiménez^a, A. Núñez Roldán^b y M.F. González Escribano^b
^aSección de Hepatología. Servicio de Digestivo, ^bServicio de Inmunología. Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla.

Antecedentes: Una característica importante de la infección del virus de la Hepatitis C es el curso variable de su historia natural, ya que se puede desarrollar infección crónica, con grado variable de daño hepático incluyendo cirrosis y carcinoma hepatocelular. Aunque no se conocen exactamente cuales son los factores que pueden influir en la evolución de la infección por VHC, si que hay evidencias de que la apoptosis de las células hepáticas puede jugar un papel importante en la evolución de la enfermedad, así como factores genéticos del huésped. Recientemente se ha relacionado la actividad caspasa medida en suero con el daño hepático en biopsias de pacientes con infección crónica por VHC. Caspasa 7, es una cistein-proteasa implicada en la fase final o ejecutora de la apoptosis. Se han descrito dos polimorfismos en el gen CASP7 en las posiciones 877 (C/G) y 892 (G/A) que originan un cambio de aminoácido en la isoforma beta de la proteína.

Objetivo: Analizar la posible influencia de estos polimorfismos del gen CASP7 en la severidad del daño hepático y la progresión a fibrosis en los pacientes con infección crónica por VHC.

Método: Se estudiaron 225 pacientes con infección crónica por VHC a los que se ha realizado biopsia hepática percutánea obtenida previamente al tratamiento. El genotipaje de ambos polimorfismos se realizó mediante un sistema de PCR-RFLP. El grado de fibrosis se estableció según el Índice de Scheuer: Actividad portal-periportal, lobulillar y fibrosis (F0-F4). También se evaluó la esteatosis y la tinción de hierro. Otros parámetros estudiados fueron: datos demográficos, genotipo viral, factor de riesgo, IMC, diabetes, consumo de alcohol, tiempo desde la infección a la Biopsia, carga viral, presencia de autoanticuerpos, alteraciones tiroideas, datos analíticos.

Resultados: Los genotipos 877 GG y 892 AA se asocian significativamente a mayor grado de fibrosis ($p = 0,009$), así como con la tinción de hierro en biopsias hepáticas ($p = 0,003$). Ambos genotipos se relacionan además con mayor actividad necroinflamatoria portal y periportal aunque las diferencias no son estadísticamente significativas: $p = 0,077$ y $0,088$ respectivamente. La frecuencia de los genotipos 877 GG y 892 AA, así como de los alelos 877G y 892A está significativamente aumentada en los pacientes con autoanticuerpos en suero ($P = 0,013$, OR 2,06, 95% CI: 1,11-3,82 y $P = 0,01$, OR 2,09, 95% CI: 1,13-3,86 respectivamente). La frecuencia de los alelos 877G y 892A está significativamente aumentada en los

pacientes con disfunción tiroidea ($P = 0,05$, OR 2,05, 95% CI: 0,93-4,50 y $P = 0,49$, OR 2,04, 95% CI: 0,93-4,43 respectivamente).

Conclusión: Nuestros resultados muestran una asociación entre los polimorfismos analizados en el gen CASP7 y el desarrollo de fibrosis hepática, así como con otros factores que influyen en el pronóstico de la infección crónica por VHC.

EFEECTO DEL PAMIDRONATO EN LA PÉRDIDA DE MASA ÓSEA DE LOS PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE HEPÁTICO. ESTUDIO MULTICÉNTRICO, ALEATORIZADO Y DOBLE CIEGO

M. Navasa^a, A. Monegal^a, N. Guañabens^a, M.J. Suárez^b, S. Suárez López^c, F. García González^d, T. Serrano^e, G. Clemente^f, F. Casafont^g, M. de la Mata^h y C. Barriosⁱ

Hospitales ^aClínica de Barcelona, ^bCruces de Bilbao, ^cJuan Canalejo de la Coruña, ^dRamón y Cajal de Madrid, ^eLozano Blesa de Zaragoza, ^fGregorio Marañón de Madrid, ^gMarqués de Valdecilla de Santander, ^hReina Sofía de Córdoba. ⁱPuerta de Hierro de Madrid.

Objetivo: Analizar la eficacia del tratamiento con Pamidronato en la prevención de la pérdida de masa ósea en pacientes sometidos a trasplante hepático.

Pacientes y métodos: Estudio multicéntrico, aleatorizado y doble ciego. Se incluyeron 79 pacientes que fueron aleatorizados en dos grupos de tratamiento: *Grupo 1* ($n = 38$): Pamidronato 90 mg/EV en la primera semana pos-trasplante y a los 3 meses (30 h/8 m; edad media \pm DE: 53 ± 11 años); *Grupo 2* ($n = 41$): tratados con placebo en los mismos períodos (31 h/10 m; edad media \pm DE: 53 ± 9 años). Los pacientes del G1 y del G2 recibieron calcio y vitamina D y se les realizaron densitometrías de columna lumbar y fémur proximal (cuello, trocánter y fémur total) y Rx de columna dorsal y lumbar antes y a los 6 y 12 meses después del trasplante. Las determinaciones analíticas que incluían niveles séricos de 25-OH-D y PTH se realizaron antes del trasplante, en las 24h previas y posteriores a la administración del tratamiento o placebo y a los 6 y 12 meses del trasplante. Todos los pacientes recibieron tratamiento inmunosupresor basado en ciclosporina A.

Resultados: No se observaron diferencias significativas en las características basales entre ambos grupos de pacientes excepto por la puntuación Z en fémur total que fue inferior en el G1. Después del trasplante, la DMO lumbar de los hombres del G1 incrementó de forma significativa con respecto a la DMO lumbar del G2 (a los seis meses G1: $+1,72 \pm 5,8\%$ vs. G2: $-1,47 \pm 3,7\%$, $p < 0,05$; al año G1 $+4,1 \pm 7,7\%$ vs. G2 $-1,98 \pm 4,5\%$, $p < 0,01$). No existieron diferencias significativas tras el trasplante en la DMO lumbar de las mujeres en ninguno de los dos grupos. No se observaron diferencias significativas después del trasplante en la DMO en fémur proximal. Tampoco se observaron diferencias significativas en el desarrollo de nuevas fracturas, ni en la evolución de los valores de PTH y 25-OH-D. No se detectaron efectos adversos significativos en relación con el tratamiento.

Conclusiones: La administración de 90 mg de Pamidronato EV después y a los tres meses del trasplante evita la pérdida de masa ósea en columna lumbar en los hombres sometidos a trasplante hepático, sin que se observen efectos adversos clínicamente significativos.

ESTUDIO PROSPECTIVO SOBRE LA INCIDENCIA Y FACTORES PREDICTIVOS DE LAS ALTERACIONES NEUROPSIQUIÁTRICAS (ANP) ANTES Y DURANTE EL TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS CRÓNICA C (HCC) CON INTERFERÓN PEGILADO ALFA-2^a (PEG-IFN) Y RIBAVIRINA (RBV)

C. Díez-Quevedo^c, P. Castellví^a, M. Miquel^d, R. Navinés^a, A. Soler^c, M.D. Giménez^b, S. Montoliu^d, C. Márquez^b, F. García^c, J.A. Galeras^b, R. Solà^b y R. Planas^d

^aPsiquiatría, ^bHepatología, Hospital del Mar. Barcelona. ^cPsiquiatría, ^dHepatología, Farmacología, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Barcelona.

Un 20-30% de los pacientes con HCC tratados con Peg-IFN y RBV desarrollan ANP, que son responsables del cese del tratamiento en el 10-20% de los casos.

Objetivos: Evaluar la incidencia y factores predictivos de las ANP en pacientes con HCC, antes y durante el tratamiento antivírico. Evaluar la incidencia y factores predictivos de las ANP en pacientes con HCC, antes y durante el tratamiento antivírico.

Material y métodos: En 176 pacientes (edad media de 45 años) con HCC (genotipo 1 en 112), antes y durante el tratamiento (1, 3 y 6 meses) con Peg-IFN y RBV, se aplicaron los tests PHQ (Patients Health Questionnaires) y HADS (Hospital Anxiety and Depression Scale). Resultados: En los 30 (17%) pacientes con ANP basal (depresión en 25 casos -mayor en 3- y ansiedad en 6) se inició tratamiento con antidepresivos (citalopram) y/o ansiolíticos. Los factores predictivos independientes de ANP basales fueron: antecedente de alcoholismo, infección por genotipo no 1 y antecedentes neuropsiquiátricos (OR de 5, 2,6 y 2,4, respectivamente). Durante el tratamiento presentaron ANP 74 (42%) pacientes (depresión en 70 casos -mayor en 15-, ansiedad en 27 y ambos en 25), que fueron detectadas en el 92% de los casos durante los primeros 3 meses del tratamiento. Todos ellos, menos uno con depresión leve, recibieron tratamiento con antidepresivos (citalopram) y/o ansiolíticos. El único factor predictivo independiente de ANP durante el tratamiento fue el HADS basal alterado (OR: 24,39). Durante el tratamiento se observó un empeoramiento global ($p = 0,001$) de los síntomas depresivos de la puntuación del HADS, que se produjo en los pacientes sin ANP basales. En cambio, los síntomas de ansiedad mejoraron significativamente ($p = 0,04$) en los pacientes con cribado basal positivo que recibieron tratamiento. Solo se suspendió el tratamiento antivírico en 1 (1,3%) paciente por ANP. En 176 pacientes (edad media de 45 años) con HCC (genotipo 1 en 112), antes y durante el tratamiento (1, 3 y 6 meses) con Peg-IFN y RBV, se aplicaron los tests PHQ (Patients Health Questionnaires) y HADS (Hospital Anxiety and Depression Scale). En los 30 (17%) pacientes con ANP basal (depresión en 25 casos -mayor en 3- y ansiedad en 6) se inició tratamiento con antidepresivos (citalopram) y/o ansiolíticos. Los factores predictivos independientes de ANP basales fueron: antecedente de alcoholismo, infección por genotipo no 1 y antecedentes neuropsiquiátricos (OR de 5, 2,6 y 2,4, respectivamente). Durante el tratamiento presentaron ANP 74 (42%) pacientes (depresión en 70 casos -mayor en 15-, ansiedad en 27 y ambos en 25), que fueron detectadas en el 92% de los casos durante los primeros 3 meses del tratamiento. Todos ellos, menos uno con depresión leve, recibieron tratamiento con antidepresivos (citalopram) y/o ansiolíticos. El único factor predictivo independiente de ANP durante el tratamiento fue el HADS basal alterado (OR: 24,39). Durante el tratamiento se observó un empeoramiento global ($p = 0,001$) de los síntomas depresivos de la puntuación del HADS, que se produjo en los pacientes sin ANP basales. En cambio, los síntomas de ansiedad mejoraron significativamente ($p = 0,04$) en los pacientes con cribado basal positivo que recibieron tratamiento. Solo se suspendió el tratamiento antivírico en 1 (1,3%) paciente por ANP.

Conclusiones: Los resultados del presente estudio apoyan la necesidad de efectuar un cribado neuropsiquiátrico en los pacientes con HCC antes y durante el tratamiento antivírico. Esta estrategia permite la detección y tratamiento precoces de las ANP y, con ello, facilita el cumplimiento del tratamiento antivírico. Los resultados del presente estudio apoyan la necesidad de efectuar un cribado neuropsiquiátrico en los pacientes con HCC antes y durante el tratamiento antivírico. Esta estrategia permite la detección y tratamiento precoces de las ANP y, con ello, facilita el cumplimiento del tratamiento antivírico.

EVALUACIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA POR ELASTOGRAFÍA DE TRANSICIÓN (FIBROSCAN®) EN PACIENTES CON ENFERMEDAD HEPÁTICA CRÓNICA

J. Mendoza-Jiménez, E. Gómez-Domínguez, J.A. Moreno-Monteaquedo, S. Rubio, X. Salcedo, L. García-Buey, A. Aboy y R. Moreno-Otero

Servicio de Aparato Digestivo. Unidad de Hepatología. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. Universidad Autónoma de Madrid.

Introducción: El desarrollo de métodos de estudio de fibrosis hepática es decisivo en la práctica clínica diaria. La elastografía de transición (Fibroscan, Echosens®, Paris, Francia) es un novedoso método no invasivo para la cuantificación aproximada de la fibrosis tisular mediante ultrasonidos y ondas elásticas de baja frecuencia.

Objetivos: Evaluar la eficacia, objetividad, reproductibilidad y seguridad de la técnica fibroscan en pacientes con hepatopatías crónicas.

Material y métodos: Se aplicó la técnica de forma prospectiva, por un mismo gastroenterólogo, a todos los pacientes sometidos a biopsia hepática en los últimos 48 meses. Dicho gastroenterólogo desconocía el resultado de la biopsia previa. Sólo se consideraron válidos aquellos procedimientos en los que se obtuvieron al menos 10 mediciones válidas. Se consideró representativo de la elasticidad hepática la mediana de dichas mediciones. Todas las biopsias hepáticas fueron examinadas por un mismo patólogo independiente valorando el estadio de fibrosis según el sistema METAVIR.

Resultados: Se estudiaron un total de 59 pacientes, 32 varones (54,2%), con una edad media de 47 ± 10 años. El origen de la hepatopatía fue mayoritariamente por VHC (64,4%); hepatopatía autoinmune (16,9%), CBP (13,6%), hepatopatía enólica (3,4%) e idiopático (1,7%). De acuerdo al sistema METAVIR, presentaban estadio F1: 15,3%, estadio F2: 44,1%, estadio F3: 25,4% y estadio F4: 15,3%. El tiempo empleado en realizar la prueba fue de $3,63 \pm 1$ minutos. Para el estudio de la mediana de elasticidad en función del estadio histológico se agruparon los pacientes como fibrosis leve (F1 y F2) y fibrosis avanzada (F3 y F4). En el primer grupo la mediana de elasticidad fue de $7,40 \pm 5,17$ KPa y en el grupo de fibrosis avanzada de $16,40 \pm 10,4$ ($p < 0,005$). Mediante el cálculo de curvas ROC se establecieron los valores de corte óptimos, su sensibilidad y especificidad (tabla 1). No se objetivo ningún efecto secundario en los pacientes sometidos a esta técnica.

	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
F \geq II AUC:0,74 (IC 95% 0,63-0,83)	4,30KPa	94,0%	33,3%	88,0%	50,0%
F \geq III AUC:0,72 (IC 95% 0,58-0,84)	11,40 KPa	58,3%	88,6%	77,8%	75,6%
F = IV AUC:0,94 (IC 95% 0,87-0,98)	15,55KPa	88,9%	96,0%	80,0%	98%

AUC: área bajo la curva ROC; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo.

Conclusiones: 1. La elastografía de transición (Fibroscan®) es una técnica rápida, segura, exenta de efectos secundarios y bien aceptada por los pacientes. 2. El Fibroscan es una técnica eficaz en la identificación de fibrosis hepática avanzada. Cuanto mayor es la fibrosis hepática, menor es la elasticidad tisular, lo que se traduce en valores de medición más altos en el Fibroscan.

Sesión general 6

Moderadores: Dr. Enrique Fraga (Córdoba). Dr. Moisés Diago (Valencia)

ANÁLISIS DEL RIESGO DE DESARROLLO DE TUMORES SÓLIDOS NO HEPÁTICOS EN PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA. INFLUENCIA DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

L.G. Diéguez, M. Rodríguez, A. Linares, R.F. Velázquez, R. de Francisco y L. Rodrigo

S. Digestivo. Hospital Universitario Central de Asturias.

Aunque el trasplante (tx) incrementa el riesgo de neoplasias hematológicas y cutáneas, su relación con los tumores sólidos es controvertida.

Objetivo: Comparar el riesgo de aparición de neoplasias sólidas no hepáticas (NSNH), excluyendo las cutáneas, en pacientes con cirrosis (CI) y en pacientes sometidos a tx hepático por CI, así como el tipo y la supervivencia tras su diagnóstico.

Pacientes y métodos: Se estudiaron 649 cirróticos, de los que 458 fueron incluidos en un programa de diagnóstico precoz de hepatocarcinoma (1992-2004) y 191 fueron tx por CI (1989-2004), todos con un seguimiento superior a 6 meses y seguidos de forma prospectiva. En los pacientes incluidos en el programa, el estudio fue interrumpido en el momento del tx en aquellos en que se realizó este procedimiento. Se utilizó la T de Student para comparar variables continuas y las curvas ROC para conocer el valor con mayor capacidad discriminante. Las curvas de probabilidad se obtuvieron mediante Kaplan-Meier y se compararon con la prueba de log-rank. El análisis multivariado se realizó mediante el modelo de Cox.

Resultados: Durante un seguimiento medio de 64 ± 44 meses, se diagnosticaron 60 NSNH (24 en tx y 36 en cirróticos no tx). La probabilidad acumulativa de desarrollar NSNH a 1, 3, 5 y 10 años fue del 3, 7, 15 y 19% en los tx y del 1, 4, 7 y 15% en los no tx ($p = 0,02$). El tiempo medio desde la inclusión en el programa y desde el tx hasta la aparición de NSNH fue similar (57 ± 38 y 52 ± 47 meses respectivamente; $p = 0,6$). En el global de la serie, el riesgo de desarrollar NSNH a 1, 3, 5 y 10 años, fue significativamente mayor en pacientes con CI alcohólica (2, 7, 12 y 21%) que en los que la CI tenía otras etiologías (0, 3, 5 y 10%) ($p = 0,0006$), en los pacientes mayores de 50 años (2, 6, 11 y 18%) con respecto a los de 50 o menos (1, 3, 5 y 12%) ($p = 0,01$) y en los fumadores (2, 6, 10 y 19%) que en los no fumadores (1, 4, 8 y 11%) ($p = 0,04$). No se observaron diferencias con respecto al sexo. En el análisis multivariante, únicamente la etiología alcohólica de la CI ($p = 0,001$; RR 2,8) y la edad superior a 50 años se asociaron de forma independiente con el desarrollo de NSNH ($p = 0,01$; RR 2,1). Las NSNH observadas con mayor frecuencia fueron las del área ORL-Pulmón, tanto en el grupo de CI (38%) como en el de tx (33%). La supervivencia a 1, 3 y 5 años desde el diagnóstico de NSNH fue del 24, 16 y 8% en los pacientes tx y del 41, 22 y 4% en los cirróticos no tx ($p = 0,1$).

Conclusiones: El desarrollo de neoplasias sólidas no hepáticas en pacientes con cirrosis se asocia con la etiología alcohólica de la misma y con la edad superior a 50 años, mientras que el trasplante hepático, en esta serie, no supone un incremento del riesgo. Los tumores más frecuentes, tanto en pacientes con cirrosis como en aquellos trasplantados por cirrosis, son los originados en el área ORL-pulmón y no existen diferencias en la supervivencia entre ambos grupos tras el diagnóstico de neoplasia.

ESTUDIO DE LAS TASAS PLASMÁTICAS DE RIBAVIRINA EN PACIENTES CON HEPATITIS C CRÓNICA, GENOTIPO 1, TRATADOS CON INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA

J. Salmerón^a, P. Muñoz de Rueda^a, A. Gila^a, R. Andrade^b, M.I. Lucena^b, M. Diago^c, J.M. Navarro^d, J.M. Candel^a, Palacios^a y A. Ruiz Extremera^a

^aUnidad de Ap. Digestivo y Servicio de Pediatría H. Universitario "San Cecilio". Granada. ^bHospital Virgen de la Victoria. Málaga. ^cServicio de Aparato Digestivo, Hospital General de Valencia. ^dServicio de Digestivo. Hospital de Marbella. Málaga.

Introducción: Los pacientes con hepatitis C crónica (HCC) tratados con ribavirina (RBV), presentan con frecuencia una anemia que obliga a reducir la dosis, condicionando la respuesta virológica (RVS). La dosificación se realiza según el peso, pero con rangos muy amplios, y es probable que el ajuste del fármaco no se efectúe de forma sistemática. Por otro lado, se desconoce la relación de las tasas plasmáticas de RBV con la anemia y con la RVS.

Objetivo: Conocer la relación de las tasas plasmáticas de RBV durante el tratamiento con la anemia y la RVS.

Pacientes y métodos: Estudio prospectivo de 62 pacientes con HCC, genotipo 1, tratados con interferón pegilado y RBV (800 mg/día < 50 kg; 1.000 mg/día 50-75 kg y 1.200 mg/día > 75 kg) durante 48 semanas. Se realiza un seguimiento mensual del hemograma y los datos virológicos y un registro exhaustivo del peso. En 39 pacientes no seleccionados se ha determinado la tasa plasmática de ribavirina (TPR) en los meses 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 y 12. La RBV se determina mediante HPLC, con una columna C18, utilizando como fase móvil ácido fosfórico 20 mM, y una flujo de 0,7 ml/min. El detector utilizado es UV a una longitud de onda de 207 nm.

Resultados. Un total de 52 (84%) pacientes presentaron una disminución de la hemoglobina (Hb) comparada con la basal ≥ 2 g: 37 (60%) ≥ 3 g y 7 (11,3%) ≥ 5 g. El tiempo de aparición de la disminución de la Hb fue a los 15 días en 17 (33%), 1^{er} mes 12 (23%), 2^o mes 9 (17,3%) y a partir del 2^o en 14 (27%). De los 39 pacientes con TPR, a 9 se les modificó la dosis y a 4 se les suspendió entre el 8 y 9 mes. La TPR durante el tratamiento fue: 1,8; 2,1; 2,2; 2,2; 2; 2,1; 2,1 y 1,74 mcg/ml. El peso medio fue en la basal de 69,4 kg y durante el tratamiento de: 68,6; 67,6; 67,3; 66,9; 66,6; 66; 65,6 y 65,7 kg. La dosis media de RBV en mg/kg no cambió durante los 8 primeros meses, alrededor de los 15 mg/kg, en el 10 mes disminuyó a 13,9 mg/kg. La media de Hb fue en la basal 15,2 g/dl y durante el tratamiento de 13,2; 12,7; 12,4; 12,5; 12,3; 12,5; 12,7 y 12,7 g/dl y después del tratamiento 15,1 g. Se observó una correlación negativa entre la tasa plasmática de RBV con la Hb del mes siguiente (desde la tasa 2 a la tasa 8 con el mes siguiente del 3 al 9) [TPR 2 mes con: Hb3 (-0,418, $p = 0,01$) y con Hb 4 (-0,351, $p = 0,049$); TPR 3m, ns; TPR 4m con: Hb4 (-0,420, $p = 0,017$), Hb5 (-0,350, $p = 0,055$), Hb6 (-0,352, $p = 0,048$) y Hb7 (-0,350, $p = 0,067$); TPR 6m con: Hb6 (-0,399, $p = 0,024$), Hb7 (0,477, $p = 0,012$) y Hb8 (0,419, $p = 0,021$); TPR 8m: Hb9 (0,378, $p = 0,043$)]. La TPR al décimo mes se correlacionó con la dosis/kg de RBV en el 6m (0,348, $p = 0,060$), 7m (0,341, $p = 0,065$) y 8m (0,390, $p = 0,033$). La respuesta virológica precoz y la RVS no se correlacionó con la tasa plasmática de RBV.

Conclusiones. La disminución de la hemoglobina está condicionada por las TPR, que aumentan en los pacientes que pierden peso. Sería necesario, para evitar la anemia, que la RBV se dosificara en mg/kg con ajustes periódicos.

PAPEL DE LA IL-6 E IGF-1 EN LA PROGRESIÓN DE LA ESTEATOSIS HEPÁTICA EN LOS PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA

D. García^a, I. Espejo^b, J.L. Montero^a, E. Fraga^a, G. Costán^a, P. Barrera^a, T. Marchal^c, A. Membrives^d, J.M. Gallardo^d, E. Arévalo^d, M. de la Mata^a, J. Muñoz^a y J. Muntané^a

^aUnidad Clínica Aparato Digestivo, ^bServicio de Análisis Clínico, ^cServicio de Anatomía Patológica, ^dServicio de Cirugía General 2. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Antecedentes: La esteatosis hepática (ST) es una complicación relevante en los pacientes con obesidad mórbida. IL-6 ha sido implicada en la progresión de la ST en diversos modelos experimentales de ST. El objetivo del presente estudio es determinar la evolución de los parámetros bioquímicos y citoquinas (IL-6, IGF-1) en el suero procedente de pacientes obesos mórbidos con diversos grados de ST.

Métodos: Se obtuvieron muestras de suero y biopsia hepática procedentes de 36 pacientes obesos mórbidos ingresados en el Hospital Universitario Reina Sofía. Se recogieron datos de análisis bioquímicos, insulina, IL-6 e IGF-1 en el suero de estos pacientes. Se determinó el grado de ST (oil-red), fibrosis (Masson) y grado de lesión histológica (hematoxilina-eosina y TUNEL) en las biopsias hepáticas.

Resultados: Los pacientes con obesidad mórbida se distribuyeron en función del grado de ST. El análisis histológico detectó la presencia de apoptosis celular en las muestras hepáticas procedentes de estos pacientes. El análisis comparativo demostró que en los pacientes obesos mórbidos con una ST severa de grado 3-4 se incrementa de forma significativa el HOMA ($p < 0,02$), glucosa ($p < 0,001$), insulina ($p < 0,02$), transaminasas ($p < 0,01$) e IL-6 ($p < 0,002$), y reducen la concentración circulante de IGF-1 ($p < 0,01$) en comparación con los valores obtenidos en pacientes con leve ST (grado 1-2). Con la finalidad de identificar factores de riesgo con carácter independiente de grave ST, se determinó por análisis uni- y multivariante las variables predictoras independientes de una grave ST para unos valores de glucosa en suero superiores a 110 mg/dl ($p < 0,032$; OR, 8,98; IC, 1,2-67,2), IL-6 superior a 3,12 pg/ml ($p < 0,045$; OR, 22,14; IC, 1,06-459,7) y unos valores de IGF-1 inferiores a 110 ng/ml ($p < 0,026$; OR, 0,06; IC, 0,005-0,712). Aunque la insulina resistencia se asoció con modificaciones en los niveles de IL-6 e IGF-1, el estudio estadístico demostró únicamente significación en el valor predictivo del incremento del HOMA para unos niveles elevados de IL-6.

Conclusiones: 1) La necrosis y la apoptosis celular coexisten en el tejido hepático procedente de los pacientes con obesidad mórbida. 2) El aumento de la ST está asociado con un aumento del índice HOMA, AST, ALT, GGT e IL-6 y un descenso de los valores de IGF-1. 3) Unos valores de glucosa en suero superiores a 110 mg/dl, IL-6 superior a 3,12 ng/ml y valores de IGF-1 inferiores a 110 pg/ml son valores predictivos independientes de una grave ST. 4) El incremento de HOMA se asocia significativamente con unos valores elevados de IL-6 en el suero de los pacientes con obesidad mórbida.

LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DEL FACTOR DE CRECIMIENTO HEPATOCITARIO TRADUCE EL GRADO DE FIBROSIS HEPÁTICA EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA POR VHC

E. Marín Serrano, J.A. Girón González, M. Tejada Cabrera, C. Rodríguez Ramos, F. Díaz García y L. Martín Herrera

Introducción: El factor de crecimiento hepatocitario (HGF) es una citocina pleiotrópica que a nivel hepático es producido principalmente por las células estrelladas y que interviene en la regeneración hepática actuando como un potente mitógeno de las células hepato-

citarias y como inhibidor de la acción fibrogénica del factor transformante del crecimiento b1 (TGFb1).

Objetivo: Determinar los niveles séricos de HGF en pacientes con hepatopatía crónica por el virus de la hepatitis C y su correlación con el grado de fibrosis hepática.

Pacientes y método: Se diseñó un estudio observacional transversal en el que de forma prospectiva se incluyeron 45 pacientes con hepatopatía crónica por VHC compensada y no tratada a los que se les había realizado una biopsia hepática en los 6 meses previos, así como 15 controles sanos ajustados en edad y sexo al grupo de casos. Todas las biopsias hepáticas fueron evaluadas por un mismo anatomopatólogo experimentado que determinó el Índice de Actividad Histológica propuesto por Knodell y modificado por Desmet; la fibrosis se cuantificó de 0 a 4 (0: ausencia de fibrosis, 1: fibrosis periportal sin septos, 2: escasos septos, 3: numerosos septos sin cirrosis y 4: cirrosis). Los grados 0 y 1 de fibrosis se definieron como fibrosis ausente/leve y los grados 2 a 4 como fibrosis moderada/severa. Los niveles séricos de HGF se determinaron mediante ELISA en sandwich con un límite inferior de detección de 40 pg/ml.

Resultados: Los pacientes con hepatopatía crónica por VHC presentaron unos niveles séricos de HGF significativamente mayores que los controles: 1226 pg/ml (IC95% 1037-1414) vs. 535 pg/ml (IC95% 420-650). Por otra parte, los valores de HGF presentaron correlaciones estadísticamente significativas con las siguientes variables: edad ($r = 0,34$), GOT ($r = 0,48$), GPT ($r = 0,33$), GGT ($r = 0,53$), transferrina ($r = 0,57$) y grado de fibrosis ($r = 0,48$). Sin embargo no se demostró correlación significativa entre HGF y el grado de actividad necroinflamatoria en la biopsia. Al comparar los pacientes en función del grado de fibrosis se observó que existían diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de fibrosis moderada/severa y el grupo de fibrosis ausente/leve en las siguientes variables: edad (45,6 años vs. 38,5 años), plaquetas en sangre (163.000 células/mm³ vs. 188.000 células/mm³), GOT (91 UI/l vs. 57 UI/l), GGT (107 UI/l vs. 52 UI/l) y HGF (1376 pg/ml vs. 984 pg/ml). Al incluir estas variables en un análisis multivariante se obtiene un modelo en el que únicamente la edad (Exp B = 1,096) y los niveles séricos de HGF (Exp B = 1,003) son variables predictivas independientes (-2log verosimilitud = 46,6; $p = 0,001$).

Conclusiones: los niveles de HGF en suero parecen reflejar el grado de actividad reparadora de daño hepático en los pacientes con hepatitis crónica por VHC y se asocia estrechamente al grado histológico de fibrosis.

NIVELES DE LAS PROTEÍNAS DE UNIÓN A ENDOTOXINA EN LA ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHÓLICA

A.R. Guerra, J. Crespo, A. Cayón, F. Casafont y F. Pons-Romero

El proceso inflamatorio mediado por el TNF- α desempeña un importante papel en la patogenia del daño hepático de los pacientes con una esteatohepatitis no alcohólica (EHNA). Se ha propuesto que la endotoxina (LPS) derivada de la flora intestinal pudiera ser uno de los factores desencadenantes de dicho proceso inflamatorio. No obstante, en algunos trabajos publicados no se objetiva un aumento de los niveles de endotoxemia circulante en pacientes con EHNA. La actividad de la endotoxina en el organismo está mediada por proteínas de unión a LPS, cuya expresión es inducida por la propia endotoxina.

Objetivos: Investigar los niveles de las proteínas de unión a LPS en los pacientes con obesidad mórbida (con/sin EHNA), correlacionándolos con la existencia de EHNA y con los niveles de niveles de TNF- α .

Material y métodos: Se estudiaron 15 pacientes diagnosticadas de obesidad mórbida que se dividieron en función de la presencia o ausencia de EHNA (esteatosis hepática simple $n = 7$; esteatohepatitis no alcohólica $n = 8$). Analizamos: 1) Niveles séricos de LBP (LPS-binding protein), BPI (Bactericidal/permeability increasing protein), y TNF- α ; 2) Expresión génica del TNF- α en tejido hepático mediante PCR en tiempo real.

Resultados: En los pacientes con EHNA encontramos niveles elevados de LBP ($11,3 \pm 4,5 \mu\text{g/ml}$) y BPI ($1,70 \pm 0,85 \text{ ng/ml}$) con respecto a los pacientes con esteatosis simple (LBP: $5,5 \pm 3,7 \mu\text{g/ml}$; $p = 0,04$; BPI: $0,7 \pm 0,49 \text{ ng/ml}$; $p = 0,05$). La media de la concentración de TNF- α en suero fue similar en ambos grupos (EHNA $1,01 \pm 0,38 \text{ pg/ml}$; esteatosis $0,92 \pm 0,2 \text{ pg/ml}$; $p = \text{NS}$). En cambio, la expresión de TNF- α en tejido hepático en los pacientes con esteatohepatitis ($0,77 \pm 0,56 \text{ UA}$) fue superior a la de los pacientes con esteatosis ($0,44 \pm 0,46 \text{ UA}$; $p = 0,005$). Dicha expresión mostró además correlación con los niveles en suero de LBP ($r = 0,54$ $p = 0,05$).

Conclusiones: 1) Los pacientes con esteatohepatitis no alcohólica presentan niveles elevados de las proteínas de unión a LPS. 2) La concentración sérica de la proteína LBP se correlaciona con una mayor expresión de TNF- α en tejido hepático. Estos resultados argumentan a favor de la influencia de la respuesta a endotoxina en la iniciación de los procesos inflamatorios que provocan el daño hepático en la esteatohepatitis.

Red Temática de Investigación Cooperativa (G03/15). Proyecto FIS P1030468. Red de Centros: RNIGH (C03/02).

IMPORTANCIA DE LA DOSIS DE RIBAVIRINA EN LA RESPUESTA VIRAL TEMPRANA AL TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS C EN PACIENTES COINFECTADOS POR VIH

B. Ramos^a, M. Núñez^a, M. Romero^b, A.L. Rendón^a, A. Moreno^b, J. Sheldon^a, L. Martín-Carbonero^a, J. García-Samaniego^b y V. Soriano^a

^aServicios de Enfermedades Infecciosas y ^bHepatología. Hospital Carlos III. Madrid.

Introducción: La respuesta al tratamiento de la hepatitis C en pacientes VIH+ es inferior a la observada en los mono infectados por VHC. Esta menor respuesta puede deberse entre otros factores a una mayor tasa de interrupciones/abandonos de la medicación, lesión histológica más grave o interacciones de los fármacos anti-VHC con el tratamiento antirretroviral. Como la mayoría de los estudios realizados en pacientes coinfectados (APRICOT, RIBAVIC) emplearon la combinación de interferón alfa pegilado (pegIFN) con dosis fijas (800 mg/día) de ribavirina (RBV), se investigó el efecto de una dosis mayor de RBV (ajustada al peso del paciente) sobre la respuesta viral temprana (RVT) al tratamiento de la hepatitis C en pacientes con coinfección por VIH.

Métodos: La negatividad en una prueba de ARN-VHC en la semana 4 del tratamiento tiene un gran valor predictivo de respuesta viral sostenida. Por el contrario, el mejor predictor negativo se define por un descenso inferior a 2 logs en la carga viral C después de 12 semanas de tratamiento. De acuerdo con esto, evaluamos estos dos bien conocidos parámetros de eficacia dentro del estudio PRESCO, un ensayo multicéntrico en el que los pacientes con coinfección VIH/VHC reciben tratamiento con pegIFN alfa 2a (180 mcg/semana) y RBV (1000 mg en pacientes < 75 Kg y 1200 mg en > 75 Kg, independientemente del genotipo). Como comparación se utilizó la información relativa a los citados parámetros virológicos obtenida en los estudios de Fried et al (VIH-neg & 1000-1200 mg/día de RBV) y APRICOT (VIH-pos & dosis fija de 800 mg/día).

Resultados:

Genotipo 1	APRICOT N = 176	Fried N = 298	PRESCO N = 94
ARN-VHC negativo semana 4	13%	31,2%	33,8%
ARN-VHC >2 log semana 12	63%	80,5%	77,7%
Genotipos 2 & 3	N = 95	N = 140	N = 70
ARN-VHC negativo semana 4	37%	84,2%	85,4%
ARN-VHC >2 log semana 12	88%	97,1%	94,3%

Los niveles elevados de RBV en plasma ($p = 0,007$) y la infección por los genotipos 2 y 3 ($p = 0,001$) fueron predictores independientes de la respuesta virológica en las semanas 4 y 12.

Conclusión: El tratamiento de los pacientes VIH/VHC+ con dosis mayores de RBV (ajustadas al peso) permite alcanzar tasas de RVT similares a las observadas en los pacientes mono infectados por VHC.

EFFECTO DE LOS FLAVONOIDES QUERCITINA Y KAEMPFEROL SOBRE LA FORMACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO Y NITRÓGENO Y LA EXPRESIÓN GÉNICA DE LA ENZIMA ÓXIDO NÍTRICO SINTETASA INDUCIBLE EN UN MODELO DE INFLAMACIÓN IN VITRO EN HEPATOCITOS HUMANOS

M.V. García-Mediavilla, S. Sánchez-Campos, B. Gutiérrez-Fernández, I. Crespo, S. González-Sierra, M.J. Tuñón y J. González-Gallego

Departamento de Fisiología. Universidad de León.

Los flavonoides se encuentran ampliamente distribuidos en diversos alimentos, siendo componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana. Entre los efectos beneficiosos atribuidos a los flavonoides cabe destacar su alta capacidad antioxidante, la cual les confiere un potencial terapéutico en diversas enfermedades entre las que se incluyen la cardiopatía isquémica, la arteriosclerosis o el cáncer.

Objetivos: Evaluar, en un modelo de inflamación *in vitro*, los posibles efectos protectores de la quercitina y el kaempferol sobre la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) y nitrógeno (ERNs) y la activación génica de la enzima óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS).

Metodología: Para la realización del estudio se ha utilizado una línea celular derivada de hepatocitos humanos (Chang liver) tratada con citoquinas proinflamatorias en presencia o ausencia de distintas concentraciones de quercitina (Q) o kaempferol (K) (5-200 microM). La formación de peróxidos de hidrógeno, óxido nítrico (NO) y peroxinitros, así como de anión superóxido, se estudió mediante citometría de flujo utilizando los fluoróforos DCFH-DA y DHE, respectivamente. Asimismo, se midió la expresión génica de la iNOS mediante PCR cuantitativa a tiempo real (ARNm) y western blot (proteína), determinando su actividad de manera indirecta mediante la cuantificación de la producción de NO por citometría de flujo y marcaje de las células con DAF-2. Dichas determinaciones se llevaron a cabo a distintos intervalos de tiempo durante 48 horas de incubación.

Resultados: El tratamiento de las células con las citoquinas indujo un incremento de la fluorescencia de la DCF (+319%) respecto a las células control. Dicha inducción se inhibió de forma parcial y dosis-dependiente mediante el tratamiento con quercitina y kaempferol con un máximo a las 24 horas (Q_{200} : -66%; K_{200} : -45%). La producción de anión superóxido también se incrementó tras el tratamiento con las citoquinas (140%) y se redujo por la administración de quercitina, manteniendo su efecto dosis-dependiente y siendo máximo a las 24 h (-50%). En dicho período, la inducción de la producción de NO (+129%) y de la expresión génica de iNOS (ARNm: +23%; proteína: +37%) se redujo de forma dosis-dependiente por ambos tratamientos (NO = Q_{200} : -50%; K_{200} : -32%; ARNm = Q_{200} : -88%, K_{200} : -95%; proteína = Q_{200} : -81%; K_{200} : -85%).

Conclusiones: En nuestro modelo experimental *in vitro*, tanto el tratamiento con quercitina como con kaempferol son capaces de revertir, al menos en parte, el incremento de la formación de EROs y ERNs y la inducción de la expresión de la enzima iNOS observadas tras el tratamiento con las citoquinas proinflamatorias, siendo dicho efecto protector dependiente de la dosis.

Financiado por el Plan Nacional I+D.

COMUNICACIONES SELECCIONADAS PARA PÓSTER

Cirrosis y complicaciones

PAPEL DEL ÓXIDO NÍTRICO (NO) Y DEL PÉPTIDO ATRIAL NATRIURÉTICO (ANP) EN LAS ALTERACIONES DE LA HOMEOSTASIS DEL GMP CÍCLICO EN PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA

C. Montoliu^a, J.A. del Olmo^a, M.A. Serra^a, J.M. Rodrigo^a y V. Felipo^b

^aHospital Clínico Universitario de Valencia. Servicio de Hepatología.
^bLaboratorio Neurobiología. F.C.V. Centro de Investigación Príncipe Felipe. Valencia.

La concentración de GMP cíclico (GMPc) está disminuida en linfocitos y aumentada en plasma de pacientes con cirrosis hepática. Hay tres posibles mecanismos que podrían explicar este aumento: 1) El aumento en la síntesis del GMPc por la guanilato ciclasa soluble (GCs), que se activa por óxido nítrico (NO), 2) por la guanilato ciclasa particulada (GCp), que se activa por el péptido atrial natriurético (ANP) y 3) un aumento de la liberación de GMPc desde células.

Objetivo: Analizar los mecanismos patogénicos implicados en la alteración en la homeostasis del GMPc en pacientes con cirrosis hepática.

Pacientes: Se incluyeron 27 pacientes con cirrosis y 17 controles. 11 pacientes estaban en estadio A de Child-Pugh y 16 en estadio B (n = 16) y de estos últimos, 8 presentaban ascitis. El GMPc se midió en linfocitos y en plasma de pacientes cirróticos y controles usando un kit de inmunoensayo enzimático de Amersham. La activación de la GCs se realizó utilizando SNAP, un donador del NO en linfocitos intactos, midiendo posteriormente el GMPc formado. La determinación de ANP se realizó en el plasma de pacientes cirróticos y controles utilizando un kit de inmunoensayo enzimático de alta sensibilidad de Bachem. Los productos del metabolismo del óxido nítrico (nitrosos y nitritos) fueron medidos por determinación colorimétrica con el reactivo de Griess.

Resultados: En pacientes con cirrosis el contenido de GMPc en linfocitos está disminuido un 50% y la concentración de GMPc en plasma está aumentada un 193% en pacientes sin ascitis y aún más (285%) en pacientes con ascitis. La activación de la GCs por NO esta aumentada significativamente en pacientes no habiendo diferencias entre pacientes con o sin ascitis (227% y 220%, respectivamente). Los niveles de ANP se correlacionan con el grado de disfunción hepática (P = 0,0002, r = 0,518). La concentración de ANP en controles fue de 0,084 ± 0,01 ng/ml, de 0,12 ± 0,005 ng/ml (P = 0,0001) en pacientes en Child-Pugh estadio A y de 0,18 ± 0,03 ng/ml (P = 0,0001) en pacientes en Child-Pugh B (P < 0,001). Además la concentración de ANP fue significativamente más alta en pacientes con ascitis (0,25 ng/ml) que en pacientes sin ascitis (0,10 ng/ml); P < 0,0001. La concentración de nitrosos + nitritos fue de 27 ± 10 mM en controles, 48 ± 36 mM (P = 0,028) en cirrosis estadio A y de 62 ± 35 mM (P = 0,0004) en pacientes con Child Pugh B (P < 0,05, P < 0,001). No se observan diferencias de nitrosos + nitritos entre pacientes con y sin ascitis.

Conclusión: La concentración de GMPc y de ANP en plasma aumenta conforme se deteriora la función hepática. Al aumento del GMPc en plasma de pacientes con cirrosis contribuyen tanto el au-

mento de ANP como el de la activación de la GCs por NO. El aumento adicional de GMPc en pacientes con ascitis depende esencialmente del ANP.

TRATAMIENTO CON TERLIPRESINA Y ALBÚMINA EN ENFERMOS CON CIRROSIS AVANZADA E INSUFICIENCIA RENAL SEVERA

M. Serrano, J.M. Pascasio, J.M. Sousa, E. de la Santa, M. Sayago, M.T. Ferrer, J.L. Márquez, M. Garzón, I. Grilo y M. Cabanillas

Objetivos: Analizar los resultados del tratamiento (Tto) con terlipresina (TLP) y albúmina (ALB) en pacientes con cirrosis e insuficiencia renal severa (IR) secundaria a síndrome hepatorenal tipo I (SHR-I) o asociada a infección grave (IR-INF).

Pacientes y métodos: Se estudiaron 16 pacientes cirróticos con IR severa (creatinina sérica > 2,5 mg/dl) secundaria a SHR-I (8 casos) e IR-INF (8 casos). Se trataron con TLP (0,5-2 mg/4h iv) + ALB iv. Previamente, se habían suspendido los diuréticos y realizado expansión con ALB durante al menos 48h, sin apreciar mejoría. Se analizó la respuesta al Tto y la evolución posterior hasta el trasplante hepático (TH) o fallecimiento. **Definiciones:** *Respuesta completa (RC):* descenso en la creatinina (Cr) hasta valores < 1,5 mg/dl; *Respuesta parcial (RP):* reducción en los niveles de Cr > 50% del valor máximo alcanzado; *No respuesta (NR):* no descenso o disminución ≤ 50% del nivel máximo de Cr. Se investigaron posibles factores predictivos asociados a la respuesta al Tto y a la supervivencia.

Resultados: Edad = 55,5 ± 6,4 años (36-64). Sexo: 13 hombres (81,3%). Grado Child-Pugh (C-P) = 8,8 ± 1,5 (7-12). MELD = 27,5 ± 6,1 (20-40). Etiología: Alcohol 93,8% (VHC, 2 casos y VHB, 1 caso). La severidad de la IR fue similar en los casos de IR-INF y SHR-I (Cr 4,3 ± 1,3 vs 4,6 ± 1,7; p = NS). Al final del Tto (Post-Tto) se observó una mejoría significativa respecto a los valores pretratamiento (Pre-Tto) en la Urea (105,1 ± 58,6 vs 170,4 ± 49,9; p = 0,0001), Cr (1,6 ± 1,1 vs 4,5 ± 1,5; p = 0,0001), Na sérico (132,9 ± 4,1 vs 126,1 ± 5,1; p = 0,002) y TA media (TAm) (81,6 ± 13,1 vs 66,7 ± 12,6; p = 0,001). Se obtuvo RC en 12 pacientes (75%), RP en 2 (12,5%) y NR en 2 casos (12,5%). En 3 pacientes (18,8%) recidivó la IR, respondiendo nuevamente al retratamiento (2 RC y 1 RP). Tras una mediana de seguimiento de 80 días (18-708), 6 pacientes (37,5%) fallecieron y 8 (50%) pudieron ser trasplantados (uno falleció tras el TH). La dosis de TLP fue de 0,8 ± 0,5 mg/4 h (0,5-2) y la mediana de duración del Tto fue de 6,5 días (3-28). Aparecieron efectos adversos en el 75%, siendo el más frecuente el aumento de la presión venosa central (PVC). No se observó asociación significativa entre la respuesta y el tipo de IR ni con otras variables Pre-Tto (edad, C-P, MELD, Urea, Cr, Na sérico, TAm y PVC). Tampoco observamos asociación de ninguna de estas variables con la supervivencia. Sólo el tipo de respuesta al Tto se asoció a la supervivencia: NR 0%, RP 50%, RC 75%; (p = 0,02).

Conclusiones: 1) El Tto con TLP y ALB fue muy eficaz en ambos tipos de IR, obteniéndose RC en el 75% de los casos. 2) Más del 60% consiguieron sobrevivir y el 50% pudieron ser trasplantados, sin empeoramiento del pronóstico Post-TH. 3) La supervivencia estuvo asociada al tipo de respuesta al Tto y no dependió del grado de disfunción hepática Pre-tto ni del tipo ni severidad de la IR. 4) El Tto con TLP + ALB podría estar justificado no sólo en el SHR-I sino también en la IR-INF, ya que la respuesta, evolución y pronóstico parecen similares en ambos tipos de IR.

DEMOSTRACIÓN DE LA EXISTENCIA DE CÉLULAS DENDRÍTICAS EN LÍQUIDO ASCÍTICO DE PACIENTES CIRRÓTICOS. CARACTERIZACIÓN INMUNOFENOTÍPICA EN RELACIÓN A LA PRESENCIA DE DNA BACTERIANO

R. Francés, C. Muñoz, M.L. de la Sen, J.M. González, P. Zapater, S. Pascual, M. Pérez-Mateo y J. Such
Sección de Inmunología y Unidad Hepática. Hospital General Universitario, Alicante.

Introducción: Diversos estudios han confirmado la existencia de una marcada activación de la respuesta inflamatoria en el líquido ascítico (LA) de pacientes con cirrosis y presencia de fragmentos genómicos bacterianos (DNAbact). Las células dendríticas (DCs) son elementos esenciales en el reconocimiento del tráfico bacteriano hasta los nódulos linfáticos mesentéricos y fundamentales en el establecimiento de la respuesta inflamatoria. Sin embargo, no se ha descrito hasta ahora su presencia en LA de pacientes con cirrosis.

Objetivo: Determinar si las DCs están presentes en el LA de pacientes con cirrosis y caracterizar su inmunofenotipo en relación a la presencia de DNAbact.

Pacientes y métodos: 23 pacientes con cirrosis y ascitis fueron incluidos en el estudio: Grupo I (n = 16), formado por pacientes sin DNAbact en suero y LA determinado por broad-range PCR del gen 16S de procariotas; Grupo II (n = 7), formado por pacientes con DNAbact. Se utilizó Cocktail Lineage 1 (lin 1)-FITC (BD Biosciences, San Jose, CA) con CD3, CD14, CD16, CD19, CD20 y CD56 como marcador por selección negativa de las DCs en LA. Dos subgrupos de DCs fueron identificados posteriormente en lin1-negative gate (lin1-) a partir de la expresión elevada de HLA-DR-PerCP y de la distribución antigénica de CD123 (plasmocitoides) o CD11c (mieloides), respectivamente. Las muestras fueron analizadas usando el software FlowJo 5.7.2 (Tree Star Inc, Ashland, OR). Se incluyeron controles $mIgG_1$ y $mIgG_{2a}$ para cada muestra analizada.

Resultados: No hubo diferencias significativas entre los Grupos I y II en cuanto al porcentaje de población lin1-, correspondiente a DCs y basófilos. La población CD123+ en el Grupo II representó hasta un 7,5% del total de células lin1-, siendo significativamente superior a la media de la población CD123+ en el grupo I (5% lin1-, p < 0,05). La población CD11c+ fue siempre inferior a la CD123+ en ambos grupos y no hubo diferencias significativas entre ellos en lo referente a este antígeno (tabla 1).

	total events	total - lin1	total CD123+	total CD11c+	% lin 1	% lin 1- CD123+	% lin 1- CD11c+
PCR- (n = 16)	100000	1480 ± 485	69 ± 40	41 ± 31	1,48 ± 1	4,97 ± 3,22	2,80 ± 1,87
PCR+ (n = 7)	100000	1893 ± 575	145 ± 84*	41 ± 30	1,89 ± 1	7,50 ± 2,68*	2,17 ± 1,56

*p < 0,05 comparado con Grupo I (PCR-)

Conclusiones: Las células dendríticas están presentes en el líquido ascítico de pacientes cirróticos con ascitis, siendo la población CD123+ la mayoritaria dentro de ellas. Las DCs CD123+ son sensibles a la presencia de DNAbact mientras que la población CD11c+ parece no resultar modificada, seguramente como consecuencia de la carencia del receptor Toll-like 9 que sí expresan las DCs plasmocitoides.

DISMINUCIÓN DE LAS LESIONES FOCALES DE LA SUSTANCIA BLANCA CEREBRAL EN LA CIRROSIS HEPÁTICA DESPUÉS DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

B. Mínguez^a, A. Rovira^b, J. Alonso^b y J. Córdoba^a

^aServicio de Medicina Interna-Hepatología, ^bUnidad de Resonancia Magnética^b. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción: Las lesiones focales de la sustancia blanca (LFSB) son alteraciones de origen vascular, muy frecuentes en la población general, cuya progresión se asocia a deterioro cognitivo. Se consideran irreversibles y su desarrollo se asocia al envejecimiento y a la presencia de factores de riesgo vascular. Se han descrito alteraciones de la barrera hemato-encefálica en la encefalopatía hepática, que podría influir en la evolución de las LFSB.

Objetivo: Analizar la presencia de LFSB en pacientes con cirrosis hepática en espera de trasplante hepático y relacionar estas lesiones y los cambios en su volumen con la función cognitiva antes y después del trasplante.

Pacientes y métodos: Se realizaron test neuropsicológicos y estudio de RM (T2 FLAIR) a treinta pacientes. El estudio se repitió 6-12 meses después del trasplante en 27 pacientes.

Resultados: Se identificaron LFSB en 20 pacientes (66,6%), que tenían una edad media significativamente mayor que los que no las presentaban (60,2 vs 46,1 años; p = 0,001). No existían diferencias entre estos grupos en parámetros biológicos de función hepática o en factores de riesgo cardiovascular. El volumen lesional previo al trasplante se correlacionaba con la función cognitiva global (r = -,710; p < 0,001). Después del trasplante se observó una significativa disminución del volumen lesional (p = 0,003) que se correlacionaba con una mejoría de la función cognitiva global (r = -,663; p = 0,002).

Conclusión: Es frecuente observar lesiones focales cerebrales en pacientes con cirrosis hepática. Estas lesiones son parcialmente reversibles tras normalización de la función hepática y se correlacionan con la función cognitiva de los pacientes. Aunque su origen se desconoce, podrían reflejar focos de edema cerebral en áreas con una especial vulnerabilidad producida por la existencia de cambios involutivos microvasculares.

ANÁLISIS FÁRMACO-ECONÓMICO DEL TRATAMIENTO DEL SANGRADO AGUDO POR VARICES ESOFÁGICAS CON DOS REGÍMENES DE DOSIFICACIÓN DE SOMATOSTATINA COMBINADA CON ESCLEROTERAPIA

M.A. Amorós^a, P. Ferrandis^b, E. Climent^b, J.M. Palazón^a, E. de Madaria^a, L. Sempere^a, S. Pascual^a, F. Carnicer^a, J.P. Ordovás^b y M. Pérez-Mateo^a

^aAparato Digestivo, Hospital General Universitario de Alicante.

^bServicio de Farmacia Hospitalaria, Hospital general Universitario de Alicante.

Objetivo: Comparar la eficiencia de dos regímenes de tratamiento con somatostatina (SMT) a dosis de 250 mcg/h vs 500 mcg/h de la hemorragia digestiva alta (HDA) varicosa combinados con escleroterapia.

Método: Se incluyó en el estudio a 62 pacientes que ingresaron en nuestro hospital por HDA varicosa, con indicación de tratamiento vasoactivo y escleroterapia. Se realizó un ensayo clínico, aleatorizado y doble ciego en el que 29 de los pacientes ingresados recibieron SMT a dosis de 250 mcg/h y los otros 33 pacientes recibieron 500 mcg/h de SMT (ambos tratamientos farmacológicos se combinaron con escleroterapia). Se compararon las tasas de respuesta global (hemostasia inicial y/o ausencia de sangrado temprano). Se calcularon los costes de estancia media en la Unidad de Sangrantes, los costes farmacológicos y de la técnica endoscópica y la escleroterapia; se tuvieron en cuenta los costes del fracaso terapéutico y de las reacciones adversas de los fármacos empleados.

Resultados: No se encontraron diferencias estadísticamente significativas de eficacia global entre los dos tratamientos (con tasas de hemostasia inicial y/o ausencia de sangrado temprano del 66% y 88% respectivamente, RR (IC 95%) de 1,2 (0,9-1,7), con SMT 250 mcg/h y SMT 500 mcg/h respectivamente. En el caso básico el coste medio de la enfermedad por paciente fue de 3489 € y 3174 €, para SMT 250 mcg/h y 500 mcg/h respectivamente, esto supone un coste adicional de 315 € por paciente tratado con 250 mcg/h.

Conclusiones: El coste de tratamiento del episodio de HDA varicosa con SMT es menor cuando se utiliza la dosis de 500 mcg/h durante cinco días combinado con escleroterapia, y produce un ahorro de 315 € por paciente tratado.

ESTUDIO COSTE-EFECTIVIDAD SOBRE LA MEDICIÓN DEL GRADIENTE DE PRESIÓN VENOSA HEPÁTICA EN LA PROFILAXIS DE LA HEMORRAGIA DIGESTIVA ALTA VARICOSA

M.A. Amorós^a, P. Zapater^b, J.M. Palazón^a, L. Sempere^a, S. Pascual^a, F. Carnicer^a, J. Such^a y M. Pérez-Mateo^a

^aAparato Digestivo. Hospital General Universitario de Alicante.

^bFarmacología Clínica. Hospital general Universitario de Alicante.

Objetivo: La hemorragia digestiva alta (HDA) varicosa es una complicación grave de la cirrosis. La profilaxis se realiza con fármacos (nitratos, beta-bloqueantes) combinados o no con ligadura con ban-

das. En este estudio valoramos el coste-efectividad de la realización del estudio hemodinámico previo a la elección del tratamiento.

Métodos: Consideramos un grupo al que realizamos un estudio hemodinámico antes de elegir tratamiento profiláctico (frecuencias obtenidas de un estudio de cohortes realizado en nuestro hospital); se valoró si el paciente respondía (disminución del gradiente $\geq 20\%$ respecto al inicial o gradiente ≤ 12 mm Hg tras la administración de propranolol) y se aplicó profilaxis con propranolol o si era no respondedor, entonces se colocaron bandas; y un segundo grupo en el que la elección del tratamiento se basó en criterios endoscópicos (datos obtenidos de la literatura). A la varices GI se les trató con propranolol + nitratos y a las GII-III-IV se les añadió la ligadura endoscópica con bandas. En ambos grupos se contemplaron las probabilidades de resangrado. Construimos un árbol de probabilidades, con las frecuencias de resangrado observadas, calculamos el coste de cada procedimiento diagnóstico/terapéutico realizado en cada grupo y comparamos el coste total de ambos. Horizonte temporal: 1 año. Se consideró una recidiva anual, como máximo, por paciente. Perspectiva desde el punto de vista del Sistema de Salud.

Resultados: En el grupo del estudio respondieron un 36%, estos recibieron tratamiento betabloqueante, la tasa de resangrado fue 0%. Entre los no respondedores resangraron un 17%. En el grupo sin estudio se trató con propranolol + nitratos al 28,42% y resangraron un 28%; entre los que además recibieron bandas resangraron un 13%. El coste total de tratamiento del grupo con estudio fue 3888,84€ y el del grupo sin estudio 4157,47€. Por tanto, en nuestro medio la realización del estudio hemodinámico se muestra como una herramienta coste-efectiva en la profilaxis de la HDA y mantiene una relación coste-efectiva favorable comparado con la no realización del estudio mientras la tasa de recidiva de la HDA, en los que se realiza el estudio, sea inferior al 21% y mientras que supere el 5% en los que no se realiza.

DESARROLLO DE UN NUEVO MODELO EXPERIMENTAL DE ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA EN RATAS CIRRÓTICAS CON ASCITIS EXPERIMENTAL Y LIGADURA TOTAL DE LA VENA PORTA

M. Miquel, G. Òdena, R. Bartolí, R. Planas, R.M. Morillas, H. Masnou y M.A. Gassull

Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona.

Introducción: No se dispone de un modelo experimental de encefalopatía hepática que además de reproducir las características neuroanatómicas y neuroquímicas, se acompañe de las alteraciones causadas por la hepatopatía con derivaciones portosistémicas e insuficiencia hepática.

Objetivo: Desarrollar un modelo de encefalopatía hepática en ratas cirróticas.

Métodos: Se incluyeron 78 ratas Sprague-Dawley macho, de las que finalmente se estudiaron 40 distribuidas en cuatro grupos (A: 10 ratas con cirrosis y ascitis; B: 10 ratas con cirrosis y ascitis y ligadura total de la vena porta (LTP); C: 10 ratas sanas con LTP y D: 10 ratas sanas con operación ficticia). La LTP se realizó a las 6 semanas de tratamiento con CCl_4 (o de estabulación en las ratas sanas). Al desarrollar ascitis se procedió al sacrificio de los animales, previa realización de un estudio de grado de derivación portosistémica mediante microesferas. Se determinó el amonio cerebral y plasmático y la endotoxemia plasmática. Para el análisis estadístico se realizó la prueba de Kruskal-Wallis con contraste posterior con U- de Mann-Whitney.

Resultados: La mortalidad del modelo fue elevada (A: 55%, B: 67%, C: 37%). El grado de derivación portosistémica fue parecido en los grupos A, B y C y prácticamente inexistente en el D ($33 \pm 11\%$; $54 \pm 10\%$; $52 \pm 14\%$ y $0,27 \pm 0,06\%$). El amonio plasmático fue significativamente superior en el grupo B respecto a C y todos ellos superiores a D; (285 ± 44 , 162 ± 14 , 149 ± 27 y 89 ± 11 $\mu\text{mol/L}$, $p < 0,05$). Además el amonio cerebral fue significativamente superior en el grupo B respecto a C y D; ($0,42 \pm 0,05$ frente a $0,29 \pm 0,03$, $0,27 \pm 0,03$ y $0,25 \pm 0,02$ mmol/Kg , $p < 0,05$). Finalmente, los niveles de endotoxina plasmática fueron significativamente superiores en el grupo B respecto a C y D; ($0,14 \pm 0,067$ frente a $0,034 \pm 0,004$, $0,035 \pm 0,006$ UE/mL , $p < 0,04$).

Conclusiones: El modelo de rata cirrótica con ascitis y LTP reproduce tanto las principales alteraciones fisicoquímicas como las derivaciones portosistémicas e hiperamonemia plasmática y cerebral de la encefalopatía hepática de los pacientes con cirrosis.

ESTUDIO PROTEÓMICO CUANTITATIVO DE LA GLUTAMINASA INTESTINAL EN LA PATOGENESIS DE LA ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA

L. Collantes de Teran^{a,b}, D. Díaz Gómez^c, M. Jover^{a,d}, J. Chen^b, Y. Ah Goo^b, S. Shaffer^b, G. Taylor^b, J.F. Gutiérrez^a, D. Goodlett^b, J.Bautista^a y M. Romero-Gómez^c

^aBioquímica, Bromatología y Toxicología, Universidad de Sevilla,

^bMedicinal Chemistry, University of Washington, Seattle, USA,

^cUnidad de Gestión Clínica de Enfermedades Digestivas. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. España.

La actividad de la enzima glutaminasa activada por fosfato (PAG) intestinal, está incrementada en los pacientes cirróticos con encefalopatía hepática mínima (EHM) comparado con pacientes cirróticos sin EHM. Esta enzima cataliza la deamidación de la glutamina dando lugar a glutamato y amonio que es el principal tóxico implicado en el desarrollo de las alteraciones neurológicas en los pacientes cirróticos. La PAG intestinal podría ser una potencial diana terapéutica para el tratamiento de la encefalopatía hepática. Sin embargo los inhibidores conocidos para esta enzima son altamente tóxicos.

Objetivos: Detectar la presencia de proteínas relacionadas con la PAG y la encefalopatía hepática que podrían ser nuevas dianas terapéuticas.

Métodos: Las proteínas se identificaron mediante tecnología de ICAT (Isotope Coated Affinity Tag). Se analizaron y cuantificaron todas las proteínas implicadas en la regulación intestinal de la PAG. Incluimos 8 ratas sometidas a una anastomosis porto-cava (APC) y 8 ratas sometidas a operación simulada. Tras el aislamiento de los enterocitos de rata se procedió al estudio proteómico cuantitativo en ratas APC y en ratas sham.

Resultados: En la tabla 1 se recogen las principales proteínas cuya expresión está modificada en ratas APC respecto a ratas control. La probabilidad con la que la proteína fue identificada (en tanto por uno) y el ratio medio que expresa la proporción cuantitativa de la proteína en APC y sham. Aquellas proteínas con un ratio mayor que 1 son proteínas con menor expresión en ratas APC que en los controles y aquellas con ratio inferior a 1 son proteínas sobreexpresadas en ratas APC.

Probabilidad	Ratio medio	Descripción
1,00	21,37	Alanina aminotransferasa
0,93	16,35	Aflatoxin B1 aldehído reductasa miembro 2
1,00	7,16	Dipeptidil peptidasa IV
0,99	0,04	Dominio tioredoxin
1,00	0,09	40S proteína ribosomal S11

Conclusiones: La sobreexpresión de proteínas oxidantes junto a la disminución de proteínas reductoras en el intestino de ratas con derivación porto-cava apoya el papel del estrés oxidativo en la patogenia de la encefalopatía hepática. La actividad glutaminasa aumenta la formación de radicales libres que modularían la expresión de estas proteínas.

Financiado por la Red Nacional de Encefalopatía Hepática (G03/155).

COEXISTENCIA DE ESTEATOSIS CON ELEVADA PRODUCCIÓN IN VIVO DE VLDL EN UN MODELO ANIMAL DE HÍGADO GRASO

P. Aspichueta, A. Cano, L. Palacios, I. García-Arcos, I. Delgado, Y. Rueda y B. Ochoa

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco, Leioa.

Los mecanismos patogénicos por los que puede desarrollarse el hígado graso no están completamente dilucidados. En la base puede haber alteraciones metabólicas intrínsecamente originadas en el propio hepatocito, como el aumento de la síntesis de ácidos grasos o la disminución de su oxidación, o consecuencia de un aporte de grasa y/o carbohidratos hacia el hígado que supera la capacidad secretora de lípidos por este órgano, que se reflejaría en una disminución

del transporte de triglicéridos del hepatocito al exterior en forma de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). El objetivo de este estudio fue analizar en ratas Zucker (fa/fa) con esteatosis documentada la secreción de VLDL *in vivo* que pudiera contribuir al desarrollo de la esteatosis hepática. Para realizar este trabajo se emplearon ratas macho de 9 semanas Zucker control (Fa/?) y obesas (fa/fa) con esteatosis, hiperleptinemia, hiperinsulinemia y normogluceemia. Se inhibió el aclaramiento de las VLDL por administración intravenosa de Triton WR-1339, 600 mg/kg al 30% p/v en 0,9% de NaCl. A las 0 y 2 h se obtuvo el suero. Las VLDL se aislaron por ultracentrifugación y su contenido en triglicéridos y colesterol se valoró por métodos de rutina clínica y su contenido en apoB por densitometría tras separación mediante SDS-PAGE. La secreción se calcula restando de los niveles séricos a las 2 h los medidos antes de inyectar el Triton. Se observó un incremento del 57% en la secreción de VLDL por el hígado con esteatosis, siendo éste superior en las partículas que contienen ApoB48. La secreción hepática de triglicérido es 3 veces superior en rata esteatótica que en la control y la de colesterol de 2,3 veces, lo que indica que las VLDL esteatóticas recién liberadas a la circulación son de mayor tamaño. De hecho, la cantidad de triglicérido por partícula es 3,4 veces superior y la de colesterol, en cambio, se mantiene prácticamente igual. En conclusión, la esteatosis en este modelo animal no está provocada por un descenso de la secreción de VLDL, al contrario, se observa una hiperproducción de partículas ricas en triglicéridos.

Subvencionado por UPV/EHU 9/UPV 15942/2004, MSC G03/015.

UTILIDAD DE LOS PARÁMETROS SÉRICOS DE SOBRECARGA FÉRRICA (FERRITINA E IST) EN EL DIAGNÓSTICO DE HEMOCROMATOSIS EN PACIENTES CIRRÓTICOS

M. Carrillo^a, A. Pardo^a, Y. Barrios^b, J.A. Ortega^a, N. Hernández^a, A. Jiménez^b y E. Quintero^a

^aServicio de Aparato Digestivo, ^bUnidad de Investigación Hospital Universitario de Canarias. La Laguna, Tenerife.

Se recomienda realizar cribado de hemocromatosis hereditaria (HH) mediante la determinación de ferritina e IST en los pacientes con hepatopatía crónica. En la cirrosis, sin embargo, la alteración de los parámetros séricos del hierro es frecuente y multifactorial.

Objetivo: Determinar la utilidad de los criterios habituales de sospecha (IST y ferritina) en el cribado de HH en pacientes con cirrosis hepática.

Material y métodos: Se determinaron ferritina sérica e IST en 410 pacientes cirróticos incluidos consecutivamente (edad 58±12 años; 79% varones; 50% Child A, 12% Child C y 60% consumidores activos de alcohol). Se estableció como criterio de sospecha de HH la presencia simultánea de elevación de ferritina (> 200 ng/ml en mujeres y > 300 ng/ml en varones) y de IST (> 45%). En los pacientes con sospecha se determinaron las mutaciones principales del gen HFE. Los criterios diagnósticos de HH fueron: homocigosidad para la mutación C282Y y/o índice de hierro hepático > 4,1.

Resultados: 98 pacientes (24%) cumplieron criterios de sospecha. El índice de Child (RR 1,41; IC 95% 1,25-1,56), el consumo activo de alcohol (RR 1,71; IC 95% 1,02-2,89) y la ausencia de hemorragia digestiva previa (RR 0,29; IC 95% 0,15-0,60) se identificaron como las variables predictivas independientes de sospecha de HH. Se alcanzó el diagnóstico de HH en 8 pacientes (6 homocigotos para C282Y y 2 con otros genotipos pero con IHH > 4,1). Los pacientes con HH presentaron mejor función hepática que aquellos con criterios de sospecha sin HH (puntuación de Child 5 ± 1 frente a 8 ± 2 y puntuación de MELD 7 ± 3 frente a 15±6, respectivamente) sin que se observaran diferencias significativas en la proporción de pacientes con consumo activo de alcohol (50% frente a 74%, p = 0,2). La sensibilidad, especificidad, VPN y VPP para HH del criterio de sospecha utilizado fueron de 100%, 78%, 100% y 8% respectivamente. El área bajo la curva ROC para ferritina sérica fue de 0,97 (IC 95% 0,96-0,99) y para IST de 0,90 (IC 95% 0,86-0,94) obteniéndose unos puntos de corte óptimos de 1240 ng/ml y de 60% respectivamente. Al considerar únicamente a los pacientes con consumo activo de al-

cohol las áreas bajo la curva ROC para ferritina e IST fueron de 0,98 (IC 95% 0,96-0,99) y de 0,92 (IC 95% 0,87-0,96) con unos puntos de corte óptimos de 1507 ng/ml y de 75% respectivamente.

Conclusiones: En la cirrosis, especialmente en presencia de insuficiencia hepática avanzada o consumo activo de alcohol, los criterios habituales de sospecha de HH son poco específicos. La presencia de HH en pacientes cirróticos es muy improbable con cifras de ferritina sérica e IST inferiores a 1.000 ng/ml y 60% respectivamente.

INTERACCIÓN ENTRE SLC11A1 Y TNF EN LA SOBRECARGA FÉRRICA EN PACIENTES CON HEMOCROMATOSIS ASOCIADA A MUTACIÓN HOMOZIGOTA C282Y

E. Hoyas^a, M. Jover^a, P.A. Krayenbuehl^b, M. Montes-Cano^c, M.F. González-Escribano^c y M. Romero Gómez^a

^aUnidad de Hepatología. UGCED. Hospital universitario de Valme. Sevilla. ^bDepartment of Internal Medicine. University Hospital of Zurich. Switzerland. ^cServicio de Inmunología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.

Introducción: La sobrecarga férrica es diferente entre pacientes, dependiendo de la edad y del sexo. No obstante, otros factores pueden influir en el acúmulo férrico.

Propósito: Conocer el papel de los polimorfismos del promotor del gen SLC11A1 y del gen TNF en el acúmulo férrico en pacientes con hemocromatosis hereditaria asociada a mutación homocigota C282Y.

Pacientes y métodos: Se incluyen 94 pacientes diagnosticados de HG C282Y homocigotos con sobrecarga férrica y 194 controles sanos (CS). Analizamos la sobrecarga férrica mediante la medición de la ferritinemia en sangre periférica, la cantidad total de hierro extraído con la flebotomía (n = 94) y la concentración de hierro en hígado (n = 27). Se valoró la fibrosis hepática (n = 51) y la cifra de transaminasas [ALT (n = 94)]. Analizamos los polimorfismos del promotor del gen SLC11A1 y del TNF mediante técnicas de PCR. Se describen tres genotipos del SLC11A1 (2/2, 3/2 y 3/3) y dos polimorfismos bialélicos del TNF (TNF-308A y TNF-238A).

Resultados: La distribución de genotipos de SLC11A1 y de TNF-308A fue similar en pacientes con HG que en controles sanos [SLC11A1: genotipo 3/3: HG = 45/94 vs CS = 100/194; p = ns. TNF-308A: HG = 18/94 vs CS = 65/194; p = ns]. Los diferentes genotipos no se asociaron ni con el nivel de ALT ni con el estadio de fibrosis. Encontramos un desequilibrio de ligamiento entre SLC11A1 genotipo 3/3 y TNF -308A asociados a un mayor acúmulo de hierro. La concentración de hierro hepático fue de 225 ± 83 frente a 136 ± 95 microg/g; p = 0,09. Las cifras de ferritina plasmática fueron similares en ambos grupos (1986 ± 1235 vs 1960 ± 1353 ng/ml; p = 0,9. En cambio, la concentración de hierro extraído mediante flebotomías fue muy superior en pacientes con el haplotipo SLC11A1 3/3 TNF -308A: 10,9 ± 6,2 vs 5,0 ± 4,0 gramos de hierro; p < 0,001.

Conclusiones: La penetrancia genética y la expresión fenotípica es muy variable en la hemocromatosis hereditaria asociada a mutación C282Y. Los genes reguladores del metabolismo férrico como SLC11A1 y TNF podrían desempeñar un papel relevante en la acumulación total de hierro.

Agradecimiento: Grupo PAI CTS-532. Consejería de Innovación. Junta de Andalucía.

ELASTOGRAFÍA HEPÁTICA: UN NUEVO PROCEDIMIENTO NO INVASIVO PARA ESTABLECER LA PROGRESIÓN HISTOLÓGICA DE LA CIRROSIS BILIAR PRIMARIA

A. Parés^a, L. Caballería^a, E. Lázaro^a, A. García-Criado^b, M. Navasa^a y R. Gilibert^b

^aUnidad de Hepatología, Institut de Malalties Digestives i Metabòliques, y ^bSección de Ecografías, Centro de Diagnóstico por la Imagen, Hospital Clínic, IDIBAPS, Barcelona.

Introducción y objetivos: La cirrosis biliar primaria (CBP) se divide en cuatro estadios histológicos, que de hecho expresan el grado de fibrosis. Actualmente la biopsia hepática es el único procedi-

miento invasivo fiel para establecer la gravedad de la lesión hepática, y en consecuencia para determinar el efecto de distintos tratamientos. Recientemente se ha desarrollado un nuevo procedimiento no invasivo, la elastografía, para detectar el grado de fibrosis hepática, por lo cual se ha investigado la utilidad de la elastografía para conocer la progresión de la CBP.

Pacientes y métodos: Se han estudiado 150 pacientes con CBP (138 mujeres, edad media $59,7 \pm 1,0$ años) tratados con ácido ursodesoxicólico (15 mg/kg/d) desde el diagnóstico. Además de las pruebas clínicas y analíticas usuales, se determinó la elasticidad hepática mediante elastografía transitoria (FibroScan) y una ecografía abdominal. El estadio histológico se basó en la clasificación de Ludwig.

Resultados: La elasticidad hepática global de la serie osciló entre 2,6 y 63,9 (mediana 6,8) kPa, y fue claramente distinta según el estadio histológico (media y 95% IC): 6,25 (5,68 – 6,81) en los 84 pacientes en estadio I, 9,00 (7,19 – 10,81) en los 38 en estadio II, 14,09 (9,51 – 18,67) en los 20 en estadio III, y 31,03 (12,79 – 49,28) en los 8 pacientes con cirrosis (estadio IV) ($p < 0,001$). Además se observó una correlación significativa entre la elasticidad hepática y el estadio histológico ($Rho = 0,57$, $p < 0,001$). La elasticidad hepática se relacionó con los cambios ecográficos (estructura hepática global, $Rho = 0,51$, $p < 0,001$, y superficie hepática, $Rho = 0,41$, $p < 0,001$), y con variables asociadas con hipertensión portal (recuento de plaquetas, $Rho = -0,34$, $p < 0,001$; concentración de gamma-globulinas, $Rho = -0,21$, $p = 0,02$). Las áreas bajo la curva ROC fueron de 0,80 (95% CI, 0,73-0,87) para estadio $> I$, 0,86 (0,78-0,94) para estadio $> II$, y 0,93 (0,86-0,99) para estadio $> III$. Los niveles de corte de 6,85 y 14,45 kPa clasificaron adecuadamente el 96 % de los pacientes con enfermedad inicial (estadios I y II) y el 70% de los pacientes con enfermedad avanzada (estadios III y IV), respectivamente. La asociación entre elasticidad hepática y estadio histológico fue independiente del tiempo transcurrido entre la biopsia hepática y la elastografía.

Conclusiones: La elastografía es un procedimiento no invasivo fiable para determinar la progresión histológica de la cirrosis biliar primaria y en consecuencia podría reemplazar a la biopsia hepática para evaluar la eficacia de distintos tratamientos.

MAYOR EFICACIA Y TOLERABILIDAD DEL ALENDRONATO SEMANAL EN COMPARACIÓN AL ALENDRONATO DIARIO EN PACIENTES CON CIRROSIS BILIAR PRIMARIA Y MASA ÓSEA BAJA

A. Parés^a, I. Vázquez^b, L. Álvarez^b, F. Pons^b, L. Caballería^a, D. Cerdá^b, P. Peris^b, B. Monegal^a y N. Guañabens^b

^aUnidad de Hepatología, Institut de Malalties Digestives i Metabòliques y ^bUnidad de Patología Metabólica Ósea Hospital Clínic. IDIBAPS. Barcelona.

Introducción: Existen pocos estudios que hayan evaluado la eficacia de distintos tratamientos para la osteoporosis asociada a la cirrosis biliar primaria (CBP). Se ha comprobado, sin embargo, que la administración de alendronato (10 mg/d) es más eficaz que el etidronato para aumentar la masa ósea de los pacientes con CBP y tiene pocos efectos adversos.

Objetivo: Evaluar la eficacia y tolerabilidad de una dosis semanal de alendronato (70 mg) en comparación a la dosis diaria (10 mg) sobre la masa ósea y los marcadores bioquímicos del recambio óseo en la CBP.

Pacientes y métodos: 32 mujeres con CBP (edad: 63 ± 2 años) que se aleatorizaron para recibir alendronato semanal ($n = 16$) o diario ($n = 16$) durante 1 año. Además de las pruebas rutinarias de función hepática, se determinó al inicio y cada 6 meses, la densidad mineral ósea (DMO) lumbar y del fémur proximal (DXA), los niveles de 25-OH-vitamina D y los marcadores óseos (osteocalcina, fosfatasa alcalina ósea y PINP en el suero, y excreción urinaria de NTx).

Resultados: No existieron diferencias significativas basales entre los dos grupos. Completaron el año de tratamiento todos los pacien-

tes del grupo semanal y 10 pacientes con alendronato diario (en 4 casos suspendieron el tratamiento por molestias gastrointestinales menores). 18 pacientes (62%) tenían osteoporosis y el resto tenía osteopenia. A los 12 meses de tratamiento se observaron cambios significativos de la DMO lumbar (de $0,920 \pm 0,03$ a $0,950 \pm 0,04$ g/cm², $p < 0,01$) y en fémur total (de $0,841 \pm 0,029$ a $0,851 \pm 0,029$ g/cm², $p = 0,02$) en el grupo semanal, mientras que se observó un incremento no significativo en el grupo diario (lumbar: de $0,890 \pm 0,03$ a $0,901 \pm 0,03$ g/cm², p : ns; fémur total: de $0,842 \pm 0,03$ a $0,839 \pm 0,04$ g/cm², p : ns). Las dos pautas terapéuticas se asociaron a una disminución precoz de los marcadores óseos, aunque a los 12 meses sólo se observaron cambios significativos de NTx en el grupo de alendronato semanal (de $46,8 \pm 6,4$ a $27,7 \pm 5,2$ nM/mM, $p < 0,01$). El cumplimiento fue de $86 \pm 5\%$ y $70 \pm 12\%$ en el grupo semanal y diario, respectivamente. Ninguna de las dos pautas se asoció a alteraciones de la función hepática o de la colestasis. Cuando se evaluó la respuesta respecto a los cambios de DMO a los 12 meses, se observó que los pacientes que no modificaron o perdieron masa ósea ($n = 9$) tenían unos niveles basales de bilirrubina ($1,2 \pm 0,2$ mg/dl) superiores a los de los 17 pacientes con aumento de la DMO al año ($0,7 \pm 0,1$ mg/dl, $p < 0,01$). No se observaron cambios en el cumplimiento, edad o niveles basales de DMO entre estos dos grupos de pacientes.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que el alendronato semanal es más eficaz y tiene un mejor perfil de tolerancia que el alendronato diario en los pacientes con CBP y baja masa ósea. Los efectos del alendronato son menos claros en los pacientes con mayores indicadores de colestasis.

MODELOS PRONÓSTICOS DE MORTALIDAD Y RESANGRADO DEL EPISODIO DE HEMORRAGIA DIGESTIVA ALTA POR HIPERTENSIÓN PORTAL

M.A. Amorós^a, L. Sempere^a, J.M. Palazón^a, B. Valero^a, S. Pascual^a, M.A. de la Hoz^a, J. Sánchez-Payá^b, F. Carnicer^a y M. Pérez-Mateo^a

^aUnidad de Sangrantes Digestivos, ^bUnidad de Medicina Preventiva, Hospital General Universitario de Alicante.

Introducción: La elevada morbimortalidad del episodio de hemorragia digestiva alta (HDA) por hipertensión portal (HTP) hace necesario la investigación de nuevos marcadores pronósticos para la optimización de su tratamiento.

Objetivo: Determinar los distintos factores implicados en el pronóstico del episodio de HDA por HTP y validar los actuales índices pronósticos.

Material y métodos: Prospectivamente recogimos pacientes con HDA por HTP ingresados en la Unidad de Sangrantes Digestivos de nuestro Hospital, entre enero 2003 y septiembre 2005. Definimos mortalidad del episodio, HDA refractaria y resangrado de acuerdo con el Consenso de Baveno II. En las primeras 24 horas de evolución determinamos la natremia (mEq/L), sistema MELD y clasificación Child-Pugh. También recogimos otras variables que podrían influir en la mortalidad (edad, sexo, etiología de cirrosis, hepatocarcinoma (CHC), infección VIH, etiología HDA, HDA refractaria y resangrado). Seguimos a los pacientes durante las seis semanas posteriores al episodio.

Resultados: Se incluyeron un total de 72 pacientes en nuestro estudio, 80,6% varones, con edad media de $58,4 \pm 13,4$ años. La cifra media de natremia fue de $135,5 \pm 4,7$ y del sistema MELD $12,9 \pm 7,3$. La mediana de la puntuación de Child-Pugh fue de 8,0 (7,0-10,0). El estudio bivariante mostró relaciones significativas entre el resangrado y la existencia de CHC, HDA refractaria, MELD ≥ 18 , Child-Pugh ≥ 10 y natremia < 130 mEq/L. El estudio bivariante de la influencia sobre la mortalidad mostró relaciones significativas con CHC, HDA refractaria, resangrado, MELD ≥ 18 , Child-Pugh ≥ 10 y natremia < 130 mEq/L. En el estudio multivariante las únicas variables que mantuvieron su influencia sobre la mortalidad fueron la clasificación de Child-Pugh ≥ 10 (OR 9,0 IC 95% 1,27-64,4) y la existencia de CHC (OR 11,4 IC95% 1,17-111,6).

Conclusión: La clasificación de Child-Pugh y la existencia de CHC parecen ser los indicadores pronósticos de mortalidad independientes más exactos en el episodio de HDA por HTP.

EXPRESIÓN GÉNICA DE OSTEOPROTEGERINA EN EL TEJIDO HEPÁTICO DE PACIENTES CON CIRROSIS BILIAR PRIMARIA

A. Enjuanes^b, N. Guañabens^b, L. Álvarez^b, L. Caballería^a, M.J. Martínez de Osaba^b, P. Peris^b, A. Monegal^b y A. Parés^a

^aUnidad de Hepatología, Institut de Malalties Digestives i Metabòliques, ^bUnidad de Patología Metabólica Ósea. Hospital Clínic. IDIBAPS. Barcelona.

Introducción: Diversos tejidos expresan y producen osteoprotegerina (OPG), que participa en la regulación del remodelado óseo y en otros sistemas biológicos. En un estudio previo describimos un aumento de la concentración sérica de OPG en pacientes con cirrosis biliar primaria (CBP) que se asociaba con la gravedad de la hepatopatía pero no con el grado de recambio óseo o con la presencia de osteoporosis.

Objetivo: Analizar si la expresión génica de OPG en el tejido hepático se relaciona con los valores séricos de OPG y con la gravedad de la enfermedad hepática.

Métodos: Se determinaron los valores séricos de OPG mediante ELISA en 58 pacientes con CBP (edad: 57,4 ± 1,4 años) y en un grupo control de 18 mujeres sanas de edad similar. Se obtuvo una muestra de tejido hepático en 11 de las 58 pacientes con CBP. En total, se obtuvo RNA total de 15 muestras de tejido hepático humano (4 normales y 11 con CBP) y se realizó una reacción de transcripción reversa a partir de 1 µg de RNA total. En un primer paso, se realizó en todas las muestras PCR para OPG, tirosina aminotransferasa (TAT) y β-actina como control de expresión génica. Se utilizó como control positivo de expresión de OPG el cDNA obtenido de cultivos primarios de osteoblastos humanos y la expresión génica de osteocalcina se empleó para determinar el fenotipo osteoblástico. En un segundo paso, los transcritos de OPG se cuantificaron mediante PCR en tiempo real. Los resultados se muestran como expresión de OPG versus β-actina (expresión génica relativa de OPG).

Resultados: Los valores séricos de OPG fueron significativamente superiores en las 58 pacientes con CBP (5,5 ± 0,2 pM/l) que en los controles (2,9 ± 0,2 pM/l, p < 0,0001) y se asociaron con la gravedad de la enfermedad hepática definida por valores elevados de bilirrubina (> 1,2 mg/dl) (6,6 ± 0,6 vs 5,2 ± 0,2 pM/l, p = 0,02) y por un índice de Mayo superior a 4 (5,9 ± 0,3 vs 4,9 ± 0,2 pM/l, p = 0,02). Se detectaron transcritos de OPG en todas las muestras de tejido hepático, normales y con CBP. No se observaron diferencias significativas entre la expresión cuantitativa del gen de OPG de pacientes (1,9 ± 0,2) y controles (2,3 ± 0,2). No se correlacionaron los valores séricos de OPG (5,4 ± 0,2 pM/l) y sus respectivos transcritos en el tejido hepático de las pacientes con CBP.

Conclusión: Los valores elevados de osteoprotegerina circulante en pacientes con cirrosis biliar primaria no se asocian con un aumento de su expresión génica en el tejido hepático.

LA PUNTUACIÓN DE MELD ES ÚTIL EN LA PREDICCIÓN DEL PRONÓSTICO DE LOS PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA Y SÍNDROME HEPATORRENAL, PERO NO EN LA DE LOS PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA E INSUFICIENCIA RENAL POR NEFROPATÍA ORGÁNICA

M. Martín-Llahí, A. Torre, M. Guevara, C. Terra, M.E. Baccaro, T. Restuccia, V. Arroyo y P. Ginès
Servicio de Hepatología. Hospital Clínic de Barcelona.

Se dispone de información sobre la supervivencia de los pacientes con síndrome hepatorenal (SHR) pero, en cambio, se desconoce la evolución y los factores pronósticos de los pacientes con cirrosis hepática e insuficiencia renal de causa orgánica (IRO). El objetivo del presente estudio ha sido comparar de forma prospectiva las características clínicas y el pronóstico de 77 pacientes con cirrosis he-

pática e insuficiencia renal, 39 con IRO y 38 con SHR. La IRO fue diagnosticada por la presencia de hematuria, proteinuria, y/o alteraciones ecográficas y en 12 casos (31%) fue confirmada por biopsia renal. En el momento del diagnóstico, los pacientes con IRO tenían una insuficiencia renal más severa que los pacientes con SHR (creatinina sérica 3,3 ± 1,5 mg/dl vs 2,4 ± 0,7 mg/dl, respectivamente, media ± DE, p < 0,01). En cambio, la función hepática y la función circulatoria estaban menos alteradas en comparación con los pacientes con SHR (bilirrubina 1,8 ± 1,6 vs 8,6 ± 10 mg/dl, p < 0,001; INR 1,2 ± 0,2 vs 1,5 ± 0,4, p < 0,005, presión arterial media 84 ± 13 vs 73 ± 8 mmHg, p < 0,001; actividad renina plasmática 2,7 ± 5 vs 6,8 ± 5,4 ng/ml.h, p < 0,01, respectivamente). La puntuación de MELD fue más baja en los pacientes con IRO en comparación con los pacientes con SHR (20 vs 25 respectivamente; p < 0,005). Finalmente, la supervivencia de los pacientes con IRO fue mejor que la de los pacientes con SHR (probabilidad de supervivencia a los 3 meses del 59% vs 15%, respectivamente; p < 0,001). En los pacientes con SHR, el MELD fue un factor predictivo independiente de supervivencia. En cambio, en los pacientes con IRO, el MELD no tuvo valor predictivo de supervivencia. En conclusión, los resultados de este estudio demuestran que existen notables diferencias clínicas entre los pacientes con cirrosis y IRO respecto los pacientes con SHR. En particular, los pacientes con cirrosis e IRO tienen una mejor supervivencia que los enfermos con SHR. Este mejor pronóstico está probablemente relacionado con una mejor función hepática y circulatoria. La puntuación de MELD no es útil para evaluar el pronóstico de los pacientes con cirrosis e IRO.

RELACIÓN ENTRE LA FUNCIÓN RENAL Y LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE CREATININA EN PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA. IMPORTANCIA EN LA EVALUACIÓN DEL PRONÓSTICO

C. Terra, M. Guevara, B. Calahorra, T. Restuccia, M.E. Baccaro, M. Martín-Llahí, A. Torre, V. Arroyo y P. Ginès
Servicio de Hepatología Hospital Clínic de Barcelona.

El deterioro de la función renal es una complicación frecuente de los pacientes con cirrosis. La creatinina sérica es el parámetro que se usa habitualmente para valorar la función. Sin embargo, no se ha investigado en profundidad la relación entre la función renal y la creatinina sérica en los pacientes con cirrosis. Además, aunque está bien establecido que en la cirrosis el desarrollo de insuficiencia renal severa tiene muy mal pronóstico, se desconoce si una alteración moderada de la función renal tiene significado pronóstico. Para determinar la relación entre la función renal, la creatinina sérica y la supervivencia, se estudiaron 539 pacientes con cirrosis, 246 (46%) de los cuales tenían determinación del filtrado glomerular (FG) por técnicas sensibles (aclaramiento de inulina o iotalamato). Se construyeron curvas ROC para determinar los valores de creatinina sérica con mayor sensibilidad y especificidad para un determinado valor de FG. El valor de creatinina sérica que mejor predijo una función renal normal (FG > 80 ml/min) fue de 1 mg/dl (área bajo la curva - ABC: 0,76). Por otra parte, el valor de creatinina sérica que predijo mejor la alteración severa de la función renal (FG < 40 ml/min) fue de 1,5 mg/dl (ABC: 0,91). En el conjunto de los 539 pacientes, el grado de empeoramiento de la función renal se correlacionó con la supervivencia. Los pacientes con función renal normal (creatinina sérica ≤ 1 mg/dl) tuvieron una mediana de supervivencia de 713 días, en comparación con 383 días de los pacientes con alteración moderada de la función renal (creatinina sérica 1-1,5 mg/dl) (p < 0,001). Los pacientes con alteración severa de la función renal (creatinina sérica > 1,5 mg/dl) tuvieron muy mal pronóstico, con una mediana de supervivencia de sólo 88 días (p < 0,001). En el análisis multivariado, la creatinina sérica fue un factor predictivo independiente de supervivencia. En conclusión, en pacientes con cirrosis hepática el valor máximo de creatinina sérica indicativo de una función renal normal es 1 mg/dl. Valores entre 1 y 1,5 mg/dl son indicativos de insuficiencia renal y se asocian con una reducción de la supervivencia.

OXIDACIÓN PROTEICA EN ASTROCITOS DE RATAS SOMETIDAS A DERIVACIÓN PORTO-CAVA: PAPEL DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN LA ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA

M. Jover^{a,b}, D. Díaz Gómez^b, E. Fontiveros^a, L. Collantes de Terán^a, J. Parrado^a, I. Camacho^c, J.D. Bautista^a y M. Romero Gómez^b

^aDepartamento de Bioquímica, Bromatol., Toxicol. y M.L. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla, ^bUnidad de Hepatología. UGCED. ^cServicio de Bioquímica. Hospital Universitario de Valme. Sevilla.

Introducción: La formación de radicales libres, sustancias oxigenadas activas (SOA) y sustancias nitrogenadas activas (SNA) tienen lugar en astrocitos como respuesta a la hiperamonemia (Murphy et al. *J Neurosci Res* 2001; 6:282-8). Recientemente, el estrés oxidativo se ha implicado en la fisiopatología de la encefalopatía hepática (EH) (Norenberg et al. *Metab Brain Dis* 2004;19). Los grupos carbonilo son introducidos en las proteínas por mecanismos oxidativos sobre determinados restos aminoacídicos de las proteínas (fundamentalmente histidina, arginina y lisina). Este proceso tiene lugar en una gran variedad de procesos fisiológicos y patológicos y son marcadores de oxidación proteica (Butterfield et al. *Mech Ageing Develop* 2001;12:945-962).

Objetivos: Estudiar el daño proteico causado por radicales libres y SOA/SNA inducidas por la hiperamonemia mediante la cuantificación de grupos carbonilo en mitocondrias de astrocitos aisladas de ganglios basales y córtex de ratas sometidas a derivación porto-cava (DPC).

Materiales y métodos: Incluimos 8 ratas Wistar macho (250-300 g) sometidas a DPC y 8 ratas sham. Las mitocondrias no sinápticas cerebrales se han obtenido mediante centrifugación en gradiente (12,000 g durante 30 min usando Ficoll al 6% y 3%) de acuerdo con el método descrito por Kosenko et al. La cantidad de proteína mitocondrial se ha determinado mediante el método de Bradford. Los grupos carbonilos se han cuantificado mediante la reacción con NDPH de acuerdo con el método de Levine et al. Las proteínas oxidadas se detectaron y se cuantificaron usando un programa de análisis de imagen, mediante la medida de la densidad óptica, correlacionada directamente con la cantidad de grupos carbonilos en la muestra.

Resultados: La oxidación de proteínas mediadas por SOA/ SNA inducidas por la hiperamonemia en ratas con derivación porto-cava y sham en las áreas cerebrales se recogen en la tabla.

	Tipo de ratas	Media ± DS	P
Cerebelo	SHAM	17,9 ± 2,6	ns
	DPC	22,2 ± 9,5	
Córtex	SHAM	7,6 ± 1,7	< 0,01
	DPC	17,8 ± 3,7	
Ganglios basales	SAHM	10,4 ± 2,2	< 0,001
	DPC	24,3 ± 5,4	

Las proteínas más sensibles a la oxidación se localizan en la zona comprendida entre 20 y 80 KDa, sobre todo una proteína de 72 KDa, pendiente de identificar.

Conclusiones: Las proteínas mitocondriales obtenidas de astrocitos de ganglios basales son más sensibles a la oxidación que las proteínas mitocondriales aisladas de mitocondrias no sinápticas de córtex. Todo ello avala la hipótesis de que el estrés oxidativo está implicado en la patogenia de la encefalopatía hepática.

Financiado por el Ministerio de Salud (G03/155) de la Red Nacional de Investigación en Encefalopatía Hepática.

INDICIOS DE UNA RESPUESTA INMUNE TH1/TH2 COMPARTIDA EN PACIENTES CIRRÓTICOS CON ASCITIS Y PRESENCIA DE ADN BACTERIANO

J.M. González-Navajas, R. Francés, C. Muñoz, P. Zapater, S. Pascual, M. Pérez-Mateo y J. Such

Unidad Hepática, Hospital General Universitario. Alicante.

La traslocación bacteriana (BT) es uno de los eventos más importantes en el desarrollo de las infecciones bacterianas en los pacientes con cirrosis y ascitis. Nuestro grupo ha demostrado la presencia

de ADN bacteriano (ADN_{bact}) en el suero y líquido ascítico (LA) de pacientes cirróticos con ascitis estéril y una activación de la respuesta inflamatoria asociada a este hecho. Sin embargo, se sabe poco acerca del tipo de respuesta inmune generada por la presencia de estos fragmentos bacterianos.

Objetivos: Determinar el tipo de respuesta T-dependiente activada por la presencia de ADN_{bact} en el suero y LA de pacientes con cirrosis y ascitis.

Pacientes y métodos: Se incluyeron 86 pacientes con cirrosis y ascitis estéril no neutrocítica, así como 9 pacientes en tratamiento en el HGUA con norfloxacina. La presencia de ADN_{bact} fue identificada, en suero y LA, mediante broad-range PCR del gen 16S y secuenciación de nucleótidos. Los pacientes se agruparon en: Grupo I, presencia de ADN_{bact}; Grupo II, ausencia de ADN_{bact}; Grupo III, pacientes en tratamiento con norfloxacina como descontaminación intestinal (DI). Se cuantificó IL-4, IL-12 y endotoxina (LPS) en suero en todos los grupos y LPS en los grupos I y II (Quantikine ELISA kit, R&D Systems, Minneapolis, US).

Resultados: La composición final de los grupos fue la siguiente: Grupo I, n = 27; Grupo II, n = 59; Grupo III, n = 9. Todos los pacientes en tratamiento con norfloxacina fueron ADN_{bact} negativos. Se identificaron fragmentos de ADN provenientes de bacterias Gram negativas (n = 22) y Gram positivas (n = 5). Los niveles de IL-4 e IL-12 fueron significativamente mayores en aquellos pacientes del Grupo I (IL-4 = 133,2 ± 93,4 pg/mL, IL-12 = 2544 ± 680,3 pg/mL) vs Grupo II (IL-4 = 29,4 ± 18,2 pg/mL, IL-12 = 1345,1 ± 396,0 pg/mL) (p < 0,001 en ambos casos). La comparación de estas citocinas entre los pacientes del Grupo I con ADN_{bact} de Gram negativos y de Gram positivos no mostró diferencias significativas. No se encontró correlación entre las cifras de LPS y ninguna de las dos interleucinas estudiadas. Sin embargo, sí se encontraron diferencias en los niveles de LPS entre los pacientes con presencia de fragmentos de ADN_{bact} de Gram positivos y Gram negativos (0,33 ± 0,18 UE/mL y 0,48 ± 0,2 UE/mL, p = 0,04). Los niveles de IL-4 e IL-12 en los pacientes del Grupo III fueron significativamente inferiores a los del Grupo I, (44,77 ± 83,18 pg/mL y 1660,2 ± 786,3 pg/mL respectivamente, p < 0,05), y similares a los obtenidos en pacientes del Grupo II.

Conclusiones: Nuestros datos sugieren que tanto las respuestas inmunes de tipo Th1 como las Th2 se encuentran activadas por la presencia de ADN_{bact} en este grupo de pacientes, si bien la Th1 parece estar favorecida. Al mismo tiempo, la similitud en los niveles de estas citocinas en los pacientes con fragmentos de ADN_{bact} de Gram positivos o Gram negativos sugieren que la activación generada por el ADN bacteriano es indistinguible de aquella causada por otros productos bacterianos como el LPS.

COMPARACIÓN ENTRE LA PUNTUACIÓN DE MELD Y LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE SODIO EN LA EVALUACIÓN DEL PRONÓSTICO DE LOS PACIENTES CON CIRROSIS EN LISTA DE ESPERA DE TRASPLANTE HEPÁTICO

M.C. Londoño, D. de las Heras^a, M. Guevara^a, M. Navasa^a, A. Rimola^a, J.C. García-Valdecasas^b, V. Arroyo^a y P. Ginès^a

^aServicio de Hepatología, ^bServicio de cirugía Hepática y Trasplante. Hospital Clínic. Barcelona.

En la actualidad se considera que la puntuación de MELD es el método de elección para la evaluación del pronóstico de los pacientes con cirrosis hepática en lista de espera de trasplante. Estudios recientes sugieren que la concentración sérica de sodio también tiene valor pronóstico en esta situación. El objetivo de este estudio fue comparar el MELD y la concentración sérica de sodio en la predicción de la mortalidad a corto y largo plazo en pacientes en lista de espera de trasplante hepático. Se evaluaron 308 pacientes consecutivos con cirrosis hepática sin hepatocarcinoma incluidos en lista de espera de trasplante hepático entre enero de 2000 y marzo de 2005. Durante una mediana de seguimiento de 6,4 meses, 190 (62%) pacientes fueron trasplantados, 65 (21%) fallecieron antes del trasplante, 25 (8%) fueron excluidos de la lista por distintos

motivos y 28 (9%) estaban en lista en el momento de realizar el análisis de los resultados. Los únicos factores predictivos independientes de mortalidad a los 3 y 12 meses de inclusión en lista fueron la puntuación de MELD y la concentración sérica de sodio. La probabilidad de fallecimiento en lista de espera de los pacientes con MELD ≥ 17 (mediana de la serie) fue de 30% y 44% a los 3 y 12 meses de la inclusión, respectivamente, en comparación con 12% y 14% de los pacientes con MELD < 17 ($p < 0,01$). En relación al sodio sérico, la probabilidad de fallecimiento en lista de espera de los pacientes con hiponatremia (< 130 mEq/L) fue de 51% y 57% a los 3 y 12 meses de la inclusión, respectivamente, en comparación con 17% y 25% de los pacientes sin hiponatremia ($p < 0,01$). El MELD y el sodio sérico tuvieron un valor similar en la predicción de la mortalidad a 3 y 12 meses, estimada mediante comparación de las respectivas áreas bajo la curva ROC (MELD: 0,68 y 0,75; sodio sérico: 0,73 y 0,64, a los 3 y 12 meses, respectivamente; p , ns). La adición del sodio sérico a la puntuación de MELD no mejoró de forma significativa su valor predictivo en la evaluación de la mortalidad (área bajo la curva ROC de 0,71 y 0,74 a los 3 y 12 meses, respectivamente). En conclusión, tanto el MELD como el sodio sérico son útiles en la evaluación del pronóstico de los pacientes con cirrosis hepática en lista de espera de trasplante. La adición del sodio sérico no parece mejorar el valor predictivo de la puntuación de MELD.

EL AUMENTO DE ESTRÉS OXIDATIVO PODRÍA MODULAR LA BIODISPONIBILIDAD DE ÓXIDO NÍTRICO Y CONTRIBUIR A EMPEORAR LA MICROCIRCULACIÓN HEPÁTICA EN EL HÍGADO CIRRÓTICO

B. Laviña-Siensen, J. Gracia-Sancho, A. Rodríguez-Vilarrupla, H. García-Calderó, J. Bosch y J.C. García-Pagán

La menor biodisponibilidad de ON en el hígado cirrótico provoca disfunción endotelial ocasionando un aumento en la resistencia al flujo portal con el consiguiente desarrollo de hipertensión portal. En diversas patologías vasculares, la disfunción endotelial se ha atribuido al aumento de radicales superóxido (O_2^-), que disminuirían la biodisponibilidad de óxido nítrico (ON) al reaccionar con este dando lugar a la formación de peroxinitritos.

Objetivos: Evaluar si en el hígado cirrótico, un incremento del estrés oxidativo y de la producción de peroxinitritos se asocia a una disminución en la biodisponibilidad de ON.

Métodos: Se evaluó: a) la biodisponibilidad de ON en homogenizados hepáticos de ratas cirróticas por Tetracloruro de Carbono (CH) y controles (CT) mediante la determinación de GMPc (ensayo inmunoenzimático) y de forma directa, en cultivo primario de células endoteliales sinusoidales (CES) aisladas de hígados de rata CT y CH, por microscopía confocal, mediante la molécula fluorescente ON-sensible DAF-FM; b) los niveles de superóxido (O_2^-) por microscopía confocal, mediante tinción con dihidroetidio de hígados de ratas CT y CH, la actividad enzimática (ensayo de reducción de NBT) y expresión (proteica y génica) de las 3 isoenzimas de la superóxido dismutasa (SOD), principales responsables de la degradación de O_2^- , así como la producción de O_2^- NADPH-dependiente (técnica de lucigenina) en homogenizados hepáticos de ratas CT y CH; y c) la nitrotirosinación de proteínas (como marcador de la formación de peroxinitrito mediante western blot) en homogenizados hepáticos de ratas CT y CH.

Resultados: Los hígados CH presentaron una disminución significativa de la concentración de GMPc. Asimismo las CES de ratas CH mostraron una menor intensidad de fluorescencia de DAF-FM, confirmando la existencia de una menor biodisponibilidad de ON en los hígados CH. Por contra, la tinción con dihidroetidio mostró un incremento significativo en los niveles de O_2^- en los hígados CH. Ello se asoció a una menor actividad enzimática total de SOD, y a una disminución significativa de la expresión proteica y génica de sus isoformas citoplasmática y mitocondrial pero no extracelular. No existieron diferencias significativas en los hígados CH y CT en la producción de O_2^- NADPH-dependiente. La menor biodisponi-

bilidad de ON y aumento de O_2^- de los hígados CH se acompañó de un aumento significativo en la nitrotirosinación proteica.

Conclusiones: El hígado CH presenta niveles elevados de O_2^- probablemente en relación a un déficit de SOD. Este exceso de O_2^- podría utilizar ON para formar peroxinitritos, disminuyendo la biodisponibilidad de ON y favoreciendo la aparición de disfunción endotelial. Estos resultados proporcionan una base racional para el uso de antioxidantes para mejorar la biodisponibilidad de ON y la microcirculación hepática en la cirrosis.

INFLUENCIA PRONÓSTICA DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE VCAM EN LOS PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA

D. Rincón, O. Lo Iacono, A. Hernando, C. Ripoll, M.V. Catalina, M. Salcedo, R. Lorente, G. Clemente, A. Matilla y R. Bañares

Antecedentes: El VCAM es una molécula de adhesión intercelular implicada en los procesos de angiogénesis y fibrogénesis asociados al desarrollo de cirrosis hepática cuyo papel en el desarrollo de hipertensión portal y en su historia natural es desconocido.

Objetivos: Estudiar la correlación existente entre la sVCAM y los parámetros hemodinámicos espláncnicos y sistémicos así como analizar su valor pronóstico en cirrosis alcohólica o viral.

Métodos: Se determinaron mediante un ELISA comercial los niveles de sVCAM de vena periférica y de vena suprahepática en 120 pacientes consecutivos que recibieron un estudio hemodinámico en el que se evaluaron parámetros de hemodinámica espláncnica y sistémica. Se excluyeron del análisis 32 pacientes (postrasplante hepático $n = 12$; infección VIH $n = 4$; fracaso hepático fulminante $n = 5$; hepatopatía colestática o criptogénica $n = 11$).

Resultados: Se evaluaron 88 pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática alcohólica ($n = 31$) o viral (VHB $n = 6$; VHC $n = 51$), 11 de ellos con hepatocarcinoma (criterios de Milán), seguidos por un tiempo medio de 312 (170) días. 25 pacientes fallecieron o fueron trasplantados durante este periodo. Hubo una estrecha correlación entre los niveles de sVCAM en sangre periférica y sangre de suprahepáticas ($r = 0,867$; $p = 0,0001$). La sVCAM se correlacionó inversamente con los parámetros hemodinámicos de circulación hiperdinámica (Presión arterial media: $r = -0,272$; $p = 0,003$. RVS: $r = -0,296$; $p = 0,02$. Sodio sérico: $r = -0,302$; $p = 0,005$). Aunque no hubo relación entre el gradiente de presión venosa hepática y la sVCAM en la totalidad de los pacientes ($r = 0,1$; $p = 0,83$) sí existió correlación en pacientes con cirrosis alcohólica ($r = 0,48$; $p = 0,006$). La sVCAM se correlacionó con la puntuación de Child-Pugh ($r = 0,46$; $p = 0,0001$) y la puntuación MELD ($r = 0,45$; $p = 0,0001$). La probabilidad de supervivencia fue significativamente inferior en los pacientes con niveles de sVCAM por encima del valor mediano (0,67, 0,52, 0,45 vs 0,94, 0,83, 0,77 a 6, 12 y 18 meses respectivamente; log-rank = 7,61; $p = 0,006$). Se construyó un modelo de supervivencia, incluyendo MELD, Child, Na, GPVH y sVCAM en el cual la única variable predictiva independiente fue la concentración de sVCAM (HR 17,7; IC 95% 2,3-131,8).

Conclusiones: La sVCAM parece estar vinculada al desarrollo de circulación hiperdinámica de la cirrosis hepática. Se observó un marcado valor pronóstico de la sVCAM que debe confirmarse en posteriores estudios.

INSUFICIENCIA SUPRARRENAL RELATIVA EN PACIENTES CIRRÓTICOS CON SHOCK SÉPTICO. EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE HIDROCORTISONA

J. Fernández, A. Escorsell, M. Zabalza, M. Navasa, A. Mas y V. Arroyo

IMD, Hospital Clínic Barcelona.

La insuficiencia suprarrenal relativa se define como una respuesta adrenal inadecuada ante situaciones de estrés (cortisol basal < 15 $\mu\text{g/dL}$ y/o incremento < 9 $\mu\text{g/dL}$ tras la administración de actocortina). En población no cirrótica con shock séptico su incidencia se sitúa entre el 10 y el 40% según las series, no existiendo datos en pacientes cirróticos.

Objetivos: Determinar la incidencia de insuficiencia suprarrenal relativa en pacientes cirróticos con shock séptico y establecer el significado pronóstico de su tratamiento.

Métodos: Estudio prospectivo no comparativo en una serie de pacientes consecutivos con cirrosis hepática y shock séptico. Determinación de los niveles de cortisol basal y tras la estimulación con actocortina (250 µg) en las primeras 72h de su ingreso en UCI. Evaluación de los efectos de la administración endovenosa de hidrocortisona sobre la supervivencia de los pacientes con insuficiencia suprarrenal.

Resultados: Se incluyeron 25 pacientes (Child A/B/C: 0/6/19). La incidencia de insuficiencia suprarrenal en el total de la serie fue del 68% (17 pacientes). Un 84% de los pacientes con insuficiencia hepática avanzada (Child C) presentaron insuficiencia suprarrenal relativa en comparación con un 17% en los pacientes Child B ($p = 0,006$). No existieron otras diferencias significativas en las características basales entre los pacientes con y sin insuficiencia suprarrenal. La mortalidad global de la serie fue del 24% en la UCI y del 28% durante el ingreso hospitalario. Estos datos difieren de la mortalidad observada en una serie previa de nuestro hospital que incluyó 48 pacientes cirróticos con shock séptico con unas características basales similares que no fueron tratados con hidrocortisona (71%, $p = 0,001$).

Conclusiones: La insuficiencia suprarrenal relativa es extremadamente frecuente en pacientes cirróticos con shock séptico e insuficiencia hepática avanzada. La administración de hidrocortisona parece mejorar su supervivencia.

(CD4+: 7% vs 50%, 0% vs 62%, 0% vs 43%, 13% vs 39%; CD8+: 21% vs 38%, 8% vs 44%, 17% vs 43%, 13% vs 50%, para E2, NS3, NS5A y NS5B, respectivamente). En el mes 3, la respuesta CD8+ frente a todas las proteínas disminuyó significativamente en los pacientes mono infectados y estos niveles se mantuvieron durante todo el período de seguimiento. En los pacientes coinfectados los hallazgos fueron similares, pero las diferencias no fueron significativas probablemente por la baja proporción de pacientes con respuesta específica antes del tratamiento. En el mes 12, la respuesta CD8+ frente a todas las proteínas era indetectable en todos los pacientes excepto en uno. La respuesta CD4+ disminuyó frente a las proteínas NS3 y NS5A en los pacientes mono infectados y no hubo cambios en la respuesta frente a E2 y NS5B. En los pacientes VIH+ la respuesta CD4+ (muy baja basalmente) no experimentó ningún cambio significativo.

Conclusiones: La existencia de una respuesta inmune de linfocitos T VHC-específica depende de una estimulación antigénica continua. Estas respuestas son menores en los pacientes coinfectados por VIH y se hacen indetectables cuando se suprime la replicación del VHC durante el tratamiento con peginterferón y ribavirina.

EXPRESIÓN DE RECEPTORES DE QUIMIOQUINAS EN LAS CÉLULAS T SEGÚN EL GRADO DE ACTIVIDAD INFLAMATORIA Y FIBROSIS HEPÁTICA EN LA HEPATITIS CRÓNICA C

M. Calvino^a, J.R. Larrubia^b, E. Sanz^b, C. Perna^c, J. Pérez^a, S. Benito^a, F. González^b, T. Parra^a y A. Bienvenido^b

^aUnidad de Investigación, ^bS. Aparato Digestivo y ^cS. Anatomía Patológica. Hospital Universitario Guadalajara.

Introducción: Los receptores de quimioquinas favorecen la migración de células T efectoras específicas al parénquima hepático para conseguir el control viral en la primoinfección por VHC. Sin embargo, cuando la infección se cronifica ocasionan la quimiotaxis de un infiltrado mononuclear no específico responsable de la inflamación hepática crónica. El conocimiento de los perfiles de quimioquinas asociados con esta respuesta inflamatoria tiene un interés terapéutico indudable.

Objetivo: Correlacionar la expresión de los receptores CXCR3, CCR5 y CCR3 en las células CD4+ de sangre periférica (SP) y células CD8+ de SP e intrahepáticas (IH) con el grado de actividad inflamatoria y fibrosis según el índice de Scheuer en la hepatitis crónica C (HCC).

Métodos: Se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica (CMSP) e intrahepáticas (CMIH) de 27 pacientes con HCC. Las CMSP se separaron mediante gradiente de Ficoll-Hypaque y las CMIH mediante digestión de un fragmento del cilindro de biopsia hepática con DNAasa y colagenasa-I. Las células mononucleares se marcaron con anticuerpos anti-CD8, anti-CD4, anti-CXCR3, anti-CCR5 y anti-CCR3 unidos a distintos fluorocromos y se analizaron mediante citometría de flujo. El grado de inflamación y fibrosis hepática se evaluó mediante el índice de Scheuer tras tinción con hematoxilina-eosina. El análisis estadístico de las distintas correlaciones se realizó con el coeficiente de Spearman. Se consideró significativo un valor $p < 0,05$.

Resultados: Se observó una correlación positiva entre la frecuencia de células CD8+/CXCR3+ intrahepáticas y la actividad porteroportal (APP) ($r = 0,7$; $p < 0,01$) y lobulillar (AL) ($r = 0,6$; $p < 0,05$). En SP se encontró una correlación positiva entre la frecuencia de células CD4+/CCR5+ y la AL ($r = 0,6$ $p < 0,05$) y entre las células CD4+/CXCR3+ y la APP ($r = 0,4$; $p < 0,05$). También se encontró una tendencia de correlación positiva entre la frecuencia de células CD8+/CCR5+ IH y de SP y la actividad inflamatoria que no alcanzó significación estadística. No se apreció correlación entre el grado de fibrosis y la expresión de CCR5 y CXCR3 por las células T. No hubo correlación entre la expresión CCR3 y las variables histológicas.

Conclusiones: 1) La expresión de receptores de quimioquinas asociados a respuesta Tc1/Th1 se correlaciona con la inflamación hepática pero no con la fibrosis en la HCC. 2) Acciones terapéuticas

Hepatitis virales

EFFECTO DE LA COINFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH) Y DEL TRATAMIENTO CON INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA SOBRE LA RESPUESTA INMUNE DE CÉLULAS T ESPECÍFICAS FRENTE AL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC)

L. Capa^a, J. García-Samaniego^a, V. Soriano^b, M. Romero^a, M. Núñez^b, C. de Mendoza^b, A. Cascajero^a, N. Zahonero^b, F. Muñoz^a y J.M. Benito^b

^aServicios de Hepatología y ^bEnfermedades Infecciosas. Hospital Carlos III, Madrid.

Introducción: El papel de los linfocitos T en la infección crónica y la replicación del VHC es controvertido. En este estudio se analiza el impacto de la coinfección por el VIH y el tratamiento de la hepatitis C sobre la respuesta CD4+ y CD8+ VHC-específica en pacientes con infección crónica por VHC.

Pacientes y métodos: Se estudiaron 36 pacientes con hepatitis C crónica tratados con interferón pegilado alfa-2a y ribavirina que presentaron respuesta virológica temprana (disminución de ARN-VHC > 2 logs en la semana 12). Diecisiete pacientes (47%) eran VIH/VHC+ y 19 (53%) eran mono infectados por VHC. Catorce (82%) de los 17 pacientes coinfectados recibían tratamiento antirretroviral. Se determinó la respuesta basal CD4+ y CD8+ VHC-específica y en los meses 3, 6 y 12 de tratamiento. Para ello se cuantificó la producción de IFN-g mediante tinción intracelular en respuesta a un panel de péptidos solapantes que abarcaban 4 proteínas completas del VHC (E2, NS3, NS5A y NS5B). Mediante el test exacto de Fisher se comparó la proporción de pacientes que presentaban respuesta positiva (diferencia con respecto al control sin estimular $\geq 0,1\%$ de linfocitos T CD4+ CD69+ IFN-g+ ó linfocitos T CD8+ CD69+ IFN-g+) frente a las diferentes proteínas del VHC.

Resultados: Los niveles basales y en el mes 3 de tratamiento de ARN-VHC (\log_{10}) fueron similares en los pacientes con y sin coinfección por VIH ($5,8 \pm 1,1$ vs $5,7 \pm 0,9$ y $3,0 \pm 0,7$ vs $2,7 \pm 0,2$, respectivamente). Antes de comenzar el tratamiento el porcentaje de pacientes con respuestas CD4+ y CD8+ era significativamente más bajo en los pacientes coinfectados para todas las proteínas del VHC

encaminadas a regular la expresión de los receptores CCR5 y CXCR3 en las células T pueden modificar la inflamación hepática en la HCC.

RECEPTORES DE QUIMIOQUINAS Y QUIMIOTAXIS DE LAS CÉLULAS T EN LA INFECCIÓN POR VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC) Y EN LA COINFECCIÓN POR VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH)-VHC

M. Calvino^a, J.R. Larrubia^b, E. Sanz^b, J. Pérez^a, S. Benito^a, F. González^b, C. Perna^c, M. Montes^d, M. Rodríguez-Zapata^d, T. Parra^a y A. Bienvenido^b

^aUnidad de Investigación, ^bS. Aparato Digestivo, ^cS. Anatomía Patológica y ^dS. Medicina Interna. Hospital Universitario Guadalajara.

Introducción: La interacción entre los receptores CCR5, CXCR3 y sus ligandos favorece la migración de las células T al hígado. La co-infección VHC-VIH tiene una historia natural más agresiva que la infección aislada por VHC. Esto puede ser debido a diferentes capacidades migratorias de las células CD4+ y/o CD8+.

Objetivos: 1) Evaluar la relación de la expresión de los receptores CCR5 y CXCR3 entre las células CD4+ y CD8+ en la infección por VHC (VHC/VIH-), co-infección VHC-VIH (VHC/VIH+) y controles sanos (CS). 2) Evaluar la capacidad de migración *in-vitro* de las células CD4+ y CD8+ tras estimulación con RANTES, IP10 y MIP1a.

Métodos: Se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de 27 casos VHC/VIH-, y 9 casos VHC/VIH+ y 10 CS. Las CMSP se marcaron con anticuerpos anti-CD8, anti-CD4, anti-CXCR3 y anti-CCR5 unidos a distintos fluorocromos y se analizaron mediante citometría de flujo. Una parte de las CMSP de 5 casos de cada grupo se utilizaron para estudios de quimiotaxis. Se calculó el índice de quimiotaxis como: (células que migran a través de un gradiente de quimioquinas)/(células que migran solo con el medio). Los datos se presentan como la mediana y su variación intercuartil (IQR). Las comparaciones se realizaron con los tests: U-Mann Whitney y Kruskal Wallis.

Resultados: En VHC/VIH- la relación: CD8+CCR5+/CD4+CCR5+ (1,4; IQR 1) disminuyó de forma significativa respecto a CS (2,6; IQR 1,14) ($p < 0,001$) y esta diferencia no se observó en HCC/VIH+ (1,9; IQR 2,1) ($p > 0,05$). El cociente: CD8+CXCR3+/CD4+CXCR3+ disminuyó en VHC/VIH- (1,4; IQR 0,3) y en VHC/VIH+ (1,6 IQR 0,9) respecto a CS (2,9 IQR 2,3) ($P < 0,001$). El índice de migración tras estimulación con IP-10 fue superior en HCC/VIH+ (CD8+ 2,5; IQR 2,5 / CD4+ 3,4; IQR 2,7) con respecto a HCC/VIH- (CD8+ 1,6; IQR 0,7 / CD4+ 1,7; IQR 1,1) ($p < 0,05$). No se observaron diferencias con respecto a RANTES y MIP1a.

Conclusiones: 1) La infección por VHC y la co-infección VHC-VIH muestran una disminución relativa de la expresión de CXCR3 en las células CD8+ respecto a CD4+. 2) La infección por VHC presenta una disminución relativa de la expresión de CCR5 en las células CD8+ respecto a CD4+ que no se observa en la co-infección VHC-VIH. 3) La co-infección VHC-VIH presenta una capacidad de quimiotaxis ante IP10 superior a la infección aislada por VHC. 4) Estas dos últimas diferencias podrían favorecer el desarrollo de un infiltrado inflamatorio intrahepático más agresivo en la co-infección VHC-VIH.

VIUSID EN COMBINACIÓN CON INTERFERÓN ALFA-2B Y RIBAVIRINA EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C. RESULTADOS DE EFICACIA Y SEGURIDAD DE UN ESTUDIO CONTROLADO Y ALEATORIZADO

E. Vilar, E. Arús, V. Grá, R. Llanio, C. Ruenes e Y. Betancourt
Instituto Nacional de Gastroenterología de la Habana. Cuba.

Introducción: Aproximadamente 40% de los pacientes con hepatitis crónica C (HCC) tratados con Peg-IFN más RBV no logran erradicar la infección. En este grupo de pacientes la enfermedad es progresiva. El empleo de antioxidantes y/o inmunomoduladores

combinados a la terapia actual puede incrementar el beneficio del tratamiento, al mejorar la histología y así detener o disminuir la progresión de la enfermedad. Viusid es un suplemento nutricional con propiedades inmunomoduladoras y antioxidantes.

Método: Se realizó un estudio piloto, aleatorizado y controlado en 100 pacientes con HCC. Los pacientes fueron distribuidos en dos grupos: G1 (n = 49), IFN alfa-2b, 5 MU, por vía subcutánea y en días alternos; Ribavirina oral, en dosis de 13 mg x kg de peso diario y Viusid, 3 sobres diarios por vía oral durante 48 semanas. G2 (n = 51), el mismo esquema de tratamiento pero sin Viusid. La histología fue el criterio de eficacia primaria. La misma fue definida como disminución ≥ 2 puntos del índice de actividad histológica (IAH) sin empeoramiento de la fibrosis, a las 72 semanas del estudio. Los criterios de eficacia secundaria fueron definidos como la ausencia de RNA en suero (RVS) y normalización de las ALT 24 semanas después de concluir el tratamiento. Todos los resultados fueron evaluados mediante un análisis por intención de tratar. Test de Fisher fue utilizado para el análisis comparativo de la respuesta virológica, bioquímica e histológica con un nivel de significación $\alpha = 0,05$.

Resultados: La mejoría histológica fue observada en 57% de los pacientes tratados con Viusid comparado con 37% del grupo control ($p = 0,036$). La mejoría de la actividad necroinflamatoria (ANI) y fibrosis (F) fue superior en el grupo de pacientes tratados con Viusid (75% [ANI], 29% [F]) en comparación al grupo tratado con terapia convencional (59% [ANI], 19% [F]). No hubo diferencias estadísticas significativas entre la RVS de ambos grupos. La normalización sostenida de las ALT fue 67% para el grupo con Viusid, comparado con 41% el grupo control ($p = 0,009$). Se observó además que el porcentaje de normalización de ALT, en aquellos pacientes que no lograron alcanzar RVS, fue superior en los pacientes tratados con Viusid ($p = 0,010$). Las reacciones adversas fueron similares en ambos grupos, aunque interesadamente la intensidad de la anemia, secundaria a la administración de ribavirina, fue menor en los pacientes tratados con Viusid ($p = 0,04$).

Conclusiones: Los resultados sugieren que la asociación de Viusid a la combinación de interferón más ribavirina logra incrementar las tasas sostenidas de respuesta bioquímica e histológica, además de reducir el porcentaje de pacientes con anemia secundaria al uso de ribavirina.

RESPUESTA VIROLÓGICA PRECOZ (RVP) Y CINÉTICA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC) EN LAS FASES INICIALES DEL TRATAMIENTO CON INTERFERÓN PEGILADO ALFA-2A (PEGIFN) Y RIBAVIRINA (RBV) EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C (HCC), CON Y SIN COINFECCIÓN VIH

J.A. Galeras^a, C. Tural^b, M.D. Giménez^a, C. Márquez^a, R. Rubio^c, M. Santín^d, D. Fuster^b, S. Moreno^e, J. Berenguer^f, J. González^g, B. Clotet^b, R. Planas^b y R. Solà^a

^aHepatología Hospital del Mar, ^bHepato/ Infecciosas Hospital Germans Trias i Pujol, ^cInfecciosas Hospital 12 de Octubre, ^dInfecciosas Hospital de Bellvitge, ^eInfecciosas Hospital Ramón y Cajal, ^fInfecciosas Hospital Gregorio Marañón, ^gInfecciosas Hospital La Paz.

No existen datos comparativos sobre la cinética del VHC en las fases iniciales del tratamiento de pacientes con HCC, con y sin coinfección VIH de características similares.

Objetivos: Investigar la RVP y la cinética del VHC durante las primeras 12 semanas de tratamiento con PEGIFN (180 µg/sem) y RBV (1000-1200 mg/día) en la HCC, con y sin coinfección VIH. Investigar la RVP y la cinética del VHC durante las primeras 12 semanas de tratamiento con PEGIFN (180 µg/sem) y RBV (1000-1200 mg/día) en la HCC, con y sin coinfección VIH.

Métodos: Estudio prospectivo de 160 pacientes con HCC (80 con coinfección VIH), seleccionados por edad, sexo y genotipo. Se determinó el ARN-VHC basal y a las 4, 8 y 12 semanas de tratamiento. La RVP se definió por ARN-VHC indetectable y/o disminución ≥ 2 log a la semana 12. Estudio prospectivo de 160 pacientes con HCC (80 con coinfección VIH), seleccionados por edad, sexo y genotipo. Se determinó el ARN-VHC basal y a las 4, 8 y 12 semanas

de tratamiento. La RVP se definió por ARN-VHC indetectable y/o disminución ≥ 2 log a la semana 12.

Resultados: No existieron diferencias entre los dos grupos en cuanto a edad, sexo ni genotipo (1: 45/45; 2/3: 22/22; 4: 13/13), pero la fibrosis 3/4 fue mayor en los pacientes coinfectados (36 vs 24%; $p < 0,03$). La RVP fue inferior en los pacientes coinfectados (71,2 vs 88,8%; $p = 0,006$), debido a menor RVP en los pacientes con genotipo 1 (58,7 vs 82,2%; $p = 0,01$), siendo similar en los pacientes con genotipos 2/3 (91 y 100%). Estas diferencias se explican por la menor caída de carga vírica en los pacientes coinfectados con genotipo 1 (6,2 vs 5,9, 4,6 vs 3,8, 3,8 vs 3 y 3,4 vs 2,5 log ARN-VHC antes y a las semanas 4, 8 y 12 de tratamiento; ANOVA $p < 0,002$), mientras que fue similar en los pacientes con genotipos 2/3 (5,9 vs 6,3, 2,7 vs 2, 1,9 vs 1,8 y 1,8 vs 1,8 antes y a las semanas 4, 8 y 12 de tratamiento; ANOVA p NS). El genotipo 1, la coinfección VIH y el sexo masculino fueron predictores independientes de ausencia de RVP. No existieron diferencias entre los dos grupos en cuanto a edad, sexo ni genotipo (1: 45/45; 2/3: 22/22; 4: 13/13), pero la fibrosis 3/4 fue mayor en los pacientes coinfectados (36 vs 24%; $p < 0,03$). La RVP fue inferior en los pacientes coinfectados (71,2 vs 88,8%; $p = 0,006$), debido a menor RVP en los pacientes con genotipo 1 (58,7 vs 82,2%; $p = 0,01$), siendo similar en los pacientes con genotipos 2/3 (91 y 100%). Estas diferencias se explican por la menor caída de carga vírica en los pacientes coinfectados con genotipo 1 (6,2 vs 5,9, 4,6 vs 3,8, 3,8 vs 3 y 3,4 vs 2,5 log ARN-VHC antes y a las semanas 4, 8 y 12 de tratamiento; ANOVA $p < 0,002$), mientras que fue similar en los pacientes con genotipos 2/3 (5,9 vs 6,3, 2,7 vs 2, 1,9 vs 1,8 y 1,8 vs 1,8 antes y a las semanas 4, 8 y 12 de tratamiento; ANOVA p NS). El genotipo 1, la coinfección VIH y el sexo masculino fueron predictores independientes de ausencia de RVP.

Predictores: La caída del ARN-VHC tras el inicio del tratamiento y la RVP son inferiores en los pacientes con HCC y coinfección VIH infectados por el genotipo 1 pero no en los genotipos 2/3. La caída del ARN-VHC tras el inicio del tratamiento y la RVP son inferiores en los pacientes con HCC y coinfección VIH infectados por el genotipo 1 pero no en los genotipos 2/3.

TERAPIA PROLONGADA CON INTERFERÓN ALFA-2B RECOMBINANTE MÁS LAMIVUDINA EN PACIENTES CON HCB ANTÍGENO E POSITIVO. RESULTADOS DE UN ENSAYO CLÍNICO PILOTO, ALEATORIZADO Y CONTROLADO

E. Vilar, E. Arús, V. Grá, M. Castellano, C. Ruenes e Y. Dávila
Instituto Nacional de Gastroenterología de la Habana. Cuba.

Introducción: Los porcentajes de respuesta virológica alcanzados con los antivirales actuales no sobrepasan el 35%. La combinación de inmunomodulador y antiviral ha sido teóricamente la estrategia más aceptada a desarrollar en los últimos años; sin embargo, los resultados en la práctica clínica han sido contradictorios.

Métodos: Un estudio aleatorizado y controlado fue realizado en 46 pacientes con HCB HBeAg +. Los pacientes fueron distribuidos en dos grupos: LI24 (n = 23), lamivudina 150 mg diarios por 4 semanas (S), lamivudina más interferón alfa-2b (10 MUI en días alternos) por 24S, seguido de lamivudina en la misma dosis y frecuencia a completar 52S; LI52 (n = 23), lamivudina 150 mg diarios por 4S, seguido de lamivudina más interferón alfa-2b (5 MU en días alternos) hasta alcanzar la semana 52. La respuesta virológica sostenida (RVS) fue definida por seroconversión del HBeAg más disminución del HVB DNA en suero por debajo de 10^5 copias/mililitro, 24 semanas después de concluir el tratamiento.

Resultados. En el grupo LI52 la RVS fue 65% comparado con 56% para el grupo LI24 ($p = 0,55$). El aclaramiento del DNA en suero al finalizar el período de seguimiento fue de 52% y 26% para el grupo LI52 y LI24 respectivamente ($p = 0,06$). El por ciento de negatividad del Ags al concluir el período de seguimiento fue de 48% para el grupo LI52 comparado con 26% en el grupo LI24 ($p = 0,11$). No hubo diferencias significativas en la normalización de la ALT. La mejoría en el índice de actividad histológica fue observado en 48% de los pacientes tratados con IFN/Lam durante 52 semanas, compa-

rado con 22% en el grupo control ($p = 0,06$). Ambos tratamientos fueron bien tolerados.

Conclusiones. La prolongación del tratamiento con lamivudina e interferón durante 52 semanas logra aclarar de forma sostenida y en mayor porcentaje de casos el DNA y el Ags. La mejoría en el IAH es superior en el grupo tratado con interferón y lamivudina durante 52 semanas.

TERAPIA DE COMBINACIÓN SECUENCIAL CON PREDNISONA, LAMIVUDINA E INTERFERÓN ALFA-2B EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA B HBEAG POSITIVO: RESULTADOS DE UN ESTUDIO PILOTO, ALEATORIZADO Y CONTROLADO

E. Vilar, E. Arús, V. Grá, R. Llanio, M. Castellano, C. Ruenes e Y. Dávila

Introducción: A pesar de la introducción de nuevos antivirales, el aclaramiento y seroconversión del HBeAg alcanzado con los mismos no sobrepasa el 35%. El empleo de inmunosupresores previa a la administración de antivirales ha sido evaluado con resultados contradictorios.

Métodos: Un estudio aleatorizado y controlado fue realizado en 44 pacientes con HCB HBeAg +. Los pacientes fueron distribuidos en dos grupos; PLI (n = 22), prednisona 40mg diarios x 4 semanas (S), seguido de 2S sin tratamiento, entonces lamivudina 150mg diarios por 4S, lamivudina más interferón alfa-2b (10 MIU en días alternos) por 24S, seguido de lamivudina en la misma dosis y frecuencia a completar 58S. LI (n = 22), el mismo esquema de tratamiento, pero sin inmunosupresión, hasta alcanzar las 52S. La respuesta virológica sostenida (RVS) fue definida por seroconversión del HBeAg más disminución del HVB DNA en suero por debajo de 10^5 copias/mililitro 24 semanas después de concluir el tratamiento.

Resultados: En grupo PLI la RVS fue 68% comparado con 54% del grupo LI ($p = 0,26$). La RVS en pacientes vírgenes de tratamiento (76% vs 53%, $p = 0,15$) y con niveles de ALT < 2 SLN (77% vs 50%, $p = 0,16$) fue clínica pero no estadísticamente significativa. No hubo diferencias significativas en la normalización de la ALT. 45% del grupo PLI logró mejoría del IAH comparado con 23% del grupo LI ($p = 0,10$). Mejoría en la fibrosis fue observada en 50% para el grupo PLI y 23% para el grupo sin inmunosupresión ($p = 0,05$). Ambos tratamientos fueron bien tolerados.

Conclusiones: La RVS fue clínica, pero no estadísticamente superior en el grupo con inmunosupresión previa. Este régimen terapéutico pudiera incrementar el rango de seroconversión en pacientes vírgenes o con niveles de ALT < 3 SVN. La mejoría en el IAH, inflamación y fibrosis fue más evidente en el grupo PLI.

LA RESISTENCIA A LA INSULINA DISMINUYE LA RESPUESTA SOSTENIDA A INTERFERÓN PEGILADO MÁS RIBAVIRINA EN PACIENTES COINFECTADOS VIH/VHC

M. Romero¹, R. Solà², C. Tural³, M.C. Martínez Sierra⁴, B. Clotet³, M.M. Vilorio¹, M.D. Jiménez², A. Arizcorreta⁴, D. Fuster³, C. Trabadela¹ y R. Planas³

¹Hospital de Valme, Sevilla, ²Hospital del Mar, Barcelona,

³Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Barcelona,

⁴Hospital Puerta del Mar, Cádiz.

Introducción: La resistencia a la insulina es un factor predictivo de mala respuesta a peginterferón y ribavirina en pacientes con hepatitis C (Gastroenterology 2005;128:636).

Objetivos: Evaluar los factores independientes que predicen RVS en una cohorte de 198 pacientes (113 VHC+/VIH+ y 85 VHC+/VIH-).

Pacientes y métodos: Todos los pacientes eran naïve para el tratamiento del VHC y recibieron peginterferon alfa 2a (180µg/semana) +Ribavirina (800-1200 mg/día). Se recogieron las características basales, la carga vírica basal del VHC y del VIH, la cifra de CD4+, el genotipo del VHC y el estadio de fibrosis hepática (FH). Se calculó HOMA-RI y HOMA-Beta [Resistencia insulínica (HOMA RI) = insulinemia en ayunas (mUI/l) x glicemia en ayunas (mmol/l)/22,5

y función de las células (HOMA beta) = $20 \times$ insulínemia en ayunas (mUI/l)/glicemia en ayunas (mmol/l) - 3,5.]

Resultados: Se observaron diferencias significativas entre los grupos VHC+/VIH- y VHC+/VIH+ en sexo (54,1% hombres vs 75,2%, $p < 0,05$), índice de masa corporal (26,5 vs 22,9, $p < 0,001$), FH (1,6 vs 1,97, $p < 0,05$), distribución de genotipos del VHC (78,8% genotipo 1 o 4 vs 63,7%, $p < 0,05$) y carga vírica basal del VHC (5,9 log vs 5,1, $p < 0,05$). Los pacientes coinfectados presentaron mayor insulínemia basal (17,7 vs 12,1, $p < 0,001$), menor glicemia (5,1 vs 5,3, $p < 0,001$) y así, un mayor grado de RI (HOMA-IR) (4,12 vs 2,95, $p < 0,001$) y función de las células beta (HOMA-BETA) (216,22 vs 136, $p < 0,001$) que los mono infectados VHC. La RVS fue del 57% en mono infectados y del 51% en coinfectados (análisis en tratamiento) ($p = NS$). Los factores independientemente asociados con la obtención de RVS fueron el VIH (OR: 0,45, 95% IC: 0,21-0,58), edad (OR: 1,05, 95% II: 1,00-1,11), los genotipos 2-3 (OR: 5,90, 95% IC: 2,62-13,29), fibrosis (OR: 0,7, 95% IC: 0,51-0,97) y el HOMA-IR (OR: 0,43, 95% IC: 0,19-0,98). Entre los portadores de los genotipos 1 o 4 (82 VHC+/VIH+, 63 VHC+/VIH-), el HOMA-RI fue el único factor independientemente asociado con la obtención de RVS en el análisis multivariante en el total de pacientes (OR: 1,30, 95% IC: 1,07-1,59) y en el grupo de coinfectados (OR: 1,49, 95% IC: 1,08-2,07). La RVS se obtuvo en el 22,5% de pacientes con genotipo 1-4 y un HOMA-RI > 4 en un 51% de pacientes con HOMA ≤ 4 ; $p = 0,005$.

Conclusiones: Los pacientes coinfectados muestran mayor grado de resistencia a la insulina a pesar de tener menor IMC y glucemia. La resistencia a la insulina influye de forma independiente en la posibilidad de curación en pacientes coinfectados con genotipo 1 o 4.

AUSENCIA DE BENEFICIO DE UNA DOSIS DE INDUCCIÓN DE PEGINTERFERÓN ALFA 2A EN LA CINÉTICA VIRAL INICIAL EN PACIENTES COINFECCIONADOS VIH/VHC: RESULTADOS DEL ESTUDIO CORAL-1

C. Tural¹, R. Solà², R. Rubio³, M. Santín⁴, D. Fuster¹, C. Quereda⁵, J. Berenguer⁶, J. Gonzalez⁷, B. Clotet¹, R. Planas¹, para el grupo de estudio Coral-1

¹Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona, ²Hospital del Mar. Barcelona, ³Hospital 12 de Octubre. Madrid, ⁴Hospital de Belvitge. Barcelona, ⁵Hospital Ramón y Cajal. Madrid, ⁶Hospital Gregorio Marañón. Madrid, ⁷Hospital La Paz. Madrid.

Introducción: El tratamiento estándar de la hepatitis crónica C en pacientes VHC+/VIH es la combinación de Peginterferón (peg-IFN) alfa2a y ribavirina (RBV), aunque su eficacia es inferior que en el paciente mono infectado por el VHC. Una dosis de inducción de peg-IFN podría incrementar la eficacia de dicho tratamiento.

Material y métodos: Comparar la cinética del VHC durante las primeras 12 semanas de tratamiento en 117 pacientes VHC+/VIH sin tratamiento previo contra el VHC que fueron distribuidos al azar para recibir dos diferentes dosis de peg-IFN durante las 4 primeras semanas. En el grupo A (n = 57) los pacientes recibieron 270 µg/semana de peg-IFN durante 4 semanas, seguido de 180 µg/semana durante 8 semanas más. En el grupo B (n = 60) recibieron una dosis de 180 µg/semana de peg-IFN durante 12 semanas. Ambos grupos recibieron RBV (1000-1200 mg/día). El ARN-VHC se cuantificó semanalmente durante el primer mes y en las semanas 8 y 12.

Resultados: No hubo diferencias en las características basales demográficas y asociadas al VIH entre los dos grupos. La hepatitis C estuvo causada por genotipo 1, 3 y 4 en el 52 y 53%, 22 y 28% y 16 y 13% en los grupos A y B, respectivamente. Requiritieron reducción de peg-IFN y de RBV 29 y 24 pacientes (29 y 20% y 25 y 17% en los grupos A y B, respectivamente). No hubo diferencias en la reducción del ARN-VHC entre la basal y cada punto temporal entre los dos grupos. La respuesta viral temprana fue del 68% en los dos grupos y el 25 y 23% de los pacientes de los grupos A y B consiguieron un ARN-VHC cualitativo negativo a la semana 4.

Conclusión: En nuestro estudio, una dosis de inducción de 270 µg/semana de peg-IFN 2a durante 4 semanas no modificó la cinética inicial del VHC.

VIRUS C TRAS 12 AÑOS DE TRATAMIENTO: APROXIMACIÓN A LOS COSTES

F. Devesa, E. Peláez, A. Company, L. del Pino, J.R. Garrido, J. Ferrando Ginestar, I. Ferrando Marrades y A. Borghol

Introducción: Hay pocos trabajos que aborden la identificación de costes, especialmente los indirectos, en el tratamiento de la hepatitis crónica por virus C (HCVC). Son objetivos del presente estudio acercarnos al impacto asistencial y los costes de esta patología.

Métodos: Se revisaron los casos tratados en los últimos 12 años (1991-2003) en el hospital Francisc de Borja (Gandia). Los costes de la medicación se calcularon según su precio oficial y los de las pruebas diagnósticas según los baremos de la administración sanitaria. Para el cálculo de los costes indirectos (bajas laborales y tiempo perdido en la asistencia al hospital) se aplicó el salario medio para el año 2002.

Resultados: La muestra fue de 92 casos (77 hombres y 15 mujeres), con una media de edad de 37,84 años y desviación estándar (DE) de 10,71. Solo 14 casos presentaban grados histológicos de severidad. Los 92 pacientes recibieron un total de 146 ciclos de tratamiento (75 interferón, 30 interferón + Ribavirina y 41 interferón pegilado + ribavirina). La respuesta final al tratamiento fue sostenida en 43 (46,7%) casos, completa con recidiva en 14, parcial en 14, sin respuesta en 18 y no valorable en 3. Los 92 pacientes estudiados generaron, desde su diagnóstico, 2.004 visitas sucesivas, suponiendo un 3,3% del total de segundas visitas en consultas externas (CE) de digestivo para el mismo periodo. En 28 casos (30,4%), se constataron bajas laborales, con una pérdida total de 3.952 días (media = 141,14 días, DE = 188,02). En el grupo de pacientes que cursó baja laboral, se demostró correlación directa del tiempo de baja con la edad ($r^2 = 0,260$, $p < 0,005$), pero no con el sexo, severidad histológica o respuesta terapéutica. El total de los gastos ocasionados fue de 1.542.317€. La media \pm DE de los costes por paciente tratado fue de 16.784,3€ \pm 9.316,4. Correspondieron a costes directos 1.320.907€ y a indirectos 221.410€. El 80% de los costes directos fue debido a la medicación (1.057.055€), mientras que el 20% restante se distribuyó principalmente en pruebas de laboratorio (119.350€), visitas a consultas externas (77.867€) y biopsias hepáticas (50.619€). El 70% de los costes indirectos correspondió a las bajas laborales (155.590€) y el 30% a tiempo de trabajo perdido en la asistencia a las consultas o pruebas diagnósticas (65.820€).

Conclusiones: Los 92 casos de HCVC tratados en el período 1991-2003 generaron, desde su diagnóstico, 2.004 revisiones en CE de digestivo. En 21 casos (30,4%) se produjeron bajas laborales, ocasionando 3.952 días perdidos. El tiempo de baja laboral se relacionó directamente con la edad, en los pacientes que la cursaron. Los costes globales fueron de 1.542.410€, suponiendo una media \pm DE de 16.784,3€ \pm 9.316,4€ por paciente tratado. Los costes directos fueron de 1.320.907€, el 80% de los cuales correspondieron a los medicamentos, y los indirectos de 221.410€, principalmente debidos a las bajas laborales.

VALOR PREDICTIVO Y DE FACTORES DE RESPUESTA VIROLÓGICA RÁPIDA AL TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS C

J.A. Galeras, M.D. Giménez, C. Márquez, I. Cirera, S. Coll y R. Solà

Hepatología H. del Mar. Univer. Autónoma de Barcelona. Barcelona.

Estudios recientes han confirmado que la caída rápida de la carga viral tras el inicio del tratamiento constituye un importante factor predictivo de respuesta virológica sostenida (RVS).

Objetivo: Investigar la prevalencia, el valor predictivo y la forma de valorar la respuesta virológica a semana 4 de tratamiento con IFN Peg y ribavirina (RBV).

Métodos: Estudio prospectivo de 117 pacientes consecutivos con HCC tratados con IFN Peg alfa 2a (180 µg) y RBV (800-1200). Se determinó el título de ARN-VHC basal y a las 4 semanas de tratamiento. En los pacientes con carga < 600 UI en semana 4, se realizó la determinación cualitativa (< 50 UI). La RVR se definió por ARN-VHC negativo (< 50 UI/L) a la semana 4. Se analizaron variables clínicas, analíticas e histológicas en un análisis uni y multivariado (regresión logística).

Resultados: Presentaron RVR 42 pacientes (35,9%) mientras que en 75 (64,1%), incluidos los anteriores, se objetivó una disminución ≥ 2 log de la carga en semana 4 sin negativización del ARN-VHC. El 92,9% de los pacientes con RVR presentaron RVS (80% gen 1 y 94,6% gen no 1) mientras que únicamente la presentaron el 77,3% de los pacientes con disminución ≥ 2 log en semana 4 (66,7% gen 1 y 93,6% gen no 1). En el análisis univariado, el genotipo no 1, la edad, el índice de masa corporal (IMC) y los niveles de gammaGT, colesterol y triglicéridos predecían la RVR. Únicamente el genotipo no 1 alcanzó valor predictivo independiente de RVR (OR 17,8). En relación con los 33 pacientes en que el ARN-VHC descendió ≥ 2 log en semana 4, sin negativización, los pacientes con RVR tenían menor edad, menor proporción de genotipo 1 y un menor nivel de IMC y de colesterol.

Conclusiones: La negativización del ARN-VHC a las 4 semanas de tratamiento (RVR) posee un mayor valor predictivo de RVS que la disminución de 2 log en el mismo período en pacientes con genotipo 1. La posibilidad de RVR se relaciona con el genotipo viral aunque podría estar influenciada por factores metabólicos del huésped.

RELACIÓN ENTRE LA RESISTENCIA A LA INSULINA Y LA FIBROSIS HEPÁTICA EN HEPATITIS C CRÓNICA

F. Carnicer^a, M.D. Picó^a, M.A. Amparo^a, R. Alfayate^b, S. Lorenzo^b, P. Villuela^b, P. Zapater^c y M. Mauri^c

^aS. Medicina Digestiva y ^bLaboratorio de Hormonas y ^cS. Farmacocinética. Hospital General Universitario de Alicante.

Introducción: Existe una asociación entre la infección por hepatitis C (HCV) y Diabetes Mellitus 2 (DM2). La resistencia a la insulina juega un papel importante en el desarrollo de DM2 y es un buen predictor de la misma. Hay evidencias de que la resistencia a la insulina puede contribuir a la progresión de la infección crónica por HCV aunque los mecanismos son desconocidos.

Objetivo: Averiguar si la resistencia a la insulina, usando el índice HOMA, esta asociada con el incremento de la fibrosis en un grupo de pacientes con HVC crónica.

Material y método: Se incluyeron en el estudio 41 pacientes que cumplían criterios analíticos y anatomopatológicos de hepatitis crónica por virus C. Se dividieron los enfermos según la viremia en: alta (> 850000 UI) y baja (< 850000 UI). La fibrosis se valoró según el índice de Knodell, considerando < 2 fibrosis leve y > 2 severa. Se analizó el genotipo de HCV y se determinó glucosa (Modular, Roche Diagnostics) insulina y péptido C (IMMULITE, Diagnostics products). Se determinó el índice HOMA (Insulina x glucosa/22,5).

Resultados: La distribución de genotipos fue: 1 (65%), 2 (3%), 3 (18%), 4 (12%) y 5 (2%). La viremia fue < 85000 UI en el 65% de los casos. El Knodell fue de $7,5 \pm 3,5$, con una fibrosis ≥ 2 (severa) en el 46%. Usado análisis multivariable el índice HOMA correlacionó positivamente con el grado de fibrosis ($p = 0,016$) y no existió correlación con la viremia ni con el genotipo específico. El índice HOMA es un predictor independiente para fibrosis severa con una sensibilidad del 73% y una especificidad de 36% para un HOMA > 1,5.

Conclusión: La resistencia a la insulina parece contribuir a la progresión de la fibrosis en la infección por la hepatitis C.

COSTE-EFECTIVIDAD E IMPACTO PRESUPUESTARIO DEL TRATAMIENTO A 4 AÑOS CON ADEFOVIR DIPIVOXIL O LAMIVUDINA EN PACIENTES HBEAG NEGATIVOS CON HEPATITIS CRÓNICA B

M. Buti^a, M.A. Casado^b, J.L. Calleja^c, J. Salmerón^d, J. Aguilar^e, M. Rueda^f y R. Esteban^a

^aHepatología, Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona, ^bUnidad de Investigación de Resultados en Salud, Pharmacoeconomics & Outcomes Research Iberia, Madrid, ^cAparato Digestivo, Hospital Puerta Hierro, Madrid, ^dAparato Digestivo, Hospital Clínico San Cecilio, Granada, ^eAparato Digestivo, Hospital Virgen del Rocío, Sevilla, ^fDepartamento Médico, Gilead Sciences Inc, Madrid.

Lamivudina (LAM) fue el primer tratamiento oral para la hepatitis crónica B. Su eficacia a largo plazo está limitada por el elevado porcentaje de resistencias. Adefovir dipivoxil (ADV) presenta un

perfil más bajo de resistencias y es eficaz en pacientes naïve y con resistencia a LAM, pero su coste de adquisición es mayor.

Objetivo: Estimar el coste-efectividad del tratamiento a 4 años con ADV o LAM en los pacientes con hepatitis crónica B más frecuentes en nuestro medio, los HBeAg negativo.

Diseño y métodos: Se ha elaborado un modelo de análisis de decisión para estudiar el coste-efectividad e impacto presupuestario de ADV y LAM a largo plazo (4 años). El perfil de resistencia de los dos grupos de pacientes es evaluado anualmente: aquellos que presentan resistencia a LAM son tratados con ADV al año siguiente y a aquellos con resistencia a ADV no se les administra tratamiento. Los datos de eficacia del modelo se han tomado de estudios publicados con datos de respuesta virológica (RV) a 4 años. La perspectiva utilizada ha sido la del Sistema Nacional de Salud, considerándose los costes sanitarios directos de ambos tratamientos (en euros). Los costes se han actualizado a partir de la literatura y la base de datos SOIKOS.

Resultados: Los resultados del análisis coste-efectividad y de impacto presupuestario se muestran en la tabla:

	ADV	LAM	Diferencia
Coste por paciente tratado durante los 4 años (independientemente de la RV) *	21.939	11.457	10.482
% RV (a los 4 años)	78,0%	40,4%	37,6%
Coste por paciente con RV o coste-efectividad medio (4 años)*	28.132	28.375	-243
Coste por cada paciente adicional con RV o coste-efectividad incremental de ADV vs LAM (a los 4 años)*	27.872		
Pacientes tratados en 4 años con un presupuesto de 2.837.483€	129	248	-119
Pacientes con RV en 4 años con un presupuesto de 2.837.483€	101	100	1

*Aplicando una tasa de descuento del 3% a los costes. Incluye fármacos + consultas + pruebas diagnósticas + pruebas analíticas + test de resistencia.

Con un presupuesto fijo de 2.837.483 euros que equivale al coste que tendríamos que invertir para obtener, a los 4 años, 100 pacientes HBeAg negativo con RV administrando LAM se podría conseguir 101 pacientes con RV utilizando ADV en primera línea de tratamiento. El análisis de sensibilidad realizado demuestra que las variables clave en el análisis son el porcentaje de RV de ADV y LAM a los 4 años.

Conclusiones: El tratamiento a largo plazo con adefovir dipivoxil es ligeramente más coste-efectivo que con lamivudina en los pacientes con hepatitis crónica HBeAg negativo.

INFLUENCIA DE LOS GENES HLA C Y KIR EN LA EVOLUCIÓN DE LA INFECCIÓN POR VIRUS DE LA HEPATITIS C

E. Hoyas^a, D. Sánchez Muñoz^a, D. Núñez^a, M.A. Montes-Cano^b, J.L. Caro-Oleas^b, M.F. González-Escribano^b, M. Diago^c, R.J. Andrade^d, J. Aguilar-Reina^e, I. Carmona^f, A. Núñez-Roldán^g y R.M. Romero Gómez^a

^aUnidad de Hepatología. UGCED. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. ^bServicio de Inmunología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. ^cSección de Hepatología. Hospital General. Valencia. ^dUnidad de Hepatología. Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. ^eSección de Hepatología. Servicio de Digestivo. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. ^fServicio de Gastroenterología. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

Antecedentes: Los factores que determinan el aclaramiento espontáneo del virus C aún no han sido establecidos. Las células "Natural Killer" (NK) son componentes clave de la respuesta inmune innata frente a las infecciones víricas. La función de las células NK está regulada por la interacción de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I con receptores inhibidores de células NK. Recientemente, se ha sugerido que la interacción entre el receptor KIR2DL3 y su ligando HLA-C1 promueve la resolución espontánea de la infección por virus C (Khakoo SI et al. Science 2004;305:872-4).

Propósito: Valorar la influencia del receptor KIR2DL3 y su ligando HLA-C1 en la resolución de la infección por virus C en pacientes de nuestro medio.

Pacientes y métodos: Se determinó el genotipo de HLA-C en 131 pacientes con hepatitis crónica C (HCC) y 65 pacientes con aclaramiento viral espontáneo (AVE), mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Así también, se llevó a cabo el tipaje mediante PCR de los receptores específicos para NK: KIR2DL1, KIR2DL2 y KIR2DL3 en 65 pacientes de cada grupo.

Resultados: La frecuencia del gen KIR2DL3 fue mayor en pacientes con hepatitis crónica C que en pacientes con infección resuelta (87,5% vs 67,7%; $p = 0,01$, OR = 3,34, 95%IC 1,25-9,15). El resto de las comparaciones no mostraron significación estadística, aunque se observó una mayor frecuencia de interacciones de KIR2DL1, KIR2DL2, HLA-C2 y NK-HLA con afinidad moderada y alta en el grupo de pacientes con aclaramiento viral espontáneo. La distribución de los haplotipos A (AVE: 71 (54,6%) vs HCC: 93 (72,7%) y B (AVE: 59 (45,4%) vs HCC: 35 (27,3%) del KIR fue significativamente diferente entre ambos grupos ($p = 0,003$).

Conclusiones: La interacción HLA-C/KIR influye en la evolución de la infección por virus C. No obstante, no podemos confirmar la influencia directa de la interacción KIR2DL3/HLA-C1 en la resolución de la infección por VHC en los pacientes de nuestro medio.

Agradecimiento: PAI CTS-532.

UTILIZACIÓN DE NUEVAS VARIABLES HISTOLÓGICAS PARA VALORAR LA ACTIVIDAD NECROINFLAMATORIA EN LAS HEPATITIS CRÓNICAS VIRALES

V. Grá, L. Tamayo, E. Vilar y E. Arús

Servicio de Anatomía Patológica. Instituto Nacional de Gastroenterología de la Habana. Cuba.

Introducción: La biopsia hepática es fundamental para diagnosticar las hepatitis crónicas, utilizándose métodos cuali-cuantitativos como el de Knodell, al evaluar la eficacia de una terapéutica. Este trabajo introduce nuevas variables histológicas y modificaciones en la cuantificación de los clásicos para aumentar la calidad del diagnóstico.

Objetivos: Introducir nuevas variables histológicas modificando el método de Knodell y comparar los resultados de ambos métodos en relación al éxito de diferentes terapéuticas.

Métodos: Se estudiaron 200 pares de biopsias de enfermos bajo terapéutica antiviral, procesándose de forma habitual, valorándose la necrosis periportal, la inflamación portal y lesiones lobulillares (0 a 4), introduciendo variables histológicas como cuerpos acidófilos y lesiones de conductos (0 a 3); necrosis en puente y número de espacios porta lesionados (0 a 4), calculándose el índice de actividad necroinflamatoria (IANIT), y comparándose los resultados de ambos métodos y la sensibilidad y especificidad de ambos, relacionados con la ALAT final.

Resultados: En el sistema de Knodell, el índice de actividad histológica de la primera biopsia fue de 5,02 y de 4,14 la segunda (NS). En el método propuesto fue de 10 y 8,58 ($p < 0,05$). La concordancia entre la actividad histológica y ALAT fue de 58% para Knodell y 78% para el método propuesto ($p < 0,05$). La sensibilidad de Knodell fue de 75% y del 89% para el método propuesto y la especificidad fue de 66% y 71% respectivamente.

Conclusiones: La introducción de nuevas variables histológicas permitió una mejor valoración del daño celular y la respuesta inflamatoria; fue mejor la concordancia del IANIT y la ALAT final y los resultados de sensibilidad y especificidad del método propuesto.

EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA VACUNACIÓN PARA LAS HEPATITIS A Y B EN PACIENTES CON HEPATOPATÍA CRÓNICA

T. Artaza, J.J. Sánchez Ruano, R. Gómez, C. González de Frutos, M.J. Pérez-Gruoso, A. García Vela, G. de la Cruz y J.M. Carroles

Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Virgen de la Salud. Toledo.

Introducción: En los pacientes con enfermedad hepática crónica (EHC) es fundamental evitar el deterioro de la función hepática y la aparición de complicaciones. La infección por los virus de las hepatitis A y B (VHA y VHB) podría provocar ambas situaciones, por lo

que la vacunación para ambos tipos de hepatitis en pacientes con EHC debe formar parte de su manejo habitual.

Objetivos: Valorar la eficacia y seguridad de la vacunación para VHA y VHB en un grupo de pacientes con EHC y averiguar la existencia de parámetros predictivos de respuesta.

Pacientes y métodos: Se incluyeron en el estudio dos grupos de pacientes diagnosticados de EHC: hepatitis crónica (HC) y cirrosis (CH) (criterios clínicos, analíticos y ecográficos o histológicos). Recibieron la vacuna para el VHA (1440 u. en dos dosis) aquellos pacientes anti-VHA - (estrategia selectiva) y la vacuna para el VHB (20mcg en tres dosis) los pacientes con anti-HBs -. 18 pacientes recibieron una vacuna combinada para VHA y VHB (tres dosis). La seroconversión se documentó 1 mes después de finalizada la última dosis correspondiente y en caso de no conseguir respuesta en la hepatitis B (anti-HBs < 10mU/ml) se administró una 4ª dosis (doble).

Resultados: De los 103 pacientes con EHC (67 hombres y 36 mujeres, con edad media de 48,8 ± 10 años), 50 tenían HC y 53 CH, 47 de ellos en estadio A. La etiología más frecuente fue el VHC seguida de la etílica. 70 pacientes eran a/VHA+ y 75 a/HBs -. Tras la vacunación, se consiguió seroconversión en 97% para el VHA y en 76% para el VHB. La eficacia fue similar con la vacuna para el VHA en HC y en CH (95% y 100%, respectivamente). La vacuna para el VHB fue más eficaz en HC (81%) que en CH (69,7%) ($p = 0,2$). Esta vacuna fue significativamente menos eficaz en pacientes con CH que habían presentado o presentaban algún episodio de descompensación frente a los que no lo padecieron (8/16 y 15/17, respectivamente) ($p = 0,017$). De los 20 pacientes a los que se administró una 4ª dosis, sólo 3 respondieron (15%). Con la vacuna combinada se consiguió seroconversión en 100% en el VHA y en el 88,9% del VHB. No se registró deterioro en la función hepática ni efecto 2º alguno en relación con la vacunación.

Conclusiones: 1) La vacunación para el VHA es muy eficaz en pacientes con EHC, incluyendo CH. 2) Con la vacunación para el VHB (dosis estándar) también se consiguen tasas altas de seroconversión, aunque son menores en CH y sobre todo en pacientes con complicaciones de su hepatopatía, por lo que probablemente serían subsidiarios de dosis dobles. 3) La vacunación combinada parece resultar particularmente eficaz en pacientes con EHC. 4) Ambas vacunas presentan un amplio perfil de seguridad en pacientes con EHC.

ANÁLISIS DEL IMPACTO PRESUPUESTARIO DE LOS INTERFERONES PEGILADOS EN EL TRATAMIENTO DE PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA POR VIRUS C

S. Miro^a, M.A. Casado^b y L. Álvarez-Rubio^c

^aServicio de Aparato Digestivo, Hospital General de L'Hospitalet, Barcelona, ^bUnidad de Investigación de Resultados en Salud, Pharmacoeconomics & Outcomes Research Iberia, Madrid, ^cServicio de Farmacia, Hospital General de L'Hospitalet, Barcelona.

Objetivo: Realizar un análisis de impacto presupuestario (AIP) del tratamiento con interferón pegilado (pegIFN), pegIFN alfa-2a o pegIFN alfa-2b, más ribavirina (R) en pacientes monoinfectados por el virus de la hepatitis C (VHC) o coinfectados por VHC y el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), y evaluar cuál supondría menor impacto financiero a nivel hospitalario.

Diseño y métodos: Utilizando Microsoft Excel 2003 se ha diseñado un modelo interactivo de AIP, validado a partir de datos reales de pacientes en el hospital, para calcular las diferencias en el coste de las dos estrategias de tratamiento. Las variables necesarias para el modelo se han obtenido de las bases de datos hospitalarias: sexo, peso, genotipo, posología (en función del peso y ficha técnica), duración del tratamiento y discontinuaciones. Los precios (PVL+4%IVA) de los pegIFNs han sido los abonados por el hospital con sus respectivos descuentos. Sólo se han considerado los costes farmacológicos asociados a las dos opciones (en euros 2005). En el AIP ambas estrategias se han considerado equivalentes terapéuticas con la misma eficacia, seguridad, reducción de dosis, discontinuaciones y duración de tratamiento. Asimismo, se ha considerado el mismo coste de R para ambas alternativas.

Resultados: El número de pacientes con hepatitis crónica C tratados en el hospital durante el periodo del estudio es de 117 pacientes (85 hombres y 32 mujeres; 108 con VHC y 9 coinfectados por VHC-VIH) con una edad media de 42 años y un peso promedio de 75 kg (0, <40 kg; 20, 40-64 kg; 50, 65-75 kg; 24, 76-85 kg; 23, >85 kg). Los genotipos de los pacientes fueron: G1, 96 pacientes; G2, 3 pacientes; G3, 14 pacientes; G4, 4 pacientes. Se produjo discontinuación del tratamiento por respuesta virológica temprana negativa a las 12 semanas en el 26% de los pacientes. El tiempo promedio del tratamiento en todos los pacientes (considerando los diferentes genotipos y duración de tratamiento) con hepatitis crónica C ha sido de 38 semanas. Los resultados de la modelización se muestran en la tabla siguiente:

	pegIFN alfa-2a+R	pegIFN alfa-2b+R	Diferencia
Coste total 117 pacientes (€)	1.074.351	1.012.633	61.718 (6%)
PVL promedio pegIFN (€)	162,51	147,85	14,66

Conclusiones: El tratamiento con pegIFN alfa-2b + R (en comparación con pegIFN alfa-2a + R) de los 117 pacientes evaluados es una estrategia eficiente que produciría un ahorro en el presupuesto del hospital de 61.718 euros, los que representaría un 6% del coste total del tratamiento farmacológico de la hepatitis crónica C. Los modelos de AIP pueden ser útiles para la inclusión o reevaluación de medicamentos en las guías fármaco-terapéuticas. Para ello sería necesaria la colaboración multidisciplinar de los servicios implicados y la realización de bases de datos con información sobre costes y efectividad (respuesta virológica temprana y sostenida) de las estrategias comparadas.

EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS E EN ESPAÑA

M. Buti^a, R. Jardi^b, P. Plans^c, M. Schaper^b, F. Rodríguez Frias^b, R. Esteban^a y A. Domínguez^c

^aServicio de Hepatología y ^bLaboratorio de Bioquímica. Hospital General Universitario Valle Hebrón. ^cDirecció General de Salut Pública. Barcelona.

En nuestro país se han detectado partículas del virus de la Hepatitis E (VHE) en el 50% de las muestras de aguas residuales. Sin embargo, existe escasa información sobre la prevalencia de los anticuerpos anti-VHE en la población general.

Objetivo: Estudiar la prevalencia de los anticuerpos IgG frente al VHE en sujetos sanos y analizar las variables demográficas y clínicas que se asocian a la positividad de estos anticuerpos.

Pacientes y métodos: El estudio se llevó a cabo en una muestra representativa de la población adulta de 15 años o más de Cataluña. Se seleccionaron aleatoriamente 1280 sujetos de la población general de 15 a 74 años. A cada participante se le solicitó el consentimiento informado. Mediante un cuestionario se obtuvo la información socio-demográfica (edad, sexo, lugar de nacimiento, lugar de residencia, ocupación, hábitat rural o urbano, y nivel socio-económico), los antecedentes médicos y se realizó una extracción de sangre. Las muestras de suero se congelaron a -20° hasta la realización de las pruebas serológicas. Los anticuerpos anti IgG del VHE se determinaron por un método inmunoenzimático (Bioelisa HEV-IgG. Biokit). Se realizó un análisis estadístico calculando las odds ratios e intervalo de confianza del 95% para las variables significativas en el análisis univariado y posteriormente se realizó un análisis de regresión logística múltiple (programa SPSS) para ajustar las Odds Ratios.

Resultados: Los anti-VHE se detectaron en 94 (7,3%) de las muestras de los 1280 individuos analizados. La prevalencia de estos anticuerpos fue más elevada en los varones (7,8%) que en las mujeres (7%), y se incremento con la edad para ambos sexos, desde el 3% en sujetos entre 15 y 24 años al 12% en sujetos de más de 64 años. El análisis de las variables socio-demográficas y medicas demostró una relación estadísticamente significativa con los antecedentes de cirugía menor (11,6% vs 6,3%, $p < 0,01$), de intervenciones abdominales (10,4% vs 6,2%, $p < 0,05$) y de gestación (8,3% vs 3,1%, $p < 0,05$) y unas OR ajustadas de 1,68 ($p = 0,034$), 1,38 ($p = 0,183$) y

1,81 ($p = 0,178$), respectivamente. Otras variables como transfusiones, tatuajes, cirugía, promiscuidad sexual no se asociaron a una prevalencia más elevada de VHE.

Conclusiones: 1) Los anticuerpos anti-VHE se detectaron en 7,3% de la población analizada. 2) La prevalencia del VHE aumenta con la edad. 3) La prevalencia de anticuerpos anti-VHE fue mas frecuente en sujetos con antecedentes quirúrgicos y en mujeres multíparas.

EL TRATAMIENTO CON ADEFOVIR DIPIVOXIL (ADV) EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA POR VIRUS B MODULA LOS NIVELES SÉRICOS DE INTERLEUQUINA-18 (IL-18) E INTERFERÓN GAMMA (IFN GAMMA)

A. Caro-Patón^a, A. López-Morante^b, F. Sáez-Royuela^b, F. Jorquera^c, G. Sánchez-Antolín^a, M.T. Arranz^d, G. Karpman^e, J.M. González^d, J.L. Olcoz^c, M.A. Hernández^f, L. Herrera^f, E. Reyes^g y M. Álvarez-Mon^{g,h}

^aDigestivo. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. ^bDigestivo. Hospital Gral. Yagüe. Burgos. ^cDigestivo. Hospital de León. León.

^dDigestivo. Hospital Clínico. Universitario. Valladolid. ^eDigestivo. Hospital de El Bierzo. León. ^fGilead Sciences. Madrid. ^gLaboratorio de Enfermedades del Sistema Inmune y Oncología, Departamento de Medicina, Unidad I+D Asociada al CNB-CSIC. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares, Madrid. ^hServicio de Enfermedades del Sistema Inmune y Oncología. Hospital Príncipe de Asturias. Madrid.

Introducción: ADV es un antiviral con demostrada eficacia clínica en el tratamiento de pacientes con hepatitis B crónica (HCB). La HCB es un proceso de patogenia compleja con evidencia de inadecuada respuesta del sistema inmune del paciente al virus. En este trabajo se investigan los efectos de ADV en pacientes con HCB sobre parámetros funcionales del sistema inmune y su relación con la respuesta terapéutica.

Material y métodos: Se han incluido 18 pacientes adultos (15 varones/3 mujeres), con edades de 29 a 65 años, HCB y enfermedad hepática compensada, evidencia de replicación viral activa, niveles de ALT elevados persistentemente y evidencia histológica de inflamación hepática activa y fibrosis, tratados con ADV bajo la práctica clínica habitual (10 mg/día vo). Sólo dos eran AgHBe+. Se han incluido 6 controles sanos pareados en edad y sexo con los pacientes. Mediante ELISA, se detectaron niveles séricos de IL-1b, -1RA, -2, -4, -6, -12p70, -18 e IFNgamma al inicio del tratamiento (basal), a las 24 y 48 sem. Los límites de sensibilidad fueron 5, 100, 10, 0,5, 0,8, 0,75, 3 y 5 pg/ml respectivamente.

Resultados: Los resultados se muestran en tabla 1. Los pacientes, antes del inicio del tratamiento mostraron unos niveles significativamente elevados de IL-2, IL-6, IL-18 e IFNgamma respecto a controles sanos. Los de IL-4 e IL-12 aunque estaban aumentados, no alcanzaron niveles de significación estadística. Estas diferencias significativas se mantuvieron tras 24 y 48 sem. de seguimiento. Los niveles de IL-18 e IFNgamma disminuyeron de forma significativa tras el tratamiento, observándose una tendencia progresiva hacia la normalización. Los niveles de DNA-VHB tendieron a descender, y los de ALT tendieron a normalizarse desde las 24 sem. del tratamiento, manteniéndose a las 48 sem.

Tabla 1. Valores séricos de citoquinas en pacientes tratados con ADV.

	Pacientes		Controles	
	Basal (n = 18)	24 sem (n = 15)	48 sem (n = 9)	Sanos (n = 6)
IL-1b (pg/ml)	4,25 ± 1,15	3,74 ± 0,58 [†]	4,07 ± 1,28	4,27 ± 0,80
IL-1RA (ng/ml)	2,63 ± 8,27	2,30 ± 7,51	0,46 ± 0,84	0,51 ± 0,71
IL-2 (pg/ml)	28,24 ± 7,04 [†]	28,90 ± 10,34 [†]	25,45 ± 4,60 [†]	0,00 ± 0,00
IL-4 (pg/ml)	2,30 ± 4,24	0,88 ± 0,44	0,79 ± 0,18	0,87 ± 0,18
IL-6 (pg/ml)	3,06 ± 4,32 [†]	2,64 ± 2,66 [†]	2,55 ± 1,35 [†]	1,51 ± 0,08
IL-12p70 (pg/ml)	2,49 ± 6,42	0,60 ± 1,12	0,34 ± 0,30	0,30 ± 0,15
IL-18 (pg/ml)	501,95 ± 108,30 [†]	431,37 ± 92,72 [†]	384,06 ± 82,34 ^{†,‡}	276,22 ± 92,22
IFNgamma (pg/ml)	5,84 ± 6,76 [†]	4,79 ± 5,79	2,91 ± 0,72 [†]	2,87 ± 0,93

Los valores se expresan como media ± DS. [†]Diferencias significativas respecto a controles sanos, $p < 0,05$ Mann-Whitney Test. [‡]Diferencias significativas respecto a determ. basal $p < 0,05$ Wilcoxon Signed Ranks Test.

Conclusión: Los pacientes con HCB presentan una relevante alteración del sistema inmune que conlleva la elevación en sangre periférica de citoquinas con perfil inflamatorio y de activación linfocitaria T y de células de estirpe monocitaria. El tratamiento con ADV induce efectos moduladores sobre el sistema inmune alterado en estos pacientes, disminuyendo los niveles de IL-18 e IFN γ .

ETIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD HEPÁTICA REGISTRADA EN UN EQUIPO DE ATENCIÓN PRIMARIA

M. Álvarez Fernández, G. Ros Cervera y J.G. Bartomeu
EAP Raval Sud. SAP Litoral. ICS. Barcelona-Ciudad.

Objetivo: Conocer las causas de enfermedad hepática registradas como diagnósticos en nuestro centro de salud (CS).

Material y métodos: Estudio descriptivo transversal realizado en setiembre de 2005, en población adulta atendida en un CS urbano. *Variables de estudio:* 56 diagnósticos de enfermedad hepática según la CIE10^a, edad y sexo.

Resultados: Pacientes con algún problema hepático: n = 1762, hombres 1.127 (65%), la edad media fue 53 \pm 17 años (15-102). Diagnósticos más frecuentes: Hepatitis C Crónica: n = 715 (41% casos), varones 464 (65%), edad media 53 \pm 17 (20-99), distribución por grupos de edad (DGE): (15-34: 14%, 35-64: 55%, > 65: 31%); Hepatitis Aguda B: n = 249 (14%), varones 175 (70%), Hepatitis B Crónica: n = 121 (7%), varones 69 (60%), edad media 49 \pm 16 (15-84), DGE: (15-34: 20%, 35-64: 61%, > 65: 18%); Fibrosis y Cirrosis del Hígado: n = 159 (9%), varones 105 (65%), edad media 65 \pm 12 (25-87), DGE: (15-34: 1%, 35-64: 44%, > 65: 55%). En el 29% de casos restantes, las hepatitis agudas no B: n = 101 (6%), esteatosis: n = 38 (2%), hepatopatía alcohólica: n = 37 (2%).

Conclusiones: 1. La hepatitis crónica C es el registro más frecuente de enfermedad hepática en nuestro medio, seguida por la hepatitis aguda B, siendo fibrosis/cirrosis la tercera. 2. La enfermedad hepática es más frecuente en el varón a excepción de la hepatitis aguda A y la degeneración grasa con igual prevalencia en ambos sexos. 3. Los pacientes con hepatitis B crónica son más jóvenes que aquellos con hepatitis C crónica. Los cirróticos presentan edades más avanzadas. 4. Parece existir un infraregistro de la degeneración grasa del hígado y de la hepatopatía enólica.

EFICACIA CLÍNICO-HISTOLÓGICA Y FACTORES ASOCIADOS CON RESPUESTA AL TRATAMIENTO COMBINADO CON INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA EN RECEPTORES DE TRASPLANTE HEPÁTICO CON HEPATITIS C RECURRENTE

I. Fernández^a, M. Abradelo^b, R. Muñoz^a, J.C. Meneu^b, F. Colina^c, I. García^b, G. Castellano^a, A. Fuertes, E. Moreno^b y J.A. Solís-Herruzo^a

Servicios de ^aGastroenterología, ^bCirugía General y Unidad de Trasplantes Abdominales, ^cAnatomía Patológica y ^dMicrobiología, Hospital Doce de Octubre, Madrid.

El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia clínico-histológica y los factores asociados con respuesta al tratamiento con interferón pegilado alfa-2b (IFN-Peg) y ribavirina en receptores de un trasplante hepático (TH) con hepatitis C recurrente.

Pacientes y métodos: Desde noviembre de 2001 se incluyeron prospectivamente 47 pacientes con TH e infección por VHC (28 V y 19 M; edad media: 52,2 \pm 9,2; 44 genotipo 1). Todos ellos tenían hipertransaminasemia (GPT > 45 UI/ml), detección del ARN del VHC en suero mediante PCR y datos histológicos de hepatitis crónica en ausencia de signos de rechazo en los 2 meses previos al inicio del tratamiento. En todos los pacientes se inició tratamiento con IFN-Peg (1,5 μ g/kg/sem) y ribavirina (800-1000 mg/d) durante 12 meses. *Las variables analizadas fueron:* 1) la respuesta viral sostenida (RVS) a los seis meses de finalizado el tratamiento, 2) la respuesta bioquímica (RB) definida como la normalización de las transaminasas al final del tratamiento, 3) la respuesta viral temprana (RVT), es decir, la negativización de la viremia a las 12 semanas de

tratamiento, 4) la respuesta viral al finalizar la terapia antiviral (RVF), 5) los factores predictivos de respuesta 6) la modificación de la lesión histológica en la biopsia hepática realizada en el año posterior a retirar la medicación antiviral y 7) los efectos secundarios de este tratamiento.

Resultados: Se observó RVS en el 23% de los 47 pacientes que iniciaron el tratamiento. Treinta y tres (70%) pacientes consiguieron RB y 17 (36%) RVF. Tras 12 semanas de tratamiento, 21 de los 47 pacientes (45%) presentaron RVT y 11 de ellos (52%) consiguieron RVS. Ningún paciente con detección del ARN-VHC a las 12 semanas de tratamiento alcanzó RVS. Los índices de inflamación portal y lobulillar en la biopsia hepática descendieron de manera significativa en los pacientes que presentaron RVS ($p < 0,05$) pero no en los que no respondieron. El índice de fibrosis no varió de forma significativa en ninguno de los dos grupos. Conseguir una RVS se asoció significativamente con niveles bajos de GGT antes del tratamiento ($p = 0,04$), carga basal en suero del ARN-VHC < 850.000 UI/mL ($p = 0,03$), alcanzar RVT ($p = 0,002$) y con recibir el tratamiento antiviral completo (al menos el 80% de la dosis durante al menos el 80% de la duración del tratamiento) ($p = 0,04$). Diez (21%) pacientes abandonaron prematuramente el tratamiento en relación a efectos adversos de la medicación.

Conclusiones: El tratamiento combinado con IFN-Peg y ribavirina en receptores de un TH con hepatitis C recurrente infectados mayoritariamente por el genotipo 1 consiguió RVS en el 23% de los casos. Esta respuesta se asoció a mejoría significativa de la lesión hepática. Los factores asociados con una mejor respuesta al tratamiento antiviral fueron los niveles bajos basales de GGT y carga del VHC en suero, alcanzar una RVT y ser capaz de completar el tratamiento.

ESTUDIO DE LOS FACTORES PREDICTIVOS DE RESPUESTA VIROLÓGICA PRECOZ Y RESPUESTA VIROLÓGICA SOSTENIDA EN LOS PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C, GENOTIPO 1, TRATADOS CON INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA

J. Salmerón^a, J. Casado^a, L. Rodríguez^a, P. Muñoz de Rueda^a, V. Lafuente^a, M. Diago^b, M. Romero^c, D. Quintero^a, R. Quiles^a y A. Ruiz Extremera^a

^aUnidad Clínica de Aparato Digestivo, Hospital Universitario "San Cecilio", Granada. ^bServicio de Aparato Digestivo, Hospital General de Valencia. ^cServicio de Aparato Digestivo, Hospital De Valme, Sevilla.

Introducción: Según el consenso, en los pacientes con genotipo 1 del VHC es necesario conocer la respuesta virológica precoz (RVP) a la 12 semana, para saber cuáles tienen que continuar con el tratamiento. Recientemente, la determinación del ARN-VHC a la 4 semana se está usando para tomar decisiones terapéuticas.

Objetivo: Estudiar los factores predictivos de RVP y respuesta virológica sostenida (RVS) antes y durante el tratamiento.

Pacientes y métodos: Se estudiaron prospectivamente 82 pacientes con hepatitis crónica C y genotipo 1, tratados con 180 mcg semanales de interferón pegilado y 800 a 1.200 mg de ribavirina durante 48 semanas. A todos ellos se les estudió en el periodo basal los datos epidemiológicos, bioquímicos, histológicos y virológicos. Además se determinó el ARN-VHC a los 15, 30, 60, 90, 180 y 270 días, y la carga viral VHC en la basal y a los 90 días.

Resultados: De los 82 pacientes, 74(90%) presentaron una RVP y 8 (10%) no cumplían con los criterios de RVP a la 12 semana. Los factores predictivos de RVP se relacionaron con la lesión hepática: menor grado de fibrosis (2,6 \pm 0,8 frente a 2 \pm 1, $p = 0,07$) y niveles más bajos de GGT UI/ml (130 \pm 123 frente a 62 \pm 65, $p = 0,03$). De los 74 pacientes con RVP, 50 (61%, valor predictivo positivo-VPP del 68%) tenían una RVS y 24 (29%) una RVP sin RVS (16 recidivas, 6 breakthrough y 2 respondedores parciales). Los factores predictivos de RVS en los pacientes con RVP fueron una edad \leq 40 años ($p < 0,001$) y una carga viral \leq 600.000UI ($p = 0,03$). En la regresión logística ambos factores tenían valor predictivo independiente: carga viral ($p = 0,042$) y edad ($p = 0,006$). El VPP de los pa-

cientes que negativizaron por primera vez el ARN-VHC y presentaron una RVS, fue del 71%, 78%, 81% y 17% a los 15, 30, 60 y 90 días, respectivamente. El valor predictivo negativo (VPN, ARN-VHC positivo sin RVS) fue: 39%, 53%, 94% y 77%. Se han analizado las posibilidades de RVS en todos los pacientes ARN-VHC negativo al primer y segundo mes, según carga viral y edad: 1) ≤ 40 años y ≤ 600.000 UI, RVS del 100% en el primer y segundo mes; 2) > 40 años y ≤ 600.000 UI, RVS del 100% en el primer mes y 87,5% en el segundo; 3) ≤ 40 años y > 600.000 UI, RVS del 91% en el primer mes y 83,3% el segundo y 4) > 40 años y > 600.000 UI, RVS del 44% primer mes y 55,5% el segundo.

Conclusiones: La RVP se relacionaron con la enfermedad hepática, mientras que los factores predictivos de RVS en los pacientes con RVP se relacionaron con la edad y la carga viral. Aunque la determinación del ARN-VHC al primer mes clasifica mejor a los pacientes con RVS según carga viral y edad, en el segundo mes se mejora el VPN.

EFICACIA Y SEGURIDAD DEL INTERFERÓN ALFA2B COMO ADYUVANTE DE LA VACUNA CONTRA LA HEPATITIS B EN UNA POBLACIÓN DE BAJA RESPUESTA

M.E. Miquílina Colina^a, T. Lozano Rodríguez^a, L. García Pozo^a, M. Rapicetta^b, P. Chionne^b, P. Rizza^b, F. Belardelli^b, O. Lo Iacono^c y C. García Monzón^a

^aUnidad de Investigación, Hospital Universitario Santa Cristina, Madrid, ^bDepartamento de Virología, Instituto Superior de Sanidad, Roma, Italia, ^cFundación de Investigación Biomédica, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid.

Introducción: La vacuna recombinante contra el virus de la hepatitis B (VHB) produce una elevada tasa ($> 90\%$) de seroprotección (anti-HBs ≥ 10 mUI/ml) cuando se administra a personas sanas. Existen, no obstante, poblaciones con un alto riesgo de infección por el VHB, como los pacientes en hemodiálisis, que presentan una baja respuesta a la vacunación. Los interferones (IFN) de tipo I, alfa y beta, son citoquinas capaces de estimular la respuesta inmune humoral y celular, lo que sugiere que podrían ser útiles como adyuvantes de la vacuna anti-VHB en pacientes con baja respuesta.

Objetivo: Determinar la tasa de seroprotección de la vacuna anti-VHB (ENGERIX-B, GlaxoSmithKline), administrada con o sin IFN- α 2b (INTRONA, Schering-Plough), en pacientes en hemodiálisis no vacunados previamente.

Pacientes y métodos: De 54 pacientes incluidos, 31 (edad: 61 ± 11 años; sexo: 25 hombres, 6 mujeres) han completado la pauta de vacunación. Todos ellos tenían serología negativa para el VHB, VHC y VIH, siendo asignados aleatoriamente a 2 grupos de vacunación. *Grupo A* ($n = 16$): Tres dosis de 40 mcg de ENGERIX-B administradas por vía intramuscular en el deltoides en los meses 0, 1 y 2. *Grupo B* ($n = 15$): La misma pauta de vacunación más INTRONA a una dosis de 3 MUI administrado simultáneamente con cada dosis de ENGERIX-B en el mismo músculo deltoides. Se analizó la concentración sérica de anti-HBs, medida por un ELISA cuantitativo (AXSYM AUSAB, Abbott Lab), 1 mes después de la 2ª y 3ª dosis así como la aparición de acontecimientos adversos (AA) en ambos grupos de pacientes.

Resultados: La tasa de seroprotección 1 mes después de la 2ª dosis fue del 31,2% (5 de 16) en el grupo A y del 53,3% (8 de 15, $p = 0,093$) en el grupo B, siendo la tasa de seroprotección 1 mes después de la 3ª dosis del 50% (8 de 16) en el grupo A y del 80% (12 de 15, $p = 0,081$) en el grupo B. Estas diferencias no alcanzaron significación estadística debido al tamaño de la población analizada ($\beta = 0,064$). Ninguno de los pacientes del grupo A presentó AA mientras que el 73% (11 de 15, $p < 0,01$) del grupo B presentó AA, siendo el más frecuente la fiebre de intensidad leve o moderada. Ningún paciente presentó AA graves ni hematológicos (leucotrombopenia).

Conclusión: Los resultados preliminares de este ensayo clínico muestran una clara tendencia que sugiere que el IFN- α 2b podría ser eficaz y seguro como adyuvante de la vacuna recombinante anti-VHB en pacientes con un alto riesgo de infección por el VHB y con baja respuesta a la vacunación convencional.

RELEVANCIA DE LA ACTIVACIÓN DE STAT3 PARA LA REPLICACIÓN DE HCV

E. Luquin, R. Aldabe, E. Larrea, M.P. Civeira y J. Prieto

Introducción: El VHC se caracteriza por resistir tanto al sistema endógeno del interferón como al tratamiento con interferón-alfa recombinante. Cuando el interferón-alfa se une a su receptor se desencadena una cascada de señales caracterizada por la activación de STAT1, STAT2 y en menor medida STAT3, que da lugar a la inducción de genes con capacidad antiviral entre otras actividades. En nuestro grupo hemos observado que la resistencia del VHC al efecto antiviral del interferón se debe a un bloqueo de la activación de las proteínas STAT1, STAT2 y STAT3 y un descenso de la cantidad de STAT3 presente en las células. En el presente trabajo hemos querido comprobar la importancia de la activación de STAT3 en el desarrollo de la replicación viral.

Métodos: Hemos analizado el nivel de activación de STAT3 mediante análisis inmunohistoquímico de muestras hepáticas de pacientes infectados con VHC y la importancia de la activación de STAT3 en la actividad antiviral del IFN en células con el replicón de VHC inhibiendo la activación de STAT3. Además hemos estudiado la capacidad antiviral frente a la replicación de VHC de varias citoquinas de la familia de la IL6 dada su capacidad de activar STAT3.

Resultados: La cantidad de STAT3 activado presente en hepatocitos de pacientes infectados por VHC es menor que la presente en hepatocitos de individuos sanos o con otras hepatopatías. De igual modo al tratar células que poseen el replicón de VHC con IFN- α e inhibir la activación de STAT3 se observa una reducción de la capacidad antiviral de IFN. Cuando tratamos células en las que se replica el VHC con citoquinas pertenecientes a la familia de la IL6 se produce una inhibición de la replicación viral existiendo una correlación directa entre la cantidad de STAT3 activada por dichas citoquinas y la capacidad antiviral.

Conclusiones: La activación de STAT3 interfiere con la replicación del VHC lo cual nos sugiere que la potenciación de la activación de STAT3 puede ser importante a la hora de mejorar la eliminación del VHC.

EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF CHRONIC HEPATITIS C IN PORTUGAL

J. Areias^a, H. Gomes^b, M.L. Mocho^c, L. Matos^d, C. Valente^e, A. Vale^f, J. Serra^g, F. Serejo^h, L. Carvalhoⁱ, J. Miranda^j, F. Campante^k, J. Ramos^l, I. Redondo^m, A. Carvalhoⁿ, C. Moura^o, E. Monteiro^p, V. Bezerra^q, A. Morbey^r, P. Ribeiro^s, R. Alves^t y R. Marinho^u

^aGastroenterología Hospital Santo António, Porto. ^bDoenças Infecciosas Hospital São João, Porto. ^cDoenças Infecciosas Hospital São Teotónio, Viseu. ^dGastroenterología Hospital Egas Moniz, Lisboa. ^eDoenças Infecciosas Centro Hospital Covões, Coimbra. ^fGastroenterología Hospital São João, Porto. ^gDoenças Infecciosas Hospitais Universidade de Coimbra, Coimbra. ^hMedicina II Hospital Santa Maria, Lisboa. ⁱGastroenterología Hospital São Pedro, Vila Real. ^jMedicina Interna CHVN Gaia, Vila Nova Gaia. ^kMedicina Hospital Nossa Senhora do Rosário, Barreiro. ^lMedicina Interna Hospital São Pedro, Vila Real. ^mGastroenterología Hospital dos Capuchos, Lisboa. ⁿGastroenterología Hospitais Universidade Coimbra, Coimbra. ^oMedicina Interna Hospital Distrital Santarém, Santarém. ^pUnidade de transplantes Hospital Curry Cabral, Lisboa. ^qGastroenterología SAMS, Lisboa. ^rMedicina Interna SAMS, Lisboa.

Background and aim: Chronic Hepatitis C (CHC) constitutes an important public health problem due to its prevalence, incidence, comorbidity and the lack of a totally effective treatment or a vaccine. The aim of this trial was the epidemiological and clinical characterization of the Portuguese population of CHC patients referred to medical specialists.

Methods: Transversal observational study of patients diagnosed with CHC (demonstrated by quantitative or qualitative HCV RNA

in the blood or the existence of changes compatible with CHC in liver biopsy) referred for the first time to medical specialists between February and December of 2002. An analysis was performed on the variables related to demographic data, infection characteristics, risk factors and probable route of infection, associated diseases, alcohol consumption, medical assessments performed and the initiation of antiviral therapy.

Results: 567 patients were included in the analysis (425 M / 142 F). Infection by genotype 1 occurred in 52,2% of the cases and by genotype 3 in 34% of the cases. Intravenous drug use was the most significant risk factor (58,7%) and also the most significant probable route of infection (58,6%). Viral load was higher than 2 millions copies/ml in 32,5% of the patients. 3% of the individuals were AgHBs positive, 10,4% HIV-1 positive and 0,9% HIV-2 positive. Diabetes mellitus was the most frequent comorbidity (4,2%). 28,6% of the patients reported alcohol consumption above 40 g/day. ALT and AST higher than 2 UNL were found in 57% and 29% of the patients, respectively. Histological diagnosis of Hepatic Cirrhosis was made in 6,47% (28/433 biopsies). 59% of the patients initiated therapy; 31% did not have indication for treatment (40% of these patients due to normal LFT) and 10% dropped-out before initiating therapy.

Conclusion: Genotype 1 is the most prevalent with Genotype 3 responsible for 34% of the infections. HIV co-infection was found in 11,3% of the patients. Intravenous drug use is the predominant route of Hepatitis C infection in. Hepatic Cirrhosis was diagnosed in 6,47% of the evaluated cases. Only 59% of the patients received antiviral treatment.

TRATAMIENTO EN PRÁCTICA CLÍNICA HABITUAL CON PEGINTERFERON ALFA-2A (40KD) (PEGASYS®) Y RIBAVIRINA (COPEGUS®) EN PACIENTES CON HEPATITIS C CRÓNICA GENOTIPO 1 RESULTADOS FINALES DEL PROYECTO HERACLES

M. Diago^a, A. Oliveira^b, R. Solá^c, M. Romero-Gómez^d, R. Moreno-Otero^e, R. Pérez^f, J. Salmerón^g, J. Enríquez^h, R. Planasⁱ, J.C. Gavilán^j, J. del Olmo^k, R. Uribarrena^l, C. Sillero^m, A. Benítezⁿ, S. Sánchez-Galdón^ñ, B. Dalmau^o, L. Eraña^p, M. Montoro^q, J. Portu^r, J.M. Garijo^s, R. Barniol^t, A. Domínguez^u, R. Rota^v, J.L. Olcoz^w, M. Antón^x, C. López-Oliú^y, T. Casanovas^z, E. Jiménez¹, M. Huarte², F. Díaz³, J. Sánchez-Ruano⁴, M. Orive⁵ y M. Muñoz-Sánchez⁶

^aH. General, Valencia; ^bH. La Paz, Madrid; ^cH. del Mar, Barcelona; ^dH. Universitario de Valme, Sevilla; ^eH. de la Princesa, Madrid; ^fH. Central de Asturias, Oviedo; ^gH. San Cecilio, Granada; ^hH. Sant Pau, Barcelona; ⁱH. Germans Trias i Pujol, Barcelona; ^jH. Virgen de la Victoria, Málaga; ^kH. Clínico, Valencia; ^lH. Miguel Servet, Zaragoza; ^mH. de Elche, Alicante; ⁿH. Jerez, Cádiz; ^oH. Punta Europa, Cádiz; ^pH. Parc Taulí, Barcelona; ^qH. Santiago Apóstol, Vitoria; ^rH. San Jorge, Huesca; ^sH. Txagorritxu, Vitoria; ^tH. San Agustín, Jaén; ^uH. Vic, Barcelona; ^vH. Juan Ramón Jiménez, Huelva; ^wH. Viladecans, Barcelona; ^xH. Virgen Blanca, León; ^yH. Dr. Peset, Valencia; ^zH. Santa Caterina, Gerona; ¹H. Bellvitge, Barcelona; ²H. Insular, Las Palmas; ³H. Virgen del Camino, Pamplona; ⁴H. Puerta del Mar, Cádiz; ⁵H. Virgen de la Salud, Toledo; ⁶H. Basurto, Bilbao; ⁷M. Muñoz-Sánchez, Roche, Madrid.

Introducción: Poder pronosticar la Respuesta Viral Sostenida (RVS) en pacientes con hepatitis C crónica (HCC) tratados con interferón es muy importante para los clínicos. Desde la publicación (Fried. NEJM 2002) de los datos de la predictabilidad de la PCR del RNA-VHC de la semana 12 en el tratamiento con peginterferón alfa-2a (40KD), en España el interés se ha centrado en la aplicación de la "regla de la semana 12" en la Práctica Clínica Habitual (PCH). **Objetivo:** Documentar la PCH en pacientes naïve con CHC Genotipo 1 (CHC-1), tratados con peginterferón alfa-2a (40KD) y ribavirina en centros españoles y siguiendo la legislación española del R.D. 561/1993. Aquí se presentan los resultados finales.

Métodos: Estudio multicéntrico, observacional, con captura electrónica de datos (CED), iniciado antes de la comercialización de pe-

ginterferón alfa-2a (40KD) (PEGASYS®) y (COPEGUS®). Los pacientes elegibles debían tener RNA-HCV sérico detectable, genotipo 1, ALT elevadas y patología hepática compensada.

Resultados: La población de efectividad fue de 475 pacientes (pacientes que cumplieron criterios y tomaron al menos una dosis de la medicación). Las características basales fueron (media del valor): edad (44 años), peso (74 kgs), IMC (26 kgs/m²), sexo (67% varones), grado de lesión hepática previa al tratamiento por biopsia (sin lesión 25%, fibrosis portal 53%, tabique incompleto 15%, cirrosis 7%), carga viral basal (38% \geq 800,000 UI/mL). La RVS alcanzada fue 48%. Se analizó la posible relación con la RVS de la edad, peso, IMC, sexo, grado de lesión hepática previa al tratamiento por biopsia carga viral basal, valores de ALT, AST y PCR en las semanas 12 y 24 del RNA-HCV en suero. De estos factores, sólo la baja carga viral y la normalización de la ALT en suero en la semana 12 muestran una tendencia hacia una mayor posibilidad de alcanzar la RVS. Los datos de seguridad no difieren de los ya descritos para esta combinación terapéutica.

Conclusiones: Este estudio demuestra la alta tasa de RVS en pacientes con VHC genotipo 1 tratados con peginterferón alfa-2a (40KD) y ribavirina en la práctica clínica habitual (PCH). Además el tratamiento fue bien tolerado. Ninguno de los factores predictivos analizados mostró una relación estadísticamente significativa en la muestra del estudio.

LOS PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA ACEPTADOS PARA TRASPLANTE HEPÁTICO TIENEN UNA MORTALIDAD SUPERIOR A LA DE LOS PACIENTES SIN INFECCIÓN POR VIH

C. Sanz, M. Salcedo, J. Berenguer, D. Rincón, P. Miralles, G. Clemente, I. Beceiro, O. Nogales, O. Núñez, I. Yepes, J. Calleja y R. Bañares

Sección de Hepatología y Unidad de Trasplante Hepático. Servicio de Microbiología y Enfermedades Infecciosas. Servicio de Cirugía General II y Unidad de Trasplante Hepático. Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

Introducción: El trasplante hepático (TH) es una opción para la cirrosis descompensada en pacientes con infección por VIH en tratamiento TARGA, con una supervivencia a corto plazo similar a la de los pacientes no VIH. Sin embargo, la coinfección con VIH es un factor predictivo independiente de menor supervivencia en pacientes con cirrosis por virus C, lo que puede suponer una menor aplicabilidad del trasplante.

Objetivos: Comparar la supervivencia por intención de tratar (desde el momento de la inclusión en lista de espera) de los pacientes portadores de una hepatopatía avanzada con y sin VIH.

Materiales y métodos: Se analizaron todos los pacientes (n = 306) evaluados para TH desde enero de 2002 (fecha de inicio del programa de TH en VIH) hasta octubre de 2005 de los que 200 se incluyeron en lista de trasplante hepático. La variable principal del estudio fue la supervivencia por intención de tratamiento.

Resultados: Durante el periodo de estudio se evaluaron 28 pacientes con infección por el VIH (9,1%) y 278 sin ella (90,8%). No hubo diferencias en la proporción de pacientes aceptados para trasplante en ambos grupos (53,6 % n = 15 vs 66,5 % n = 185 p = 0,211). La edad de los pacientes VIH fue inferior [41,5 años (4,8) vs 52,4 años (9,3); p = 0,021]. No hubo diferencias en cuanto a la puntuación MELD [16,13 (4,7) frente a 17,2 (6,6); p = 0,35] o el grado de Child (A: 6,7%, B: 40%, C: 53,3% frente a A: 14,9%, B: 46%, C: 39,1%; p = 0,48) o la indicación de trasplante (cirrosis 80% y hepatocarcinoma 20% vs cirrosis 61,1%, hepatocarcinoma 30,3% y otras causas 8,6%; p = 0,274). No hubo diferencias en la edad del donante, el tiempo de isquemia, la duración de la cirugía o el protocolo de inmunosupresión. La mediana de espera hasta el trasplante fue similar en ambos grupos. Fallecieron en lista de trasplante o fueron excluidos de la lista 8 pacientes (53,3%) del grupo VIH frente a 12 (6,5%) del grupo no VIH (p = 0,000). Las causas de exclusión en el grupo VIH fueron: muerte por complicaciones de

hepatopatía (5), progresión de hepatocarcinoma (1), dificultades anatómicas intraoperatorias (1) y mejoría (1). Cinco pacientes VIH fueron trasplantados y dos fallecieron por recidiva colestática de la hepatitis C. La probabilidad de supervivencia por intención de tratamiento fue significativamente inferior en los pacientes VIH + [0,68, 0,45, 0,30, frente a 0,91, 0,85, 0,79 a los 6, 12 y 24 meses, respectivamente; log-rank 15,7, $p = 0,0001$. HR 4,6 IC 95% (2,0-10,4)].

Conclusiones: A pesar de que el TH es una opción de tratamiento para los pacientes con infección VIH y hepatopatía crónica descompensada, la mortalidad por intención de tratamiento parece ser mayor que la de los pacientes no infectados. De confirmarse estos resultados en posteriores estudios, pudiera ser necesario modificar la valoración para trasplante hepático de los pacientes VIH positivos.

RELACIÓN ENTRE SÍNTESIS DE CITOCINAS T1/T2 Y RESPUESTA VIROLÓGICA SOSTENIDA EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C TRATADOS CON INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA

M. Trapero-Marugán^a, L. García-Buey^a, C. Muñoz^b, J.A. Moreno-Monteagudo^a, M.J. Borque^c, X. Salcedo-Mora^a y R. Moreno-Otero^a

^aServicio de Gastroenterología y Hepatología, ^bServicio de Inmunología y ^cUnidad de Biología Molecular. Hospital Universitario de La Princesa, U.A.M., Madrid.

Objetivos: 1) Comparar el perfil de síntesis de citocinas T1/T2 por los linfocitos T CD4 y CD8 de sangre periférica entre pacientes con hepatitis crónica C (HCC) genotipo 1 y controles sanos. 2) Analizar las variaciones de dicho perfil en los pacientes con HCC durante el tratamiento con PEG-IFN más ribavirina. 3) Correlacionar el balance de citocinas T1/T2 con la respuesta virológica sostenida (RVS).

Pacientes y métodos: En el presente estudio final, se incluyeron 44 pacientes "naive" con HCC, genotipo 1, que recibieron Peg-IFN α 2a (180 mg/semana) y ribavirina (1-1,2 g/día) durante 48 semanas y 16 controles sanos. Se analizó la expresión intracitoplásmica de IL-4, IFN γ y TNF α por citometría de flujo por los linfocitos T CD4 y CD8, en reposo y estimulados con un éster de forbol, basalmente y durante el tratamiento. La RVS se definió como la negativización del ARN-VHC al sexto mes de seguimiento. Estadística: ANOVA y regresión logística.

Resultados: Los 44 pacientes (edad media 45 \pm 8 años) finalizaron el estudio. En el análisis basal, los controles (39 \pm 17 años) presentaron un porcentaje de CD8 más elevado que los pacientes con HCC (22 \pm 7 vs 17 \pm 10; $p < 0,004$), mayor expresión intracitoplásmica de IFN γ por los CD4 en reposo (0,03 \pm 0,02 vs 0,9 \pm 1,3; $p < 0,02$), de TNF α por los CD8 (29,8 \pm 17 vs 19,5 \pm 17; $p < 0,05$) y CD4 estimulados (36,3 \pm 10 vs 26,7 \pm 22; $p < 0,02$), y menor expresión de IL-4 por los CD4 (1,3 \pm 0,7 vs 2,7 \pm 3; $p < 0,01$). Un total de 26 pacientes (59%) alcanzaron una RVS, 13 recidivaron (30%) y 5 fueron no-respondedores (NR) (11%). Al primer mes de tratamiento, la expresión de TNF α por los CD4+ fue mayor en los pacientes con RVS que en los NR (36,5 \pm 25 vs 17,2 \pm 21; $p < 0,01$). Al tercer mes de tratamiento, el porcentaje de CD4 fue menor en los pacientes con RVS (34 \pm 16 vs 44 \pm 15; $p < 0,04$), la expresión de IL-4 por los CD4 fue menor en los pacientes con RVS que en los NR (1,9 \pm 4 vs 3,9 \pm 4; $p < 0,05$) y la expresión de TNF α por los CD4 fue mayor en los que alcanzaron una RVS (49 \pm 21 vs 31,2 \pm 23; $p < 0,01$). Al finalizar el tratamiento, la expresión de IFN γ por los CD8 y CD4 estimulados fue mayor en los pacientes con RVS, (17,3 \pm 14 vs 10 \pm 8,5; $p < 0,04$) y (10,7 \pm 8 vs 5,9 \pm 5,5; $p < 0,03$) respectivamente. En el estudio multivariante, los factores predictivos de RVS fueron: porcentaje de CD4 y expresión de TNF α por los CD4 al primer mes de tratamiento, expresión de IFN γ por los CD4, y expresión de IFN γ y TNF α por los CD8 estimulados al finalizar el tratamiento.

Conclusiones: 1. La expresión de IFN γ y TNF α por los linfocitos T CD4 y CD8 (respuesta de citocinas tipo 1) durante el tratamiento antiviral combinado se asocia con una RVS, sugiriendo el control de la replicación y posterior eliminación del VHC genotipo 1.

ANÁLISIS PRELIMINAR DE LA UTILIDAD DE LA ELASTOGRAFÍA DE TRANSICIÓN (FIBROSCAN®) EN PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC Y TRANSAMINASAS NORMALES

M. Trapero-Marugán, J. Mendoza, J.A. Moreno-Monteagudo, L. García-Buey, X. Salcedo-Mora y R. Moreno-Otero
Servicio de Gastroenterología y Hepatología. Hospital Universitario de La Princesa, U.A.M., Madrid.

Introducción: Del 30 al 50% de los pacientes con hepatitis crónica C (HCC) tiene unos niveles de transaminasas persistentemente normales (PN-ALT), pero sólo un 20% presenta daños histológicos hepáticos. El mayor problema radica en conocer si esta enfermedad va a progresar. Existen diferentes métodos no invasivos, como el Fibrotest, el índice de Forns (IF) o el APRI, que se han diseñado para determinar la fibrosis hepática. La elastografía de transición (Fibroscan® (FS)), ha creado una gran expectación como método alternativo no invasivo para establecer el daño hepático referente al estadio de fibrosis.

Objetivos: 1) Valorar la fibrosis hepática mediante Fibroscan® y dos marcadores bioquímicos (índice de Forns e índice APRI) en pacientes con infección crónica por el VHC y PN-ALT. 2) Evaluar las posibles concordancias y correlaciones entre los tres métodos no invasivos.

Pacientes y métodos: Se han incluido prospectivamente 28 pacientes consecutivos con HCC (edad media 44,4 \pm 10 años; 18 mujeres y 10 hombres) que presentaban PN-ALT. Las PN-ALT se han definido como la existencia de tres determinaciones de ALT con valores normales a lo largo de un año. Se han calculado los índices de Forns (IF) (plaquetas, gama-glutamyltranspeptidasa, colesterol y edad) y APRI (cociente AST/plaquetas), y se ha determinado la elastografía hepática mediante Fibroscan® a todos los pacientes. Se han analizado las posibles concordancias y correlaciones entre los índices bioquímicos (IF, APRI) y el Fibroscan® (FS) mediante los test de Pearson, Spearman y chi-cuadrado.

Resultados: Características de los pacientes (media \pm desviación estándar): viremia 954000 \pm 111575 IU/mL, AST 25 \pm 5 U/L, ALT 27,7 \pm 6,7 U/L, colesterol 190,5 \pm 26 mg/dL, GGT 23,2 \pm 21,8, plaquetas 249.610 \pm 58.063/mm³. El 93% de los pacientes presentaba genotipo 1. El valor medio de FS fue 6,35 \pm 3,3 Kpa, distribuido en F1: 24 pacientes (86%), F2: 2 (7%), F3: 1 (3,5%) y F4: 1 (3,5%). El valor medio del IF fue 3,4 \pm 1,4, distribuido en F1: 20 pacientes (71%) y F2: 8 (29%). El valor medio del índice APRI fue 0,3 \pm 0,1, incluidos en F1 los 28 pacientes (100%). Todos estos análisis reflejan una escasa fibrosis, equiparables a cifras de F0 o F1 en la biopsia hepática convencional (Metavir); sin embargo, aunque parece definirse una tendencia favorable, no se han podido encontrar buenas correlaciones entre los biomarcadores y Fibroscan®, debido, probablemente, a la exigua muestra de pacientes estudiados.

Conclusiones: 1) Los pacientes con HCC y PN-ALT presentan una escasa fibrosis hepática, determinada mediante tres diferentes métodos no invasivos: dos índices bioquímicos y Fibroscan®. 2) Estos métodos no invasivos pueden ser muy útiles en la práctica clínica para definir el momento de iniciar el tratamiento combinado en pacientes con PN-ALT, evitando la realización de repetidas biopsias hepáticas.

UTILIDAD DEL TRATAMIENTO CON INTERFERÓN PEGILADO MÁS RIBAVIRINA EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C NO RESPONDEDORES A TRATAMIENTOS PREVIOS

J. Mendoza-Jiménez^a, J.A. Moreno-Monteagudo^a, M. Trapero-Marugán^a, L. García-Buey^a, M.J. Borque^b y R. Moreno-Otero^a

^aServicio de Aparato Digestivo. Unidad de Hepatología. ^bUnidad de Biología Molecular. Hospital de La Princesa. Universidad Autónoma de Madrid.

Introducción: El tratamiento de elección para los pacientes "naive" con hepatitis crónica C (HCC) es la combinación de IFN pegilado (IFN-PEG) más ribavirina (RIB). Sin embargo, aún no existe consenso para tratar a los enfermos no respondedores (NR) a tratamientos previos.

Objetivos: Valorar la eficacia del tratamiento combinado de IFN-PEG más RIB durante 12 meses en pacientes con HCC y NR a tratamientos previos. Analizar posibles factores predictivos de respuesta favorable.

Pacientes y métodos: Se han incluido 61 pacientes (69% V; EM: 46 ± 16 años) con HCC que tras un primer ciclo con IFN o IFN + RIB (23 y 38 pacientes, respectivamente) no presentaron una respuesta virológica sostenida (RVS). Los genotipos 1y y 4 fueron los más comunes (87%). Todos comenzaron tratamiento con IFN-PEG-a2b (1,5 mg/Kg/sem) más RIB (1-1,2 g/día según peso) con la intención de ser tratados durante 12 meses, suspendiéndolo si al tercer mes no se había conseguido negativizar la viremia. Se analizaron básicamente parámetros clínicos, epidemiológicos, bioquímicos, virológicos (genotipo viral y viremia cuantitativa) e histológicos (índice de fibrosis). Estudio estadístico: se utilizaron la t de Student y la chi cuadrado, considerando estadísticamente significativos aquellos valores < 0,05.

Resultados: Hasta el momento actual 51 pacientes han completado el tratamiento y seguimiento, o se les ha sido suspendido por falta de respuesta virológica al tercer mes. Se ha obtenido una RVS en 18 pacientes (35%) mientras que en los 33 restantes, uno abandonó el tratamiento por decisión propia (2%), 26 fueron NR (51%) y en 6 se observó recidiva tras haber conseguido una respuesta completa al final del tratamiento (12%). Las tasas de RVS fueron significativamente superiores en los pacientes con viremia < 10⁶ UI/mL (50% vs 17%; p < 0,01) y con menor cociente GGT/GPT (0,45 ± 0,37 vs 0,82 ± 0,7; p < 0,05); aunque los pacientes NR a IFN respondieron mejor que los NR a IFN+RIB, este dato no alcanzó significación estadística (50% vs 27%; p < 0,1). No se encontraron otros factores predictivos de respuesta favorable, incluyendo el genotipo viral. El tratamiento fue bien tolerado y observando un sólo abandono que, además, no fue debido a efectos secundarios.

Conclusiones: 1. La pauta de 12 meses con IFN-PEG más RIB en pacientes con HCC y NR obtiene unas tasas de RVS aceptables (35%), tanto si han sido tratados con IFN en monoterapia o combinado con RIB. 2. Se obtienen mejores tasas de RVS en los pacientes con viremia basal baja y menor cociente GGT/ALT. 3. El tratamiento combinado con IFN-PEG y RIB es bien tolerado en los pacientes NR a tratamientos previos.

EFICACIA, FACTORES PREDICTIVOS DE RESPUESTA Y RIESGOS RELACIONADOS CON EL TRATAMIENTO ANTIVIRAL DE LA HEPATITIS C RECURRENTE TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO

A. Palau^a, M. Berenguer^a, A. Fernández^a, S. Benlloch^a, V. Aguilera^a, M. Prieto^a, J.M. Rayón^b y J. Berenguer^a

^aServicio de Medicina Digestiva y ^bServicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitari La Fe. Valencia.

La recurrencia de la infección tras el TH es universal, ocasionando serias consecuencias a medio-largo plazo. El tratamiento antiviral es la única alternativa terapéutica.

Objetivos: 1. Determinar la eficacia (tasa de respuesta virológica sostenida-RVS) y tolerancia (reducción y/o interrupción prematura tratamiento). 2. Identificar factores basales o durante el tratamiento asociados con la RVS. 3. Definir el riesgo de rechazo y factores predictivos que pudieran predecir esta complicación.

Pacientes y métodos: Pacientes trasplantados por cirrosis VHC tratados con interferón (IFN) estándar o Pegilado o Pegilado y Ribavirina (Rbv) entre 3-1999 y 10-2004 con al menos 6 meses de seguimiento tras la finalización del tratamiento. La duración prevista fue de 48 semanas siempre que fuera posible. Las definiciones de respuesta bioquímica (RB), virológica (RV), y sostenida fueron idénticas a las empleadas en no trasplantados.

Resultados: Se analizaron los resultados en 67 pacientes (mediana edad: 54 años, 67% varones, genotipo 1 en el 93%) tratados con IFN-α-Rbv (46%), Pegα2a-Rbv (35%) o Pegα2b-Rbv (19%). La RB y RV al final del tratamiento fue de 51% y 46%, respectivamente. La RBS y RVS ocurrió en 34% y 33%, respectivamente. El tratamiento se interrumpió prematuramente en el 40% (IFN / PEG-IFN:

36%; Rbv: 37%) por anemia (22%), rechazo (22%), intolerancia (15%) y miscelánea (41%). La reducción de dosis fue necesaria en 57% (IFN: 36%, Rbv: 45%). Seis pacientes desarrollaron un rechazo celular grave o crónico. No se detectaron factores predictivos de rechazo en las variables analizadas probablemente debido al bajo número de casos. En el análisis univariable, las variables predictivas de RVS fueron el tipo de tratamiento antiviral (IFN 13% vs IFNpeg 50%, p = 0,001), la RV precoz al 3er mes de tratamiento (p = 0,0001), la utilización de eritropoyetina (p = 0,04) y la compliance (p = 0,001). Sólo la RV precoz alcanzó significación estadística en el análisis multivariante (p = 0,01).

Conclusión: La eficacia del tratamiento antiviral es superior con pegIFN que con IFN. Ni la inmunosupresión basal ni el antecedente de tratamiento antiviral pretrasplante parecen influir en la RVS. La ausencia de RV precoz es una herramienta muy útil para predecir la ausencia de RVS. El rechazo es una posible complicación a tener siempre en cuenta en estos pacientes.

DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN AGUDA POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS E. UTILIDAD DE LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-VHE DE TIPO IGG

M. Schaper^a, P. Clemente-Casares^c, M. Buti^b, R. Gironés^c, F. Rodríguez-Frías^a, R. Jardi^a y R. Esteban^b

^aLaboratorio de Bioquímica y ^bServicio de Hepatología. Hospital Universitario Vall d'Hebron de Barcelona. ^cDepartamento de Microbiología. Facultad de Biología de Barcelona.

Introducción: El diagnóstico de infección por el virus de la hepatitis E (VHE) se realiza habitualmente mediante la determinación de anti-IgG VHE o anti- IgM VHE. Estas determinaciones se llevan a cabo en pocos laboratorios, por lo cual sería interesante conocer la aplicabilidad de la determinación de anti-IgG VHE tanto, para estudios epidemiológicos como para diagnóstico de infección aguda.

Objetivos: Conocer la correlación entre el grado de positividad de anti-IgG VHE valorado mediante la lectura de la absorbancia de la muestra obtenida en la técnica de enzaimunoensayo, (EIA) y la replicación viral valorada por la detección de ARN-VHE.

Pacientes: 31 muestras de suero anti-IgG VHE positivo. 10 pacientes con hepatitis aguda (2 VHA, 1 VHB, 7 con marcadores serológicos negativos para VHA, VHB y VHC) y 21 individuos sanos.

Métodos: La detección de las anti-IgG VHE se realizó mediante EIA (Kit Bioelisa HEV IgG; Biokit). La positividad del anti-IgG VHE se calculó dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor umbral del ensayo ("ratio"). Se considera un valor positivo cuando el "ratio" es superior a 1. Para valorar la relación positividad anti-IgG/ARN-VHE los valores del "ratio" de cada una de las muestras se agruparon en intervalos (1-2, 2-3, 3-4, 4-5, 5-6, > 6). La detección del ARN-VHE se realizó mediante amplificación por RT-PCR de un fragmento de la región ORF2 (148 pb). Los resultados positivos se confirmaron con una amplificación de la región ORF1 (287 pb).

Resultados: El ARN-VHE fue positivo en 3 (30%) de las 10 muestras de hepatitis agudas y sólo en una del grupo de individuos sanos. Al agrupar los valores del "ratio" de la determinación de anti-IgG VHE de acuerdo con los intervalos establecidos, se observó que, en general, los "ratios" más elevados se detectaron en las muestras de individuos sanos. Sin embargo, al relacionar el valor del "ratio" con la detección de ARN-VHE se observó que las 3 muestras del grupo de hepatitis aguda con un "ratio" superior al intervalo 3-4 eran ARN-VHE positivo, mientras que, de las 16 muestras del grupo de individuos sanos con "ratio" superior a este intervalo solo una era positiva para ARN-VHE (Tabla).

"ratio" (Intervalo)	Hepatitis aguda		Individuos sanos	
	ARN-VHE (+)	ARN-VHE (-)	ARN-VHE (+)	ARN-VHE (-)
(1-2)	0	5	0	0
(2-3)	0	1	0	0
(3-4)	0	1	0	5
(4-5)	1	0	0	9
(5-6)	0	0	0	4
> 6	2	0	1	2

Conclusión: La correlación observada entre el grado de positividad de anti-IgG VHE y la detección de ARN-VHE sugiere que la determinación del "ratio" puede ser útil para la aplicación de la determinación de los anticuerpos anti-IgG VHE, característicos de infección pasada, en el diagnóstico de la infección aguda por el VHE. *Trabajo financiado parcialmente mediante beca (Aprendizaje de Nuevas Tecnologías) de la AEEH.*

INDUCCIÓN DE RESPUESTAS T CD4 Y CD8 FRENTE AL VIRUS DE LA HEPATITIS C MEDIANTE INMUNIZACIÓN CON ANTÍGENOS VIRALES MÁS POLY (I:C) Y ANTI-CD40

A. Zabaleta, L. Arribillaga, D. Llopiz, J. Dotor, J.J. Lasarte, J. Prieto, F. Borrás-Cuesta y P. Sarobe

Universidad de Navarra, Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA), Área de Hepatología y Terapia Génica.

Con objeto de desarrollar nuevas estrategias de vacunación frente al virus de la hepatitis C (VHC), hemos ensayado la capacidad del ácido polinosínico-policitídico, (poly (I:C)), y de un anticuerpo agonista anti-CD40, como adyuvantes para inducir respuestas inmunitarias celulares frente a antígenos del VHC. La inmunización de ratones con estos adyuvantes indujo la maduración *in vivo* de células dendríticas. Además, la administración conjunta de poly (I:C) y anti-CD40 junto con antígenos del VHC tuvo un efecto sinérgico en la activación de linfocitos T. Los linfocitos T CD4 inducidos mostraron un perfil de citoquinas Th1, y las respuestas CD8 pudieron activarse mediante la inmunización con epitopos CD8 mínimos, incluso en ausencia de ayuda T CD4. Sin embargo, la adición a la mezcla de inmunización de proteína recombinante NS3 (como fuente de epitopos CD4) potenció la respuesta CD8. Por otro lado, la inmunización con estos adyuvantes activó a las células NK, que a su vez ayudaron a la activación de las respuestas Th1 y CD8. Finalmente, este protocolo de inmunización fue capaz de inducir respuestas T CD4 y CD8 de larga duración. Estos resultados sugieren que esta estrategia podría ser útil para la vacunación y/o tratamiento de la infección por VHC.

EVOLUCIÓN DEL PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE 881 PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA POR VHB DIAGNOSTICADOS EN LOS ÚLTIMOS 25 AÑOS

O. Glez-Bernardo, M. Rodríguez, L.G. Diéguez, R. Pérez, A. Linares, N.G. Sotorrió, R. de Francisco, I. Martínez y L. Rodrigo

S. Digestivo. Hospital Universitario Central de Asturias.

Objetivo: Conocer las características epidemiológicas de los pacientes con infección crónica por VHB, así como las posibles modificaciones que se hayan producido en el transcurso de los últimos 25 años.

Pacientes y métodos: Se han analizado los datos, recogidos de forma prospectiva, de todos los pacientes con infección crónica por VHB diagnosticados durante los últimos 25 años. El diagnóstico se basó en la presencia de HBsAg en suero durante un periodo > 6 meses. Los 881 pacientes fueron divididos, en función del año del diagnóstico, en 3 periodos de tiempo: 1981-1988 (A; n = 378), 1989-1996 (B; n = 344) y 1997-2004 (C; n = 159).

Resultados: El 68% fueron varones, sin diferencias en la distribución de sexos entre los 3 periodos. Los pacientes del grupo A fueron más jóvenes que los del C (34 ± 15 vs 38 ± 15 ; $p = 0,01$). Se observó un descenso en C con respecto a A y B en la proporción de pacientes descubiertos por donación de sangre (11% vs 34 y 30%; $p < 0,001$); mientras que aumentó la de los que lo fueron por alteración de PFH (43% vs 22 y 22%; $p < 0,001$). Entre las posibles vías de adquisición, se observó un aumento en la tasa de varones homosexuales en C con respecto a A y B (7% vs 2 y 2%; $p < 0,05$); en el 51% de los casos el mecanismo fue desconocido, sin diferencias entre los 3 grupos (51, 54 y 45%). Aunque se constató un descenso progresivo en la proporción de pacientes con antecedente de uso de

drogas por vía parenteral (14, 7,5 y 6,3%), las diferencias no alcanzaron significación estadística. La proporción de inmigrantes fue mayor en C que en A y B (11% vs 0,2 y 2%; $p < 0,001$). El 28% de los pacientes fueron HBeAg+, sin diferencias entre los 3 periodos. La proporción de pacientes con hepatitis crónica HBeAg- fue mayor en C que en A (19% vs 9%; $p = 0,001$), mientras que la de portadores "sanos" o inactivos fue inferior en C que en B (39% vs 53%; $p = 0,004$). 66 pacientes estaban sobreinfectados por VHD, existiendo diferencias entre A y C (10% vs 4%; $p = 0,02$); 99 estaban coinfectados por VHC, siendo la proporción mayor en A que en B y C (18% vs 9 y 7,5%; $p < 0,05$) y 48 estaban infectados por VIH, sin observarse cambios entre los 3 periodos.

Conclusiones: En los últimos 25 años, en nuestro medio se han observado cambios en la forma de descubrir los pacientes con infección crónica por VHB, así como en los posibles mecanismos de transmisión. No obstante, en aproximadamente la mitad, la vía de adquisición sigue siendo desconocida. A pesar de que se ha constatado un aumento en la proporción de hepatitis crónicas HBeAg-, éstas siguen siendo menos frecuentes que las HBeAg+. La proporción de pacientes co/sobreinfectados por otros virus de la hepatitis ha descendido.

EXPRESIÓN DE ANGIOPOIETINA-2 EN EL HÍGADO DE PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA POR VIRUS B (VHB): PAPEL DE LA PROTEÍNA X DEL VHB (HBX)

P. Sanz-Cameno^a, S. Martín-Vílchez^a, M.J. Borque^b, J.A. Moreno-Monteaquedo^a, M. López-Cabrera^b y R. Moreno-Otero^a

Unidad de Hepatología^a y Biología Molecular^b, Hospital Universitario de La Princesa. Madrid.

Antecedentes: La infección crónica por el VHB se asocia a un alto riesgo de progresión a cirrosis hepática y hepatocarcinoma. La proteína HBx es un transactivador viral relacionado con la progresión e invasión tumoral. La demanda de oxígeno y factores de crecimiento por el tejido tumoral emergente requiere la formación y remodelado de la vasculatura, acontecimientos en los que la Angiopietina-2 (Ang-2) juega un papel relevante. Además de su participación en acontecimientos tumorales, la expresión de Ang-2 podría desempeñar un importante papel en procesos inflamatorios como indica su expresión en la línea promonocítica THP1.

Objetivos: 1) Analizar la expresión Ang-2 en el hígado de pacientes con VHB como mediador de la angiogénesis patológica asociada a diversas hepatopatías crónicas. 2) Evaluar la contribución de la proteína transactivadora HBx en la liberación de la Ang-2 por diversas líneas celulares hepáticas.

Métodos: La expresión de Ang-2 fue evaluada en muestras de hígado de pacientes sin cambios histológicos reactivos (controles) y de VHB por RT-PCR, western blot e inmunohistoquímica. Por otra parte, la expresión del mRNA y de la proteína Ang-2, y la influencia de HBx, fue evaluada *in vitro* en líneas celulares hepáticas CCL13 y CMX, la cual expresa la proteína HBx de forma inducible por dexametasona. Experimentos similares fueron realizados en la línea de células estrelladas hepáticas (CEH), CFSC-2G, con medios condicionados obtenidos de las líneas CCL13 y CMX.

Resultados: Se observó un marcado incremento de la expresión de Ang2, a nivel de mRNA y de proteína, en la línea celular CMX y en las CEH expuestas a los medios condicionados procedentes de CMX, así como en muestras de hígado con VHB. De forma interesante, todas las muestras relacionadas con la proteína HBx, y las procedentes de los pacientes con VHB, mostraron la expresión de la isoforma de la Ang-2 relacionada con diversas enfermedades inflamatorias y tumorales.

Conclusiones: 1) La inducción de la expresión de Ang-2 mediada por HBx en las líneas celulares hepáticas y en el hígado de pacientes con VHB, podría ser responsable de los acontecimientos angiogénicos observados en esta hepatopatía crónica y puede estar relacionada con la progresión de la enfermedad. 2) Estos resultados indican el papel relevante de las CEH en la homeostasis de la vasculatura hepática y su posible relación con el proceso fibrogénico.

EL TRATAMIENTO ANTIVIRAL COMBINADO MODULA LOS NIVELES SÉRICOS DE MARCADORES DE FIBROSIS (MF) HEPÁTICA EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C (HCC)

X. Salcedo-Mora^a, P. Sanz-Cameno^a, J. Medina^a, S. Martín-Vílchez^a, L. García Buey^a, M. Trapero-Marugán^a, J.A. Moreno-Monteaugudo^a, M.J. Borque^b, A. Díaz^c, J.P. Gisbert^a y R. Moreno-Otero^a

^aUnidad de Hepatología, ^bUnidad de Biología Molecular, ^cServicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario de La Princesa.

Introducción: Estudios retrospectivos indican que un 20% de los pacientes con HCC evolucionan a cirrosis en los 20 años siguientes a la infección, se han descrito factores de riesgo para la propensión hacia una fibrosis. La evaluación de marcadores de fibrosis (MF) podría proporcionar información sobre la progresión de la enfermedad y la respuesta a la terapia.

Objetivos: 1) Evaluar los niveles séricos de MF en pacientes con HCC, antes y después del tratamiento antiviral combinado. 2) Investigar si existen diferencias en los niveles de MF entre los pacientes respondedores y no respondedores al tratamiento.

Pacientes y métodos: 71 pacientes con HCC fueron estudiados antes y después del tratamiento: (28,2% mujeres; edad media de 46,8 años; RNA del virus de la hepatitis C positivo por PCR, genotipo determinado por HCV-LIPA). 30 individuos sanos fueron usados como controles. Todos los pacientes recibieron terapia antiviral combinada con peg-interferón α 2-b más ribavirina. Se determinaron por ELISA o RIA los niveles séricos de los siguientes marcadores de fibrosis: leptina, ácido hialurónico (AH), factor transformante de crecimiento β 1 (TGF β 1) y péptido amino-terminal del procolágeno III (PIIIP). Para el análisis estadístico se utilizó el test de Mann-Whitney y el test de Pearson.

Resultados: En comparación con los individuos sanos, los pacientes con HCC tuvieron unos niveles superiores de los MF: leptina (p = 0,04), PIIIP (p = 0,0001), AH (p = 0,0003) y TGF β 1 (p = 0,0001) (tabla 1). La reducción en los niveles de PIIIP (4,13 \pm 1,7 vs 5,27 \pm 2,3) (p = 0,02) y AH (109 \pm 98 vs 154 \pm 100) (p = 0,05) fue mayor en los respondedores que en los no respondedores.

Tabla 1. Niveles de marcadores de fibrosis

Factores	Sanos Media \pm DE	HCC Media \pm DE	p
PIIIP (pg/ml)	4 \pm 1	6 \pm 2	0,0001
Leptina (pg/ml)	6114 \pm 4504	9905 \pm 9851	0,04
AH (pg/ml)	146 \pm 106	236 \pm 117	0,0001
TGF β 1 (pg/ml)	974 \pm 47	1356 \pm 608	0,0001

Conclusiones: 1. El tratamiento antiviral combinado de la HCC se asocia con cambios significativamente en los niveles séricos de MF. 2. La disminución significativa de PIIIP Y AH en pacientes respondedores sugiere su utilidad para el seguimiento a largo plazo de la respuesta al tratamiento y como un marcador con potencial valor pronóstico.

ESTUDIO PILOTO DE EFICACIA Y SEGURIDAD DEL TRATAMIENTO CON INTERFERÓN ALFA-2A PEGILADO (PEGASYS®) ASOCIADO A RIBAVIRINA EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C GENOTIPO 4: RESULTADOS PRELIMINARES

M. Diago¹, R. Planas², R. Solá³, J. Boadas⁴, J.A. del Olmo⁵, J. Crespo⁶, J.C. Erdozain⁷ y M.D. Antón⁸ en nombre del grupo de investigadores del estudio G-4

¹Hospital General de Valencia, ²Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, Barcelona, ³Hospital del Mar, Barcelona, ⁴Hospital de Terrassa, Barcelona, ⁵Hospital Clínico de Valencia, ⁶Hospital Valdecilla, Santander, ⁷Hospital La Paz, Madrid, ⁸Hospital Dr. Peset.

Antecedentes: Los pacientes con genotipo 1 y 4 continúan mostrando mayores dificultades en obtener una respuesta sostenida respecto al resto de genotipos. Algunos estudios han mostrado mejor tasa de respuesta en los pacientes genotipo 4 que con genotipo 1.

Objetivo del estudio: Conocer la respuesta viral sostenida (RVS) de los pacientes españoles genotipo 4.

Métodos: Se incluyeron un total de 198 pacientes con hepatitis crónica C, genotipo 4 con una media de edad 39 años, el 79% de ellos fueron varones una media de peso de 73 kg, y una media en los niveles de ALT de 99 UI/ml habiéndose biopsiado el 87%. Los pacientes fueron tratados 48 semanas con 180 μ g de PEG-IFN α -2a una vez a la semana asociado a RBV (1.000 o 1.200 mg diarios dependiendo del peso > o \leq 75 kg). La evaluación final de los resultados se realizará por intención de tratar 24 semanas después de haber finalizado el tratamiento. En este abstract se presentan los resultados de los pacientes que han llegado a semana 48 y 72.

Resultados: De los 198 pacientes que han sido incluidos en el estudio, 140 han llegado a la semana 12, 8 de ellos abandonaron el tratamiento por efectos adversos o decisión personal del paciente y 26 por falta de respuesta. En 106 se obtiene respuesta virológica (ARN-VHC negativo o una disminución de la carga viral de \geq 2 log₁₀). De los 65 pacientes que han llegado a la semana 72, 46 (70,8%) tenían respuesta en la semana 48 produciéndose recidiva en 5 de ellos y permaneciendo en respuesta viral sostenida 41 (65,1%). El perfil de seguridad del tratamiento coincide con el de anteriores publicaciones manifestándose el síndrome pseudogripal como el más habitual entre los pacientes y pudiéndose manejar todos en general con reducciones de dosis de ambos productos (PEG-IFN α -2a y RBV).

Conclusiones: En pacientes con hepatitis C crónica genotipo 4, una administración semanal de PEG-IFN α -2a asociado a dosis altas diarias de RBV fue bien tolerado y consigue una alta tasa de respuesta viral sostenida (65,1%). Estamos pendientes de la conclusión final del estudio.

DISFUNCIÓN HEPÁTICA EN LA FASE ANTIHBe+ EN HEPATITIS CRÓNICA B DE INICIO INFANTIL: LA MAYORÍA NO SE EXPLICAN POR ALTA REPLICACIÓN VIRAL

L. Hierro, E. Frauca, M.C. Díaz, R. Díez, A. de la Vega, C. Camarena, G. Muñoz-Bartolo y P. Jara

Servicio de Hepatología y Trasplantes. Hospital Infantil Universitario La Paz, Madrid.

Objetivo: El objetivo de este estudio fue evaluar el estado final de pacientes con hepatitis crónica B iniciada en edad pediátrica, tras lograr seroconversión antiHBe. Actualmente se define hepatitis crónica HBeAg negativa por disfunción persistente con un nivel de VHB > 10⁴-5 copias/ml, al menos de forma intermitente. El problema se considera infrecuente (< 5%) en niños.

Métodos: Se estudiaron 55 casos con hepatitis B crónica iniciada en la infancia (edad detección: mediana 5 años), que lograron seroconversión antiHBe espontáneamente (n = 35) o por tratamiento (n = 19). En los últimos 2 años de seguimiento (4 determinaciones/paciente) la carga viral se evaluó mediante AMPLICOR (sensibilidad 300-10⁸ copias/ml). La edad final es 19,5 años (mediana), con una mediana de 7,5 (rango: 1 a 25) años transcurridos desde la seroconversión. El 87,2% de esta población son de origen español, el 91% sin otra enfermedad.

Resultados: 1) Al final del seguimiento 5,4% (n = 3) eran HBsAg negativos, el resto mantuvo infección crónica. Ninguno tuvo insuficiencia hepática o hepatocarcinoma. 2) La cifra de transaminasas fue normal desde la seroconversión en n = 35 (63,6%). En los últimos 2 años un 12,7% tuvieron alguna determinación de ALT alterada (media ALT: 58), y un 23,6% (n = 13) presentaron elevación crónica de transaminasas (media ALT: 128); el 61,5% de ellos tuvieron un intervalo normal desde la seroconversión hasta la aparición del trastorno. 3) La probabilidad de mantener función normal continuada tras la seroconversión fue de 89% a 1 año, 74,9% a 5 años, 62,8% a 10 años. La probabilidad de normalidad continuada a 10 años fue 77,8% en mujeres y 56% en varones. 4) El valor de DNA-VHB diferenció una mayoría (83,6%) con valores < 10⁵ copias/ml y un 16,3% de casos con todos o alguno > 10⁵ copias/ml. El tiempo de seguimiento tras la seroconversión no influyó en el nivel de DNA-VHB. En el 50% de los pacientes hubo alguna determinación de DNA-VHB indetectable por PCR. 5) Los pacientes con disfunción ocasional o crónica comparados con los de función normal: tuvieron DNA-VHB > 10⁵ copias/ml 30% vs 8,5% (p: 0,04), infección VHD 5% vs 2,8% (ns), obesidad 15% vs 5,7% (ns), anteceden-

te oncológico 0% vs 5,7% (ns), tratamiento previo 55% vs 54,2% (ns), seroconversión por tratamiento 35% vs 34,2% (ns), sexo varón 80% vs 51,4% (p = 0,03).

Conclusiones: El seguimiento tras la seroconversión antiHBe revela: 1) un riesgo significativo de disfunción, 2) ausencia de correlación entre el nivel de viremia y el curso funcional; solamente 30% de casos de "disfunción HBeAg negativa" eran justificados por niveles > 10⁵ copias/ml (hepatitis HBeAg negativa), 3) riesgo similar de "disfunción HBeAg negativa" entre pacientes tratados y no tratados en el pasado.

CORRELACIÓN ENTRE FACTORES ANGIOGÉNICOS, MARCADORES DE FIBROSIS Y LESIÓN HISTOLÓGICA EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C

X. Salcedo-Mora^a, P. Sanz-Cameno^a, J. Medina^a, S. Martín-Vílchez^a, L. García Buey^a, M. Trapero-Marugán^a, J.A. Moreno-Monteagudo^a, M.J. Borque^b, A. Díaz^c, J.P. Gisbert^a y R. Moreno-Otero^a

Unidad de Hepatología, ^bUnidad de Biología Molecular, ^cServicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario de La Princesa.

Introducción: En la hepatitis crónica C (HCC) se produce un fenómeno de angiogénesis al que se atribuye un importante papel patogénico. Los neovasos se forman preferentemente en áreas de marcada inflamación y fibrosis hepática, sugiriendo una asociación en la génesis de ambos procesos.

Objetivos: 1. Evaluar los niveles séricos de factores solubles de angiogénesis (FSA) y marcadores de fibrosis (MF) en pacientes con HCC y en sujetos sanos, analizando las correlaciones entre ambos. 2. Investigar la correlación entre el grado y el estadio de la lesión hepática y los niveles de FSA y MF.

Métodos: Se estudiaron 71 pacientes con HCC (69% hombres; media de edad, 48 años; ARN-VHC positivo por PCR; genotipo determinado por HCV-LIPA; *scoring* METAVIR de lesión histológica en biopsia) y 15 individuos sanos. Se determinaron por ELISA o RIA los niveles séricos de: 1) FSA: factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), sus receptores Flt1 y Flk1, factor de crecimiento placentario (PLGF), Angiopoyetina-2 (Ang-2) y su receptor Tie-2; 2) MF: leptina, ácido hialurónico (AH), factor transformante de crecimiento β1 (TGFβ1) y péptido amino-terminal del procolágeno III (PIIIP). Análisis estadístico: test de Mann-Whitney y test de Pearson.

Resultados: Los pacientes con HCC mostraron unos niveles séricos significativamente elevados de VEGF (p = 0,01), Ang-2 (p = 0,0001) y Flt1 (p = 0,001), así como de PIIIP (p = 0,0001), AH (p = 0,0001), TGFβ1 (p = 0,003) y leptina (p = 0,04), con respecto a los individuos control. En pacientes con CHC se observó una correlación significativa entre el estadio de fibrosis y los niveles de VEGF (p = 0,01), Ang-2 (p = 0,008) y PIIIP (p = 0,02). El grado de inflamación se correlacionó con los niveles de VEGF (p = 0,009) y de PIIIP (p = 0,06). También se observaron correlaciones significativas entre los niveles de VEGF y PIIIP (p = 0,02) y entre Flt1 y TGFβ1 (p = 0,0001).

Conclusiones: 1. Los pacientes con HCC mostraron valores elevados de los FSA y MF con respecto a los controles sanos. 2. Las asociaciones entre los niveles de los FSA y MF indican una interdependencia de los procesos fibrótico y angiogénico en la HCC. 3. La correlación de estos marcadores con el estadio de lesión histológica, sugieren un potencial valor pronóstico.

EL TRATAMIENTO ANTIVIRAL COMBINADO MODULA LOS NIVELES SÉRICOS DE LOS MARCADORES DE ANGIOGÉNESIS HEPÁTICOS EN PACIENTES CON HEPATITIS C CRÓNICA (HCC)

X. Salcedo-Mora^a, P. Sanz-Cameno^a, J. Medina^a, S. Martín-Vílchez^a, L. García Buey^a, M. Trapero-Marugán^a, J.A. Moreno-Monteagudo^a, M.J. Borque^b, A. Díaz^c, J.P. Gisbert^a y R. Moreno-Otero^a

^aUnidad de Hepatología, ^bUnidad de Biología Molecular, ^cUnidad de análisis clínicos. Hospital Universitario de La Princesa.

Introducción: La angiogénesis puede desempeñar un papel patogénico en la evolución de la HCC. La evaluación de los factores solu-

bles angiogénicos (FSA) podrían proporcionar información sobre la progresión de la enfermedad y la respuesta terapéutica.

Objetivos: Evaluar los niveles séricos de factores solubles de angiogénesis (FSA) en pacientes con HCC, antes y después del tratamiento antiviral combinado. Investigar si existen diferencias en los niveles de FSA entre los pacientes respondedores y no respondedores al tratamiento.

Pacientes y métodos: Se estudiaron 71 pacientes con HCC (28% mujeres; con edad media de 47 años; ARN-VHC positivo por PCR; genotipo determinado por HCV-LIPA) a los que se les realizó una biopsia hepática con fines diagnósticos y tratamiento antiviral combinado con PEG-Interferón α2-b (1,5 μ/k) y Ribavirina (800-1200 mg según peso). Se evaluaron por ELISA, antes y después del tratamiento, los niveles séricos de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), sus receptores Flt1 y Flk1, factor de crecimiento placentario (PLGF), angiopoyetina-2 (Ang-2) y su receptor Tie-2. 30 sujetos sanos fueron utilizados como control. El análisis estadístico se realizó utilizando el test de Mann-Whitney.

Resultados: En comparación con los individuos sanos, los pacientes con HCC presentaban un aumento en los niveles séricos de los factores proangiogénicos VEGF (335 ± 118 vs 430 ± 207 pg/ml; p < 0,05) y Ang-2 (782 ± 400 vs 1107 ± 408 pg/ml; p < 0,005), mientras que los receptores antiangiogénicos Flk-1 (2090 ± 643 Vs 2039 ± 500 pg/ml; p = 0,6) y sTie2 (2,24 ± 0,60 vs 2,70 ± 0,70 ng/ml; p = 0,90) permanecieron sin modificarse. La terapia antiviral combinada disminuyó significativamente los niveles VEGF (p < 0,001) y Ang-2 (p < 0,0001) y aumentó sFlk1 (p < 0,0001) y sTie-2 (p < 0,0001) (tabla 1). La reducción de los niveles de Ang-2 observada tras el tratamiento fue significativamente más pronunciada en pacientes respondedores que en no-respondedores (p = 0,005).

Tabla 1. Niveles de factores angiogénicos

Factor	Antes Media DE	Después Media DE	p
VEGF (pg/ml)	434 ± 221	293 ± 168	0,0001
Flk-1 (pg/ml)	2039 ± 491	2364 ± 519	0,001
PIGF (pg/ml)	28 ± 1236 ± 7	0,0001	
Flt-1 (pg/ml)	122 ± 54	105 ± 36	0,001
Ang-2 (pg/ml)	1107 ± 407	744 ± 268	0,0001
Tie-2 (ng/ml)	2,0 ± 0,6	2,7 ± 0,70	0,001

Conclusiones: 1. El tratamiento antiviral combinado de la HCC se asocia con cambios significativos en los niveles séricos de FSA; estos cambios podrían ser consecuencia de un efecto anti-angiogénico directo de los fármacos antivirales la terapia o de la resolución del daño inflamatorio hepático. 2. La disminución significativa de Ang-2 en pacientes respondedores sugiere su utilidad para el seguimiento a largo plazo de la respuesta al tratamiento y como un marcador con potencial valor pronóstico

ALTERACIONES METABÓLICAS EN PACIENTES CON HEPATITIS C TRATADOS CON PEGINTERFERÓN MÁS RIBAVIRINA

C. Trabadela^a, M.D. Giménez^b, M.M. Viloria^a, M.C. Márquez^b, P. García^a, S. Coll^b, R. Sola^b y M. Romero Gómez^a

^aUnidad de Hepatología. UGCED. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. ^bSección de Hepatología. Hospital del Mar. Barcelona. ^cServicio de Bioquímica. Hospital Universitario de Valme. Sevilla.

Objetivo: Estudiar las alteraciones metabólicas inducidas durante el tratamiento con peginterferón alfa (INF-PEG) más ribavirina (RBV) en pacientes con hepatitis crónica C, y su significado clínico.

Pacientes y métodos: Incluimos 275 pacientes con hepatitis crónica C tratados con INF-PEG alfa-2a (n = 154) o alfa-2b (n = 121) más RBV 1.000- 1.200 mg/día. Edad media 43 ± 11 años, 175 hombres y 100 mujeres. Genotipo 1: 165, 2: 13, 3a: 75 y 4c/4d: 22 pacientes. Determinamos los niveles de colesterol, triglicéridos, ALT y ARNVHC (AMPLICOR HCV MONITOR™ v2.0) basal, a los 3, a los 6 y a los 12 meses (final de tratamiento) y a los 6 meses de seguimiento. Valoramos la fibrosis de F0 a F4 según Scheuer, así

como la presencia o no de esteatosis. Medimos el índice de masa corporal (IMC). Método estadístico: U-Mann-Whitney, t-student para datos pareados y Chi-cuadrado.

Resultados: Durante el tratamiento se produce un ascenso de las cifras de triglicéridos en los primeros 3 meses, que desciende paulatinamente. Este ascenso fue similar en cuanto al tipo de peginterferón utilizado, o el tipo de respuesta sostenida. Presentaron hipertriglicéridemia > 300 mg/dl 12 de 275 pacientes (4,4%). La aparición de hipertriglicéridemia durante el tratamiento depende de la cifra de triglicéridos basales (140 ± 52 vs 80 ± 28 mg/dl; $p = 0,001$). Las cifras de colesterol apenas se modifican durante el tratamiento, aunque ascienden de forma significativa al final del seguimiento en pacientes respondedores (RS: de 178 ± 39 a 194 ± 40 , t-student para datos pareados $p = 0,001$ frente a NR: 174 ± 35 a 167 ± 29 mg/dl; $p = ns$). Detectamos ALT elevada en pacientes con ARNVHC negativo en el mes 6 de tratamiento en 46/193 (23,8%). Estos pacientes presentaban mayor fibrosis ($2,08 \pm 1,1$ vs $1,4 \pm 0,8$; $p < 0,05$), cifras elevadas de GGT (149 ± 82 vs 54 ± 57 UI/L; $p < 0,05$), de triglicéridos (115 ± 81 vs 90 ± 46 mg/dl; $p < 0,05$) y mayor IMC ($27 \pm 3,4$ vs $24 \pm 3,7$ Kg/m²). La tasa de RS en pacientes con ARNVHC negativo al sexto fue del 67% (31/46) en pacientes con ALT elevadas y 124/147 (84,4%) en pacientes con ALT normal; $p = 0,012$.

Conclusiones: El desarrollo de hipertriglicéridemia durante el tratamiento no se asocia a eventos clínicos y depende de las cifras basales de triglicéridos. El marcado ascenso del colesterol durante el seguimiento en pacientes respondedores podría deberse a un descenso de los anticuerpos anticolesterol una vez erradicado el virus C. La persistencia de la elevación de la ALT durante el tratamiento parece ser el reflejo de la existencia de un síndrome metabólico, ya que se observa en pacientes con sobrepeso, fibrosis avanzada y niveles elevados de triglicéridos y GGT y se asocia a una menor tasa de respuesta sostenida.

Agradecimiento: Grupo PAI-CTS 532.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y VIROLÓGICAS DE LOS PACIENTES COINFECTADOS POR VHB Y VIH

B. Ramos, M. Núñez, M. Romero, J. Sheldon, P. Rivas, P. Barreiro, A. Moreno, J. García-Samaniego y V. Soriano
Hospital Carlos III, Madrid.

Introducción: La coinfección por los virus de la hepatitis B (VHB) y VIH es frecuente debido a que ambos comparten las mismas vías de transmisión. El genotipo del VHB puede influir en la gravedad de la lesión hepática y la respuesta al tratamiento. La distribución de los genotipos del VHB en pacientes coinfectados no ha sido bien caracterizada. La presencia de mutantes precore y *core-promoter* también puede influir en la respuesta al tratamiento con interferón.

Pacientes y métodos: Se estudiaron todos los pacientes VHB/VIH+ con seguimiento en el hospital Carlos III. Se analizó la presencia de HBeAg, DNA-VHB, genotipo del VHB y la existencia de variantes precore y *core-promoter*. También se analizaron los linfocitos CD4 y la bioquímica hepática. La fibrosis (índice Metavir) se evaluó mediante un elastograma (Fibroscan[®]; Echoscans, París).

Resultados: Se identificaron 81 pacientes VIH+/HBsAg+. Treinta y tres fueron excluidos por la existencia de coinfección por VHC y/o VHD. En los 48 pacientes restantes (98% hombres, media de edad 40 años) la distribución de los factores de riesgo fue: homosexualidad: 75%; ADVP: 12,5%; y transmisión heterosexual: 12,5%. Veintinueve (60%) tenían HBeAg. La carga viral B fue significativamente mayor en los pacientes HBe positivo que en los HBe negativo ($6,6 \times 10^7$ vs 8×10^6 ; $p = 0,001$). El genotipo se realizó en 36 pacientes: VHB-A: 21 (43,8%); VHB-D: 8 (16,7%); VHB-G: 3 (6,3%); VHB-F: 2 (4,2%). Dos pacientes presentaron una infección mixta (A/E, A/F). El HBeAg-positivo fue más frecuente en los pacientes con genotipo A que aquéllos con genotipo D (81% vs 50%). Los pacientes con VHB-A se infectaron más frecuentemente por vía sexual (85,7%). Las mutantes precore y *core promoter* fueron más frecuentes en los pacientes con VHB-D (87,5% y 37,5%, respectivamente) que en aquéllos con genotipo A (9,5% para ambas; $p =$

0,0001 y $p = 0,10$, respectivamente). Los pacientes con genotipo D tenían más fibrosis (F2-F4) que los VHB-A (80% vs 26,6%; $p = 0,039$). No se encontraron diferencias significativas entre los genotipos A y D en la edad, ALT, AST, CD4, viremia B y carga viral VIH.

Conclusiones: Dos tercios de los pacientes coinfectados por VHB y VIH son HBeAg positivos. El VHB-A es el genotipo más prevalente en los pacientes VIH+ y se transmite más frecuentemente por vía sexual. Este genotipo se asocia a positividad de HBeAg pero no a mutaciones precore. El genotipo D se asocia a mutantes precore y a mayor grado de fibrosis.

Trasplante hepático

DETERMINACIÓN DOMICILIARIA DE HEMOGLOBINA DURANTE EL TRATAMIENTO ANTIVIRAL DE LA HEPATITIS C EN RECEPTORES DE TRASPLANTE HEPÁTICO

J.A. Carrión^a, J.L. Bedini^b, M. Navasa^a y X Forn^a

^aServicio de Hepatología, ^bCentro de Diagnóstico Biomédico. Hospital Clínic, Barcelona.

La recurrencia de la infección por el virus de la hepatitis C (VHC) tras el trasplante hepático (TH) es universal y se asocia a una reducción significativa de la supervivencia del injerto y del paciente. En pacientes trasplantados el tratamiento antiviral produce numerosos efectos secundarios. La anemia asociada a la administración de ribavirina es el más relevante, obligando a frecuentes controles ambulatorios, que se traducen en un empeoramiento de la calidad de vida del paciente y en un incremento del gasto sanitario. El objetivo de este estudio fue evaluar la utilidad de la determinación domiciliar de hemoglobina para el control de la anemia asociada al tratamiento de la hepatitis C en receptores de TH. Para ello se incluyeron 7 pacientes, que fueron entrenados por una enfermera para la determinación de hemoglobina en sangre capilar mediante un hemoglobímetro portátil (HemoCue 201+[®]). Se realizaron un total de 68 determinaciones (por duplicado) de hemoglobina en sangre capilar, seguidas (entre 1-4 horas) de las correspondientes 68 determinaciones de hemoglobina en sangre venosa (analizadas en el laboratorio de nuestro centro). Se constató una escasa variabilidad inter-ensayo en las determinaciones de hemoglobina en sangre capilar (CV = 8,8%) y una excelente correlación entre los valores de hemoglobina medida en sangre venosa y capilar ($r = 0,92$, CCI = 0,92, 95% IC 0,87-0,95). Se observó una tendencia del HemoCue Hb 201+[®] a infraestimar los valores de hemoglobina ($0,5 \pm 0,7$ gr/dL) respecto a su valor en sangre venosa. Durante el periodo de estudio (7 meses) las extracciones de sangre venosa para el control de la anemia obligaron a incrementar el número de visitas ambulatorias previstas por protocolo en un 91%. La determinación domiciliar de hemoglobina en sangre capilar es un método fiable para la monitorización de la anemia durante el tratamiento antiviral de la hepatitis C en receptores de TH. Su implementación en la práctica clínica supondría un ahorro muy significativo en el número de visitas ambulatorias.

SEGUIMIENTO POSTRASPLANTE HEPÁTICO DE PACIENTES CON MISMATCH PARA GSTT1. PRONÓSTICO DE HEPATITIS INMUNE "DE NOVO" ASOCIADA A ANTICUERPOS ANTI-GSTT1

J.M. Sousa^a, I. Aguilera^b, I. Wichmann^b, F. Gavilán^c, J.M. Pascasio^a, T. Ferrer^a, M. Sayago^a, A. Núñez-Roldán^b, J.L. Márquez^a y A. Bernardos^d

^aServicio de Aparato Digestivo, ^bServicio de Inmunología, ^cServicio de Anatomía Patológica, ^dUnidad Trasplante Hepático. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.

Objetivos: Evaluar el curso clínico de pacientes sometidos a trasplante hepático (TH) con incompatibilidad genética para Glutathion S-transferasa T1 (GSTT1) donante positivo /receptor nulo, que re-

cientemente hemos relacionado con la etiopatogenia de la hepatitis inmune (HI) "de novo" post-TH.

Material y métodos: Estudio de 280 pacientes sometidos a TH y seguidos en nuestra unidad durante al menos 6 meses. En todos ellos se realizó genotipo para GSTT1 en donante y receptor mediante PCR, determinación de autoanticuerpos por inmunofluorescencia indirecta en sustrato triple de rata y recuento de inmunoglobulinas. La presencia de anticuerpos anti-GSTT1 fue confirmada por Western-Blot con el antígeno recombinante humano. Se relacionaron distintos genotipos donante/receptor para GSTT1 con la presencia de anti-GSTT1, HI "de novo" y la existencia de gammapatía monoclonal IgG Kappa (test exacto de Fisher). Se analizó la supervivencia de los pacientes con mismatch para GSTT1 con y sin HI "de novo" mediante la curva de Kaplan-Meier.

Resultados: 15,7% (44/280) de los pacientes presentaban mismatch donante positivo /receptor nulo para el gen de la GSTT1; en éstos se detectaron anticuerpos anti-GSTT1 en 18 (40,9%), con una mediana de 14 (3-82) meses tras el TH. 10/44 (22,7%) fueron diagnosticados de HI "de novo" con una mediana de 20 (6-60) meses post-TH. Ninguno de los 239 pacientes restantes, con otras combinaciones genéticas GSTT1 donante/receptor, desarrollaron ni anti-GSTT1 ni HI "de novo" ($p < 0,0001$). 13/18 (72,2%) con anticuerpos anti-GSTT1 presentaban gammapatía monoclonal IgG Kappa, frente a 0/26 (0%) de los que permanecían anti-GSTT1 negativos ($p < 0,0001$). Al diagnóstico 6/10 (60%) presentaban cirrosis atribuible a HI "de novo". Todos los pacientes con HI "de novo" respondieron al tratamiento con esteroides, con una supervivencia del 90% tras una mediana de seguimiento de 48 (14-89) meses desde el diagnóstico. No existieron diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia con los pacientes que no habían desarrollado la enfermedad.

Conclusiones: 1) La presencia de mismatch donante positivo/receptor nulo para el gen de la GSTT1 es condición necesaria pero no suficiente para el desarrollo de anticuerpos anti-GSTT1 y de hepatitis inmune "de novo" post-TH. 2) Más de la mitad de pacientes con anticuerpos anti-GSTT1 desarrollan HI "de novo". 3) La presencia de gammapatía monoclonal IgG Kappa puede ser marcador de la presencia de anticuerpos anti-GSTT1 y HI "de novo". 4) En el seguimiento de los pacientes post-TH debería incluirse la determinación periódica de autoanticuerpos por inmunofluorescencia indirecta en los pacientes con mismatch para GSTT1 donante positivo /receptor nulo. 5) A pesar del diagnóstico en estadio de cirrosis, el pronóstico de la hepatitis inmune "de novo" a medio-largo plazo es bueno en pacientes sometidos a tratamiento con esteroides.

CALIDAD DE VIDA RELACIONADA CON LA SALUD (CVRS) TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO (TH) EN PACIENTES MAYORES DE 65 AÑOS

D. Moreno^a, J.I. Herrero^a, J. Quiroga^a, B. Sangro^a, M. Iñarrairaegui^a, F. Pardo^b, F. Rotellar^b y J. Prieto^a

^aUnidad de Hepatología y ^bServicio de Cirugía General, Clínica Universitaria. Pamplona.

Algunos grupos contraindican el TH en pacientes mayores de 65 años en base a una menor expectativa de vida y a una peor calidad de vida. Sin embargo, la CVRS de este subgrupo de pacientes no ha sido bien estudiada.

Objetivo: Estudiar la CVRS en receptores de TH mayores de 65 años y compararla con la de los pacientes trasplantados de menor edad y con la de la población general.

Pacientes y métodos: Se han estudiado 128 receptores de TH (23 de ellos mayores de 65 años), estables, con más de un año de evolución tras el TH. La CVRS se ha evaluado mediante la valoración global de la salud (excelente/muy buena/buena/regular/mala), la existencia de algún problema en las cinco dimensiones del cuestionario EQ-5D y una escala visual analógica (EVA), con puntuación 0-100. Se han comparado los resultados de los pacientes de más de 65 años con los de los pacientes menores de 65 años y con la población general de referencia de más de 65 años.

Resultados: Valoración general de la salud: Los receptores de TH mayores de 65 años tuvieron una valoración excelente, muy buena o buena en el 72,4%, regular en el 27,7% y mala en el 0%. La proporción de pacientes con valoración global excelente-buena fue significativamente mayor que la de la población general. No hubo diferencias con la valoración de los menores de 65 años. EQ-5D: Un 74% de los pacientes mayores de 65 años tuvieron algún problema en las dimensiones del EQ-5D (dolor-malestar: 61%, movilidad 35%, ansiedad-depresión: 22%, actividad cotidiana: 9%, cuidado personal 4%). No hubo diferencias con los menores de 65 años. En comparación con la población general, los receptores de TH mayores de 65 años únicamente tuvieron más problemas en la dimensión dolor-malestar. EVA: La puntuación en la EVA de los receptores de TH mayores de 65 años fue similar a la de los menores de 65 años y significativamente mayor que la de la población general.

Conclusión. La CVRS de los receptores de TH mayores de 65 años es comparable a la de los pacientes trasplantados de menor edad e igual o mejor que la de la población general de referencia.

EL ESTUDIO DE MARCADORES DE INMUNIDAD HUMORAL Y CELULAR PODRÍA SER ÚTIL PARA PREDECIR EVENTOS INFECCIOSOS EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO

D. Micheloud^a, M. Salcedo^b, D. Rincón^b, R. Bañares^b, S. Resino^a, R. Urrea^a, J. Rodríguez^a, J. Gil^a, A. Álvarez^a, E. Fernández-Cruz^a y J. Carbone^a

^aUnidad de Inmunología Clínica, ^bUnidad de Trasplante Hepático. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

El trasplante hepático (THO) es una terapia exitosa en pacientes con enfermedad hepática terminal. Las infecciones continúan siendo causa importante de morbi-mortalidad en estos pacientes.

Objetivos: Estudiar parámetros de la inmunidad humoral y celular como posibles marcadores de riesgo de desarrollo de eventos infecciosos tempranos tras el THO.

Métodos: Estudio prospectivo de 35 pacientes receptores de THO entre noviembre 2004 y octubre 2005 (26 hombres, 9 mujeres; edad media: 52 años; rango: 28-65 años). Indicaciones para el THO: cirrosis por VHC 15 (43%), cirrosis enólica 13 (36%), carcinoma hepatocelular 3 (8%) y otras 4 (11%). La inmunosupresión incluida tacrolimus 25 (71%), ciclosporina 10 (29%), simulect 3 (9%), y micofenolato mofetil 5 (14%). Las determinaciones analíticas se realizaron en el periodo pre-THO, 7 días post THO y 30 días post-THO. Evento infeccioso: Presencia de infecciones que requirieron tratamiento antibiótico IV dentro de los 30 días post-THO. Los marcadores de inmunidad humoral incluían niveles séricos de IgG, IgA, IgM, factores del complemento C3, C4, FB y proteína C reactiva determinadas con la técnica de nefelometría. Se determinaron también subpoblaciones de células T, B, NK por citometría de flujo en el estudio pre-THO. *Análisis estadístico:* Comparación de medias. Regresión de Cox considerando el tiempo desde el estudio pre-THO hasta el día de evento infeccioso y realizando ajuste por el score MELD.

Resultados: Se desarrollaron eventos infecciosos en 21 pacientes (60%). Las infecciones bacterianas fueron las más comunes. Los niveles de IgA en el estudio pre-THO fueron mayores en pacientes que experimentaron evento infeccioso en comparación a aquellos sin infecciones (prueba de Mann-Whitney, 697 mg/dl vs 466 mg/dl, $p = 0,064$). A los 30 días post-THO los pacientes con infecciones tenían niveles significativamente menores de IgG que los que no tuvieron infecciones (794 mg/dl vs 1135 mg/dl, $p = 0,036$). En el análisis de regresión de Cox, incrementos de 100 mg/dl de IgA sérica en el pre-THO se asociaron a un incremento en el riesgo de desarrollo de infección [riesgo relativo (RR) 1,11; intervalo de confianza al 95% (IC), 0,98-1,25, $p = 0,078$]. Niveles más bajos de los porcentajes de células NK y CD8 estuvieron asociados a un mayor riesgo de infección (RR 0,88, IC = 0,77-0,99, $p = 0,047$ y RR 0,95, IC 0,90-1-01, $p = 0,065$ respectivamente).

Conclusión: La determinación de marcadores de inmunidad humoral y celular podría identificar el riesgo de desarrollar infecciones en el THO.

INCIDENCIA DE FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR SEGÚN TRATAMIENTO CON CICLOSPORINA O TACROLIMUS A 1 AÑO POSTRASPLANTE HEPÁTICO

M. Salcedo¹, F. Sanjuán², A. Bernardos³, A. Rimola⁴, V. Cuervas-Mons⁵, por el Grupo de estudio LIS2T

¹H. Gregorio Marañón, Madrid, ²H. La Fe, Valencia,

³H. Virgen del Rocío, Sevilla, ⁴H. Clínic, Barcelona,

⁵Clínica Puerta de Hierro, Madrid.

Introducción: Se ha observado una mayor incidencia de diabetes mellitus de nueva aparición en pacientes que reciben tacrolimus versus ciclosporina entre 3-6 meses postrasplante, pero se desconoce si se trata de un fenómeno transitorio. Asimismo, los datos existentes respecto a la incidencia de hipertensión o hiperlipidemia, en pacientes que recibieron un inhibidor de la calcineurina u otro, son contradictorios. Este estudio compara la presencia de factores de riesgo cardiovascular a 1 año postrasplante en pacientes tratados con ciclosporina para microemulsión (CsA-ME) o tacrolimus (Tac). **Material y métodos:** Datos de pacientes incluidos en el estudio LIS2T, aleatorizados a recibir CsA-ME con monitorización C2 (n = 250) o tacrolimus con monitorización C0 (n = 245) desde el trasplante (basal). Se compararon las tasas de hipertensión, hiperlipidemia y diabetes mellitus de novo en los dos grupos, definidas por la necesidad de recibir tratamiento a 1 año en pacientes que no presentaban diagnóstico basal.

Resultados: En la tabla se presenta la incidencia de hipertensión, hiperlipidemia y diabetes mellitus de nueva aparición.

(n tratados al año / n sin diagnóstico basal)	CsA-ME	Tac	Valor de P
Hipertensión de novo	59/196 (30%)	50/206 (24%)	n.s. (0,217)
Hiperlipidemia de novo	11/239 (5%)	7/240 (3%)	n.s. (0,350)
Diabetes mellitus de novo	9/179 (5%)	24/181 (13%)	< 0,01

Al año postrasplante, un porcentaje significativamente mayor de pacientes no diabéticos en la visita basal recibían tratamiento para la diabetes en el grupo con tacrolimus. No se observaron diferencias en la incidencia de hipertensión ni hiperlipidemia de novo entre ambos grupos.

Conclusiones: Se observa todavía al año postrasplante un porcentaje significativamente mayor de diabetes mellitus de novo en pacientes con tacrolimus, lo que sugiere que esta condición no es transitoria. Dado que la diabetes mantenida se asocia con un mayor riesgo de complicaciones cardiovasculares, la individualización del tratamiento inmunosupresor según el perfil de los pacientes podría ayudar a disminuir estas complicaciones.

TIEMPO HASTA LA RECURRENCIA CLÍNICA DE HEPATITIS C POSTRASPLANTE HEPÁTICO, CON CONFIRMACIÓN HISTOLÓGICA, SEGÚN EL INHIBIDOR DE LA CALCINEURINA RECIBIDO

A. Rimola¹, F. Sanjuán², M. Salcedo³, A. Bernardos⁴, V. Cuervas-Mons⁵, por el Grupo de estudio LIS2T

¹H. Clínic, Barcelona, ²H. La Fe, Valencia, ³H. Gregorio Marañón, Madrid, ⁴H. Virgen del Rocío, Sevilla, ⁵Clínica Puerta de Hierro, Madrid.

Introducción: Estudio exploratorio realizado con datos del estudio LIS2T. Se han incluido pacientes con trasplante hepático de novo por hepatopatías causadas por VHC y aleatorizados a recibir ciclosporina en microemulsión (CsA-ME) (n = 88) o tacrolimus (Tac) (n = 85). Todos los pacientes recibieron esteroides con o sin azatioprina.

Material y métodos: Se analizó el tiempo hasta los primeros signos histológicos de recurrencia de hepatitis C. Se incluyeron todas las biopsias indicadas por un evento clínico entre el trasplante y el primer año postrasplante: 107 biopsias en 58 pacientes (66%) del grupo CsA-ME y 109 biopsias en 57 pacientes (67%) del grupo Tac. Las biopsias realizadas por protocolo del centro en fechas predeterminadas fueron excluidas del análisis dado que hubieran significado un sesgo para el análisis del tiempo de aparición de recurrencia de hepatitis C.

Resultados: Las características basales de donantes y receptores en los dos grupos fueron comparables (edad de donante y receptor, raza, sexo, gravedad de cirrosis, donante vivo, tiempo de isquemia fría, dosis de esteroides, uso de azatioprina). La incidencia de recurrencia de hepatitis C y el tiempo desde el trasplante hasta esta complicación se expone en la tabla.

	CsA ME (n = 88)		Tac (n = 85)		P
	Nº de pts con recurrencia	Días hasta la recurrencia (media ± DE)	Nº de pts con recurrencia	Días hasta la recurrencia (media ± DE)	
Total de pacientes (pts)	27	100 ± 50*	27	70 ± 40*	*0,02
Sin BPAR previo	21	100 ± 53*	24	66 ± 38*	*0,04
Con BPAR previo	6	97 ± 43*	3	107 ± 53*	*n.s.

BPAR: rechazo agudo confirmado por biopsia.

Tras la confirmación histológica de la recurrencia, se administró tratamiento antiviral, a 7 pacientes del grupo CsA-ME y 8 del grupo Tac. Dos pacientes en cada grupo murieron por recurrencia de hepatitis C, tras una supervivencia de 159 y 251 días para los pacientes con CsA-ME vs 93 y 192 días para los pacientes con Tac.

Conclusiones: La recurrencia clínica de hepatitis C, confirmada mediante biopsia, fue más precoz en los pacientes que recibieron tacrolimus. Son precisos estudios adicionales para confirmar este hallazgo ya que el tiempo hasta la recurrencia es considerado un factor predictivo importante de la gravedad de la misma.

COMPORTAMIENTO CARDÍACO ANÓMALO DURANTE EL TRASPLANTE HEPÁTICO ¿UNA MANIFESTACIÓN DE LA MIOCARDIOPATÍA DEL CIRRÓTICO?

C. Ripoll, M.V. Catalina, R. Yotti, J. Pérez-Peña, L. Olmedilla, O. Lo Iacono, M.A. García-Fernández, A. Matilla, G. Clemente, J. Bermejo y R. Bañares

Sección de Hepatología y Unidad de Trasplante Hepático. Servicio de Cardiología. Servicio de Anestesiología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

La miocardiopatía del cirrótico es una entidad cuyos criterios diagnósticos y relevancia clínica no han sido dilucidados completamente. Los objetivos de este estudio fueron valorar la prevalencia de un comportamiento cardíaco anómalo durante el trasplante hepático (TH) como un potencial marcador clínico de miocardiopatía y su posible relación con factores clínicos, ecocardiográficos y hemodinámicos en pacientes con cirrosis.

Métodos: Se realizó un análisis retrospectivo de todos los pacientes que recibieron TH desde enero de 1998 hasta diciembre de 2004. Se recopilaron los datos clínicos incluyendo la puntuación de Child-Pugh y MELD, el sodio sérico, el uso de diuréticos y betabloqueantes y la mortalidad intrahospitalaria. Se registraron los datos ecocardiográficos y de la hemodinámica sistémica y esplácnica. Durante el TH se realizó una monitorización continua de las presiones cardíacas derechas comparando las medidas basales intraoperatorias con las obtenidas tras la reperfusión. Se definió como respuesta cardíaca anómala la presencia de un aumento en la presión capilar pulmonar asociada a una disminución del índice de trabajo cardíaco del ventrículo izquierdo. Se evaluaron los predictores de respuesta cardíaca anómala mediante regresión logística.

Resultados: Se obtuvieron datos de 209 pacientes (edad media 52,6 (9,5) años; Child A 27; B 93; C 89) con una puntuación MELD media de 16,3 (4,7). El origen de la enfermedad hepática fue en su mayoría alcohólica (81 pac) o en relación con la infección del VHC (72 pac) o VHB (27 pac). El 57% de los pacientes estaban con tratamiento betabloqueador en el momento del TH. Se observó una respuesta cardíaca anómala en 47 pacientes (22,5%) a los 10 minutos después de la reperfusión. Ninguna variable clínica, etiológica, ecocardiográfica, ni de la hemodinámica esplácnica se relacionó con esta respuesta anómala. En el análisis univariado la presencia de hiponatremia antes del trasplante (< 130 mEq/l) y la presión venosa central (PVC) intraoperatoria se asociaron con una respuesta cardíaca anómala. En el análisis multivariado, tanto la

presencia de hiponatremia (OR: 5,61; IC 95% 2,12-14,82) como menor PVC (OR: 0,86; IC 95% 0,79-0,93) fueron predictores independientes de una respuesta cardíaca anómala, sugiriendo que los pacientes que desarrollan disfunción cardíaca presentan mayor disfunción circulatoria con menor volemia central. No hubo relación entre la presencia de respuesta cardíaca anómala con la mortalidad intrahospitalaria.

Conclusión: Durante el trasplante hepático se observa frecuentemente una respuesta cardíaca anómala que pudiera representar una manifestación de la miocardiopatía de la cirrosis. La respuesta cardíaca anómala se asoció a parámetros indirectos de la disfunción circulatoria asociada a la enfermedad hepática avanzada. Se requieren más estudios para confirmar estos resultados y establecer los criterios diagnósticos de la miocardiopatía de la cirrosis.

APLICABILIDAD Y SEGURIDAD DEL SOPORTE HEPÁTICO ARTIFICIAL MEDIANTE DIÁLISIS DE ALBÚMINA (MARS) EN EL CONTEXTO DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

M. Catalina, C. Ripoll, G. Clemente, M. Salcedo, D. Rincón, A.M. Matilla, O. Núñez, I. Beceiro y R. Bañares

La diálisis de albúmina es un sistema extracorpóreo que permite el soporte de la función hepática y renal en pacientes con insuficiencia hepática aguda e insuficiencia hepática crónica agudizada (IHCA) como puente hasta el trasplante hepático (TH). El beneficio potencial del MARS en los diferentes escenarios del TH no ha sido establecido.

Objetivo: Valorar la aplicabilidad y seguridad del MARS en pacientes con deterioro de la función hepática como puente al TH y en pacientes con TH como soporte de la función del injerto o para el tratamiento del prurito refractario.

Métodos: Desde Febrero de 2002 a Noviembre de 2005 23 pacientes recibieron tratamiento con MARS en el peritrasplante; en 7 pacientes como puente al TH (grupo I), en 9 pacientes con disfunción grave del injerto en el primer mes tras el trasplante (grupo II) y en 7 pacientes con prurito refractario debido a rechazo ductopéptico (grupo III). La edad media fue de 52,5 años (rango 37-62) (16 hombres y 7 mujeres). En los pacientes del grupo I se realizaron sesiones continuas de MARS (24 horas), mientras que los pacientes del grupo II y III sesiones intermitentes de 8 horas de duración.

Resultados: *Grupo I:* 6 pacientes presentaban fallo hepático fulminante (FHF) y uno IHCA por hepatitis alcohólica aguda grave. Las causas de FHF fueron criptogénico (3), hepatitis aguda por el VHB (1), síndrome de Budd-Chiari (1) y golpe de calor (1). 4 pacientes con FHF se trasplantaron tras una media de 3,2 sesiones de MARS (rango: 1-5; 10,2 horas/sesión) con una demora media de 42 horas desde el ingreso. Un paciente con FHF recuperó completamente la función hepática tras 3 sesiones de MARS y uno falleció por fracaso multiorgánico. El paciente con IHCA fue trasplantado tras recibir nueve sesiones de MARS. La supervivencia intrahospitalaria fue del 86%. *Grupo II:* 2 pacientes fueron tratados por malfunción primaria del injerto y 7 pacientes por colestasis multifactorial (Brb > 20 mg/dl) asociado con fracaso renal en 3 casos. Los pacientes con malfunción primaria fallecieron, en un paciente tras 5 sesiones sin llegar al retraspante y en el otro tras 1 sesión a pesar de retraspante. Del resto una paciente falleció por sepsis asociada y los otros 6 pacientes mejoraron su función hepática y renal tras 3 sesiones. La supervivencia intrahospitalaria fue del 67%. *Grupo III:* El prurito mejoró en los 7 pacientes si bien 3 pacientes requirieron sesiones adicionales a los 2,3 y 9 meses. El tiempo medio libre de prurito fue de 6,6 meses. No se observaron efectos adversos graves en relación con la terapia extracorpórea en ninguno de los grupos.

Conclusiones: El tratamiento con MARS parece ser seguro en diferentes situaciones en relación con el TH aunque para valorar su eficacia real son precisos ensayos clínicos en este contexto. Al igual que en pacientes no trasplantados, el prurito refractario presenta una clara mejoría con el MARS.

SEGUIMIENTO A 5 AÑOS DE UN ESTUDIO ALEATORIZADO COMPARANDO LAMIVUDINA VS HBIG Y LAMIVUDINA EN LA PREVENCIÓN DE LA RECURRENCIA DEL VHB TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO

M. Buti^a, A. Mas^b, M. Prieto^c, F. Casafont^d, A. González^e, M. Miras^f, J.I. Herrero^g, R. Jardí^a, A. Valdés^a y R. Esteban^a

^aHospital General Universitari Vall d'Hebron, Barcelona. ^bInstitut de Malalties Digestives, Barcelona. ^cHospital General Universitario La Fé Valencia. ^dHospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander. ^eHospital Ntra. Sra de la Candelaria, Tenerife. ^fHospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia. ^gClínica Universitaria de Navarra.

La profilaxis con Lamivudina (LAM) después de un tratamiento corto con HBIG y LAM se ha demostrado eficaz en la prevención de la recurrencia de la infección por VHB tras el trasplante hepático (TH), especialmente en los pacientes con niveles bajos de DNA-VHB antes del TH.

Objetivo: Comparar la eficacia a largo plazo de dos estrategias profilácticas, LAM vs LAM combinado con HBIG para evitar la recurrencia de la hepatitis B tras TH.

Pacientes y métodos: 29 pacientes trasplantados hepáticos (3 HBeAg positivo y 26 HBeAg negativo) con niveles de DNA VHB < 10⁵ copias/ml en el momento del TH fueron aleatorizados a recibir profilaxis con LAM (100 mg/día) o LAM y HBIG (2000 UI/im/mensuales) durante 17 meses tras un mes de combinación de LAM y HBIG. Al mes 18, el estudio fue abierto permitiendo a los pacientes recibir LAM o HBIG y LAM indefinidamente a criterio del investigador. El objetivo primario del estudio fue la ausencia de HBsAg durante el seguimiento post-TH.

Resultados: Quince pacientes recibieron HBIG+LAM y 14 LAM hasta el mes 18 y posteriormente 20 continuaron con lamivudina y 9 con HBIG y lamivudina indefinidamente. Tras 5 años de seguimiento, el porcentaje de supervivencia fue del 90%. Tres pacientes fallecieron, dos de ellos de causas no relacionadas con el VHB a los 36 y 60 meses y uno de rechazo agudo y reinfección por el VHB en el mes 24. En cuatro (18%) pacientes, incluido el que falleció, se observó recurrencia de la infección por VHB durante la profilaxis a largo plazo con lamivudina, 2 de ellos habían recibido previamente LAM y HBIG y los otros 2 LAM hasta el mes 18. El HBsAg se positivizó a los 23, 24,44 y 48 meses respectivamente y los niveles de DNA-VHB fueron > 10⁵ copias/ml. La recurrencia del VHB se manifestó en forma de hepatitis aguda en 2 casos y de forma asintomática en los otros dos y se asoció a mal cumplimiento del tratamiento con LAM en 3 casos y a resistencia a LAM en un caso. Con la administración de Adefovir dipivoxil (10 mg/día) en los 3 pacientes supervivientes se consiguió la negatividad del DNA-VHB tras 8 meses de tratamiento. Además, valores bajos de DNA-VHB se detectaron por Real Time PCR (LID 1000 copias/ml) en 5 (22%) de los 23 casos con HBsAg negativo en algún momento del seguimiento.

Conclusiones: 1) La supervivencia global postTH a los 5 años fue del 90% utilizando HBIG y LAM 2) A pesar de una pauta corta de HBIG y LAM y profilaxis a largo plazo con LAM, un 13% de pacientes presenta recurrencia del VHB tardía debido a mal cumplimiento o resistencia a LAM 3) La monitorización continua de estos pacientes es necesaria para realzar un diagnóstico precoz de recurrencia e introducir tratamiento de rescate con Adefovir.

EFFECTO DEL TRASPLANTE HEPÁTICO SOBRE LA SUPERVIVENCIA DE LOS PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA. ANÁLISIS CON INTENCIÓN DE TRATAMIENTO E IMPLICACIONES PARA EL SISTEMA DE DISTRIBUCIÓN Y ASIGNACIÓN DE ÓRGANOS

M.C. Londoño^a, D. de las Heras^a, M. Guevara^a, A. Sánchez-Fueyo^a, R. Bataller^a, C. Fondevila^b, R. Charco^b, J. Fuster^b, A. Mas^a, M. Navasa^a, A. Rimola^a, J.C. García-Valdecasas^b, V. Arroyo^a y P. Ginés^a

^aServicio de Hepatología, ^bServicio de Cirugía Hepática y Trasplante. Hospital Clínic. Barcelona.

No existe información en relación al efecto del trasplante sobre la supervivencia de los pacientes con cirrosis hepática desde el mo-

mento de inclusión en lista de espera. Esta supervivencia según intención de tratamiento, depende, no sólo de la mortalidad postrasplante, si no también de la mortalidad en lista de espera, los donantes disponibles, y el sistema utilizado para la distribución y asignación de los órganos. Con el objetivo de conocer la supervivencia según intención de tratamiento, se analizó una serie de 308 pacientes consecutivos con cirrosis hepática incluidos en lista de espera de trasplante hepático en nuestro centro entre Enero de 2000 y Marzo de 2005. Se excluyeron los pacientes con hepatocarcinoma ($n = 152$) y los retrasplantes ($n = 48$). El criterio utilizado para la asignación de los órganos fue el tiempo en lista de espera. Al final del seguimiento, 190 (62%) pacientes habían sido trasplantados y 65 (21%) habían muerto en la lista de espera. La media de tiempo en lista de espera fue de 7 meses. La probabilidad de supervivencia al año y a los 3 años de la inclusión en lista fue de 79% y 68%, respectivamente. La curva de supervivencia es bifásica, con una primera pendiente pronunciada, consecuencia de la mortalidad en lista de espera, y una segunda menos pronunciada, consecuencia de la mortalidad postoperatoria. El análisis específico de la mortalidad en lista mostró una probabilidad de muerte a los 3, 6 y 12 meses de 12%, 20% y 31%, respectivamente. La puntuación de MELD en el momento de inclusión en lista fue un factor predictivo independiente de mortalidad en lista de espera. En conclusión, cuando se hace un análisis con intención de tratamiento, el efecto beneficioso del trasplante hepático sobre la supervivencia de los pacientes con cirrosis se ve notablemente afectado por la mortalidad en lista de espera. Dada la desproporción entre donantes y enfermos en lista, una mejoría significativa de la supervivencia de los pacientes con cirrosis se podría obtener modificando el sistema de distribución y asignación de los órganos, de manera que los órganos disponibles vayan a los pacientes más graves. En este sentido la puntuación de MELD ofrece una buena predicción de la gravedad de la enfermedad.

EVOLUCIÓN TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO (TH) EN PACIENTES CON HEPATOCARCINOMA (HCC) CON CRITERIOS EXPANDIDOS

J.I. Herrero¹, R. Armendáriz¹, B. Sangro¹, J. Quiroga¹, M. Iñarrairaegui¹, F. Pardo², F. Rotellar² y J. Prieto¹

¹Unidad de Hepatología y ²Servicio de Cirugía General. Clínica Universitaria. Pamplona.

En los pacientes con HCC, los criterios de Milán (nódulo único menor de 5 cm o 2-3 nódulos menores de 3 cm) se consideran el límite máximo para indicar el TH en la mayoría de los centros, pero análisis recientes sugieren que estos límites podrían sobrepasarse sin lastrear los resultados del TH.

Objetivo. Estudiar si los resultados del TH en pacientes con HCC son peores cuando se sobrepasan ligeramente los criterios de Milán. **Pacientes y métodos.** A lo largo de 13 años, se han trasplantado 62 pacientes con HCC no incidentales en base a los siguientes criterios (criterios CUN): nódulo único menor de 6 cm o 2-3 nódulos menores de 5 cm. Se han excluido 2 pacientes con recidiva tumoral cutánea (siembra por biopsia tumoral pre-TH). Se ha estudiado el riesgo de recidiva tumoral y la supervivencia libre de recidiva de acuerdo al cumplimiento de los criterios de Milán y de los criterios CUN.

Resultados. De acuerdo con los estudios radiológicos previos al TH, 18 pacientes (30%) tenían un estadio tumoral que superaba los criterios de Milán. Tuvieron recidiva tumoral tras el TH 3/42 (7%) de los pacientes que cumplían los criterios de Milán en el estudio pre-TH y 2/18 (11%) de los pacientes que los superaban (NS). La supervivencia libre de recidiva 1, 3, y 5 años después del TH fue de 88%, 77% y 77% para los pacientes que cumplían los criterios de Milán y 94%, 77% y 77% para los que los superaban (NS). De acuerdo con el estudio patológico de la pieza de hepatectomía, 43 pacientes cumplían los criterios de Milán, 6 los superaban pero cumplían los criterios CUN y 11 superaban los criterios CUN. Se produjo recidiva tumoral tras el TH en 1/43 (2%) de los pacientes que cumplían los criterios de Milán, 0/6 (0%) en los que superaban los criterios de Milán pero cumplían los criterios CUN y en 4/11 (36%) de los que superaban los criterios CUN ($p = 0,001$).

Conclusión. Los criterios expandidos que se proponen para el TH en pacientes con HCC (nódulo único de hasta 6 cm o 2-3 nódulos de hasta 5 cm) podrían sustituir a los criterios de Milán, sin un empeoramiento de los resultados.

Hepatocarcinoma

LA QUIMIOEMBOLIZACIÓN DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR CON ESFERAS LIBERADORAS DE FÁRMACOS REDUCE LA BIODISPONIBILIDAD DE LA ADRIAMICINA. ESTUDIO FARMACOCINÉTICO

M. Varela¹, M.I. Real², M. Brunet³, M. Sala¹, M. Burrel², A. Forner¹, J.M. Llovet¹ y J. Bruix¹

¹BCLC. Oncología Hepática, Hepatología. IMDiM, ²Departamento de Radiología. CDI, ³Laboratorio de Farmacología. CDB. Hospital Clínic. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer, IDIBAPS. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

Objetivo: La quimioembolización transarterial (TACE) es un tratamiento eficaz en pacientes seleccionados con hepatocarcinoma (HCC) multifocal y función hepática preservada. Un inconveniente es la inducción de toxicidad debido al paso de la quimioterapia a la circulación sistémica. Este estudio evalúa si la TACE realizada mediante un nuevo sistema de esferas liberadoras de fármacos (Bio-compatible UK Ltd) modifica la farmacocinética de la quimioterapia inyectada y así, pueden reducirse los efectos secundarios asociados al fármaco.

Pacientes y métodos: Se incluyeron 20 pacientes cirróticos Child A (75% hombres, edad 66 años, 59% VHC) con HCC multifocal (diámetro medio tumoral 46 mm). Trece recibieron quimioembolización con esferas cargadas de adriamicina; los otros 7 recibieron inyección de adriamicina – lipiodol: en 5 casos sin invasión vascular seguida de embolización con partículas de gelatina (TACE convencional). La dosis de adriamicina (rango 50 – 150 mg) se ajustó por la superficie corporal y la bilirrubina sérica. Se obtuvieron muestras de sangre a los 5, 20, 40, 60, 120 minutos, a las 6, 24, 48 horas y a los 7 días, para determinar la C_{max} (concentración máxima) y el área bajo la curva (AUC) (cromatografía líquida). Ambas cohortes eran comparables en sexo, edad, área de superficie corporal, perfil hematológico y bioquímico y dosis de adriamicina administrada.

Resultados: Los pacientes tratados con esferas presentaron una $C_{max} = 72,8 \pm 32,5$ ng/mL y una $AUC = 572, 5 \pm 274,0$ ng/mLxmin, significativamente inferior a la observada en el segundo grupo en el cual la $C_{max} = 2985,7 \pm 4641,2$ ng/mL y el $AUC = 1858,2 \pm 1332,9$ ng/mLxmin $p = 0,0003$ y $p = 0,002$, respectivamente. La farmacocinética no fue diferente entre el grupo de TACE convencional y la inyección de lipiodol con adriamicina. El grado de variabilidad de la C_{max} en el grupo de las esferas fue notablemente más bajo que en el grupo tratado de manera convencional (CV 0,45 vs CV 1,55), respectivamente, sin relación con la dosis administrada.

Conclusión: Este perfil farmacocinético favorable puede inducir una mejor tolerancia al tratamiento con adriamicina con reducción de los efectos adversos relacionados con el fármaco, sin que disminuya la eficacia de la quimioembolización.

EFICACIA DE LAS TÉCNICAS RADIOLÓGICAS EN EL DIAGNÓSTICO DEL HEPATOCARCINOMA. CORRELACIÓN CON EL EXPLANTE

M. Garzón^a, J.M. Pascasio^a, J.M. Sousa^a, B. Vargas^b, J. Castell^b, F. Gavilán^c, F. Pareja^d, C. Gutiérrez^b, M. Sayago^a, I. Grilo^a, M. Serrano^a y A. Bernardos^d

^aDigestivo, ^bRadiología, ^cA. Patológica, ^dCirugía y Trasplante Hepático. H.U. Virgen del Rocío (Sevilla).

Objetivos: Analizar la frecuencia de hepatocarcinoma (HCC) incidental en los pacientes trasplantados hepáticos (TH) y evaluar la eficacia diagnóstica de las técnicas radiológicas actuales en la de-

tección de nódulos sugestivos de HCC y su correlación con los hallazgos en los hígados explantados.

Métodos: De 148 pacientes TH entre Julio-02 y Octubre-05, se estudiaron 28 con diagnóstico (dº) de HCC: 21 con dº previo al trasplante (HCC-preTH), 7 hallados en el explante (HCC incidental: HCC-i). En todos se realizó Ecografía doppler abdominal (ECO) y alfafetoproteína (AFP). Cuando se sospechó HCC, se practicó Tomografía Computerizada (TC) y Resonancia Magnética (RM) con estudio trifásico. La indicación de TH se hizo con los criterios de Milán. En los hígados explantados se evaluó el número y tamaño (≤ 1 cm, 1-2 cm, > 2 cm) de los nódulos-HCC, correlacionándolos con los observados en las pruebas radiológicas.

Resultados: Edad: 58 ± 7 (41-67). Sexo: Hombres, 69%. Etiología: VHC 59%; VHB 25%; Alcohol 52%. AFP normal: 61%; AFP > 200 ng/ml: 14%. Se encontró HCC-i en 7/127 (5,5%): en 5 casos (71%) fue uninodular y en 2, multinodular (3 y 5 nódulos). Los HCC-preTH fueron: uninodulares (52%), multinodulares (43%) y difuso (5%). Hubo 13 nódulos en los HCC-i y 34 en los HCC-preTH. Los HCC-preTH presentaron más nódulos > 2 cm que los HCC-i (46,2% vs 7,7%; $p = 0,001$). La sensibilidad (S) de la ECO para el dº del HCC fue del 68%. ECO infradiagnóstico el número de nódulos en el 57%, TC en el 48% y RM en el 36% de los casos. Aplicado a los explantes, el 24% de HCC-preTH y el 14% de los HCC-i sobrepasaban los criterios de Milán. La S de ECO para la detección de nódulos fue inferior a la de TC y RM (44%, 72%, 84%; $p = 0,0001$). RM tendió a ser superior a TC ($p = 0,063$). La S de ECO, TC y RM en los diferentes tamaños fue: > 2 cm (78%; 94%; 94%); 1-2 cm (44%; 60%; 91%); ≤ 1 cm (7%; 58%; 69%). Analizado en los casos con las tres técnicas realizadas, ECO, TC y RM tuvieron similar S para los nódulos > 2 cm (81%, 94%, 94%) y RM tuvo mayor S en los nódulos de 1-2 cm (RM 100% vs TC/ECO 66%; $p = 0,105$) y en los ≤ 1 cm (RM 75%; TC 58%; ECO 8%; $p = 0,002$). Ninguna de ellas diagnosticó el HCC difuso.

Conclusiones: 1) La frecuencia de HCC-i fue del 5,5%, la mayoría uninodulares y < 2 cm. 2) AFP tuvo muy pobre S. 3) Más del 30% de los HCC no fueron detectados por ECO, que apenas detectó nódulos ≤ 1 cm. 4) RM ofreció la mejor S (84%) y fue superior a TC en el dº de nódulos de 1-2 cm y sobre todo de ≤ 1 cm, por lo que debe realizarse siempre en el estadije del HCC y quizás también en el estudio pre-TH. 5) El uso de las tres técnicas no evitó que en más del 20% de los HCC-preTH, los hallazgos en el explante sobrepasaran los criterios de Milán.

TRATAMIENTO PERCUTÁNEO DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR ¿INYECCIÓN DE ETANOL O ABLACIÓN CON RADIOFRECUENCIA?

S. Pascual, J. Irurzun^a, J. Sánchez^b, P. de la Iglesia^a, S. Gil^a, J.M. Palazón, J. Such, F. Carnicer, F. de España y M. Pérez-Mateo

Unidad Hepática, ^aUnidad de Radiología Vascular e Intervencionista, ^bServicio de Epidemiología. Hospital General Universitario de Alicante.

Introducción: La inyección percutánea de etanol (IPE) y la ablación con radiofrecuencia (RF) son las dos opciones terapéuticas más empleadas en el tratamiento percutáneo del carcinoma hepatocelular (CHC) de pequeño tamaño no subsidiario de cirugía o trasplante. Algunas series recientes comparando ambas técnicas sugieren mejores resultados con RF a expensa de una mayor supervivencia y mayor grado de necrosis tumoral.

Objetivo: Comparar los resultados de ambos procedimientos en términos de supervivencia y respuesta al tratamiento en nuestra experiencia clínica.

Métodos: Entre enero de 1996 y marzo de 2005 se diagnosticaron 297 pacientes de CHC en nuestro centro. Se incluyeron en el análisis a los 61 pacientes con un CHC < 4 cm a los que se practicó RF (22) o IPE (39). Las variables analizadas fueron: demográficas, características clínicas, respuesta a tratamiento (definida como respuesta completa tras 1 o 2 ciclos de tratamiento), tasa de complicaciones, necesidad de segundo tratamiento, recidiva intraintra-

tumoral, recidiva extratumoral y supervivencia (fin de seguimiento septiembre de 2005). Las diferencias entre ambos grupos (IPE y RF) se analizaron empleando el test de X^2 . La supervivencia se analizó mediante el método de Kaplan-Meier y las diferencias entre grupos con el test de log rank.

Resultados: No se encontraron diferencias significativas entre las características basales de ambos grupos (sexo, edad < 65 años, etiología de la cirrosis, estadio de Child-Pugh, diámetro tumoral $> 0 < 3$ cm, tiempo de seguimiento). La supervivencia a 1, 2, 3 años fue 95%, 77%, 77% en el grupo de RF y 77%, 57%, 39% en el grupo de IPE respectivamente ($p = 0,0034$). No se observaron diferencias en la tasa de complicaciones (9% AR vs 5% IPE, $p = 0,48$) y en ningún paciente detectamos diseminación en el trayecto de la aguja. La tasa de respuesta completa (86% AR vs 67% IPE), fue más frecuente tras AR. Por el contrario, la necesidad de un segundo tratamiento (32% AR vs 64% IPE), la recidiva intratumoral (18% AR vs 33% IPE) y la extratumoral (37% AR vs 45% IPE) fueron más frecuente con la IPE, pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Conclusión: en nuestra experiencia los pacientes con CHC de pequeño tamaño no susceptibles de cirugía o trasplante tienen mayor supervivencia si reciben tratamiento con RF frente a IPE. Si estos resultados se confirman, la RF se podría convertir en la técnica de elección en este grupo de paciente.

EFFECTOS DEL TNP-470 SOBRE EL SISTEMA ENZIMÁTICO ANTIOXIDANTE EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE HEPATOCARCINOGÉNESIS EN RATA

J.L. Mauriz, M.C. Durán, V. Molpeceres, J. González-Gallego y P. González

Departamento de Fisiología. Universidad de León.

El daño de los sistemas antioxidantes hepáticos aparece implicado en el desarrollo del hepatocarcinoma (HC). La angiogénesis está muy relacionada con la proliferación, progresión y metástasis de los tumores sólidos. El TNP-470 es un análogo semisintético de la fumagilina, un antibiótico natural sintetizado por *Aspergillus fumigatus fresenius*, potente inhibidor de la angiogénesis con baja toxicidad, que reduce el crecimiento del HC en modelos animales.

Objetivo: Evaluar el efecto del TNP 470 sobre el sistema antioxidante enzimático: catalasa (CAT), superóxido dismutasa (Cu/Zn-SOD, MnSOD) y glutatión peroxidasa (GPx) en un modelo de HC experimental en la rata.

Métodos: Se indujo HC en ratas Wistar macho por administración de dietilnitrosamina que actúa como un potente iniciador, 2-acetilaminofluoreno que inhibe la proliferación de hepatocitos normales y hepatectomía parcial como potente estímulo de crecimiento. Se administró el inhibidor TNP-470 (30 mg/kg de peso corporal, s.c.) tres veces/semana entre la semana 20 a la 28 desde la inducción con DEN. Los análisis se llevaron a cabo a las 28 semanas de la inducción del HC.

Resultados: El 100% de los hígados de los animales sometidos al proceso de hepatocarcinogénesis y sin tratamiento, desarrollaron cambios microscópicos típicos del HC, con aumento del número de vasos sanguíneos. El grupo de ratas tratadas con TNP-470 no mostró signos histológicos de malignidad y el número de vasos fue significativamente inferior. El HC indujo descensos en la actividad de CAT (-35%), Cu/ZnSOD (-38%) y GPx tanto citosólica como mitocondrial (-49% y -40% respectivamente), sin modificaciones en su expresión génica. Sin embargo, tanto la actividad como la expresión de la enzima MnSOD se incrementó en los animales con HC (+48% y +60% respectivamente). Estos efectos fueron inhibidos en los animales tratados con TNP-470.

Conclusiones: Nuestros resultados indican que el TNP-470 normaliza la actividad y la expresión de las enzimas antioxidantes alteradas por el HC, lo que contribuye a reducir el estrés oxidativo en nuestro modelo. Además de su efecto antiangiogénico el TNP-470 parece ser capaz de modular en parte la respuesta del sistema enzimático antioxidante frente al HC.

FUNCIÓN DE POLI(ADP-RIBOSA) POLIMERASA-1 (PARP-1) EN EL DESARROLLO Y EL TRATAMIENTO DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR

R. Quiles^a, A. Ruiz-Extremera^a, J. Salmerón^a, T. Caballero^b, P. Muñoz de Rueda Casado^a y F.J. Oliver^c

^aHospital Universitario San Cecilio, ^bDpto. Anatomía Patológica, Universidad de Granada, ^cInstituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra, CSIC, Granada.

Introducción: La acción de agentes mutagénicos producen alteraciones en el DNA de los hepatocitos dando lugar a células transformadas y la aparición de hepatocarcinoma (CHC). La poli (ADP-ribose) polimerasa-1 (PARP-1) es una proteína nuclear que detecta roturas en el DNA favoreciendo la reparación. También participa en procesos de transcripción génica, muerte celular y en la respuesta inflamatoria (co-activador transcripcional de NF-kB). NF-kB regula la expresión de genes inflamatorios, angiogénicos, antiapoptóticos y en la proliferación y diferenciación celular. En el CHC se observan implicaciones del factor NF-kB.

Objetivo: Estudiar como la inhibición de PARP-1 en ratones knockout o utilizando inhibidores específicos, puede disminuir el desarrollo de CHC a través de la inhibición de NF-kB.

Métodos: *Modelo in vivo:* a los ratones se les ha inducido el desarrollo de CHC con N, N-dietilnitrosamina (DEN). Como inhibidores de PARP se han utilizado el 3,4-dihidro-5-[4-(1-piperidinil)-butoxy]-1(2H)-isoquinolinone (DPQ) y 4-amino-1,8-naphthalimide (ANI). Los ratones sacrificados a las doce semanas fueron wild type (6 controles, 7 DEN y 7 DEN + DPQ) y los sacrificados a los nueve meses fueron: ratones PARP-1 knockout (7 DEN y 3 controles) y wild type (7 DEN y 3 controles). *Modelo in vitro:* en línea tumoral (HepG2) y en línea celular de hepatocitos normales (WRL-68) se estudia el posible efecto potenciador de los inhibidores específicos de PARP-1 (ANI y DPQ) en células tratadas con dosis crecientes de doxorubicina. La activación de NF-kB fue medida mediante geles de retardo y la viabilidad celular mediante ensayo con methyl-thiazolyl-tetrazolium (MTT).

Resultados: En los modelos in vivo, sacrificados a las 12 semanas de la administración del carcinógeno, el estudio macroscópico y microscópico no evidenciaron diferencias entre ambos grupos de ratones. Si se demostró una disminución de la activación de NF-kB en los ratones wild-type tratados con el inhibidor DPQ a las 12 semanas frente a los no tratados con el inhibidor y los controles. En los ratones sacrificados a los 9 meses se ha observado macroscópicamente un menor número y tamaño de tumores inducidos por DEN en el hígado de los ratones PARP-1 negativo. En el modelo in vitro, se observa un efecto potenciador de la doxorubicina cuando se utiliza conjuntamente con el inhibidor de PARP-1 (ANI) a las concentraciones de 1 y 5 microg/ml de doxorubicina ($p < 0,05$). También se encontró que la inhibición de PARP es capaz por sí sola de inducir muerte celular no apoptótica en células de CHC, afectando en mucha menor medida a células hepáticas normales.

Conclusión: Los inhibidores de PARP en combinación con doxorubicina o por sí solos pueden proteger al hígado frente al desarrollo de CHC, y se podrían considerar una alternativa terapéutica.

PAPEL DE LA ANFIREGULINA EN LA HEPATOCARCINOGENÉISIS

J. Castillo^a, E. Erroba^a, M.J. Perugorria^a, M. Santamaría^a, D.C. Lee^b, J. Prieto^a, C. Berasain^a y M.A. Ávila^a

^aDivisión de Terapia Génica y Hepatología. CIMA. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona, ^bDepartment of Biochemistry and Biophysics. University of North Carolina. School of Medicine. Chapel Hill. North Carolina. USA.

Nuestros resultados recientemente publicados muestran que la anfiregulina (AR), un factor de crecimiento, ligando del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF), que no se expresa en hígado sano, se induce durante el daño hepático agudo y crónico, no sólo en modelos animales, sino también en la cirrosis humana. Nuestros datos indican que esta inducción es parte de la respuesta endógena del

hígado frente al daño, encaminada a la restauración de la masa hepática y la prevención de la muerte celular. Sin embargo, la existencia de un microambiente proliferativo asociado a la expresión de factores de crecimiento como la AR, puede contribuir al proceso multifásico de la hepatocarcinogénesis. En este sentido hemos estudiado la posible contribución de la AR a diferentes características neoplásicas del hepatocarcinoma (HCC). Mediante PCR en tiempo real, se encontró que la expresión de la AR se encuentra significativamente elevada en el 73% de las muestras de HCC humano estudiadas ($n = 19$). Nuestros datos muestran también que la expresión de la metaloproteasa ADAM17/TACE, implicada en el procesamiento de la AR en la superficie celular, también se encuentra significativamente aumentada en los HCC y en los hígados cirróticos, comparando con los hígados sanos. Estos datos sugieren la existencia de un bucle autocrino/paracrino en el daño hepático crónico y el HCC, en el que estaría implicada la AR. Para estudiar la importancia funcional de este bucle utilizamos líneas celulares de HCC. Observamos que las líneas estudiadas (PLC/PRF/5, Hep3B, HuH7 y HepG2) expresan y liberan al medio la AR y que esta liberación se ve significativamente incrementada en ausencia de suero. Además, la interferencia con la liberación de la AR mediante la utilización de inhibidores de ADAM17/TACE, o la utilización de anticuerpos neutralizantes de la AR, resulta en una inhibición de la señalización a través del receptor de EGF y del crecimiento celular en ausencia de suero. La existencia e importancia de este bucle se ve confirmada con la utilización de pequeños RNAs de interferencia (siRNA) específicos para la AR, de tal forma que la inhibición de la expresión de la AR se asocia con una significativa inhibición del crecimiento y de la resistencia a la muerte por apoptosis inducida por el quimioterápico doxorubicina. En conclusión, la inducción de la AR y de la proteasa implicada en su procesamiento (ADAM17/TACE) en el hígado cirrótico preneoplásico, sugieren que la AR puede jugar un papel en el continuo proceso de hepatocarcinogénesis. Además, nuestros datos sugieren que la AR está también implicada en el mantenimiento del fenotipo neoplásico de las células de HCC, por lo que constituiría una nueva diana terapéutica en el cáncer de hígado.

CAMBIOS EN LA ACTIVACIÓN DE NF-KAPPAB Y EN LA EXPRESIÓN DE LAS ENZIMAS INOS Y SOD-MN DURANTE LA PROGRESIÓN A HEPATOCARCINOMA EN PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA POR EL VHC

M.J. Cuevas^a, M. Almar^a, P. Montoya^b, E. Lima^a, J.L. Olcoz^b, J. González-Gallego^a y F. Jorquera^b

^aDepartamento de Fisiología, Universidad de León y ^bServicio de Digestivo, Hospital de León.

La infección crónica con el virus de la hepatitis C (VHC) puede evolucionar a cirrosis hepática y carcinoma hepatocelular. Diversas investigaciones sugieren que factores de transcripción, tales como el factor nuclear kappa B (NF-kB), podrían estar implicados en el desarrollo de tumores. El NF-kB regula numerosos procesos celulares tales como las respuestas inflamatorias y los procesos de desarrollo, crecimiento celular y apoptosis. Además, la activación de NF-kB puede ser responsable del incremento en la expresión de genes tales como los que codifican para la isoforma inducible de la óxido nítrico sintetasa (iNOS), que participa en la respuesta inflamatoria, o para la superóxido dismutasa mitocondrial (SOD-Mn), la cual ejerce una importante función antioxidante.

Objetivo: Investigar, en pacientes con hepatitis C crónica, las posibles modificaciones en la activación de NF-kB y en la expresión génica de las enzimas iNOS y SOD-Mn durante la progresión a estadios más avanzados como la cirrosis y el hepatocarcinoma.

Métodos: Para la realización del estudio se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica de 15 sujetos control, sin hepatopatía conocida, 15 casos de hepatitis crónica por VHC, 15 casos de cirróticos VHC y 12 casos de pacientes con cirrosis hepática VHC y hepatocarcinoma. En extractos nucleares de los distintos grupos de estudio se examinó la activación del factor NF-kB utilizando un ensayo radioactivo de movilidad electroforética de retardo en gel

(EMSA). También se analizó la expresión génica de las enzimas óxido nítrico sintetasa inducible y superóxido dismutasa mitocondrial mediante PCR cuantitativa a tiempo real (ARNm).

Resultados: La infección crónica por el virus C indujo una activación del factor NF-kB que se acompañó de incrementos en el ARNm tanto de la iNOS (+19%) como de SOD-Mn (+22%). En las células mononucleares periféricas de pacientes con cirrosis VHC compensada no se observaron cambios significativos en la activación del NF-kB ni en los contenidos de ARNm de iNOS y SOD-Mn, respecto a individuos control. En las muestras del grupo con carcinoma hepatocelular se observó, de nuevo, una activación del factor de transcripción (+26%) que se correlacionó con los incrementos observados en la expresión de las dos enzimas estudiadas (iNOS: +41%; SOD-Mn: +15%, respecto a control).

Conclusión: Los resultados sugieren que la infección viral activa el NF-kB y los genes dependientes del mismo, actuando esta modificación como mecanismo de defensa frente al estrés oxidativo asociado a la infección por VHC. La ausencia de alteraciones en el grupo de cirróticos parece apoyar la teoría que relaciona la activación del factor de transcripción con los efectos antiapoptóticos y antifibróticos que pueden retrasar el desarrollo de la cirrosis. Los incrementos detectados en el grupo con hepatocarcinoma ponen de manifiesto que la activación del NF-kB puede jugar un papel durante la patogénesis del mismo.

UTILIDAD DE PIVKA-II PARA EL DIAGNÓSTICO DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR

M. Varela, L. Boix, F. Pons-Renedo, M. Sala, J.M. Llovet y J. Bruix

Unidad de Oncología Hepática (BCLC). Servicio de Hepatología. Hospital Clínic. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, IDIBAPS, Barcelona.

Introducción: La utilidad de los marcadores tumorales para la detección y diagnóstico de confirmación del carcinoma hepatocelular (HCC) es reducida. PIVKA-II es una protrombina anormal que está aumentada en el suero de pacientes con HCC. Estudios previos han señalado una mayor eficacia diagnóstica comparado con AFP.

Objetivo: Establecer el valor diagnóstico de PIVKA-II en una cohorte occidental de pacientes con HCC.

Pacientes y métodos: Se incluyeron 221 individuos mayores de 18 años de manera prospectiva en un periodo de 17 meses (68,7% hombres, edad media 61,8 años, 78,7% VHC +): 34 sujetos sanos, 15 con hepatitis crónica, 44 cirróticos y 128 con HCC no tratado. Se excluyeron los que presentaban colestasis severa y aquellos en tratamiento antibiótico o con derivados de warfarina, por posible interferencia con el PIVKA-II. Se determinaron el PIVKA-II (ELISA Eitest PIVKA-II; EisaiCo., Tokio, Japón); la AFP, el hemograma y la bioquímica básica incluyendo los parámetros de función hepática en sangre en el momento basal. Además, en un subgrupo de 27 pacientes con CHC inicial, se repitió el análisis al cabo de 1 mes de haber completado el tratamiento.

Resultados: Las concentraciones de PIVKA-II y AFP son significativamente diferentes ($P < 0,05$) entre los grupos de voluntarios sanos, enfermos de hepatopatía crónica, HCC inicial y HCC avanzado. Las curvas ROC indican que los valores óptimos de PIVKA-II y AFP para diferenciar la enfermedad hepática crónica del HCC son 110,7 mAU/mL y 2 ng/mL, respectivamente. Las áreas bajo las curvas ROC son 0,810 vs 0,699 respectivamente ($p < 0,005$). La asociación de ambos marcadores tumorales (PIVKA-II > 100 mAU/mL y AFP > 10 ng/mL) alcanza una sensibilidad diagnóstica del 39,8%, un valor predictivo negativo del 54,7%, una especificidad del 100% y un valor predictivo positivo del 100%. La concentración de PIVKA-II disminuye después del tratamiento pero no alcanza significación estadística ($P = 0,06$) y no está relacionada con la respuesta al tratamiento ($p = 0,62$).

Conclusión: PIVKA-II es más sensible y específico que la AFP para el diagnóstico de HCC. El valor predictivo positivo y la especificidad alcanza el 100% usando ambos marcadores conjuntamente.

EFEECTO ANTITUMORAL DE LA EXPRESIÓN CONTROLADA DE INTERLEUQUINA 12 EN UN MODELO MURINO DE METÁSTASIS HEPÁTICAS

I. Muleón^a, J. Crettaz^a, G. González-Aseguinolaza^a, M. Zabal^a, G. Kramer^a, S. Kochanek^b, J. Prieto^a y R. Hernández-Alcoceba^a

^aUniversidad de Navarra-CIMA. Pamplona. ^bUniversity of Ulm, Alemania.

La interleuquina-12 (IL-12) es una potente citoquina inmunoestimuladora que ha mostrado efectos antitumorales en diversos estudios pre-clínicos. Su mecanismo de acción es complejo e incluye activación del sistema inmune con estimulación de la producción de IFN-g y actividad anti-angiogénica. Sin embargo, su administración sistémica está acompañada de una elevada toxicidad. Esto ha estimulado el diseño de estrategias para su expresión controlada. Los vectores adenovirales de alta capacidad (HC-Ad), también denominados "gutless" son muy eficaces para la expresión a largo plazo de genes en el hígado, debido a su baja inmunogenicidad y su elevado tropismo hepático. La utilización de un sistema de expresión inducible por Mifepristona con promotores hepato-específicos permite localizar la producción de IL-12 en el hígado y controlar sus niveles mediante la administración exógena del inductor. En el presente trabajo hemos utilizado un modelo de metástasis hepáticas de cáncer de colon consistente en la inoculación de células MC-38 en el hígado de ratones singénicos. Estas células han sido modificadas para que expresen de modo constitutivo el gen reportero luciferasa, de modo que puede realizarse un seguimiento no invasivo de la progresión tumoral. Los resultados muestran cómo un HC-Ad provisto de un sistema inducible de expresión de IL-12 consigue erradicar un alto porcentaje de metástasis hepáticas pre-establecidas, e indican la importancia de la pauta de inducción para conseguir niveles terapéuticos de la citoquina.

Pósters básicos

RECUPERACIÓN DE LA CAPACIDAD DE APRENDIZAJE EN RATAS CON FALLO HEPÁTICO CRÓNICO MEDIANTE MANIPULACIÓN DEL GMP CÍCLICO EN CEREBRO

S. Erceg^a, P. Monfort^a, O. Cauli^a, C. Montoliu^b, M. Llansola^a, R. Rodrigo^a, B. Piedrafita^a y V. Felipe^a

^aLaboratorio de Neurobiología, Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia, ^bServicio de Hepatología, Hospital Clínic de Valencia.

Una de las alteraciones neurológicas presentes en la encefalopatía hepática es la disminución de la capacidad cognitiva o intelectual. Incluso los pacientes con enfermedad hepática sin síntomas evidentes de encefalopatía pueden presentar formas mínimas de encefalopatía con alteraciones de la función intelectual que no se detectan en un examen clínico general pero se ponen de manifiesto al realizar tests neuropsicológicos específicos. Esta encefalopatía hepática mínima se asocia a reducción de la calidad de vida y de capacidad para conducir o trabajar. Estamos estudiando en modelos animales de fallo hepático crónico (anastomosis porta cava en ratas) o de hiperamonemia crónica sin fallo hepático (administrando amonión en la dieta) los mecanismos responsables de la disminución de la capacidad de aprendizaje y posibles procedimientos para restaurarla. Algunos tipos de aprendizaje se modulan por el receptor NMDA de glutamato y por la vía de transducción de señales asociada al mismo denominada glutamato-óxido nítrico-GMPc. La activación del receptor induce un aumento de calcio en la neurona postsináptica. El calcio se une a la calmodulina y activa la óxido nítrico sintasa, que forma óxido nítrico, que activa la guanilato ciclasa que forma GMP cíclico (GMPc). Parte de este GMPc se libera al medio extracelular cerebral. Hemos comprobado por microdialisis cerebral que la función de esta vía glutamato-óxido nítrico-GMPc está disminuida en cerebro in vivo en modelos animales de fallo hepático crónico y de hiperamonemia sin fallo hepático. También está alterada en cerebro

de pacientes fallecidos con encefalopatía hepática. Como resultado de esta alteración disminuyen los niveles de GMPc extracelular en cerebro en situaciones de hiperamonemia o fallo hepático. Pensamos que esta disminución sería responsable de la disminución de la capacidad de aprendizaje y que podríamos restaurar ésta normalizando, mediante tratamientos farmacológicos, los niveles de GMPc en cerebro. Comprobamos que las ratas con hiperamonemia o fallo hepático crónicos tienen disminuida la capacidad para aprender una tarea de discriminación condicional en un laberinto en Y. Para intentar normalizar los niveles de GMPc en cerebro utilizamos 3 procedimientos distintos: 1) administración intracerebral continuada, mediante mini-bombas osmóticas de zaprinast, un inhibidor de la fosfodiesterasa que degrada GMPc, 2) administración oral, crónica, de sildenafil (componente esencial de la viagra), otro inhibidor de dicha fosfodiesterasa que es activo cuando se administra oralmente, 3) administración intracerebral continuada, mediante mini-bombas osmóticas de GMPc. Los tres procedimientos normalizaron los niveles de GMPc y restauraron completamente la capacidad de aprendizaje de las ratas. Estos resultados sugieren que tratamientos que normalicen los niveles de GMPc en cerebro pueden ser útiles para mejorar la capacidad intelectual en pacientes con encefalopatía hepática clínica ó, incluso, mínima.

REGULACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE COLÁGENO DE TIPO I POR LA LEUCINA EN LAS CÉLULAS ESTELARES HEPÁTICAS

M.P. Pérez de Obanos^a, M.J. López Zabalza^a, M.T. Herraiz^b y M.J. Iraburu^a

^aDpto. de Bioquímica y Biología Molecular. ^bDpto. de Digestivo. Clínica Universitaria. Universidad de Navarra. Pamplona.

Introducción: La regulación de la expresión de colágeno tipo I producido por las células estelares hepáticas (CEH), es un proceso complejo que implica mecanismos tanto transcripcionales como traduccionales. El mRNA del colágeno de tipo I presenta una horquilla en la región no traducida (*untranslated region*, UTR) 5' capaz de unir proteínas que favorecen la traducción. Por otro lado, en los últimos años se ha demostrado que el aminoácido esencial leucina es capaz de activar vías de señalización implicadas en la regulación de la traducción, especialmente de proteínas con mRNAs que presentan extremos 5' UTR altamente estructurados.

Objetivo: El presente trabajo tiene como objetivo estudiar en una línea de células estelares hepáticas la regulación de la producción de colágeno a1 (I) causada por el aminoácido esencial leucina.

Material y métodos: Todos los experimentos se realizaron con la línea de CEH CFSC-2G. Las CEH se trataron con leucina 5 mM durante 24 o 48 horas. Los niveles de mRNA de procolágeno a1 (I) se detectaron mediante la técnica de *Northern Blot*. Los niveles proteicos se analizaron mediante *Western Blot*, utilizando anticuerpos específicos contra las formas fosforiladas de las proteínas ERK, JNK, p38MAPK, Akt, mTOR, eIF4E, 4E-BP1 y Mnk-1, así como un anticuerpo que reconoce específicamente la cadena de procolágeno a1 (I). En algunos experimentos las CEH se pretrataron durante 30 minutos con inhibidores específicos de las vías de señalización activadas por la leucina. Los niveles de TGF- β 1 se analizaron mediante la técnica de ELISA.

Resultados: El tratamiento de las CEH con leucina 5mM produjo un aumento significativo en los niveles proteicos de procolágeno a1 (I) en las CEH, mientras que no afectó a los niveles de mRNA de la proteína. Este efecto se correlacionó con un aumento en los niveles de fosforilación de las proteínas 4E-BP1 y eIF4E, indicando así que se trataba de un efecto traduccional. Así mismo, la leucina indujo la fosforilación de las proteínas mTOR, ERK y Akt. Los inhibidores específicos para estas enzimas previnieron el efecto de la leucina sobre los niveles de colágeno. El tratamiento con leucina indujo también la producción de la citoquina profibrogénica TGF- β en las CEH, sin embargo el bloqueo de los posibles efectos autocrinos esta citoquina mediante el empleo de un anticuerpo secuestrador no afectó a la inducción de colágeno provocada por la leucina.

Conclusiones: La leucina presenta propiedades pro-fibrogénicas en las células estelares hepáticas, ya que induce la producción de colágeno tipo I a nivel traduccional, así como la liberación al medio de la citoquina pro-fibrogénica TGF- β 1.

REGULACIÓN POST-TRADUCCIONAL DEL TRANSPORTADOR PURINO-PREFERENTE CNT2 POR ÁCIDOS BILIARES

I. Huber-Ruano, S. Fernández-Veledo, I. Aymerich, S. Dufлот, F.J. Casado y M. Pastor-Anglada

Este trabajo describe un nuevo mecanismo de regulación post-traduccional del transportador de nucleósidos purino-preferente de alta afinidad rCNT2. Los ácidos biliares participan en la regulación del metabolismo de nucleósidos durante la regeneración hepática, situación en la que se incrementa la actividad de rCNT2. Nuestros resultados demuestran que los ácidos biliares provocan un aumento de la actividad de transporte de rCNT2 en células parenquimales hepáticas, consiguiéndose el máximo efecto con el ácido taurocólico (TCA). Por Western Blot se constata que los ácidos biliares no afectan a la expresión proteica de rCNT2 pero el fraccionamiento subcelular indica que la adición de TCA provoca un cambio en la localización subcelular del transportador, tanto en células FAO como en cultivo primario de hepatocitos, con el consiguiente incremento en actividad. La biotilización de las proteínas de membrana y el análisis *in vivo* de la inserción de la proteína de fusión rCNT2-YFP en la membrana plasmática confirman estas evidencias. En células FAO, el TCA ejerce su efecto mediante la fosforilación de ERK1 y ERK2, mientras que el PD98059, inhibidor de MEK, bloquea el aumento de actividad de rCNT2 inducido por TCA. La wortmanina y el dibutilil-AMPc también inhiben dicho efecto, hecho que sugiere la participación de la vía PI3-kinasa/ERK. Estos resultados son novedosos dentro de la fisiología de los ácidos biliares y representan la primera evidencia de regulación de la translocación del transportador hacia la membrana plasmática.

ACTIVIDAD ANTIFIBRÓTICA DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DE HÍGADO, LGF, EN RATAS CON LIGADURA DEL CONDUCTO BILIAR

J.J. Díaz Gil^a, C. García Monzón^b, C. Rúa^a, P. Martín-Sanz^d, M.E. Miquilena Colina^b, C. Machín^c, A. Fernández Martínez^d y R. García Cañero^a

^aLab. de Bioquím. Experim., Hospital Puerta Hierro. ^bLab. de Hepatología Experim., Hospital Sta. Cristina. ^cDpto. de Biol. Celular, Fac. C. Biológicas, UCM. ^dDpto. de Bioq. y Biol. Mol, Fac. Farmacia, UCM.

El Factor de crecimiento de hígado, LGF, es un mitógeno hepático y regenerador celular con actividad "in vivo". El modelo de fibrosis utilizado fue la ligadura del conducto biliar (LCB) en ratas wistar, y la inyección i.p. de LGF a tiempos distintos: 0, 2, 5 u 8w después de LCB (5.0 μ g LGF/rata, 2 iny./semana, 2w en el primer tramo y 3w en los otros dos, en grupos separados). Las ratas sin LGF (LCB) o con LGF se compararon para estudiar el efecto antifibrótico en cada fase.

Resultados: La fibrosis (morfometría) aumenta constantemente en ratas LCB, pero el efecto del LGF fue diferente en cada tramo: 34% inhibición de 0-2w, 43% inh. de 2-5w y 98% inh. de 5-8w. La funcionalidad hepática (ABT-k) disminuyó de forma paralela a la estimulación de la fibrosis: 62 y 71% en ratas LCB de 5 y 8w con respecto a los controles sanos, pero sólo el 20 y 21% con iny. de LGF. Como reguladores del proceso de fibrosis se midieron la concentración en hígado (western) de Endogлина (receptor de TGF- β) y PDGF-B. El LGF produjo una estimulación de Endogлина (87% en el período 2-5w, frente al 17% de las ratas BDL), que se asoció a la disminución de fibrosis observada. En el período 2-5w, el PDGF-B experimentó una ligera disminución en las ratas con LGF controles, que no se observó en ratas inyectadas con LGF. Como marcador de la transformación miofibroblástica de las cél. de Ito (productoras de fibrosis), se midió a-Actina (western e inmunohistoquímica). El LGF disminuyó la a-Actina un 54% en el período 2-5w y el 96% en el período 5-8w con respecto a las ratas LCB. El LGF produjo una disminución de las collagenasas MMP-2 y MMP-9 (western) a tiem-

po final en cada una de los períodos, que se interpreta en relación a la disminución de fibrosis, pero no alteró la estimulación del inhibidor de colagenasas TIMP-1 en suero (ELISA) de ratas LCB en ninguna de las fases.

Conclusiones: El LGF tiene un marcado efecto antifibrótico en ratas con LCB, más evidente en fases avanzadas del proceso. Su efecto parece estar relacionado con la inhibición del proceso de activación de las células de Ito. Teniendo en cuenta la actividad antifibrótica del LGF en otros modelos (CCl4 y DMN), y su efecto antifibrótico en la aorta de ratas hipertensas y en fibrosis pulmonar, el LGF parece ser un agente antifibrótico de amplio espectro.

ACCIÓN SINÉRGICA DE LA CO-ADMINISTRACIÓN DE INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR I (IGF-I) E INTERFERÓN ALFA (IFN α) EN LA CIRROSIS HEPÁTICA EXPERIMENTAL

I. Castilla-Cortázar^{a,b}, F. Tutau^a, J.E. Puche^{a,b}, M. García Fernández^a, E. Mirpuri^c, A. Castilla^d, J. Quiroga^c, S. González-Baron^a y J. Prieto^c

^aDepartamento de Fisiología Médica. Facultad de Medicina. Universidad de Málaga. ^bDepartamento de Fisiología Médica. Facultad de Medicina. Universidad San Pablo-CEU. Madrid. ^cDepartamento de Medicina Interna. Universidad de Navarra. Pamplona. ^dDepartamento de Medicina Interna. Hospital Sierrallana. Torrelavega. Cantabria.

La cirrosis hepática es una condición de deficiencia de IGF-I. El 90% del IGF-I circulante es de síntesis hepática. La terapia sustitutiva con IGF-I induce múltiples efectos beneficiosos¹⁻⁸ en la cirrosis experimental, mejorando la absorción intestinal, el balance nitrogenado, la osteopenia, el hipogonadismo, el tono somatostatínérgico, las defensas antioxidantes e induce efectos antifibrogénicos y hepatoprotectores sobre el hígado cirrótico⁹⁻¹². Por otro lado, el IFN α inhibe la fibrogénesis e incrementa la fibrolisis en la enfermedad hepática crónica. El objetivo de este estudio fue investigar los efectos de la co-administración de IGF-I+IFN α en ratas *Wistar* con cirrosis inducida por CCl₄, sobre las pruebas de función hepática, el daño oxidativo y la histopatología hepática. El protocolo incluyó controles sanos (CO), animales cirróticos sin tratamiento (CI), ratas cirróticas tratadas con IGF-I (CI+IGF, 2 μ g·100g pc⁻¹·d⁻¹), ratas cirróticas tratadas con IFN α (CI+IFN, 3.200 U, tres días a la semana) y animales cirróticos tratados con ambos factores (CI+IGF-I+IFN) durante tres semanas. La co-administración de IGF-I+IFN α potenció los efectos antifibrogénicos y hepatoprotectores previamente descritos en la terapia con IGF-I, y evitó los efectos adversos, y no bien explicados, del tratamiento sólo con IFN (grupo CI+IFN): hepatomegalia, y el incremento de la fosfatasa alcalina, mientras se mantenía el marcado efecto antifibrogénico del IFN α en este modelo experimental. La terapia combinada con los dos factores mejoró las pruebas de función hepática, la peroxidación lipídica hepática e indujo una notable mejoría histológica reduciendo la fibrosis y reorganizando la arquitectura hepática de una forma más evidente que la mejoría inducida en los grupos CI+IFN o CI+IGF-I. Estos resultados sugieren que IGF-I y IFN α actúan por diferentes mecanismos, y que la administración combinada potencia la eficacia de cada factor por separado. Además, este estudio preliminar proporciona la base experimental para futuros trabajos que exploren la eficacia terapéutica del tratamiento combinado de IGF-I+IFN.

1. Gastroenterology 1997;113(4):1180-7.
2. J Hepatol 1997;26(1):191-202.
3. Am J Physiol 2000;279(2):G319-24.
4. Am J Physiol 1999;276:G37-42.
5. Hepatology 2000;31(3):592-600.
6. Liver 2001; 21(6):405-9.
7. World J Gastroenterol. 2004;1;10(17):2529-34.
8. BMC Gastroenterol 2004;4(1):12.
9. IJCB. 2002;34(3):242-52.
10. Gastroenterology 1997;113(5):1682-91.
11. BBA 2001;1;1536(2-3):185-95.
12. BMC Gastroenterol 2005;5(1):7.

Subvencionado por el Programa I+D, ref. SAF 2001/1672 y SAF 2005/08113. Estos datos han sido registrados (ref. PCT/ES2004/000380).

EFFECTO DE LA ATORVASTATINA SOBRE EL GRADO DE INFLAMACIÓN Y ESTEATOSIS EN LA ENFERMEDAD GRASA DEL HÍGADO EN UN MODELO EXPERIMENTAL

A. Martín Castillo^a, M.T. Castells Mora^b, I. Ayala de la Peña^c, J. Gómez García^d y B. García Pérez^e

^aAparato Digestivo Hospital de Hellín, ^bBiología Celular, ^cMedicina Veterinaria y ^dMétodos Cuantitativos, Universidad de Murcia. Murcia, ^eMedicina Interna H.U. Virgen de la Arrixaca. Murcia.

Antecedentes y objetivos: La Enfermedad Grasa del Hígado No Alcohólica (EGHNA), se considera la manifestación hepática del síndrome metabólico. Los pacientes con este síndrome presentan un alto riesgo de desarrollar patología arteriosclerótica, por lo que suelen ser tratados con estatinas. En este trabajo valoramos el efecto de la atorvastatina en un modelo de hígado graso en el pollo, un animal especialmente predispuesto a esta patología, evaluando el grado de inflamación y depósito graso mediante técnicas histológicas y análisis de imagen.

Metodología: Se emplearon 50 pollos de raza White-Leghorn distribuidos en los siguientes grupos experimentales. A: control con dieta normal, B: control con dieta hiperlipémica, C: regresión tras supresión de la dieta hiperlipémica, D: regresión con dieta normal y atorvastatina y E: progresión con dieta hiperlipémica y atorvastatina. Las muestras fueron fijadas en 10% formol y procesadas para su inclusión en parafina. Tras tinción de los portas con hematoxilina-eosina se realizó una evaluación morfológica y valoración mediante análisis de imagen. Para el estudio del infiltrado inflamatorio se midieron área y diámetro máximo de cada foco y el porcentaje del área ocupada por infiltrado inflamatorio. Además se contaron nº de focos en campos 20x. Para el análisis de la esteatosis se cuantificó el porcentaje de área de depósito graso en el parénquima hepático: zona lobulillar y centrolobulillar. Además se calculó la frecuencia de hepatocitos con microvesículas, macrovesículas y sin depósito lipídico. Finalmente el análisis estadístico de los datos se realizó empleando SPSS11.

Resultados: No se observan diferencias entre la región lobulillar y centrolobulillar. Las diferencias respecto a la cuantificación del depósito graso fueron estadísticamente significativas en todos los grupos. El valor más alto (% área \pm sem) fue en el grupo B (55,12 \pm 0,93), seguido del grupo E (32,3 \pm 0,78), C (7,4 \pm 0,44) y D (2,98 \pm 0,24). No se observó esteatosis en el grupo A. Este mismo orden se corresponde con la frecuencia de hepatocitos con micro- y macrovesículas. Los valores son menores en los animales tratados con atorvastatina. El tipo de esteatosis inducida fue en todos los casos mixta macro y microvesicular. El área, diámetro máximo de foco y porcentaje del área ocupada por inflamación fue mayor en el grupo B, seguido de E, C y D respectivamente. No se encontraron focos en el grupo control A. Sólo se observaron diferencias en el nº de focos/campo entre el grupo A respecto a todos los demás grupos.

Conclusión: En nuestro modelo de esteatosis hepática los datos indican que la atorvastatina ejerce una disminución del depósito graso y de la inflamación, lo que sugiere que puede ser potencialmente útil para el tratamiento de la EGHNA. El área, diámetro del foco o porcentaje de área de células migratorias ofrece una información más detallada del grado de inflamación, que el nº de focos/campo aislado. Trabajo financiado por la Fundación Séneca (Centro de Coordinación de la Investigación, Murcia), referencia PI-7/00785/FS/01.

EL CONSUMO DE ALCOHOL DURANTE LA GESTACIÓN AUMENTA LA SENSIBILIDAD DEL HIGADO FETAL DE RATA A SITUACIONES QUE CAUSAN ESTRÉS OXIDATIVO

M.J. Pérez¹, E. Velasco³, M.J. Monte³, M.A. Serrano³, A.G. Blázquez³, F. Jiménez², F. González San Martín² y J.J.G. Marín³

¹Unidad de Investigación y ²Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Universitario. ³Laboratorio de Hepatología Experimental y Vectorización de Fármacos. Universidad de Salamanca.

Introducción: El abuso en el consumo de etanol es una causa frecuente de enfermedad hepática en adultos. Además, su capacidad de atravesar la placenta lo convierte en un peligroso agente teratogéni-

co durante la primera parte de la gestación. Sin embargo, a dosis a las que no se producen malformaciones, los efectos nocivos sobre el hígado fetal están menos estudiados.

Objetivo: Determinar el cambio en la sensibilidad al estrés oxidativo de hepatocitos de fetos nacidos de ratas sometidas a ingestión crónica de etanol. Puesto que la enfermedad hepática alcohólica se suele acompañar de colestasis, se eligió como agente causante de estrés oxidativo la presencia de concentraciones elevadas del ácido biliar glicocuenodesoxicólico.

Métodos: Desde 4 semanas antes del apareamiento se administró etanol (30% en el agua de bebida) a ratas hembras. En el día 21 de la gestación, se sacrificaban a los animales y se recogían los hígados fetales y maternos para determinaciones bioquímicas o para el aislamiento y cultivo de los hepatocitos fetales y adultos.

Resultados: La ingesta de etanol indujo una disminución en la relación GSH/GSSG en los hígados materno y fetal, que sólo en hígados fetales se acompañó de una disminución en los niveles de glutatión total, a pesar de observarse un aumento de las actividades gamma-glutamilcisteína sintetasa y glutatión reductasa. La peroxidación lipídica hepática estaba aumentada en fetos pero no en sus madres, aunque en ningún caso fue suficiente para inducir apoptosis, como confirmaba la ausencia de cambios en la actividad de las caspasas 3. Sin embargo, en el grupo de ratas alcohólicas se observó una aumentada sensibilidad al estrés oxidativo inducido por ácido glicocuenodesoxicólico. En este grupo la respuesta a este ácido biliar de los hepatocitos, sobre todo los fetales, fue una mayor producción de especies reactivas de oxígeno asociada a un mayor deterioro de la función mitocondrial (menor actividad deshidrogenasa) y mayor activación de las caspasas 3 y 8. Esto concordaba con los cambios en la abundancia de las proteínas proapoptóticas y antiapoptóticas, Bax-alfa y Bcl-2, respectivamente.

Conclusión: La ingesta de etanol durante la gestación, a niveles que no causan teratogenicidad ni toxicidad aparente, aumenta la sensibilidad de los hepatocitos fetales a situaciones que causan estrés oxidativo, como la acumulación de ácidos biliares asociada a colestasis materna.

LA ACTIVACION ESPECÍFICA DEL RECEPTOR CANNABINOIDE CB2 REDUCE EL INFILTRADO INFLAMATORIO HEPÁTICO EN RATAS CIRRÓTICAS

J. Muñoz-Luque^a, J. Ros^a, G. Fernández-Varo^a, S. Tugues^a, M. Morales-Ruiz^a, V. Arroyo^b, J. Rodés^b y W. Jiménez^a

^aLaboratorio de Hormonal-Centre de Diagnòstic Biomèdic y ^bUnidad de Hepatología-Institut de Malalties Digestives i Metabòliques. Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Universidad de Barcelona, Barcelona.

Introducción: El tetrahidrocannabinol, así como los cannabinoides endógenos y sintéticos, ejercen su actividad biológica mediante la activación de dos tipos de receptores: el receptor CB1 (rCB1), expresado principalmente en el sistema nervioso central, y el receptor CB2 (rCB2), expresado en células del sistema inmune. Numerosas evidencias demuestran que la activación del rCB2 ejerce una importante función reguladora del sistema inmune disminuyendo la síntesis de citocinas proinflamatorias en diferentes tipos celulares. Sin embargo, existen pocos estudios que detallen ampliamente la acción hepática de los cannabinoides y, por tanto, que permitan determinar si la activación específica del rCB2 podría ser un tratamiento terapéutico útil en la cirrosis.

Objetivos: Por este motivo, el objetivo de este trabajo fue el de examinar en ratas cirróticas la expresión hepática del rCB2 e investigar si el tratamiento con un agonista específico del rCB2 reduce el grado de infiltrado inflamatorio hepático.

Métodos: La expresión del mRNA y de la proteína del rCB2 fue cuantificada en hígados de ratas controles (n = 6) y ratas cirróticas (n = 6) mediante las técnicas de RT-PCR y Western blot (anti-rCB2, Cayman), respectivamente. Los experimentos de activación específica del rCB2 se realizaron en dos grupos de ratas cirróticas. El primer grupo (n = 5) recibió una dosis diaria de 1 mg/Kg de

JWH-133 (Tocris Bioscience), un agonista específico del rCB2. El segundo grupo, recibió vehículo. La duración del tratamiento fue de 9 días en ambos grupos. En el noveno día, se determinó la presión portal y la presión arterial media. Adicionalmente, se procesaron muestras de tejido hepático pertenecientes a ambos grupos experimentales para su posterior análisis histológico.

Resultados: Los resultados obtenidos por RT-PCR y Western blot revelaron un incremento significativo de los niveles de mRNA y de la proteína del rCB2 en el tejido hepático de las ratas cirróticas, en comparación con las ratas controles. El tratamiento de las ratas cirróticas con el agonista JWH-133 no alteró ninguno de los parámetros hemodinámicos analizados. Sin embargo, este grupo experimental sí que evidenció una reducción significativa del porcentaje de infiltrado inflamatorio presente en el tejido hepático (p < 0,05), en comparación con los valores obtenidos en las ratas cirróticas tratadas con vehículo (20,2 ± 0,2 vs 30 ± 2,8 células/campo, respectivamente).

Conclusión: Nuestros resultados ponen de manifiesto que existe una sobreexpresión hepática del rCB2 en ratas cirróticas y que la activación específica del rCB2 disminuye significativamente el infiltrado inflamatorio en hígados cirróticos. Por tanto, el uso terapéutico de agonistas específicos del rCB2 podría significar una nueva estrategia terapéutica para el tratamiento de la cirrosis que, a su vez, evitaría los efectos psicotrónicos adversos asociados a la activación del rCB1.

S-ADENOSILMETIONINA REGULA LOS NIVELES CITOPASMÁTICOS DE HUR A TRAVÉS DE LA KINASA DEPENDIENTE DE AMP (AMPK)

M. Vázquez-Chantada^a, M. Garnacho-Extebarría^a

M. Varela-Rey^a, L.A. Martínez-Cruz^a, S.C. Lu^b, J.M. Mato^a y M.L. Martínez-Chantar^a

^aMetabólica, CIC Biogune, Parque Tecnológico, ^bUSC Liver Disease Research Center, USC-UCLA Alcoholic Liver and Pancreatic Disease Center, the Division of Gastrointestinal and Liver Diseases, Department of Medicine, Keck School of Medicine USC, Los Angeles, USA.

La S-adenosilmetionina (SAM), el mayor donante de grupos metilo de la célula, es capaz de bloquear la proliferación hepática. Cuando se produce una lesión en el hígado los niveles de SAM disminuyen y en consecuencia se inicia la regeneración hepática. *In vivo* se ha demostrado que los ratones Knockout del gen MAT1A (Metionina Adenosil Transferasa), deficientes en SAM hepático, presentan una regeneración hepática anormal y desarrollan esteatohepatitis no alcohólica (NASH) y hepatocarcinoma celular a los 8 y 15 meses de edad de forma espontánea. No está claro el proceso mediante el cual SAM regula el crecimiento hepático, pero considerando que SAM bloquea la expresión y la síntesis de DNA de las ciclinas D1 y D2 inducidas por el factor de crecimiento hepático (HGF) sin que se afecte la fosforilación de ERK, es poco probable que sea la ruta de señalización de la MAPquinasa la implicada en este proceso. En nuestros resultados mostramos que en hepatocitos de rata el HGF y 5-aminoimidazol-4-carboxamida ribosido (AICAR) inducen la fosforilación de la AMP-proteína quinasa (AMPK) y que SAM bloquea este proceso. Además la activación de AMPK mediada por HGF y AMPK estimula el transporte del núcleo hacia el citoplasma de HuR, una proteína de unión a RNA que incrementa la vida de genes asociados al ciclo celular como la ciclina A2 y ciclina D1, mientras que SAM lo inhibe. Cuando la expresión de AMPK se ve disminuida mediante la utilización de RNA interferencia, el tratamiento con AICAR no tiene efecto sobre los niveles en citoplasma de HuR. En concordancia con estos datos hemos demostrado que AICAR induce proliferación en los hepatocitos de rata mediante tinción con BrdU mientras que SAM es capaz de bloquear este efecto. Finalmente, mostramos que en ratones Knockout deficientes en SAM hepático, la fosforilación de AMPK en el hígado y los niveles de HuR en citoplasma están incrementados. Nuestros resultados señalan un mecanismo y una ruta de señalización hasta ahora desconocida por la que el hepatocito responde a HGF y SAM actúa como un inhibidor.

PAPEL DE LA S-NITROSILACIÓN DE PROTEÍNAS EN LA MUERTE CELULAR INDUCIDA POR D-GALACTOSAMINA EN HEPATOCITOS HUMANOS: ANÁLISIS PROTEÓMICO

L.M. López-Sánchez^a, F.J. Corrales^b, P. López^c, J.L. Montero^a, E. Fraga^a, J. Serrano^d, M. de la Mata^a, J. Muntané^a y A. Rodríguez-Ariza^a

^aSección de Hepatología, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba,

^bUnidad de Hepatología y Terapia Génica Universidad de Navarra,

Pamplona, ^cDepartamento de Cirugía Hospital Universitario Reina

Sofía, Córdoba, ^dUnidad de Cirugía HBP y Transplante Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.

Antecedentes: La D-galactosamina (D-GalN) es un modelo experimental de lesión hepatocelular. Estudios previos en hepatocitos de rata y humanos han demostrado que el estrés oxidativo y la síntesis de óxido nítrico (ON) participan en la inducción de apoptosis y necrosis por D-GalN.

Objetivos: Analizar la importancia de la nitrosilación de proteínas durante la inducción de muerte celular por D-GalN en el cultivo primario de hepatocitos humanos, e identificar dichas proteínas mediante una aproximación de tipo proteómico.

Métodos: Los hepatocitos se aislaron de resecciones hepáticas realizadas a pacientes con tumor hepático, previo consentimiento informado, mediante el método clásico de aislamiento por colagenasa. Se realizó un estudio cinético de inducción de muerte celular por D-GalN (40 mM) en hepatocitos en cultivo. Se utilizó además S-nitroso-L-cisteína (CSNO) como agente fisiológico trinitrosilante. Se pre-administró L-NAME (0,5 mM) para inhibir la ON sintasa inducible. La necrosis y apoptosis se valoraron mediante la liberación de LDH y fragmentación de DNA, respectivamente. La producción de ON y los nitrosotiosoles de alto peso molecular se determinaron mediante quimioluminiscencia. Las proteínas nitrosiladas se marcaron utilizando el método "biotin-switch" y se detectaron utilizando un anticuerpo anti-biotina. Para su purificación e identificación se utilizó estreptavidina-agarosa, digestión con tripsina, y los péptidos resultantes se analizaron utilizando espectrometría de masas.

Resultados: D-GalN indujo apoptosis seguida de necrosis, que se relacionó con un aumento de la producción de ON y de nitrosotiosoles de alto peso molecular. EL tratamiento con L-NAME redujo la nitrosilación de proteínas inducida por D-GalN. CSNO aumentó la nitrosilación de proteínas y la muerte celular en los hepatocitos control y tratados con D-GalN. El análisis proteómico identificó diversas proteínas nitrosiladas implicadas en el metabolismo, defensa antioxidante y estrés celular.

Conclusiones: El estudio demuestra que diversas proteínas implicadas en el metabolismo y la defensa celular son nitrosiladas en cisteína tras el tratamiento con D-GalN en el cultivo primario de hepatocitos humanos. Estas modificaciones postraduccionales son también observadas tras el tratamiento de los hepatocitos con CSNO y se asocian con un importante incremento de la muerte celular. Este estudio pone de manifiesto la importancia de esta modificación postraduccionales en este modelo experimental de lesión hepatocelular.

ALTERACIÓN DEL METABOLISMO LIPÍDICO HEPÁTICO EN RATAS CON HIPERTENSIÓN PORTAL PREHEPÁTICA

M.A. Aller^a, E. Vara^b, C. García^b, I. Mejía^a, A. Calderón^a, R. Blanco^a, S.F. Sánchez-Patán^a y J. Arias^a

^aCátedra de Cirugía, ^bDepartamento de Bioquímica y Biología Celular, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.

Introducción: En ratas con hipertensión portal prehepática se ha demostrado un aumento de la producción hepática de diversos mediadores proinflamatorios (TNF-alfa, IL-1 beta y NO) que se asocian al desarrollo de esteatosis hepática, así como a la formación de megamitocondrias en los hepatocitos.

Objetivo: Verificar la existencia de un trastorno del metabolismo lipídico hepático en ratas con hipertensión portal, tanto a corto (1 mes), como a largo plazo (1 año).

Material y métodos: Se estudian ratas macho de la cepa Wistar al mes de evolución: ratas Control (n = 5) y ratas con hipertensión portal (HTP), por triple ligadura parcial de la vena porta, (n = 8) y al año de evolución: ratas control (n = 6) y ratas con HTP (n = 6). En muestras de parénquima hepático se valoró la síntesis de Fosfolípidos, Diacilglicerol, ácidos grasos libres y fosfolípidos mediante la incorporación de D-[U-¹⁴C] Glucosa en las diferentes fracciones lipídicas, que se individualizaron posteriormente por Cromatografía en capa fina y la concentración de Colesterol se midió por espectrofotometría.

Resultados: Se produce una disminución progresiva de la síntesis hepática de fosfolípidos (7,42 + 0,50 vs 4,70 + 0,44 pCi/mg proteína; p < 0,01), que se acompaña de un aumento de la síntesis de ácidos grasos libres (2,08 + 0,14 vs 3,36 + 0,33 pCi/mg proteína; p < 0,05), de diacilglicerol (1,93 + 0,2 vs 2,26 + 0,28 pCi/mg proteína), de triglicéridos (2,40 + 0,30 vs 4,49 + 0,15 pCi/mg proteína; p < 0,01) y de Colesterol 8 24,28 + 2,12 57,66 + 3,26 microg/mg proteína; p < 0,01).

Conclusión: La hipertensión portal en la rata cursa con alteraciones del metabolismo lipídico hepático similares a las que se asocian con los procesos inflamatorios crónicos y con la sepsis. Dichas alteraciones consisten en una disminución de la síntesis de fosfolípidos que se asocia a un incremento de la producción de lípidos de depósito, como el diacilglicerol y los triglicéridos, lo cual podría estar implicado en el desarrollo de esteatosis hepática en éste modelo experimental.

INTERACCIÓN ENTRE LA RUTA DE SEÑALIZACIÓN DEL TGF-BETA Y LA DEL EGF EN HEPATOCITOS: IMPLICACIÓN EN HEPATOCARCINOGENESIS

M.M. Murillo^{a,b}, L. Caja^a, E. Bertrán^a, G. del Castillo^b, I. Carmona^b, C. Ortiz^b, M.J. Miró^b, A. Sánchez^b, C. Roncero^b, M. Fernández^b y I. Fabregat^a

^aIDIBELL-Institut de Recerca Oncològica (IRO), Barcelona.

^bDepartamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense, Madrid.

El factor de crecimiento transformante-beta (TGF-beta) es una de las principales citoquinas implicadas en la regulación de la homeostasis hepática, induciendo parada del ciclo celular y apoptosis y comportándose por tanto como supresor tumoral. Sin embargo, las acciones pleiotrópicas de este factor le convierten en un promotor tumoral cuando la respuesta a sus acciones supresoras está inhibida. Así, células refractarias a la inhibición del crecimiento o a la apoptosis inducida por esta citoquina pueden responder a ella induciendo procesos de transición epitelio-mesénquima, con pérdida de adhesión celular y ganancia de capacidades migratorias, lo que contribuirá a la diseminación del tumor. Trabajos recientes de nuestro grupo han indicado que el TGF-beta puede inducir en los hepatocitos fetales de rata señales pro- y anti-apoptóticas, del balance de las cuales dependerá el destino celular. En este trabajo hemos profundizado en los mecanismos moleculares que median las señales antiapoptóticas, por la relevancia que pueden tener en permitir la respuesta de las células a otras acciones del TGF- beta. Asimismo hemos querido analizar la situación en células adultas y en líneas celulares de hepatoma. Nuestros resultados han indicado que el TGF- beta promueve en hepatocitos fetales y regenerantes de rata y en la línea celular FaO (hepatoma de rata), pero no en hepatocitos quiescentes adultos, la activación del Receptor de EGF (EGFR) y de la familia de proteínas c-SRC, siendo este un proceso indispensable para la activación de AKT y para que las células escapen de la apoptosis. La inhibición del EGFR impide la activación de la familia de proteínas c-SRC, bloquea por completo la activación de AKT y amplifica drásticamente la apoptosis inducida por TGF-beta. El mecanismo por el cual el TGF-b activa el receptor del EGF es dual. Por un lado, el TGF-beta promueve una rápida activación de la TACE/ADAM-17 (TNF-alpha Converting Enzyme), una metaloproteasa encargada de liberar la forma activa de diversas citoqui-

nas, entre ellas, ligandos del EGFR. Por otro, el TGF-beta promueve un incremento en la expresión de ligandos del EGFR, como son el HB-EGF (heparin-binding EGF-like growth factor) o el TGF-alpha (transforming growth factor-alpha). Los resultados presentados en este trabajo ponen de manifiesto la interconexión existente entre las distintas rutas de señalización celular en el hepatocito y cómo estas interconexiones pueden variar en función de la situación proliferativa de la célula, lo que tendrá una enorme repercusión en la progresión tumoral. La utilización de inhibidores del receptor del EGF, que amplificarán selectivamente la respuesta pro-apoptótica del TGF-beta en las células tumorales, pero no en los hepatocitos adultos, puede ser considerada una terapia de futuro en el carcinoma hepatocelular.

LA COLERESIS RICA EN BICARBONATO INDUCIDA POR SECRETINA EN LA RATA NORMAL ES DEPENDIENTE DE TAUROCOLATO Y ESTÁ MEDIADA POR EL INTERCAMBIADOR DE ANIONES AE2

J.M. Banales^a, F. Arenas^a, C.M. Rodríguez-Ortigosa^a, E. Sáez^a, I. Uriarte^a, R. Brian^b, J. Prieto^a y J.F. Medina^a

^aLaboratorio de Genética Molecular, División de Terapia Génica y Hepatología, CIMA, Clínica Universitaria y Facultad de Medicina, Universidad de Navarra, ^bDivision of Gastroenterology & Hepatology, University of Colorado School of Medicine, Denver, USA.

Introducción: La bilis canalicular es fluidificada y alcalinizada a lo largo de los conductos biliares mediante procesos de absorción y secreción hidroiónica en los que intervienen el sistema neurovegetativo, las sales biliares y algunas hormonas. En este sentido, la hormona secretina es capaz de producir una coleresis rica en bicarbonato en varias especies tales como humanos, perro y cobaya. En rata, sin embargo, la secretina parece mostrar efectos únicamente tras la inducción de hiperplasia ductular. Esto contrasta con el hecho de que el receptor de secretina se expresa en el epitelio biliar de las ratas normales, y tanto los conductos biliares aislados como los colangiocitos normales de rata (*normal rat cholangiocytes*, NRC) responden a la hormona.

Objetivos: Analizar los efectos de la secretina en ratas normales en las que se mantiene el *pool* de sales biliares y determinar el papel del intercambio $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ y de la proteína intercambiadora de aniones (*anion exchanger*) AE2 en la acción de la secretina.

Métodos: La hormona se administró a ratas normales que recibían infusión continua de taurocolato sódico y a las cuales se había administrado flujos retrógrados intrabiliares de suero fisiológico, con y sin el inhibidor NPPB –bloquea el canal de cloro dependiente de cAMP CFTR–, o DIDS, un inhibidor del intercambio $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$. La recolección de bilis en fracciones de 5 min permitió monitorizar el flujo biliar y la excreción biliar de los aniones Cl^- y HCO_3^- . Por otra parte se produjeron vectores adenovirales para silenciar *in vitro* el gen del intercambiador $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ AE2 mediante la expresión intracelular de *small hairpin* RNAs en NRC.

Resultados: La secretina incrementó el flujo biliar y la excreción biliar de HCO_3^- y Cl^- de un modo dosis dependiente. Estos efectos también fueron dependientes de la dosis de taurocolato sódico infundida, no observándose efecto estimulador alguno en ausencia de la sal biliar. La administración intrabiliar de NPPB bloqueó los efectos de la secretina, indicando el papel del canal de cloro CFTR. Por otra parte, la administración intrabiliar de DIDS sólo inhibió los incrementos en el flujo biliar y en la excreción de HCO_3^- estimulados por secretina, pero no el incremento en la excreción biliar de Cl^- , demostrando el papel del intercambio $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ en la coleresis rica en bicarbonato. Por último, el silenciamiento del gen AE2 demostró una marcada inhibición de toda actividad intercambiadora $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ en los colangiocitos en cultivo.

Conclusiones: El mantenimiento del *pool* de sales biliares es crucial para obtener una hidrocóleresis rica en bicarbonato en la rata normal tras estímulo con secretina. La excreción de bicarbonato en respuesta a la secretina se lleva a cabo mediante un intercambio $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ a través del intercambiador de aniones AE2.

MODULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE P27 Y P21 DURANTE LA GENOTOXICIDAD INDUCIDA POR AFLATOXINA EN EL CULTIVO PRIMARIO DE HEPATOCITOS

I. Ranchal, J.L. Montero, E. Fraga, G. Costán, P. Barrera, M. de la Mata y J. Muntané

Unidad Clínica Aparato Digestivo, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba.

Antecedentes: El carcinoma hepatocelular (HCC) representa el 5% de los casos de cáncer diagnosticados y con peor pronóstico. Se ha observado que la expresión de p27 en el HCC es un factor beneficioso sobre la recidiva del tumor en estos pacientes. El objetivo del presente estudio fue evaluar la relación entre la expresión de p27 y p21 con la alteración del ciclo celular, muerte celular y genotoxicidad inducida por aflatoxina B1 (AFB1) en el cultivo primario de hepatocitos de ratón.

Material y métodos: Los hepatocitos se aislaron de ratones control (C57BL/6J) y deficientes en p27 (B6.129S4-Cdkn1b^{tm1Mir/J}) (Jackson Laboratorios, Bar Harbor, Maine, USA) mediante perfusión del hígado con colagenasa manteniéndose el cultivo celular con medio Williams E a una densidad de 50.000 cel/cm². La genotoxicidad fue inducida por AFB1 (0,5, 5 y 50 µg/mL). La necrosis celular fue evaluada mediante la liberación de LDH al medio de cultivo. La apoptosis fue determinada por la actividad caspasa-3 y el grado de fragmentación del DNA celular. El grado de mutagénesis en el DNA se analizó por inmunohistoquímica mediante la 8-hidroxiguanina. La proliferación de los hepatocitos fue determinada por la incorporación de timidina tritiada al DNA celular. La expresión de p27 y p21 fue evaluada mediante Western-blot y RT-PCR en tiempo real.

Resultados: La adición de AFB1 induce apoptosis y necrosis celular de forma dosis dependiente en los hepatocitos en cultivo. Este efecto del genotóxico se acompaña de un incremento de la expresión de 8-hidroxiguanina en el DNA celular. La expresión de p27 se reduce con el incremento de la dosis del genotóxico y con el tiempo de estudio en los hepatocitos control en cultivo. Aunque se observa el mismo patrón de regulación de la expresión del mRNA de p21 con AFB1, no se ha observado expresión proteica en ninguna de las condiciones experimentales en los hepatocitos control en cultivo. La adición del genotóxico redujo drásticamente la incorporación de timidina en DNA celular. Los hepatocitos deficientes en p27 presentaron unos niveles importantes de mRNA y proteína p21 en hepatocitos en cultivo. Los hepatocitos deficientes en p27 son más susceptibles a la apoptosis y necrosis celular inducida por AFB1. Asimismo, el índice proliferativo de los hepatocitos deficientes en p27 está reducido en comparación con los hepatocitos control.

Conclusiones: 1) La administración de AFB1 reduce la proliferación celular e incrementa la muerte celular en hepatocitos control. 2) Este efecto de la AFB1 se relaciona con un incremento de la genotoxicidad celular. 3) La expresión de p27 en los hepatocitos control se relaciona con ausencia de expresión proteica de p21. 4) La muerte celular inducida por AFB1 se relaciona con una disminución de la expresión de p27. 5) La ausencia de p27 induce un incremento de la muerte celular y genotoxicidad inducida por AFB1 en el cultivo primario de hepatocitos deficientes en p27.

LA CONCENTRACIÓN DE IL-6 SÉRICA ESTÁ RELACIONADA CON LA ACUMULACIÓN LIPÍDICA HEPÁTICA EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE ESTEATOSIS

M.A. Sánchez-Garrido^a, I. Espejo^b, Y. Chico^c, P. Barrera^a, J.L. Montero^a, E. Fraga^a, G. Costán^a, B. Ochoa^c, M. de la Mata^a, J. Muñoz^a y J. Muntané^a

^aUnidad Clínica Aparato Digestivo, ^bServicio de Análisis Clínico, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, ^cDepartamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad del País Vasco, Bilbao.

Antecedentes: La presencia de esteatosis hepática y esteatohepatitis no alcohólica es una disfunción con alta prevalencia en los países desarrollados debido al alto contenido graso de la dieta. Se ha observado que la interleuquina-6 (IL-6) podría jugar un papel relevante en la inducción y progresión de la esteatosis hepática. El obje-

tivo del presente estudio es determinar la correlación existente entre los niveles de IL-6, glucosa, transaminasas y apoptosis celular con la progresión de la esteatosis hepática experimental.

Métodos: Se realizó un estudio cinético de inducción de esteatosis en ratas macho Wistar alimentadas con una dieta deficiente en colina. Se recogieron datos de transaminasas, triglicéridos, colesterol, IL-6 en el suero de los animales de experimentación. Se determinó el grado de esteatosis (oil-red) y el grado de lesión histológica (hematoxilina-eosina y TUNEL) en las muestras hepáticas. Se valoraron los niveles de triglicéridos, colesterol y fosfolípidos por cromatografía de capa fina monodimensional en el homogenado hepático.

Resultados: La administración de una dieta deficiente en colina indujo progresivamente la presencia de esteatosis hepática (25 al 90 %) en los animales de experimentación. No se observó presencia de acumulo de células inflamatorias ni apoptosis celular en las muestras hepáticas procedentes de los animales con esteatosis. La necrosis hepatocelular aparece en el umbral del 75 % de la esteatosis hepática. La dieta deficiente en colina indujo un incremento progresivo de triglicéridos y colesterol y una disminución de fosfatidil colina y etanolamina en el hígado con esteatosis. Los animales con esteatosis hepática presentan unos niveles inferiores de glucosa circulante. La concentración de IL-6 en el suero se reduce en los primeros días de inducción de esteatosis, observándose un incremento posterior a lo largo de los siguientes tiempos de estudio.

Conclusiones: 1) La dieta deficiente en colina genera una progresiva acumulación de lípidos en el hígado. 2) La necrosis celular es el tipo de muerte celular predominante en los animales con esteatosis. 3) La esteatosis hepática inducida por la dieta deficiente en colina no se relaciona con signos de resistencia a la insulina. 4) El incremento de esteatosis hepática se asocia con el aumento progresivo de IL-6 en el suero de los animales alimentados con una dieta deficiente en colina.

HIPOTERMIA DISMINUYE EL DAÑO HEPÁTICO AGUDO INDUCIDO POR PARACETAMOL EN RATONES

J. Vaquero^a, M. Belanger^a, R. Herrero^a, L. James^b, J. Côté^a y R.F. Butterworth^a

^aNeuroscience Research Unit, CHUM, Montreal, Canada, ^bUniv. of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock, USA.

Introducción: La inducción de hipotermia previene las complicaciones neurológicas del fallo hepático agudo, pero su efecto en el hígado no ha sido estudiado en detalle.

Objetivo: Estudiar el efecto de hipotermia en la progresión del daño hepático agudo secundario a tóxicos.

Métodos: Tras 16 h de ayuno, ratones C57Bl6 (20-25 g) fueron tratados con paracetamol (300 mg/kg i.p.) o salino, y mantenidos normotérmicos (T^{ra} rectal: 36-37,5°C) en las primeras 2 h con una lámpara/colchoneta térmica; posteriormente, un grupo continuó normotérmico (NT) y a otro grupo le permitimos desarrollar hipotermia (HT, 32-34°C). El daño hepático se evaluó por histología (% necrosis hepatocitaria, hematoxilina-floxina) y por el nivel de ALT en plasma. Para explorar mecanismos de acción, se evaluaron: 1) Formación de aductos del metabolito tóxico de paracetamol (NAPQI) con proteínas: HPLC+ECD, 2) Glutatión hepático: Ensayo enzimático, 3) Glucógeno hepático: Tinción PAS, 3) Expresión hepática de nitrotirosina y de óxido nítrico sintasa (isoforma inducible, iNOS): Western-blot, 4) Expresión hepática de citoquinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10), iNOS y hemoxigenasa 1 (HO-1): RT-PCR, 5) Actividad proliferativa hepática: Inmunohistoquímica de bromo-deoxiuridina (BrdU).

Resultados: Hipotermia aumentó la supervivencia (40% vs 100%), y disminuyó la necrosis hepática (51,4 \pm 6,1% vs 32,3 \pm 4,1%) y ALT en plasma (9469 \pm 1866 vs 3815 \pm 1311 U/dL) a las 24 h (p < 0,05 NT vs HT). La depleción de glutatión (nmol/g) fue máxima a las 2 h (0h: 3923 \pm 243 vs 2h: 603 \pm 171, p < 0,05); su aumento posterior (4 h) fue menor en ratones HT (NT: 3769 \pm 271 vs HT: 2663 \pm 213, p < 0,05). La concentración de aductos de NAPQI (nmol a-Cys/mg prot) aumentó a las 2 h (0h: 0,002 \pm 0,001 vs 2h: 0,805 \pm 0,075, p < 0,05), y permaneció elevada de forma similar en NT e HT a las 4 h (0,763 \pm 0,065 vs 0,637 \pm 0,059, NS). La depleción inicial de glucógeno hepático se siguió de un aumento en áreas portales a

las 4-8 h, sobre todo en HT. Comparados con controles, los niveles de nitrotirosina aumentaron similarmente en NT e HT a las 4, 8 y 12 h. La expresión de TNF- α , IL-1 β e IL-6 aumentó en ratones NT, y fue atenuada en HT; en cambio, IL-10 aumentó de forma similar en ambos grupos. La expresión de iNOS fue heterogénea, sin ningún patrón asociado con la inyección de paracetamol o con hipotermia. HO-1 aumentó similarmente en NT e HT desde las primeras 2 h. En ambos grupos, se detectó positividad para BrdU a las 48 h.

Conclusiones: En este modelo: 1) Hipotermia protege frente al daño hepático agudo inducido por paracetamol, 2) Los mecanismos implicados no incluyen una menor bio-activación de paracetamol, si no la modulación de inflamación y la inducción de genes citoprotectores, 3) Hipotermia no anula la actividad proliferativa hepatocitaria.

EFFECTO DE LA MELATONINA SOBRE LA ACTIVIDAD Y LA EXPRESIÓN DE LAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES HEPÁTICAS EN UN MODELO ANIMAL DE ENVEJECIMIENTO

V. Molpeceres^a, J.L. Mauriz^a, J.P. Barrio^a, P. Calvo^b y J. González-Gallego^a

^aDepartamento Fisiología. Universidad de León. ^bDepartamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de León.

La melatonina es una hormona producida por la glándula pineal de vertebrados, incluido el hombre. El envejecimiento lleva asociado una serie de cambios fisiológicos, con incremento en la generación de radicales libres. La síntesis y secreción de la melatonina disminuye con la edad, sugiriendo esto que la pérdida de este antioxidante podría estar relacionada con el proceso de envejecimiento y sus patologías asociadas.

Objetivos: Estudiar los efectos del envejecimiento y de la suplementación oral con melatonina sobre el estrés oxidativo hepático.

Metodología: Se utilizaron ratas macho raza Wistar de 3 y 18 meses de edad (jóvenes y ancianas), suplementadas o no con melatonina (1 mg/kg/día) durante 2 meses en agua de bebida durante la noche, mantenidas en condiciones controladas de temperatura, humedad y luz/oscuridad. Se determinó el nivel de TBARS y el ratio GSSG/GSH. Se estudiaron las actividades de las enzimas CAT, GPx cit, GPx mit, SOD-Cu/Zn y SOD-Mn. También se cuantificó la expresión de estas enzimas por Western Blot.

Resultados: Para establecer la existencia de estrés oxidativo en nuestro modelo analizamos los niveles de TBARS y el ratio GSSG/GSH, siendo ambos índices significativamente superiores en el caso de las ratas ancianas. Respecto a la actividad de las enzimas antioxidantes, comprobamos una reducción significativa en las mismas como consecuencia del envejecimiento (-35% CAT, -40% GPx mit., -25% SOD-Cu/Zn), a excepción de la SOD-Mn que se vio ligeramente aumentada (+13%) y la GPx cit. que se mostró inalterada. La expresión de estas enzimas también se redujo como consecuencia del envejecimiento (-15% CAT, -20% GPx cit., -15% GPx mit., -25% SOD-Cu/Zn), aumentando por el contrario la expresión de la SOD-Mn (+14%). La suplementación con melatonina al grupo de ratas ancianas revirtió los cambios de TBARS, GSSG/GSH, actividad y expresión de las enzimas.

Conclusión: La melatonina parece ser capaz de reducir el estrés oxidativo hepático inducido por la vejez, con modificación de la expresión de las principales enzimas antioxidantes presentes en el hígado, no teniendo efectos aparentes en los animales jóvenes.

CARDIOTROFINA-1 EJERCE SU EFECTO HEPATOPROTECTOR A TRAVÉS DE LA ACTIVACIÓN DE STAT3 Y AKT FRENTE A LA APOPTOSIS INDUCIDA POR D-GALACTOSAMINA EN EL CULTIVO PRIMARIO DE HEPATOCITOS PORCINOS

J. Muñoz^a, R. Martínez^a, C. Herencia^a, M. Iníiguez^b, J.L. Montero^a, E. Fraga^a, G. Costán^a, M. Bustos^b, P. Barrera^a, J. Prieto^b, M. de la Mata^a y J. Muntané^a

^aUnidad Clínica Aparato Digestivo, Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. ^bCIMA, Universidad de Navarra, Pamplona.

Antecedentes: Cardiotrofina-1 (CT1) ejerce un efecto citoprotector y proliferativo en diferentes modelos experimentales de citotóxico-

dad. D-galactosamina (D-GalN) es un modelo experimental útil de lesión hepática en estudios *in vivo* e *in vitro*. El objetivo del estudio fue determinar los mecanismos intracelulares implicados en el efecto citoprotector de CT1 frente a la muerte celular inducida por D-GalN en el cultivo primario de hepatocitos de cerdo.

Métodos: Los hepatocitos se aislaron de hígados de cerdo. Se realizó un estudio cinético con CT1 (50 y 100 ng/mL), D-GalN (5 mM) e inhibidores de la fosforilación de Stat3 (AG490 100uM) y Akt (LY294002 50 uM). Se evaluó la apoptosis a través de la fragmentación del DNA y activación de calpaína y caspasa 3 (48h). Se valoró la expresión de la forma fosforilada y no fosforilada de Stat3 y Akt a 15 y 30 minutos mediante Western-blot.

Resultados: D-GalN incrementó la fragmentación del DNA y la activación de calpaína y caspasa 3. Este efecto se relacionó con una disminución en el grado de fosforilación de Akt. CT1 redujo la fragmentación del DNA e incrementó la fosforilación de Stat3 y Akt. La inhibición de Akt y Stat3 incrementó de forma muy importante los parámetros relacionados con la apoptosis y disminuyó el efecto citoprotector de CT1 frente a la apoptosis inducida por D-GalN.

Conclusiones: 1) CT1 activa las vías antiapoptóticas de Stat3 y Akt, mostrando efecto hepatoprotector y antiapoptótico. 2) La fosforilación de Akt y Stat3 mantiene la viabilidad celular en los hepatocitos en cultivo. 3) El incremento de fosforilación de Stat3 y Akt es responsable del efecto citoprotector de CT1 frente a la apoptosis inducida por D-GalN en hepatocitos en cultivo.

LA SILIBININA, UN MEDICAMENTO HEPATOPROTECTOR, INHIBE LA GLICÓLISIS HEPÁTICA MEDIANTE EFECTO DIRECTO SOBRE LA ENZIMA PIRUVATO KINASA HEPÁTICA

R. Naboulsi^a, G. R-Villanueva^a, N. Sanz^a, C. Sánchez^a, B. Guigas^b, J.M. López-Novoa^a, F. Alonso^a y M.Y. El-Mir^a

^aDepartamento de Fisiología y Farmacología, Universidad Salamanca.

^bInvestigador INSERM. Universidad Grenoble-I Francia. Grenoble.

Antecedentes: La Silibinina (SB) es el principal flavonoide de la Silimarina, un extracto estandarizado de *Silibum Marianum*, utilizado por sus efectos hepatoprotectores en clínica (Legalon). Está bien documentado que la SB tiene efectos hepatoprotectores contra el estrés oxidativo y la hepatotoxicidad producida por múltiples sustancias tóxicas. Estudios previos en nuestro equipo demostraron que la SB modifica el metabolismo hepático por inhibición de la gluconeogénesis y de la glicólisis hepática.

Objetivos: Investigar el mecanismo por el cual la SB inhibe la glicólisis hepática en hepatocitos de rata en perfusión.

Métodos: Los hepatocitos se aislaron de ratas Wistar macho en ayunas (24h) según el método de Berry & Friend. Usando la novedosa técnica de perfusión de células recientemente instalada en nuestro laboratorio. Los hepatocitos de rata en suspensión, eran perfundidos continuamente (5 ml/min) a 37 °C con tampón Krebs-bicarbonato saturado con O₂/CO₂ (19/1) y eran titulados con dihidroxiacetona (DHA) como sustrato energético (0; 0,8; 1,6; 2,4; 3,2; 4,0 y 4,8 mM) en presencia o ausencia de SB (100 μM), para obtener siete estados estacionarios reales y sucesivos. Para cada condición de estado estacionario se determinó en perfusato celular glucosa, piruvato y lactato por técnica espectrofotométrica. En células se determinaron los siguientes intermediarios metabólicos: Dihidroxiacetonafofato (DHAP), fofoenpiruvato (PEP) y 3 fosfoglicerato (3PG). La actividad "in vitro" de la enzima piruvato kinasa (PK) hepática se determinó tras su extracción y purificación parcial de hepatocitos previamente incubados en presencia o ausencia de SB 100 μM o de su vehículo.

Resultados: En hepatocitos perfundidos, utilizando DHA como sustrato, la SB fue la responsable de una inhibición, dosis dependiente, entre DHAP y la producción de lactato+piruvato (J_{L+P}). Además, la relación entre PEP y J_{L+P} se desplazaba hacia la derecha indicando un efecto inhibitorio aparente de la SB sobre la etapa metabólica donde actúa la enzima PK. Finalmente, la determinación enzimática de la actividad de PK demostró que la SB fue la respon-

sable de una inhibición alostérica de PK de tipo "glucagon-like", con un descenso de la relación $v/V_{máx}$ sin ninguna modificación de la $V_{máx}$.

Conclusión: Estos resultados indican que los efectos antioxidantes hepatoprotectores de la SB se deben, por lo menos en parte, a una inhibición de la actividad de la enzima piruvato kinasa hepática con la consiguiente disminución del flujo de piruvato hacia la mitocondria, que a su vez disminuye la producción de radicales libres en el hígado.

PAPEL DEL ESTRÉS OXIDATIVO (EO) Y ÓXIDO NÍTRICO (NO) EN EL INICIO Y PROGRESIÓN DE LAS ALTERACIONES VASCULARES RENAL Y SISTÉMICA DE RATAS CON LIGADURA CRÓNICA DEL CONDUCTO BILIAR (LCB)

A. Alcaraz García^a, D. Iyu^a, D. Hernández^b, R. Mota^c, N. Marín Atucha^a, J. Corral^b, J. García-Estañ López^a y M.C. Ortiz Ruiz^a

^aDepartamento de Fisiología, Facultad de Medicina, ^bDepartamento de Medicina, Centro Regional de Hemodonación, Universidad de Murcia.

^cDepartamento de Bioquímica, Biología Molecular e Inmunología, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia.

Introducción: Previamente demostramos que ratas cirróticas por LCB muestran una menor reactividad vascular aórtica y renal a fenilefrina (FE) y renal a acetilcolina (ACH). La recuperación de la presión de perfusión renal (PPR) basal y de la reactividad vascular renal a FE y a ACH tras administración de vitamina E sugirió una participación del EO en estas alteraciones, restando disponibilidad al NO, si bien los productos derivados del EO podrían afectar de forma directa la función endotelial y contráctil del sistema vascular. Esta alteración de la respuesta renal podría contribuir a explicar porqué los cirróticos muestran una pobre respuesta vascular y excretora renal a maniobras que vasodilatan el riñón a través de un aumento de NO. Así, y dado que su curso es progresivo, nos planteamos estudiar las alteraciones de la reactividad renal y aórtica en distintas fases de la cirrosis y su asociación a cambios en la excreción de sodio y los niveles de EO y NO.

Métodos: Estudiamos el balance metabólico de sodio, la respuesta vasoconstrictora a FE y la vasodilatadora a ACH (10^{-8} – 10^{-4} M) en el riñón aislado y perfundido y en anillos aórticos de ratas sometidas a LCB y sus controles, en distintos períodos de la LCB (2^a, 3^a y 4^a semana; S). Como índices de EO se midieron los niveles de malondialdehído en plasma y riñón y de peroxinitrito mediante expresión de nitrotirosina por inmunohistoquímica. Los niveles de NO se estimaron determinando la excreción urinaria de nitritos.

Resultados: La LCB produjo un descenso progresivo de PPR basal y un aumento de la retención de sodio, significativo a la 3^a S de LCB. Los estudios *in vitro* revelaron una hiporespuesta vascular aórtica a FE más acentuada a la 2^a que a la 3^a y 4^a S de la LCB. En cambio, la respuesta renal a FE fue normal la 2^a S y menor a la 3^a y 4^a. La respuesta aórtica a ACH fue similar en todos los grupos, pero la respuesta renal a ACH descendió a la 2^a y 4^a S de la LCB, siendo similar al control a la 3^a S. En cuanto al EO, los niveles de malondialdehído se elevaron bruscamente en plasma desde la 2^a S de la LCB (36 ± 3 vs 10 ± 1 nmol/ml) y de forma progresiva en el tejido renal (12 ± 2 , 22 ± 1 y 26 ± 3 vs 2 ± 1 nmol/μg). Los niveles de NO también aumentaron siendo más elevados a la 3^a S de la LCB (47 ± 9 , 128 ± 19 y 93 ± 18 vs 5 ± 1 μg/24 h). Por último, el peroxinitrito se acumuló progresivamente en los vasos rectos de la médula interna con la LCB.

Conclusiones: La LCB produce una hiporeactividad vascular a FE inicialmente sistémica y posteriormente también renal y coincidente ésta con el inicio de la retención de sodio. La menor respuesta renal a ACH indicaría una mayor sensibilidad del endotelio renal y/o una heterogeneidad en la afectación de los distintos lechos vasculares por la LCB. La funcionalidad vascular sistémica y renal parece asociarse al desequilibrio EO/NO en las distintas fases de LCB. Este desequilibrio favorecería la formación de peroxinitrito que contribuiría a la alteración vascular renal durante la LCB.

CARDIOTROFINA-1 ES UN FACTOR ESENCIAL EN LA DEFENSA NATURAL DEL HÍGADO FRENTE DAÑO PRO-APOPTÓTICO

J. Marqués, J. Prieto y M. Bustos

Unidad de Hepatología y Terapia Génica. Centro para la Investigación Médica Aplicada. CIMA. Pamplona.

El sistema formado por Fas/ligando de Fas esta implicado en el daño hepatocitario en muchas formas de enfermedad hepática. La interleuquina-6 (IL-6) ha sido descrita como una importante citoquina hepatoprotectora inducida en casos de injuria hepática. Recientemente hemos observado que la cardiotrofina-1 (CT-1), un miembro de la familia de IL-6, se expresa en hígado de forma constitutiva y hemos descrito que la CT-1 presenta *in vitro* una potente actividad anti-apoptótica en hepatocitos. Sin embargo, la función de la CT-1 endógena en la defensa frente al daño hepático y su capacidad hepatoprotectora en relación con la IL-6 son aspectos que aún no han sido definidos. Con el fin de caracterizar y comparar la función hepatoprotectora de estas citoquinas hemos analizado la sensibilidad al daño hepático en ratones *knock-out* para CT-1 (CT-1^{-/-}), en ratones *knock-out* para IL-6 (IL-6^{-/-}) y en ratones de cepa salvaje (wt), tratados con dosis letales y subletales de un anticuerpo agonista de Fas (anticuerpo Jo-2). Hemos observado que los ratones CT-1^{-/-} son más sensibles que los wt y que los IL-6^{-/-} frente a dosis subletales de Jo-2 mostrando una mortalidad del 50% frente a 0% en los otros dos grupos. Además, a las 6 y 10 horas tras Jo-2 el daño histológico, la elevación de las transaminasas y la tasa de apoptosis (estimada mediante el ensayo de TUNEL y la actividad de caspasa-3) mostraron un aumento significativo en los ratones CT-1^{-/-} frente a los wt y a los IL-6^{-/-}. Se observó igualmente que la activación de STAT-3 (molécula con marcadas acciones hepatoprotectoras) estaba disminuida en los hígados de ratones CT-1^{-/-}, con respecto a los hígados procedentes de los ratones wt a pesar de que la expresión hepática de IL-6 (interleuquina estimuladora de la activación de STAT-3) estaba elevada en los ratones CT-1^{-/-}. Estos datos sugieren que en el daño mediado por Fas, la IL-6no es capaz de activar STAT-3 en ausencia de CT-1. La administración de CT-1 recombinante, inyectada antes de Jo-2, protegió de forma efectiva al hígado, indicando que este tratamiento puede prevenir el daño hepático causado por estímulos pro-apoptóticos. Nuestros datos revelan que la CT-1es una citoquina esencial en la defensa natural del hígado frente al daño por Fas y que la CT-1ejerce *in vivo* un papel hepatoprotector más crítico que la IL-6. Nuestros resultados también subrayan la potencialidad terapéutica de CT-1 en pacientes con daño hepático agudo.

RESPUESTA A UNA SOBRECARGA DE GLUTAMINA EN UN MODELO DE ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA EN RATAS CIRRÓTICAS CON ASCITIS Y LIGADURA DE LA VENA PORTA

R. Bartolí, M. Miquel, G. Òdena, R. Planas, R.M. Morillas, H. Masnou y M.A. Gassull

Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona, Barcelona.

Introducción: La encefalopatía hepática se desencadena en la cirrosis por una insuficiencia hepática grave y/o la presencia de derivaciones portosistémicas que permiten el paso de productos nitrogenados desde el intestino a la circulación sistémica. La administración oral de glutamina provoca un incremento brusco de la amonemia que se ha relacionado con el riesgo de desarrollar encefalopatía.

Objetivo: Evaluar la posible relación entre el aumento del amonio cerebral y el test de tolerancia a la glutamina en un modelo de ratas cirróticas con ascitis y ligadura total de la vena porta (LTP).

Métodos: Se administraron 100 mg/Kg de L-glutamina a 10 ratas Sprague-Dawley machos con cirrosis y ascitis por CCl₄ más LTP (C+LTP) y 10 ratas sanas con operación ficticia. Bajo anestesia y a 37°C se obtuvieron muestras de sangre cada 30 minutos durante 4 horas para cuantificar amonio y endotoxina. Posteriormente se evaluó el grado de circulación portosistémica mediante microesferas. Se sacrificaron los animales y se extrajo el cerebro para cuantificar el amonio. Para el análisis estadístico se realizó la prueba de Kruskal-Wallis con contraste posterior con U- de Mann-Whitney.

Resultados: El grado de derivación portosistémica fue del 54 ± 10% en el grupo C+LTP e inexistente en las ratas sanas. Las ratas del grupo C+LTP presentaron hiperamonemia basal (285 ± 44 vs 89 ± 11 μmol/L; p < 0,05) y un incremento significativo del amonio cerebral (0,44 ± 0,05 vs 0,25 ± 0,02 mmol/Kg p < 0,05). El nivel máximo de amonio en sangre fue significativamente superior en el grupo C+LTP respecto los controles sanos; (472 ± 79 vs 220 ± 14, μmol/L, p < 0,05). El área bajo la curva de eliminación de amonio fue también significativamente superior en el grupo C+LTP que en las sanas; (1816 ± 286 vs 706 ± 47 μmol/L · 240 min, p < 0,05) y se correlacionó con el grado de derivación portosistémica (r = 0,7).

Conclusiones: La hiperamonemia sistémica y cerebral que presentan las ratas cirróticas con LTP parece explicarse por la disminución de la tasa de eliminación del amonio tal y como se observa en el test de sobrecarga de glutamina.

CARACTERIZACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN HEPATOCELULAR DE COLESTEROL EN RATONES OBESOS OB/OB, UN MODELO MURINO DE ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHÓLICA (EHNA)

F. Caballero, M. Marí, A. Colell, C. García-Ruiz y J.C. Fernández-Checa

Unidad Hepatología. Instituto de Malalties Digestives i Metabòliques. Hospital Clínic, Departament de Patologia experimental, Institut de Investigacions Biomèdiques de Barcelona, CSIC, IDIBAPS. Universitat de Barcelona.

La etiología de la EHNA, y más concretamente los mecanismos que desencadenan su progreso desde la esteatosis simple a estadios con necroinflamación, susceptibilidad hepatocelular a citoquinas inflamatorias (ej. factor de necrosis tumoral, TNF) y fibrosis, no son del todo conocidos. La esteatosis hepática asociada a la resistencia a la insulina, diabetes tipo 2 y obesidad se desarrolla tanto por el depósito de ácidos grasos libres (AGL) procedentes del tejido adiposo como por la inducción en el hepatocito del programa génico de la síntesis *de novo* de AGL, así como su esterificación a triglicéridos (TG), controlados por el factor de transcripción SREBP-1c. Además la hiperinsulinemia señala la fosforilación y activación de SREBP-2, resultando en la inducción de la hidroximetil-glutaril-Co A reductasa, etapa limitante en la síntesis de colesterol (CO). Por tanto, en la EHNA la esteatosis hepática está configurada por el depósito conjunto de AGL, TG y CO. Estudios previos en nuestro laboratorio utilizando modelos nutricionales y genéticos de esteatosis hepática han identificado al CO como un factor determinante en la susceptibilidad hepatocelular al estrés oxidativo y al TNF y progreso a la esteatohepatitis.

Objetivo: Caracterizar la homeostasis de colesterol en el hígado de ratones obesos ob/ob, un modelo experimental de NASH. El nivel y distribución de CO total y libre se determinó por HPLC y microscopia confocal láser. La fluidez de membrana mitocondrial y la regulación del GSH mitocondrial (GSHm) se analizó mediante polarización de fluorescencia utilizando sondas específicas que se intercalan en distintos dominios de la membrana y HPLC, respectivamente. La susceptibilidad hepatocelular al TNF se analizó por yoduro de propidio y Hoechst 33258, liberación de citocromo c y activación de caspasa 3.

Resultados: Comparado con ratones salvajes, los hepatocitos de ratones ob/ob muestran un incremento del nivel de TG, AGL y CO libre de 10-13, 3-5 y 2-4 veces, respectivamente, y una susceptibilidad al TNF. El CO libre muestra una distribución en endosomas, retículo endoplásmico (ER) y mitocondria. El acúmulo de CO libre al ER es insuficiente para inducir estrés en el ER basado en la ausencia de inducción de CHOP, PERK y ATF6 y liberación de Ca²⁺ por thapsigargina. Sin embargo, el tráfico y acumulación de CO libre a la mitocondria induce la pérdida de fluidez de la membrana mitocondrial y disminución del nivel de GSHm. En hepatocitos de ratones salvajes, la disminución selectiva de GSHm mediante un electrófilo tipo Michael generado en la matriz mitocondrial, reproduce la susceptibilidad de los hepatocitos de los ratones ob/ob al TNF.

Conclusión: Estos resultados identifican al GSHm como un factor determinante de la susceptibilidad hepatocelular al TNF, y su disminución selectiva por el incremento de CO libre en la mitocondria puede jugar un papel relevante en el progreso de la ENA.

MECANISMOS APOPTÓTICOS EN UN MODELO ANIMAL DE FALLO HEPÁTICO FULMINANTE

B. San Miguel^a, M. Álvarez^b, S. Sánchez-Campos^a, J.M. Culebras^c, J. González-Gallego^a y M.J. Tuñón^a

^aDepartamento de Fisiología, ^bDepartamento de Patología. Universidad de León. ^cCirugía. Hospital de León.

El fallo hepático fulminante (FHF) continúa siendo un problema desafiante, de difícil manejo en la práctica clínica y que conlleva una gran mortalidad (80-90%). La etiología del FHF es muy amplia y variada pero pueden indicarse como principales causas la sobredosis por paracetamol, la reacción idiosincrásica a fármacos y diversos agentes infecciosos. Aunque se sabe que el proceso de muerte celular por apoptosis juega un papel muy importante en el FHF, los datos existentes son escasos y en ocasiones contradictorios. Es importante, por tanto, obtener información sobre el papel ejercido por algunos de los componentes de las diversas vías apoptóticas con el fin de intentar desarrollar nuevas estrategias terapéuticas.

Objetivo: Estudiar el papel que desempeñan diversos mediadores de la apoptosis en el FHF inducido en conejos por el virus de la enfermedad hemorrágica vírica (RHD), contrastado modelo animal de FHF.

Métodos: El FHF se indujo experimentalmente en 20 conejos machos de 9 semanas de edad y de 2-2,5 Kg de peso, por la inyección intramuscular de 2×10^8 unidades hemoaglutinantes del aislado vírico AST/89 del virus de la RHD. Los animales fueron sacrificados a las 12, 24, 36 y 48 horas postinfección (hpi) mediante una inyección intravenosa de pentobarbital sódico; en cada periodo se sacrificó un animal control. Inmediatamente, se realiza una laparotomía media y se procede a la extracción de las muestras hepáticas.

Resultados: Mediante electroforesis de ADN en gel de agarosa, constatamos la presencia de fragmentación del ADN en prácticamente la totalidad de los animales infectados con el virus de la RHD. Asimismo, en los animales infectados, comprobamos mediante western blot la fragmentación de la enzima nuclear PARP, reflejado como un incremento en el fragmento de 85 KDa, a partir de las 24 hpi y alcanzando los valores más elevados a las 48 hpi. En los animales control la proteína PARP apareció representada como una única banda a 116 KDa. Finalmente, determinamos por western blot la expresión de Bax/Bcl2. La expresión de Bax, miembro proapoptótico de la familia bcl-2, se incrementa con un valor máximo a las 24 hpi (+98%, superiores a los animales control). Por otra parte, la expresión de Bcl-2, miembro anti-apoptótico de la misma familia, resulta inducida desde las primeras 12 horas hasta alcanzar un valor máximo a las 48 hpi.

Conclusión: El proceso de apoptosis, en lo que respecta a la denominada vía intrínseca, parece estar directamente involucrado en el desfavorable desenlace del FHF. Los datos obtenidos en nuestro modelo animal de FHF indican que la enzima nuclear PARP juega un importante papel en el proceso de muerte celular por apoptosis ya desde las fases más tempranas del daño hepático inducido por el virus de la RHD.

*Financiado por el Fondo de Investigación Sanitaria

ENFERMEDAD POR DEFECTO DEL TRANSPORTADOR CANALICULAR MDR3

M.C. Díaz, G. Muñoz-Bartolo, A. de la Vega, R. Díez, E. Frauca, L. Hierro, C. Camarena, L. Álvarez, J. Larrauri y P. Jara
Hepatología y Trasplante. Hospital Infantil Universitario La Paz. Madrid.

Objetivo: El defecto de MDR3 (transportador canalicular de fosfolípido) motiva hepatopatías de niños y de adultos. El método diagnóstico más fiable es el análisis mutacional (ABCB4). Mediante inmunohistoquímica en tejido (parafinado, o preferiblemente congelado), una técnica más accesible y rápida, es esperable la detección de un 88% de casos. El tratamiento con UDCA mejora significativamente la evolución a un 30% de casos.

Métodos: En 15 niños con hepatopatía de causa desconocida que cursaba con elevación de GGT se realizó estudio de MDR3 en hígado.

Doce tuvieron clínica colestática neonatal, 2 hepatopatía avanzada detectada después del primer año, y uno litiasis biliar. La presencia o ausencia de tinción canalicular de MDR3 se determinó mediante inmunohistoquímica, utilizando un anticuerpo monoclonal específico y biopsias hepáticas embebidas en parafina.

Resultados: 1) De los 15 niños, 8 (53%) mostraron ausencia completa de expresión de MDR3. El defecto de MDR3 fue evidente en 7 casos con colestasis neonatal, y en 1 con hepatopatía avanzada. 2) La clínica y evolución de los casos con defecto de MDR3 fueron: a) *Antecedentes:* 6 niños tienen hermanos o primos afectos, los padres son sanos salvo uno (litiasis biliar juvenil), ninguna madre tuvo colestasis gestacional. Había consanguinidad en 2 de 6 familias. b) *Pacientes con colestasis neonatal (n = 7):* Hubo superposición clínica con atresia biliar (acolia, elevación GGT, biopsia con fibrosis y proliferación ductal) que motivó la realización de laparotomía en 5. La atresia biliar fue confirmada en 1, al que fue efectuada una portoenteroanastomosis. En la evolución hubo prurito en todos, hipercolesterolemia en 2, signos de hipertensión portal en 5. El trasplante hepático fue indicado en 5 por colestasis intolerable o hepatopatía descompensada, y realizado a edades desde 6 meses a 8 años. Solamente 2 niños recibieron tratamiento con ursodeoxicólico (desde 1996): el paciente operado por atresia biliar tuvo una evolución anictérica, con prurito y signos leves de hipertensión portal; en otro paciente tratado desde los 4 años hubo regresión completa de los signos previos de hepatopatía evolucionada y obtuvo normalidad funcional. c) *Sin colestasis neonatal (n = 1):* Fue un caso afecto de cirrosis anictérica, con complicaciones de hipertensión portal, recibió trasplante hepático a los 14 años, tras un tratamiento ineficaz con UDCA durante 3 años. Su hermana, afecta clínicamente con menor severidad, inició UDCA a los 13 años con buena evolución.

Conclusiones: En una población de niños con sintomatología compatible se observó ausencia del transportador MDR3 en el 53% de casos. La evolución de los pacientes fue globalmente grave (trasplante hepático en 62%), aunque la mayoría corresponden a una época sin disponibilidad de UDCA.

Miscelánea

¿ES LA ESCALA DE NARANJO ÚTIL EN LA VALORACIÓN DE CASOS DE HEPATOTOXICIDAD?

M. García-Cortés^a, K. Pachkoria^b, M.I. Lucena^b, R.J. Andrade^a, Hidalgo^c, R. Camargo^a, R. Alcántara^a, J.V. Martos^a, P. Roson^a y S. Fernández-Castañer^a

^aServicio de Aparato Digestivo, ^bServicio de Farmacología Clínica del Hospital Virgen de la Victoria de Málaga y Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de Málaga y ^cCentro de Cálculo de la Universidad de Málaga. Grupo Español para el estudio de la Toxicidad Hepática inducida por fármacos.

Introducción: Dada la ausencia de marcadores específicos para el diagnóstico de hepatotoxicidad, se han venido desarrollando en las últimas décadas distintos métodos con el fin de objetivar y mejorar la evaluación de los casos de enfermedad hepática inducida por fármacos.

Objetivos: Debido a que hay revistas médicas internacionales que exigen la valoración de los efectos adversos remitidos para su publicación mediante la escala de Naranjo (no órgano específica) hemos realizado un estudio comparativo entre dicho método y la escala de CIOMS (específica para la valoración de casos de hepatotoxicidad) con el fin de valorar la validez de la primera en la evaluación de casos de enfermedad hepática inducida por fármacos.

Material y métodos: Se valoraron 225 casos consecutivos remitidos a un registro de hepatotoxicidad mediante la aplicación de la escala de Naranjo y la escala de CIOMS por dos observadores independientes. De los casos remitidos 32 no fueron finalmente incluidos en el registro por no cumplir los criterios necesarios. Se generaron un total de 249 puntuaciones debido a la presencia de

más de un fármaco imputable en 24 pacientes. Los resultados obtenidos se analizaron mediante el programa SPSS y se calculó el parámetro estadístico Kappa ponderado para el análisis de concordancia entre escalas y entre observadores.

Resultados: El grupo farmacológico de los anti-infecciosos fue el más frecuentemente implicado (35%), seguido de los fármacos del sistema nervioso (18%), aparato locomotor (12%) y cardiovascular (11%). El tipo de daño hepatocelular fue el más frecuente con un 56% de los casos, un 21% correspondía a daño colestásico y un 22% era de tipo mixto. El grado de concordancia entre los observadores fue del 44% con un kappa ponderado de 0,23 para la escala de Naranjo y del 73% con un kappa ponderado de 0,87 para la escala de CIOMS. El grado de acuerdo entre las distintas escalas fue del 24% con un kappa ponderado de 0,29.

Conclusiones: Dado que la escala de Naranjo se desarrolló como método sencillo para la evaluación de todo tipo de efectos adversos resulta inespecífica a la hora de valorar casos de enfermedad hepática secundaria a fármacos; en cambio la escala de CIOMS que fue creada por un comité de expertos en hepatotoxicidad presenta mayor validez y reproducibilidad. Por lo tanto, sugerimos la utilización de esta última en la valoración de los casos de enfermedad hepática inducida por medicamentos tanto en publicaciones como en la práctica clínica diaria.

LOS ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS OMEGA-3 REDUCEN EL DAÑO NECROINFLAMATORIO HEPÁTICO

A. González-Pérez^a, A. Planagumà^a, R. Miquel^b, M. López-Parra^a, E. Titos^a, N. Ferré^a, R. Deulofeu^a, V. Arroyo^c, J. Rodés^c y J. Clària^a
^aServicio de Bioquímica y Genética Molecular, ^bServicio de Anatomía Patológica y ^cUnidad de Hígado, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona.

Los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 ácido docosahexaenóico (DHA; C22: 6n-3) y ácido pentaenóico (EPA; C20: 5n-3) ejercen efectos beneficiosos al reducir la incidencia y severidad de la inflamación subyacente a un amplio espectro de enfermedades. Diversos mecanismos han sido implicados en los efectos anti-inflamatorios de estos compuestos, entre los que destacan la inhibición de la síntesis de prostaglandina (PG) E₂ y leucotrieno (LT) B₄ a partir del ácido graso omega-6 ácido araquidónico (C20: 4n-6), y el aumento de la síntesis de PGs de la serie 3 y LTs de la serie 5 con menor capacidad inflamatoria. Además, se ha descrito recientemente que los ácidos grasos omega-3 son precursores de una nueva serie de mediadores lipídicos implicados en la resolución de la inflamación, denominados resolvinas y protectinas. En el presente estudio se evaluaron los posibles efectos beneficiosos de los ácidos grasos omega-3 en un modelo experimental de lesión hepática. Para ello se investigaron tres grupos de ratones alimentados con una dieta control (Grupo Control, n = 8), una dieta enriquecida con DHA (Grupo DHA, n = 8) o una dieta enriquecida con una mezcla de DHA y EPA (Grupo Ropufa, n = 8) y sometidos a un protocolo de inducción de daño hepático mediante la administración durante cinco semanas de tetracloruro de carbono. En el examen histológico de las muestras hepáticas del Grupo Control se observó necrosis severa y masiva, inflamación y degeneración hidrópica de los hepatocitos en la zona centrolobulillar con puentes necróticos que alteraban notablemente la arquitectura sinusoidal y lobulillar del hígado. En cambio, en los ratones alimentados con las dietas experimentales (Grupo DHA y Grupo Ropufa), se observó una mejora significativa de la patología hepática, principalmente una reducción del daño necroinflamatorio. En los hígados procedentes de animales tratados con las dietas ricas en omega-3, se apreció también un descenso de la expresión génica de la ciclooxigenasa-2 y de los niveles tisulares de PGE₂. Estudios en hepatocitos en cultivo, demostraron que tanto el DHA como su principal metabolito y precursor de la síntesis de resolvinas y protectinas, el 17-hidroxi-DHA, reducen el daño genotóxico, evaluado mediante el "ensayo cometa", y el estrés oxidativo, evaluado mediante la producción de malondialdehído. Asimismo,

se observó una menor liberación de factor de necrosis tumoral (TNF)-alfa y una reducción de la expresión de la 5-lipooxigenasa en macrófagos murinos incubados en presencia de DHA o 17-hidroxi-DHA. Por último, ensayos de transactivación demostraron que tanto el DHA como el 17-hidroxi-DHA son agonistas y activan de forma dosis-dependiente el receptor nuclear PPARgamma. En conjunto, estos resultados indican un potencial efecto hepatoprotector de los ácidos grasos omega-3 frente al daño necroinflamatorio.

HEPATOTOXICIDAD POR AMOXICILINA-CLAVULÁNICO (AMOX-CLAV): ANÁLISIS DE UNA COHORTE PROSPECTIVAMENTE IDENTIFICADA EN ESPAÑA

R.J. Andrade^a, M.I. Lucena^a, K. Pachkoria^a, Y. Borraz^a, G. Peláez^b, M. Jiménez^c, L. Rodrigo^d, M. Romero-Gómez^e, R. Planas^f, S. Blanco^g, J.M. Navarro, C. Guarner^h, F. Ponsⁱ, J. Salmerón^j, R. Martín-Vivaldi^k, A. Castiella^l y M. Jiménez^m
^aS. Farmacología Clínica y Hepatología, H. Virgen de la Victoria, Málaga. ^bS Ap Digestivo, H. Torrecárdenas, Almería. ^cS Ap Digestivo, H. Virgen de la Macarena, Sevilla. ^dS Ap Digestivo, H Central de Asturias, Oviedo. ^eS Ap Digestivo, H Valme, Sevilla. ^fS Ap Digestivo, H. Germans Trias i Pujol, Barcelona. ^gS. Ap Digestivo, H Basurto, Vizcaya. ^hS Ap Digestivo, H Costa del Sol, Málaga. ⁱS Ap Digestivo, H. S Pau, Barcelona. ^jS Ap Digestivo, H Marqués de Valdecilla, Santander. ^kS. Ap Digestivo, H. Clínico S Cecilio, Granada. ^lS Ap Digestivo, H. Virgen de las Nieves, Granada. ^mS Ap Digestivo, H. Ntra Sra de Aranzazu, San Sebastián.

Introducción: Evidencias recientes sugieren que amox-clav es el principal agente terapéutico involucrado en hepatotoxicidad en la práctica clínica. Sin embargo, la información sobre sus características clínicas y gravedad es fragmentaria y controvertida.

Objetivo: analizar la cohorte más amplia de casos de hepatotoxicidad atribuidos a amox-clav recogida de forma prospectiva y homogénea.

Pacientes y métodos: Se identificaron los casos de hepatotoxicidad atribuidos a amox-clav remitidos al Registro español de hepatotoxicidad según protocolo estructurado de recogida de datos que contiene cuestiones pertinentes a la cronología de la reacción, variables demográficas y analíticas para establecer el patrón de lesión, exclusión de causas alternativas y factores de riesgo. Se revisaron los criterios de causalidad por expertos y aplicando la escala de CIOMS. Sólo casos definidos o probables fueron incluidos.

Resultados: Se identificaron 69 casos (36 hombres, edad media 56 años) de hepatotoxicidad por amox-clav durante el periodo 1995-2005, representando el 14% del total de casos idiosincrásicos recogidos en el Registro (486). El tipo de daño hepático predominante fue el hepatocelular (36%), seguido del daño mixto (33%) y el colestásico (31%). La indicación más frecuente fue infección respiratoria (51%), con una duración media del tratamiento de 12 días (rango 1-37). La dosis diaria promedio fue de 20 g. La ictericia fue la manifestación clínica más frecuente (81%), requiriendo hospitalización el 67% de los pacientes y hubo manifestaciones de hipersensibilidad en el 38%. La sintomatología hepática apareció entre 1 a 71 días (media 17 días) de iniciado el tratamiento. En 34 pacientes los síntomas aparecieron en promedio 15 días después de finalizado el tratamiento. Sólo el 38% de los casos fueron pacientes ≥ 65 años. El daño colestásico estuvo significativamente asociado a una edad avanzada y una duración del tratamiento > 8 días. En 3 casos hubo una readministración inadvertida. En 50 pacientes el cuadro se resolvió entre 10 y 300 días (media 77 días). Cuatro pacientes (6%) evolucionaron a la cronicidad. Un paciente falleció y otro se transplantó (2,9%).

Conclusiones: Amox-clav es la causa más frecuente de hepatotoxicidad idiosincrásica en la población adulta en España, predominando, a diferencia de otros países, el daño citolítico. El sexo masculino, la edad avanzada y la duración del tratamiento, sugeridos en la literatura como factores de riesgo, no han sido identificados en nuestra serie. El daño colestásico se asocia de manera distintiva con una edad avanzada y un tratamiento prolongado. La probabilidad de una evolución desfavorable es del 7%.

EL DEPÓSITO DE COLESTEROL LIBRE EN EL HÍGADO SE CORRELACIONA CON LOS SIGNOS HISTOLÓGICOS DE ESTEATOHEPATITIS EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA E HÍGADO GRASO

F. Caballero, C. García-Ruiz, A.M. Lacy, S. Delgado, M. Bruguera, J.C. Fernández-Checa y J. Caballería

Unidad Hepatología y Servicio de Cirugía. Unitat de Malalties Digestives i Metabòliques. Hospital Clínic. IDIBAPS. CSIC. Barcelona.

El hígado graso no alcohólico (HGNA) constituye una de las causas más frecuentes de alteración hepática y su prevalencia va en aumento paralelamente al aumento de la obesidad, diabetes tipo 2 y resistencia a insulina. El HGNA incluye un amplio espectro de lesiones que va desde el hígado graso simple, hasta hígado graso con inflamación (esteatohepatitis), fibrosis y cirrosis. Aunque el estrés oxidativo y la susceptibilidad a citoquinas proinflamatorias como el TNF contribuyen a la progresión de la enfermedad, desde hígado graso hacia esteatohepatitis, la patogenia del HGNA no es del todo conocida. En modelos experimentales de esteatosis se ha observado como el colesterol libre hepático sensibiliza a los hepatocitos frente al TNF. Por otra parte, algunos estudios piloto sugieren que las estatinas podrían ser eficaces en el tratamiento de pacientes con HGNA. Sin embargo, la homeostasis del colesterol en pacientes con HGNA no ha sido estudiada.

Objetivo: Correlacionar la presencia de colesterol libre en hígado con los cambios de esteatohepatitis en pacientes obesos con hígado graso.

Métodos: Se han incluido 16 pacientes (5 hombres y 11 mujeres, edad media de $40 \pm 12,7$ años) con obesidad mórbida ($BMI 50,1 \pm 6,7$ Kg/m²) en programa de cirugía bariátrica. Inmediatamente antes de la cirugía se obtuvo una muestra de suero para determinaciones bioquímicas y durante la intervención se practicó una biopsia hepática. La presencia de colesterol libre se determinó mediante histológica tras incubación de las muestras con filipina.

Resultados: De acuerdo con el diagnóstico histológico, todos los pacientes presentaban esteatosis (leve en 5 pacientes, y moderada o severa en 11) y 10 de ellos tenían además cambios inflamatorios y/o fibrosis. En la analítica sólo destacaba un leve aumento en los niveles de transaminasas ($AST 47,7 \pm 19,3$ U/L, $ALT 55,6 \pm 25,7$ U/L). El marcaje con filipina fue positivo en 11 muestras. No existió correlación entre las muestras filipina-positivas y los niveles de transaminasas ni con el grado de esteatosis. Por el contrario, existió una estrecha relación entre las muestras filipina-positivas y los cambios inflamatorios. Además, la mayoría de secciones de hígado que presentaban un aumento de fibra de colágeno, presentaban un aumento del depósito de colesterol libre.

Conclusión: Estos resultados sugieren que el depósito de colesterol libre en el hígado juega un papel en la patogénesis del HGNA y constituyen una base racional para el uso de las estatinas en el tratamiento de esta enfermedad.

HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD HEPÁTICA AUTOINMUNE. EXPERIENCIA DE UN CENTRO HOSPITALARIO

E. Gómez-Domínguez, J. Mendoza-Jiménez, J.A. Moreno-Monteagudo, S. Rubio, L. García-Buey, A. Aboy y R. Moreno-Otero

Servicio de Aparato Digestivo. Unidad de Hepatología. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. Universidad Autónoma de Madrid.

Introducción: Las enfermedades hepáticas autoinmunes incluyen un amplio espectro en los que el daño hepático es mediado por un proceso autoinmune. Entre estas enfermedades se encuentran la cirrosis biliar primaria (CBP), hepatitis autoinmune (HAI), colangitis esclerosante primaria (CEP), colangitis autoinmune (CAI) y los síndromes overlap. Se trata de entidades de curso insidioso, en las que el uso automatizado de pruebas bioquímicas y el desarrollo de nuevas terapias ha modificado en gran medida el curso y pronóstico de estos enfermos.

Objetivos: Analizar las características epidemiológicas, clínicas y biológicas de todos los pacientes con enfermedad hepática autoinmune diagnosticados y en seguimiento en consultas de nuestro centro en los últimos 15 años.

Material y métodos: Estudio retrospectivo, a través de sus historias clínicas, de 90 pacientes diagnosticados de enfermedad hepática autoinmune. Todos los pacientes fueron diagnosticados de acuerdo a datos clínicos, bioquímicos, serológicos y/o anatomopatológicos. Se analizaron variables epidemiológicas relacionadas con la enfermedad hepática; bioquímicas y clínicas.

Resultados: De los 90 pacientes estudiados, el 87,8% eran mujeres, con una edad media de 54 ± 15 años. Los pacientes fueron clasificados como: CBP/AMA+: 36,7%; CBP/AMA: 7,8%; CBP/HAI: 11,1% y HAI: 44,4%. Los pacientes fueron seguidos una media de 71 ± 50 meses. Al momento del diagnóstico la mayoría de los pacientes presentaban alteración de la bioquímica hepática sin síntomas acompañantes (55,6%), un 17,8% debutaron con clínica de hepatitis aguda y el resto fue diagnosticado por estudio de astenia (15,6%) o prurito (11,1%). En cuanto a la comorbilidad, un 20% presentaron alteraciones tiroideas y un 26,7% enfermedad reumatólogica de origen autoinmune; menopausia precoz en el 7% y cáncer ginecológico (mama o endometrio) en el 6,7% de los pacientes. El 100% de los pacientes con CBP (independientemente de sus características serológicas) y el 67,5% de las HAI han mantenido desde el diagnóstico tratamiento con ácido ursodeoxicólico. A lo largo del seguimiento se contabilizaron 6 éxitos (6,7%), todos ellos debidos a enfermedad hepática terminal y sin diferencia estadísticamente significativa entre los grupos diagnósticos.

Conclusiones: 1. La enfermedad hepática autoinmune afecta fundamentalmente a mujeres en la edad media de la vida. 2. En la mayoría de las ocasiones su diagnóstico se realiza en periodo asintomático, presenta una lenta evolución hacia fases terminales de la enfermedad hepática y su mortalidad es baja comparada con otras causas de hepatopatía. 3. Las enfermedades hepáticas autoinmunes se asocian con relativa frecuencia a otros trastornos de origen inmunológico, fundamentalmente enfermedades tiroideas y reumatológicas. Así mismo, la incidencia de cáncer ginecológico se ve aumentada respecto a la población general.

EFICACIA DE LA ATORVASTATINA EN EL TRATAMIENTO DEL HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO (HGNA)

E. Gómez-Domínguez, J. Mendoza-Jiménez, S. Rubio, J.A. Moreno-Monteagudo, L. García-Buey y R. Moreno-Otero
Servicio de Aparato Digestivo. Unidad de Hepatología. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid. Universidad Autónoma de Madrid.

Introducción: El hígado graso no alcohólico (HGNA) se caracteriza por la presencia de esteatosis hepática macrovesicular en no consumidores de alcohol y se relaciona con un síndrome metabólico. Actualmente no existen terapias eficaces en HGNA. La Atorvastatina es un nuevo inhibidor de la HMG-Co A reductasa que disminuye los niveles de colesterol plasmático y triglicéridos en humanos.

Objetivos: Analizar la eficacia, seguridad y tolerancia del fármaco hipolipemiente Atorvastatina en el tratamiento de pacientes diagnosticados de HGNA.

Material y métodos: Se incluyeron de forma prospectiva 25 pacientes con HGNA. Todos ellos presentaban hipertransaminasemia, hipercolesterolemia y/o hipertrigliceridemia y ecografía compatible con esteatosis. Se administró Atorvastatina a dosis entre 10 y 80 mg de acuerdo a los niveles de colesterol LDL. En todos los pacientes se midieron parámetros clínicos, bioquímicos y ultrasonográficos de forma basal y a los 1, 3, 6, 9 y 12 meses. La eficacia del tratamiento se objetivó por la mejoría en las cifras de transaminasas y/o de parámetros semicuantitativos de esteatosis en ecografía. En todos aquellos pacientes en los que se alcanzó este objetivo a los 6 meses se interrumpió el tratamiento. El resto continuó hasta completar 1 año. Para el estudio estadístico se utilizó el test de la t de Student y el test de la χ^2 .

Resultados: Se incluyen un total de 25 pacientes, abandonando voluntariamente el tratamiento 3. Se incluyó a 14 varones (56%), con una edad media de 47 ± 10 años. Todos los pacientes presentaban niveles de colesterol por encima del límite de la normalidad, y en 11 se objetivó además la existencia de hipertrigliceridemia. De los 22 pacientes tratados, 8 (36,3%) alcanzaron el objetivo final de normalización de transaminasas a los 6 meses. El resto continuó con

Atorvastatina durante 12 meses, normalizando o mejorando los enzimas hepáticos de forma estadísticamente significativa. También encontró un descenso estadísticamente significativo en los niveles de colesterol a los 6 y 12 meses. La media de peso corporal y el índice de masa corporal (IMC) presentaron descensos sin alcanzar significación estadística. En cuanto a las pruebas de imagen, analizadas, en un 52,5% de los casos la esteatosis hepática fue considerada grado 3, y un 23,5% presentaban esteatosis 1 y 2 respectivamente. Al final del tratamiento, los cambios en la esteatosis hepática no fueron significativos. No se objetivaron efectos secundarios al fármaco Atorvastatina en ninguno de los pacientes incluidos en el estudio.

Conclusiones: 1. En nuestra serie todos los pacientes lograron una mejoría tanto en las cifras de transaminasas, como de colesterol, glucosa y triglicéridos basales. 2. Este objetivo se logró a pesar de no existir cambios profundos en los hábitos de vida y en el IMC. 3. El tratamiento con Atorvastatina fue bien tolerado, sin presentar reacciones adversas durante el seguimiento.

PROTECCIÓN DEL ÁCIDO URSODEOXYCÓLICO FRENTE AL DAÑO MITOCONDRIAL DURANTE LA COLESTASIS CRÓNICA

A. Arduini^a, G. Serviddio^{a,b}, J.J. Escobar^a, G. Vendemiale^b, G. Poli^c, F.V. Pallardó^a, J. Viña^a y J. Sastre^a

^aDpto Fisiología, Univ. Valencia, España; ^bDpto Ciencias Medicas y Trabajo, Univ. Foggia, Italia; ^cDpto Ciencias Clínicas y Biológicas, Univ. Turin, Italia.

Introducción: La colestasis crónica se caracteriza por muerte celular, fibrosis y eventualmente cirrosis. Los ácidos biliares hidrofóbicos estimulan la generación de radicales libres (FR) en hepatocitos y mitocondrias (1). La inhibición de la apertura de los poros de permeabilidad transitoria mitocondrial previene la muerte celular en hepatocitos tratados con sales biliares (2). Se ha propuesto que el ácido ursodeoxicólico (UDCA) puede tener acción antioxidante.

Objetivos: 1) Cuantificar el contenido de cardiolipina en la membrana mitocondrial; 2) Determinar el potencial de membrana de mitocondrias de LDB.

Métodos: La colestasis fue inducida por ligación del ducto biliar (LDB) en ratas. Los grupos de animales eran: control (CTRL), LDB, LDB tratados con UDCA (LDB+U). Se estudiaron hepatocitos aislados por citometría de flujo, determinando el contenido en cardiolipina y el potencial de membrana mitocondrial.

Resultados: En los LDB apareció una población de hepatocitos de menor tamaño celular que en LDB+U ($30 \pm 8\%$ vs $12 \pm 3\%$, $p < 0,05$) y mayoritariamente apoptótica. En LDB la cardiolipina mitocondrial era menor que en CTRL, efecto prevenido por UDCA (304 ± 46 vs 190 ± 40 y 318 ± 33 uaf; $p < 0,05$). En los hepatocitos de pequeño tamaño la cardiolipina mitocondrial era 5 veces menor que en CTRL. El potencial de membrana disminuyó en LDB, efecto prevenido por UDCA (190 ± 25 vs 151 ± 18 y 280 ± 19 uaf). En los hepatocitos de pequeño tamaño el potencial de membrana era 6 veces menor que en CTRL.

Conclusión: En la colestasis crónica se observa una sub-población de hepatocitos de pequeño tamaño, con una marcada disminución en el contenido de cardiolipina en las mitocondrias y en el potencial de membrana. Estas alteraciones fueron prevenidas por el tratamiento con UDCA.

1. Sokol RJ *et al.* (1995). *Gastroenterology*, 109: 1249-56.
2. Yerushalmi B *et al.* (2001). *Hepatology*, 33: 616-26.
3. Miñana JB *et al.* (2002). *Hepatology*, 35:1205-14.

INCREMENTO DE LA EXPRESIÓN DE LA NADPH OXIDASA Y DISMINUCIÓN DE LOS SISTEMAS ANTIOXIDANTES FISIOLÓGICOS EN LA ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHÓLICA (EHNA)

A. Cayón, J. Crespo, A.R. Guerra y F. Pons-Romero

En la patogenia de la EHNA intervienen múltiples factores entre los que se encuentran la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), un incremento en la peroxidación lipídica, cuando los sistemas antioxidantes están disminuidos, y un patrón de expresión anormal de citocinas. La actividad de la NADPH oxidasa constituye una de las fuentes endógenas más importantes de ROS por el organismo.

Objetivos: 1) Analizar la expresión génica de las subunidades del complejo NADPH oxidasa y de los sistemas antioxidantes fisiológicos (superóxido dismutasa -SOD-, catalasa, y glutatión peroxidasa -GP-) en tejido hepático y adiposo. 2) Correlacionar estos hallazgos con la expresión génica de la adiponectina y TNF- α .

Métodos: Investigamos 35 sujetos con obesidad mórbida divididos en 4 grupos: EHNA con ($n = 10$) y sin ($n = 10$) fibrosis significativa, sujetos con esteatosis hepática simple ($n = 10$) y obesos sin esteatosis hepática ($n = 5$). Se analizó la expresión génica mediante PCR en tiempo real en tejido hepático y adiposo de: 1) las subunidades del complejo NADPH oxidasa (gp91phox y p22phox -membrana- y p47phox, p67phox y p40phox -citoplasmáticas-) y, 2) los enzimas antioxidantes SOD, CAT y GP. 3) Correlación con la expresión de la adiponectina y TNF- α .

Resultados: En tejido hepático de los pacientes con EHNA, observamos un incremento de la expresión de las subunidades de membrana de la NADPH gp91phox y p22phox ($4,5 \pm 3,7$ vs $2,9 \pm 2$ vs $2 \pm 0,7$; $p < 0,05$ y $4,6 \pm 4$ vs $3,1 \pm 3,4$ vs $2,1 \pm 1,9$; $p < 0,05$) y de las subunidades citoplasmáticas p47-phox y p67-phox ($5,2 \pm 5$ vs $2,1 \pm 1,4$ vs $2,3 \pm 1$, $p < 0,02$ y $7,5 \pm 7,1$ vs $2,1 \pm 2,4$ vs $1,3 \pm 0,9$, $p < 0,005$) con respecto a los controles con y sin esteatosis. Además, demostramos una disminución de la expresión de los antioxidantes SOD, GP y catalasa en los pacientes con enfermedad hepática más avanzada (SOD: $0,31 \pm 0,29$ vs $1 \pm 1,06$, $p < 0,013$; GP: $0,8 \pm 0,55$ vs $1,8 \pm 2$, $p < 0,026$; catalasa: $0,63 \pm 0,38$ vs $1,7 \pm 1,7$, $p < 0,01$). Resultados similares se reprodujeron en el tejido adiposo, objetivando mayor expresión de las subunidades de la NADPH oxidasa en los pacientes con EHNA que en los controles y menor expresión de las enzimas antioxidantes (SOD: $0,07 \pm 0,07$ vs $0,38 \pm 0,6$, $p < 0,06$; GP: $0,17 \pm 0,12$ vs $0,47 \pm 0,57$, $p < 0,036$; catalasa: $0,048 \pm 0,02$ vs $0,3 \pm 0,4$, $p < 0,09$). En el tejido hepático observamos una correlación directa ($p < 0,05$) entre la expresión de gp91phox y TNF- α e inversa ($p < 0,005$) entre la expresión de gp91phox y adiponectina.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que la activación de la NADPH oxidasa y la disminución de los sistemas antioxidantes SOD, CAT y GP, en tejido hepático y adiposo, constituyen uno de los mecanismos patogénicos clave en el desarrollo de EHNA. La disregulación en la producción de las adipocinas TNF- α y adiponectina pudiera contribuir al incremento en la expresión de la NADPH oxidasa.

Red de Investigación Cooperativa Esteatohepatitis (G03/15). Red de Centros: RNIGH (C03/02).

ACUMULACIÓN DE COLESTEROL EN LA MITOCONDRIA EN LA COLESTASIS HEPÁTICA DE NIEMANN-PICK C

M. Marí, F. Caballero, A. Colell, C. García-Ruiz y J.C. Fernández-Checa

Unidad Hepatología. Instituto de Malalties Digestives i Metabòliques. Hospital Clínic, Departament de Patologia experimental, Institut de Investigacions Biomèdiques de Barcelona, CSIC, IDIBAPS, Barcelona.

La enfermedad de Niemann-Pick C (NPC) es un desorden neurodegenerativo de la infancia asociado a una alteración en el tráfico intracelular de colesterol. Además de las manifestaciones neurológicas características en muchos pacientes con NPC la enfermedad afecta al hígado con un progresivo deterioro de la función hepática con esteatosis y colestasis, que en muchos casos conduce a la muerte prematura. La mutación responsable de la mayoría de los casos de NPC se produce en el gen *NPC1* que codifica a la proteína NPC1, cuya función es la de movilizar el colesterol libre intracelular desde los endosomas/lisosomas a diversos destinos intracelulares. Sin embargo, la distribución de colesterol libre en el hepatocito y su repercusión en la función hepática en NPC han sido poco estudiadas. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue el de caracterizar el tráfico intracelular de colesterol libre en hepatocitos de ratones deficientes en NPC1 (*NPC1^{-/-}*), así como la susceptibilidad de los hepatocitos primarios a la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO) inducido por el factor de necrosis tumoral (TNF), y la regulación del GSH mitocondrial (GSHm). La distribución de colesterol en endosomas, retículo endoplásmico (RE) y mitocondria se anali-

zó mediante microscopia laser confocal mediante filipina y anticuerpos anti-Rab5/anti-Rab7, anti-Bip, y anti-citocromo c, respectivamente. La susceptibilidad hepatocelular al TNF se determinó por yoduro de propidio y Hoechst 33258, liberación de citocromo c y activación de caspasa 3.

Resultados: Comparado con ratones NPC1^{+/+}, los hepatocitos de los ratones NPC1^{-/-} muestran una disminución del nivel de triglicéridos y de ácidos grasos libres (3-6 veces), pero un aumento (10-15 veces) del nivel de colesterol libre y una activación de la hidroximetilglutaril CoA reductasa y SREBP-2. Este perfil de esteatosis se acompaña con focos de necroinflamación, acumulación de células inflamatorias, apoptosis hepatocelular y liberación de TNF. Estudios *in vitro* muestran una hipersensibilidad de los hepatocitos de ratones NPC^{-/-} al TNF con activación de caspasa 3 y sobreexpresión de ERO. Mientras que en hepatocitos NPC1^{+/+} el colesterol libre se encuentra en la membrana plasmática y el RE, en hepatocitos NPC1^{-/-}, el colesterol libre se acumula en la mitocondria, induciendo la pérdida de la fluidez de membrana mitocondrial y la consecuente disminución de GSHm. El pretratamiento con antioxidantes y la normalización del GSHm protege a los hepatocitos NPC1^{-/-} frente al estrés oxidativo inducido por el TNF. En conclusión, estos resultados demuestran que el deterioro hepático por ausencia de NPC1 se debe al acúmulo de colesterol libre en la mitocondria, lo que induce la disminución de GSHm. Estos resultados sugieren que tanto los antioxidantes como las estatinas podrían ser potencialmente terapéuticos en la enfermedad de NPC.

ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA HEPÁTICA EN PACIENTES CON HEPATITIS AGUDA ALCOHÓLICA: IDENTIFICACIÓN DE NUEVAS DIANAS TERAPÉUTICAS

J. Colmenero^a, R. Bataller^a, P. Sancho-Bru^a, J.C. García-Pagán^a, R. Miquel^b, M. Moreno^a, J. Bosch^a, V. Arroyo^a, J. Caballería^a y P. Ginès^a

^aServei d'Hepatologia, ICMDIM y ^bServei d'Anatomia Patològica, Hospital Clinic, IDIBAPS, Barcelona.

Introducción y objetivos: Los pacientes con hepatopatía alcohólica pueden desarrollar episodios de hepatitis aguda alcohólica

(HAA), que cursan con una elevada mortalidad. El tratamiento actual de la HAA, los corticosteroides, no es siempre efectivo y se asocia a efectos indeseables. El desarrollo de nuevos tratamientos para la HAA requiere un mayor conocimiento de los factores patogénicos. El presente estudio investiga la expresión de genes candidatos en la patogenia de la HAA con el fin de identificar nuevas dianas terapéuticas.

Métodos: Se estudió de manera prospectiva una serie de 23 enfermos con criterios clínicos, analíticos e histológicos de HAA. Se cuantificó mediante placas microfluídicas (Applied Biosystems) la expresión de 48 genes que participan en los principales mecanismos patogénicos de la HAA (fibrogénesis, estrés oxidativo, inflamación y apoptosis). Se usó 6 hígados normales como control. La severidad de la HAA se valoró mediante el Índice de Maddrey. El análisis histológico incluyó un análisis morfométrico computarizado del grado de fibrosis (sirius red), acúmulo de miofibroblastos (SMA) y grado de infiltración por células inflamatorias (CD43). El grado de hipertensión portal se estimó mediante el gradiente de presión de las venas suprahepáticas.

Resultados: Los hígados de los pacientes con HAA mostraron un marcado aumento de genes implicados en fibrogénesis (procolágeno I, TGF- β 1, TIMP-1, ACE-1, MMP-2), mediadores inflamatorios (Gro- α , MCP-1 y TNF- α) y reguladores de la apoptosis (Bcl-2). Se encontró una marcada sobreexpresión de componentes clave del sistema pro-oxidante NADPH oxidasa (p22^{phox}, gp91^{phox}, Nox-4, DUOX-1, DUOX-2, Rac-1), pero no de CYP2E1, mientras enzimas anti-oxidantes como la catalasa estaban disminuidos. La expresión del TIMP-1, la citoquina inflamatoria Gro- α y de algunos genes del sistema NADPH oxidasa, pero no el TNF- α , se correlacionaron con hallazgos histológicos (acúmulo de miofibroblastos y grado de fibrosis e inflamación), severidad de la enfermedad (Índice de Maddrey) y grado de hipertensión portal.

Conclusión: El análisis de la expresión hepática de genes candidatos en pacientes con HAA revela que existen nuevas posibles dianas terapéuticas. Entre ellas destacan la citoquina inflamatoria Gro- α y sistema NADPH oxidasa. Estudios experimentales deben explorar si el bloqueo de estos mediadores tiene efectos beneficiosos en la hepatopatía alcohólica.

ÍNDICES DE AUTORES

- Abizanda, G., 125
Aboy, A., 127, 172
Abradelo, M., 146
Abraldes, J.G., 120
Aguilar, J., 143
Aguilar Reina, J., 126, 143
Aguilera, I., 154
Aguilera, V., 150
Ah Goo, Y., 133
Alcántara, R., 170
Alcaraz García, A., 168
Aldabe, R., 147
Alfayate, R., 143
Aller, M.A., 165
Almar, M., 160
Alonso, F., 168
Alonso, J., 132
Alonso, S., 116
Álvarez, A., 155
Álvarez, E., 114
Álvarez, L., 135, 136, 170
Álvarez, M., 170
Álvarez Fernández, M., 146
Álvarez Márquez, A., 126
Álvarez Mon, M., 145
Alvárez Rubio, L., 144
Alves, R., 147
Amorós, M.A., 132, 135
Amparo, M.A., 143
Andrade, R., 128
Andrade, R.J., 124, 143, 171
Andrade Hidalgo, R.J., 170
Antón, M.D., 152
Aracil, C., 119, 120
Aranguren, X.L., 125
Arduini, A., 173
Areias, J., 147
Arenas, F., 166
Arévalo, E., 129
Arias, J., 165
Arizcorreta, A., 141
Armelles, M., 119
Armendáriz, R., 158
Arranz, M.T., 145
Arribillaga, L., 151
Arroyo, V., 116, 118, 124, 125, 136, 137, 138, 157, 164, 171, 174
Artaza, T., 144
Arús, E., 140, 141, 144
Aspichueta, P., 133
Ávila, M.A., 160
Ayala Peña, I., 163
Aymerich, I., 162

Baccaro, M.E., 124, 136
Balanzó, J., 117, 119
Banales, J.M., 166

Bañares, R., 114, 120, 138, 148, 155, 156, 157
Barajas, M.A., 125
Bárcena, R., 122
Barreiro, P., 154
Barrera, P., 123, 129, 166, 167
Barrio, J.P., 167
Barrios, C., 126
Barrios, Y., 134
Bartolí, R., 133, 169
Bartomeu, J.G., 146
Bataler, R., 116, 118, 120, 125, 157, 174
Bautista, J., 133
Bautista, J.D., 137
Beceiro, I., 148, 157
Bedini, J.L., 154
Belanger, M., 167
Belardelli, F., 147
Beljaars Lacombe, L., 118
Benítez, A., 148
Benito, J.M., 139
Benito, S., 139, 140
Benlloch, S., 115, 150
Berasain, C., 160
Berenguer, J., 115, 140, 142, 148, 150
Berenguer, M., 115, 150
Bermejo, J., 156
Bernardos, A., 154, 156, 158
Bertrán, E., 165
Betancourt, Y., 140
Bezerra, V., 147
Bianchi, F.B., 121
Bienvenido, A., 139, 140
Bittencourt, P.L., 121
Blanco, R., 165
Blanco, S., 171
Blázquez, A.G., 123, 163
Boadas, J., 152
Boberg, K.M., 121
Boix, L., 161
Bolondi, M., 115
Borghol, A., 142
Borque, M.J., 149, 151, 152, 153
Borras Cuesta, F., 151
Borraz, Y., 124, 171
Bosch, J., 113, 120, 125, 138, 174
Brenner, D.A., 125
Brian, R., 166
Briz, O., 123
Bruguera, M., 113, 119, 172
Bruix, J., 158, 161
Brunet, M., 158
Burrel, M., 158
Busquets, D., 119
Bustos, M., 167, 169

Buti, M., 121, 143, 145, 150, 157
Butterworth, R.F., 167

Caballería, J., 116, 172, 174
Caballería, L., 134, 135, 136
Caballero, F., 169, 172, 173
Caballero, T., 160
Cabanillas, M., 131
Caja, L., 165
Calahorra, B., 136
Calderón, A., 165
Calleja, J., 148
Calleja, J.L., 143
Calvino, M., 139, 140
Calvo, P., 167
Camacho, I., 137
Camarena, C., 152, 170
Camargo, R., 170
Campante, F., 147
Candel Palacios, J.M., 128
Cano, A., 133
Capa, L., 139
Carbone, J., 155
Carmona, I., 143, 165
Carnicer, F., 117, 132, 135, 143, 159
Caro Oleas, J.L., 143
Caro Patón, A., 145
Carrillo, M., 134
Carrión, J.A., 113, 113, 154
Carrobbles, J.M., 144
Carvalho, A., 147
Carvalho, L., 147
Casado, F.J., 162
Casado, J., 146
Casado, M.A., 143, 144
Casafont, F., 113, 126, 129, 157
Casas, M., 119
Cascajero, A., 139
Castell, J., 158
Castellano, G., 146
Castellano, M., 141
Castells Mora, M.T., 163
Castellví, P., 126
Castiella, A., 171
Castilla, A., 163
Castilla Cortázar, I., 163
Castillo, G., 165
Castillo, J., 160
Catalina, M., 157
Catalina, M.V., 114, 120, 138, 156
Cauli, O., 161
Cayón, A., 129, 173
Cerdá, D., 135
Charco, R., 157
Chen, J., 133

Chico, Y., 166
Chionne, P., 147
Chiva, M., 117
Cirera, I., 117, 142
Civeira, M.P., 147
Clavel, C., 125
Clemente, G., 114, 126, 138, 148, 156, 157
Clemente Casares, P., 150
Climent, E., 132
Clotet, B., 140, 141, 142
Clària, J., 171
Colell, A., 169, 173
Colina, F., 146
Coll, S., 142, 153
Collantes Teran, L., 133, 137
Colmenero, J., 125, 174
Colomo, A., 119
Company, A., 142
Compañy, L., 123
Córdoba, J., 123, 132
Corral, J., 168
Corrales, F.J., 165
Costán, G., 123, 129, 166, 167
Côté, J., 167
Crespo, I., 130
Crespo, J., 122, 129, 152, 173
Crettaz, J., 119, 161
Cruz, G., 144
Cucchetti, A., 115
Cuervas Mons, V., 113, 156
Cuevas, M.J., 160
Culebras, J.M., 170
Czaja, A.J., 121

Dalekos, G., 121
Dalmau, B., 148
Dana Jiménez, M., 126
Dávila, Y., 141
Delgado, I., 133
Delgado, S., 172
Deulofeu, R., 171
Devesa, F., 142
Diago, M., 116, 122, 128, 143, 146, 148, 152
Díaz, A., 152, 153, 153
Díaz, M.C., 152, 170
Díaz García, F., 129
Díaz Gil, J.J., 162
Díaz Gómez, D., 133, 137
Diéguéz, L.G., 128, 151
Dienes, H.P., 121
Díez, R., 152, 170
Díez Quevedo, C., 126
Domínguez, A., 145
Domínguez, J.L., 123
Domínguez, M., 116
Dotor, J., 151

- Duflot, S., 162
 Durán, J.A., 124
 Durán, M.C., 159
- Ecay, M., 122
 Eisenmann Torres, B., 121
 El Mir, M.Y., 168
 Enjuanes, A., 136
 Enríquez, J., 148
 Eraña, L., 148
 Erceg, S., 161
 Erdozaín, J.C., 152
 Erroba, E., 160
 Escobar, J.J., 173
 Escorsell, A., 138
 Escudero, A., 117
 España, F., 159
 Espejo, I., 129, 166
 Esteban, R., 121, 143, 145, 150, 157
- Fabregat, I., 165
 Fàbregas, S., 119
 Felipo, V., 131, 161
 Fernández, A., 150
 Fernández, I., 146
 Fernández, J., 116, 138
 Fernández, M., 165
 Fernández, M.C., 124
 Fernández, V., 125
 Fernández Castañer, S., 170
 Fernández Checa, J.C., 169, 172, 173
 Fernández Cruz, E., 155
 Fernández Martínez, A., 162
 Fernández Rodríguez, C.M., 116
 Fernández Varo, G., 118, 164
 Fernández Veledo, S., 162
 Ferrandis, P., 132
 Ferrando Ginestar, J., 142
 Ferrando Marrades, I., 142
 Ferré, N., 171
 Ferrer, M.T., 131
 Ferrer, T., 154
 Figueras, J., 114
 Flavia, M., 123
 Fondevila, C., 118, 157
 Fontiveros, E., 137
 Forner, A., 158
 Forns, X., 113, 119, 154
 Fraga, E., 113, 123, 129, 165, 166, 167
 Francés, R., 117, 132, 137
 Franchi, F., 125
 Francisco, R., 128, 151
 Frauca, E., 152, 170
 Fuertes, A., 146
 Fuster, D., 140, 141, 142
 Fuster, J., 157
- Gabriela Kramer, M., 122
 Galeras, J.A., 126, 140, 142
 Gallardo, J.M., 129
 Galle, P.R., 121
 Gallego, A., 119
 García, C., 165
 García, D., 129
- García, F., 126
 García, I., 146
 García, P., 116, 153
 García Arcos, I., 133
 García Buey, L., 127, 149, 152, 153, 172
 García Calderó, H., 138
 García Cañero, R., 162
 García Cortés, M., 124, 170
 García Criado, A., 134
 García Estañ-López, J., 168
 García Fernández, M., 163
 García Fernández, M.A., 156
 García González, F., 126
 García Mediavilla, M.V., 130
 García Monzón, C., 147, 162
 García Muñoz, B., 124
 García Pagán, J.C., 120, 125, 138, 174
 García Pérez, B., 163
 García Pozo, L., 147
 García Ruiz, C., 169, 172, 173
 García Sabrido, J.L., 114
 García Samaniego, J., 130, 139, 154
 García Valdecasas, J.C., 113, 137, 157
 García Vela, A., 144
 Garnacho Extebarría, M., 164
 Garrido, J.R., 142
 Garzón, M., 131, 158
 Gassull, M.A., 133, 169
 Gasull, X., 116
 Gavilán, F., 154, 158
 Gavilán, J.C., 148
 Gil, J., 155
 Gil, S., 159
 Gila, A., 128
 Gilabert, R., 113, 134
 Giménez, M.D., 126, 140, 142, 153
 Ginès, P., 116, 118, 124, 125, 136, 137, 157, 174
 Girón González, J.A., 129
 Gironés, R., 150
 Gisbert, J.P., 152, 153
 Glez Bernardo, O., 151
 Gomes, H., 147
 Gómez, M.A., 113
 Gómez, R., 144
 Gómez Domínguez, E., 127, 172
 Gómez García, J., 163
 Gómez Izquierdo, L., 126
 González, A., 157
 González, F., 139, 140
 González, J., 140, 142
 González, J.M., 117, 132, 145
 González, P., 159
 González Abraldes, J., 120
 González Aseguinolaza, G., 119, 161
 González Baron, S., 163
 González Escribano, M.F., 126, 134, 143
 González Frutos, C., 144
 González Gallego, J., 130, 159, 160, 167, 170
 González Navajas, J.M., 137
 González Périz, A., 171
- González San-Martín, F., 123, 163
 González Sierra, S., 130
 Gonzalo, T., 118
 Goodlett, D., 133
 Grá, V., 140, 141, 144
 Gracia Sancho, J., 125, 138
 Grande, L., 116
 Grilo, I., 131, 158
 Guañabens, N., 126, 135, 136
 Guarnier, C., 117, 124, 171
 Guerra, A.R., 129, 173
 Guevara, M., 124, 136, 137, 157
 Guigas, B., 168
 Gutiérrez, C., 158
 Gutiérrez, J.F., 133
 Gutiérrez, M.L., 116
 Gutiérrez Fernández, B., 130
- Hennes, E.M., 121
 Heras, D., 137, 157
 Herencia, C., 167
 Hernández, D., 168
 Hernández, M.A., 145
 Hernández, N., 134
 Hernández Alcoceba, R., 161
 Hernando, A., 138
 Herraiz, M.T., 162
 Herrera, L., 145
 Herrero, I., 113
 Herrero, J.I., 155, 157, 158
 Herrero, R., 167
 Hidalgo, R., 124
 Hierro, L., 152, 170
 Hoeven, P.V., 118
 Hofer, H., 121
 Hoyas, E., 134, 143
 Hoz, M.A., 117, 135
 Huber Ruano, I., 162
- Iglesia, P., 159
 Iglesias, E., 123
 Iñiguez, M., 167
 Iñarrairaegui, M., 155, 158
 Iraburu, M.J., 162
 Irurzun, J., 159
 Iyu, D., 168
- James, L., 167
 Jara, P., 152, 170
 Jardí, R., 121, 145, 150, 157
 Jiménez, A., 134
 Jiménez, C., 113
 Jiménez, F., 123, 163
 Jiménez, M., 171
 Jiménez, M.D., 141
 Jiménez, W., 118, 164
 Jorquera, F., 145, 160
 Jover, M., 133, 134, 137
 Jover, R., 123
 Juez, E., 116, 125
- Karpman, G., 145
 Khurdayan, V., 125
 Kochanek, S., 119, 161
- Kok, R., 118
 Kramer, G., 161
 Krawitt, E., 121
 Krayenbuehl, P.A., 134
- Lacy, A.M., 172
 Lafuente, V., 146
 Larrauri, J., 170
 Larrea, E., 147
 Larrubia, J.R., 139, 140
 Lasarte, J.J., 151
 Laviña Siemsen, B., 125, 138
 Lázaro, E., 134
 Lee, D.C., 160
 Lerut, J., 115
 Lima, E., 160
 Linares, A., 128, 151
 Lladó, L., 114
 Llanio, R., 140, 141
 Llansola, M., 161
 Llopiz, D., 151
 Llovet, J.M., 158, 161
 Lo Iacono, O., 138, 147, 156
 Lohse, A.W., 121
 Londoño, M.C., 137, 157
 López, P., 165
 López Balaguer, J.M., 119
 López Cabrera, M., 151
 López Cillero, P., 123
 López Morante, A., 145
 López Novoa, J.M., 168
 López Parra, M., 171
 López Sánchez, L.M., 165
 López Serrano, P., 116
 López Zabalza, M.J., 162
 Lorente, R., 138
 Lorenzo, S., 143
 Lozano Rodríguez, T., 147
 Lu, S.C., 164
 Lucena, M.I., 124, 128, 170, 171
 Luquin, E., 147
- Ma, R., 147
 Machín, C., 162
 Macías, R.I.R., 123
 Madaria, E., 132
 Marchal, T., 129
 Margarit, C., 115
 Marí, M., 169, 173
 Marín, J.J.G., 123, 163
 Marín Atucha, N., 168
 Marín Serrano, E., 129
 Marqués, J., 169
 Márquez, C., 126, 140, 142
 Márquez, J.L., 131, 154
 Márquez, M.C., 153
 Martín Carbonero, L., 130
 Martín Castillo, A., 163
 Martín Herrera, L., 129
 Martín Llahí, M., 124, 136
 Martín Sanz, P., 162
 Martín Vílchez, S., 151, 152, 153
 Martín Vivaldi, R., 171
 Martínez, I., 151
 Martínez, R., 167
 Martínez Bauer, E., 113, 119

- Martínez Becerra, P., 123
Martínez Chantar, M.L., 164
Martínez Cruz, L.A., 164
Martínez Llordella, M., 115
Martínez Osaba, M.J., 136
Martínez Sierra, M.C., 141
Martos, J.V., 170
Mas, A., 138, 157
Masnou, H., 133, 169
Massaguer, A., 113
Mata, M., 123, 126, 129, 165, 166, 167
Matei, V., 120
Matilla, A., 138, 156
Matilla, A.M., 157
Mato, J.M., 164
Matos, L., 147
Mauri, M., 143
Mauriz, J.L., 159, 167
Medina, J., 152, 153
Medina, J.F., 166
Meijer, D.F., 118
Mejía, I., 165
Melgar Lesmes, P., 118
Membrives, A., 129
Mendoza, C., 139
Mendoza, J., 149
Mendoza Jiménez, J., 127, 149, 172
Meneu, J.C., 146
Micheloud, D., 155
Mínguez, B., 132
Miquel, M., 126, 133, 169
Miquel, R., 171, 174
Miquilena Colina, M.E., 147, 162
Miralles, P., 148
Miranda, J., 147
Miras, M., 157
Miró, M.J., 165
Miro, S., 144
Mirpuri, E., 163
Mocho, M.L., 147
Molpeceres, V., 159, 167
Monegal, A., 126, 136
Monegal, B., 135
Monescillo, A., 120
Monfort, D., 116, 117
Monfort, P., 161
Monte, M.J., 163
Monteiro, E., 147
Montero, J.L., 123, 129, 165, 166, 167
Montes, M., 140
Montes Cano, M., 134
Montes Cano, M.A., 143
Montoliu, C., 131, 161
Montoliu, S., 116, 117, 126
Montoro, M., 148
Montoya, P., 160
Morales, M., 116
Morales Ruiz, M., 118, 164
Morbey, A., 147
Moreno, A., 130, 154
Moreno, C., 125
Moreno, D., 155
Moreno, E., 146
Moreno, M., 116, 125, 174
Moreno, S., 140
Moreno Monteagudo, J.A., 127, 149, 151, 152, 153, 172
Moreno Otero, R., 127, 148, 149, 151, 152, 153, 172
Moreu, R., 117
Morillas, R.M., 133, 169
Mota, R., 168
Moura, C., 147
Muleón, I., 161
Muntané, J., 123, 129, 165, 166, 167
Muñoz, C., 117, 132, 137, 149
Muñoz, F., 139
Muñoz, J., 129, 166, 167
Muñoz, R., 146
Muñoz Bartolo, G., 152, 170
Muñoz Luque, J., 164
Muñoz Rueda-Casado, P., 160
Muñoz Rueda, P., 128, 146
Muñoz Sánchez, M., 122
Murillo, M.M., 165
Naboulsi, R., 168
Navarro, J.M., 128, 171
Navasa, M., 113, 116, 126, 134, 137, 138, 154, 157
Navinés, R., 126
Nogales, O., 148
Núñez, D., 123, 143
Núñez, M., 130, 139, 154
Núñez, O., 148, 157
Núñez Roldán, A., 126, 143, 154
Ochoa, B., 133, 166
Ochoa, L., 119
Òdena, G., 133, 169
Olagüe, C., 119
Olcoz, J.L., 145, 160
Oliver, F.J., 160
Olmedilla, L., 156
Olmo, J., 148
Olmo, J.A., 123, 131, 152
Olveira, A., 122, 148
Ordovás, J.P., 132
Orlando, G., 115
Ortega, J.A., 134
Ortiz, C., 165
Ortiz Ruiz, M.C., 168
Pachkoria, K., 124, 170, 171
Palacios, L., 133
Palau, A., 150
Palazón, J.M., 117, 132, 135, 159
Pallardó, F.V., 173
Pañeda, A., 119
Pardo, A., 134
Pardo, F., 155, 158
Pareja, F., 158
Parés, A., 121, 134, 135, 136
Parra, T., 139, 140
Parrado, J., 137
Pascasio, J.M., 131, 154, 158
Pascual, S., 117, 132, 135, 137, 159
Pastor Anglada, M., 162
Peláez, E., 142
Peláez, G., 124, 171
Peñuelas, I., 122
Pérez, M., 117
Pérez, C., 116
Pérez, J., 139, 140
Pérez, M.J., 123, 163
Pérez, R., 122, 148, 151
Pérez Grueso, M.J., 144
Pérez Mateo, M., 117, 132, 135, 137, 159
Pérez Obanos, M.P., 162
Pérez Peña, J., 156
Pérez Rabasco, E., 119
Peris, P., 135, 136
Perna, C., 139, 140
Perret, C., 122
Perugorria, M.J., 160
Picó, M.D., 143
Piedrafita, B., 161
Pino, L., 142
Piscaglia, F., 115
Planagumà, A., 171
Planas, R., 116, 117, 119, 124, 126, 133, 140, 141, 142, 148, 152, 169, 171
Plans, P., 145
Poelstra, K., 118
Poli, G., 173
Pons, F., 135, 171
Pons, J.A., 116
Pons Renedo, F., 161
Pons Romero, F., 129, 173
Prieto, J., 119, 122, 125, 147, 151, 155, 158, 160, 161, 163, 166, 167, 169
Prieto, M., 113, 115, 150, 157
Prosper, F., 125
Puche, J.E., 163
Puig Pey, I., 115
Qian, C., 125
Quereda, C., 142
Quiles, R., 146, 160
Quintero, D., 146
Quintero, E., 116, 134
Quiroga, J., 155, 158, 163
Ramalho, L., 116
Rami, L., 124
Ramírez, M., 123
Ramírez, P., 113
Ramírez, S., 113
Ramoni, M., 115
Ramos, B., 130, 154
Ramos, J., 147
Ranchal, I., 166
Rapicetta, M., 147
Rayón, J.M., 150
Real, M.I., 158
Redondo, I., 147
Rendón, A.L., 130
Resino, S., 155
Restuccia, T., 136
Reyes, E., 145
Ribeiro, P., 147
Rimola, A., 115, 137, 156, 157
Rincón, D., 114, 138, 148, 155, 157
Ripoll, C., 114, 138, 156, 157
Rivas, P., 154
Rizza, P., 147
Rodés, J., 118, 164, 171
Rodrigo, J.M., 123, 131
Rodrigo, L., 124, 128, 151, 171
Rodrigo, R., 161
Rodríguez, J., 155
Rodríguez, L., 146
Rodríguez, M., 113, 128, 151
Rodríguez Ariza, A., 123, 165
Rodríguez Frías, F., 121, 145, 150
Rodríguez Mahou, M., 114
Rodríguez Ortigosa, C.M., 166
Rodríguez Ramos, C., 129
Rodríguez Sanz, C., 114
Rodríguez Vilarrupla, A., 120, 125, 138
Rodríguez Zapata, M., 140
Romero, G., 121
Romero, M., 130, 139, 141, 146, 154
Romero, M.R., 123
Romero Gómez, M., 116, 122, 123, 124, 133, 134, 137, 148, 153, 171
Romero Gómez, R.M., 143
Roncero, C., 165
Ros, J., 118, 164
Ros Cervera, G., 146
Roson, P., 170
Rotellar, F., 155, 158
Rovira, A., 132
Rúa, C., 162
Rubio, R., 140, 142
Rubio, S., 127, 172
Rueda, M., 143
Rueda, Y., 133
Ruenes, C., 140, 141
Ruiz Extremera, A., 128, 146, 160
R-Villanueva, G., 168
Sáez, E., 166
Sáez Royuela, F., 145
Sala, M., 158, 161
Salcedo, M., 113, 114, 138, 148, 155, 156, 157
Salcedo, X., 127
Salcedo Mora, X., 149, 152, 153
Salmerón, F.J., 124
Salmeron, J., 119, 128, 143, 146, 148, 160, 171
San Miguel, B., 170
Sánchez, A., 165
Sánchez, B., 113
Sánchez, C., 168
Sánchez, E., 117
Sánchez, J., 159
Sánchez Antolín, G., 145
Sánchez Campos, S., 130, 170
Sánchez Fueyo, A., 115, 157
Sánchez Galdón, S., 148
Sánchez Garrido, M.A., 166
Sánchez Muñoz, D., 143
Sánchez Patán, S.F., 165
Sánchez Payá, J., 135
Sánchez Ruano, J.J., 144

- Sánchez Tapias, J.M., 113, 119, 122
 Sancho Bru, P., 116, 118, 125, 174
 Sangro, B., 155, 158
 Sanjuán, F., 156
 Santa, E., 131
 Santamaría, M., 160
 Santín, M., 140, 142
 Sanz, E., 139, 140
 Sanz, J.C., 148
 Sanz, N., 168
 Sanz Cameno, P., 151, 152, 153
 Sarobe, P., 151
 Sastre, J., 173
 Sayago, M., 131, 154, 158
 Schaper, M., 121, 145, 150
 Sempere, L., 132, 135
 Sen, M.L., 132
 Serejo, F., 147
 Serra, J., 147
 Serra, M.A., 117, 131
 Serrano, J., 165
 Serrano, M., 131, 158
 Serrano, M.A., 123, 163
 Serrano, T., 126
 Serviddio, G., 173
 Shaffer, S., 133
 Sheldon, J., 130, 154
 Sillero, C., 148
- Solà, R., 119, 126, 140, 141, 142
 Solá, R., 117, 148, 152, 153
 Soler, A., 124, 126
 Solís Herruzo, J.A., 146
 Soriano, G., 116, 117
 Soriano, V., 130, 139, 154
 Sotorrió, N.G., 151
 Sousa, J.M., 131, 154, 158
 Suárez, F., 113
 Suárez, M.J., 126
 Suárez López, S., 126
 Such, J., 116, 117, 132, 137, 159
 Swart, J., 118
- Tamayo, L., 144
 Taylor, G., 133
 Tejada Cabrera, M., 129
 Temiño, R., 116
 Terra, C., 124, 136
 Tisone, G., 115
 Titos, E., 171
 Torras, X., 117, 119
 Torre, A., 124, 136
 Trabadela, C., 116, 141, 153
 Trapero Marugán, M., 149, 152, 153
 Tugues, S., 118, 164
- Tuñón, M.J., 130, 170
 Tural, C., 140, 141, 142
 Tutau, F., 163
- Uriarte, I., 166
 Uribarrena, R., 148
 Urrea, R., 155
- Valdés, A., 121, 157
 Vale, A., 147
 Valente, C., 147
 Valero, B., 135
 Vales, A., 119
 Vaquero, J., 167
 Vara, E., 165
 Varela, M., 158, 161
 Varela Rey, M., 164
 Vargas, B., 158
 Vargas, V., 116
 Vázquez, I., 135
 Vázquez Chantada, M., 164
 Vega, A., 152, 170
 Vega, R., 119
 Velasco, E., 163
 Velázquez, R.F., 128
 Vendemiale, G., 173
 Verdura, B., 114
 Vergara, M., 119
- Vicario, J.L., 114
 Victor, A., 121
 Vila, C., 116, 117
 Vilar, E., 140, 141, 144
 Villanueva, C., 119, 120
 Villuela, P., 143
 Vitoria, M.M., 141, 153
 Viña, J., 173
 Vivarelli, M., 115
- Wichmann, I., 154
- Xiol, X., 114
- Yang, G., 125
 Yepes, I., 148
 Yotti, R., 156
- Zabal, M., 161
 Zabala, M., 122
 Zabaleta, A., 151
 Zabalza, M., 138
 Zahonero, N., 139
 Zapater, P., 117, 132, 137, 143
 Zeniya, M., 121

