

## PÓSTERS BÁSICOS

### LA TERAPIA CON S-ADENOSILMETIONINA (SAME) Y ATORVASTATINA PREVIENE EL DESARROLLO DE LA ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHÓLICA (EHNA) EN RATONES OB/OB A TRAVÉS DEL INCREMENTO DEL GLUTATION MITOCONDRIAL (GSHM)

F. Caballero, A. Fernández, M. Marí, A. Colell, J. Caballeria, J.C. Fernández-Checa y C. García-Ruiz

Unidad de Hepatología, Institut de Malalties Digestives, Hospital Clínic i Provincial, y Departamento de regulación de proliferación y muerte celular, IDIBAPS, IIBB, CSIC, Barcelona.

A pesar de la incidencia de la EHNA, su patogénesis no es conocida del todo. En particular, los mecanismos que determinan la susceptibilidad del hígado graso a citoquinas inflamatorias y al estrés oxidativo y que promueven la progresión de la esteatosis a EHNA siguen siendo desconocidos. En resultados previos hemos mostrado, mediante el empleo de modelos nutricionales y genéticos de esteatosis hepática, que el enriquecimiento mitocondrial en colesterol libre y la consecuente disminución del GSHm contribuyen al desarrollo de la EHNA (Cell Metab 4: 185-198, 2006). La terapia con estatinas a nivel clínico en EHNA se ha empleado en estudios con un limitado número de pacientes y con resultados controvertidos. El SAMe es un precursor de GSH que recupera el GSHm gracias a la restauración de la fluidez de membrana, regulando asimismo múltiples funciones de la célula. La eficacia del SAMe se ha mostrado en colestasis, en el daño por consumo de alcohol y en hepatitis fulminante, pero su papel terapéutico en la EHNA no se ha evaluado previamente.

**Objetivo.** Examinar el papel terapéutico de la atorvastatina (Ator) y del SAMe en el desarrollo de EHNA en ratones obesos ob/ob.

**Métodos.** Ratones controles y ob/ob con 6 semanas de edad se dividieron aleatoriamente en diferentes grupos que recibieron Ator (10 mg/kg vía oral), SAMe (5 mg/ratón i.p.), o el vehículo. De cada animal se tomaron las correspondientes muestras de suero e hígado para las determinaciones de bioquímica e histología. 24 horas antes del sacrificio, algunos animales recibieron una inyección intraperitoneal de LPS (0,3 mg/kg).

**Resultados.** Los ratones ob/ob mostraban en el homogeneizado de hígado, unos niveles de triglicéridos, ácidos grasos libres y colesterol total elevados, con un aumento del tráfico del colesterol libre a la mitocondria, lo que se traduce en la disminución selectiva del mGSH, sin modificación del GSH citosólico. La administración exógena de SAMe, durante 5 días previa a la inyección de LPS, disminuyó significativamente los niveles de transaminasas en suero (50% vs LPS) y atenuó los signos de EHNA en ratones ob/ob. El SAMe también restauró los niveles de GSHm ( $12,6 \pm 0,8$  vs  $4,6 \pm 0,2$  nmol/mg proteína) disminuyendo la susceptibilidad a la muerte celular observada con TNF/ $\alpha$ . La terapia con Ator en ratones ob/ob, previno la acumulación del colesterol libre en mitocondria, y normalizó los niveles de GSHm. Asimismo, la Ator mejoró las signos basales de EHNA y, lo que es más importante, previno la susceptibilidad de los ratones ob/ob frente a la inflamación y a la lesión hepática inducida por LPS. La atorvastatina, sin embargo, no previno el aumento en suero de los niveles de TNF.

**Conclusión.** Estos resultados indican que el SAMe y la Ator previenen la progresión de esteatosis a esteatohepatitis a través de la recuperación de los niveles de GSHm. Estos datos pueden estimular futuros estudios clínicos de las estatinas en EHNA.

### VACUNACIÓN FREnte AL VIRUS DE LA HEPATITIS C UTILIZANDO CÉLULAS DENDRÍTICAS TRANSDUCIDAS CON UN ADENOVIRUS RECOMBINANTE QUE CODIFICA LA PROTEÍNA NS3

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

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

La infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) se caracteiza por la falta de respuestas inmunitarias antivirales mediadas por linfocitos T. Por ello, el desarrollo de nuevas estrategias de vacunación capaces de inducir potentes respuestas antivirales es de gran importancia. Las células dendríticas (CD) son las principales células presentadoras de antígeno, por lo que la vacunación utilizando CD cargadas con los antígenos virales adecuados podría constituir una nueva estrategia para la inducción de inmunidad antiviral. En el presente trabajo mostramos que la infección de CD con un adenovirus que expresa la proteína NS3 del VHC (CD-NS3) induce su activación *in vitro*. Además, la inmunización de ratones con CD-NS3 es capaz de inducir respuestas de linfocitos T CD4 y CD8 frente a esta proteína. Estas respuestas fueron capaces de proteger a los animales frente a la infección con un virus vacinia recombinante que expresa la poliproteína completa del VHC y frente al crecimiento de un tumor que expresa NS3. Además, este protocolo de inmunización no induce anticuerpos frente a adenovirus, lo que permite sucesivas administraciones y no se ve afectado por la presencia previa de anticuerpos neutralizantes anti-adenovirus. Finalmente, la inmunización con CD-NS3 es capaz de inducir respuestas memoria de larga duración, capaces de proporcionar protección en los modelos de infección por virus vacinia o de crecimiento tumoral. Por ello, la inmunización con CD que expresan NS3 podría ser una eficiente vacuna frente al VHC.

### LA ADMINISTRACIÓN DE UN MUTANTE QUINASA INACTIVO DE AKT (AA-AKT) MEJORA LA FUNCIÓN EXCRETORA RENAL Y LA HEMODINÁMICA SISTÉMICA EN RATAS CIRRÓTICAS CON ASCITIS

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

Servicio de Bioquímica y Genética Molecular<sup>a</sup> y Unidad de Hepatología-Institut de Malalties Digestives<sup>b</sup>, Hospital Clínic i Provincial de Barcelona, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Universidad de Barcelona, Barcelona.

**Introducción.** Numerosos estudios han demostrado que las alteraciones hemodinámicas y renales que ocurren en la cirrosis hepática avanzada están relacionadas con una mayor expresión vascular sistémica y esplánica de la sintasa endotelial del óxido nítrico (eNOS), que a su vez está estrechamente regulada por la serina treonina quinasa Akt. El presente estudio considera la posibilidad de inhibir preferentemente la actividad vascular sistémica de eNOS sin modificar su actividad hepática mediante la transducción adenovírica de un mutante constitutivamente inactivo de Akt (AA-Akt). La hipótesis del estudio es que, a causa de la marcada derivación circulatoria portosistémica, la inyección iv del adenovirus infectará preferentemente el árbol circulatorio sistémico y no la vasculatura hepática.

**Objetivos.** Analizar la distribución tisular de la expresión adenovírica y evaluar los efectos renales y sistémicos producidos por la administración intravenosa de AA-Akt en ratas cirróticas con ascitis.

**Métodos.** En el primer protocolo, se administraron adenovirus recombinantes codificantes para el gen de la  $\beta$ -galactosidasa ( $\beta$ -gal) a 6 ratas control y a 6 ratas cirróticas y se analizó su distribución tisular por quimioluminiscencia. En el segundo protocolo, se incluyeron 20 ratas cirróticas que fueron introducidas en jaulas metabólicas, se recogió la diuresis basal y a continuación se administró aleatoriamente salino ( $n = 10$ ) o el adenovirus AA-Akt ( $n = 10$ ). Transcurridas 24 horas se obtuvieron las diuresis de todos los animales y se realizó un estudio hemodinámico en 5 ratas de cada grupo. En los animales restantes se evaluaron los mismos parámetros 72 horas después de la administración de AA-Akt o salino.

**Resultados.** En las ratas cirróticas con ascitis se detectó una deficiente transducción hepática del gen  $\beta$ -gal ( $10 \pm 3$  vs  $220 \pm 85$  ULR/ $\mu$ g proteína,  $p < 0.05$ ) y un incremento significativo de la expresión aórtica del gen  $\beta$ -gal ( $3308 \pm 436$  vs  $978 \pm 888$  ULR/ $\mu$ g proteína,  $p < 0.05$ ), respecto a las ratas control. En el segundo protocolo, la administración del adenovirus AA-Akt estuvo asociada a un aumento significativo de la diuresis ( $10.26 \pm 1.48$  vs  $22.02 \pm 3.04$  mL/día,  $p < 0.01$ ), de la excreción de sodio ( $0.82 \pm 0.34$  vs  $2.66 \pm 0.38$  mEq/L·día,  $p < 0.001$ ), de la presión arterial media ( $77 \pm 4$  vs  $89 \pm 3$  mmHg,  $p < 0.05$ ) y de las resistencias periféricas totales ( $0.18 \pm 0.01$  vs  $0.24 \pm 0.01$  mm Hg·min/mL,  $p < 0.05$ ) tras 24 horas de tratamiento. En cambio, no se detectaron cambios significativos en los valores de presión portal ( $15 \pm 0.7$  vs  $13.6 \pm 0.5$  mm Hg). Al cabo de 72 horas de tratamiento con adenovirus estas diferencias significativas sólo se mantuvieron para el parámetro de presión arterial media ( $79 \pm 5$  vs  $90 \pm 1$  mm Hg,  $p < 0.05$ ).

**Conclusión.** Estos resultados indican que la inhibición vascular de eNOS, mediante el bloqueo sistémico de la actividad enzimática de Akt, mejora la hemodinámica sistémica y la función renal en ratas cirróticas con ascitis.

#### LA TRANSFECCIÓN GÉNICA DE SUPERÓXIDO DISMUTASA EXTRACELULAR REDUCE LA PRESIÓN PORTAL Y MEJORA LA DISFUCIÓN ENDOTELIAL INTRAHEPÁTICA EN RATAS CIRRÓTICAS

B. Laviña\*, J. Gracia-Sancho\*, Y. Chu\*\*, A. Rodríguez-Villarrupla\*, D.D. Heistad\*\*, J. Bosch\* y J.C. García-Pagán\*

\*Laboratorio Hemodinámica Hepática, IDIBAPS-Hospital Clínico, Barcelona. \*\*Cardiovascular Center, University of Iowa, Iowa City.

**Antecedentes.** Las sustancias reactivas del oxígeno (SRO), especialmente el radical superóxido ( $O_2^-$ ), contribuyen al desarrollo de disfunción endotelial en diferentes patologías vasculares. El  $O_2^-$  disminuye la biodisponibilidad de óxido nítrico (ON) al reaccionar con éste dando lugar a la formación de peroxinitritos. En la cirrosis el aumento de la resistencia al flujo portal es debido, en parte, a disfunción endotelial y disminución de la biodisponibilidad de ON. Por ello, hipotetizamos que la reducción de SRO puede aumentar la biodisponibilidad de ON y mejorar la disfunción endotelial hepática en la cirrosis.

**Objetivo.** Evaluar si la sobreexpresión hepática de superóxido dismutasa extracelular (ECSOD, principal enzima en la metabolización de  $O_2^-$ ) mediante transferencia génica con adenovirus reduce el  $O_2^-$ , aumenta la biodisponibilidad de ON, mejora la disfunción endotelial y reduce el tono vascular hepático en hígados de ratas cirróticas por CCl<sub>4</sub>.

**Métodos.** Los vectores adenovirales expresando ECSOD (AdECSOD) o  $\beta$ -galactosidasa (Ad $\beta$ gal) se amplificaron, se titilaron y previamente a la administración *in vivo* se evaluó su actividad, capacidad de transfección y de expresión. Tras ello, los AdECSOD y Ad $\beta$ gal se administraron a través de la vena penil a ratas controles (CT) y cirróticas (CH) por CCl<sub>4</sub> y tres días después se evaluaron: *a)* niveles tisulares de  $O_2^-$ , en secciones frescas teñidas con dihidroeti-

dio (DHE); *b)* biodisponibilidad de ON, mediante inmunoensayo enzimático del mensajero secundario GMPc; *c)* parámetros hemodinámicos *in vivo*: presión arterial media (PAM) y Presión portal (PP), y *d)* disfunción endotelial hepática, mediante la evaluación en perfusión aislada de hígado de la relajación endotelio-dependiente de la circulación hepática a dosis incrementales de acetilcolina (Ach), pre-contraida con metoxamina.

**Resultados.** Los adenovirus obtenidos presentaban actividad y capacidad para transfectar y expresar ECSOD. Los hígados CH presentaron unos niveles más elevados de  $O_2^-$  que los CT. Los hígados CH transfectados con AdECSOD presentaron niveles de  $O_2^-$  significativamente menores que los CH transfectados con Ad $\beta$ gal, y ello se asoció a un aumento significativo de los niveles de GMPc. Estos efectos de la transfección con AdEcSOD, se acompañaron de una disminución significativa de PP (15,02 mmHg vs 17,31 mmHg) sin cambios significativos de la PAM. Además, la transfección con AdEcSOD mejoró de forma significativa la respuesta vasodilatadora endotelio dependiente a Ach en los hígados CH. La transfección con AdEcSOD en ratas CT no produjo ningún efecto hemodinámico.

**Conclusiones.** El tratamiento con AdECSOD, reduce los niveles de  $O_2^-$ , aumenta la biodisponibilidad de ON, mejora la disfunción endotelial intrahepática y reduce la PP en los hígados CH.

#### PROTECCIÓN FRENTA A LA HEPATOTOXICIDAD DE LA FALOIDINA UTILIZANDO BALU-1, UN DERIVADO SEMISINTÉTICO DEL ÁCIDO CÓLICO

E. Herráez\*, R.I.R. Macías\*, M. Vicéns\*, J. Vázquez-Tato\*\*, C. Hierro\*, J. González San Martín\* y J.J.G. Marín\*

\*Grupo de Hepatología Experimental y Vectorización de Fármacos. Universidad de Salamanca. \*\*Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago.

**Antecedentes.** La faloidina es el principal responsable de la intoxicación severa más frecuente por consumo de setas venenosas como la Amanita phalloides. Tras ser captada por los hepatocitos mediante la proteína transportadora de membrana OATP1B1, altera los filamentos de actina y provoca colestasis, retención de los componentes de la bilis, necrosis y en consecuencia insuficiencia hepática. Una de las estrategias propuestas como antídoto frente a este veneno es el bloqueo de su captación hepática, favoreciendo la eliminación por el riñón, lo que puede estimularse por diuresis forzada.

**Objetivo** se han sintetizado varios compuestos colefílicos que pueden ser sustratos potenciales de la OATP1B1, entre los que se encuentra el Balu-1 (ácido 3 $\alpha$ -succinil-7 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -dihidrox-5 $\beta$ -colanoico) cuyas propiedades, respecto al fin que se persigue, se han investigado en este trabajo.

**Métodos.** Para los estudios “*in vitro*” se utilizó la expresión heteróloga de proteínas de membrana en oocitos de rana (*Xenopus laevis*) por inyección del RNAm sintetizado a partir de plásmidos recombinantes que contenían el DNAc adecuado. En estudios “*in vivo*” con ratas anestesiadas se administró (i.v.) durante 2.5 h, una infusión de ácido taurocólico (ATC) o Balu-1 (0.2  $\mu$ mol/min/100 g p.c.) y una sola dosis de faloidina (0.1 mg/100 g p.c.) en el minuto 30. Se recogieron muestras de bilis cada 10 min, y de suero y tejidos al final del período experimental.

**Resultados.** El Balu-1 produjo una reducción de la captación de [<sup>3</sup>H]-ATC mediada por los transportadores humanos OATP1B1 (95%), OATP1B3 (15%) y de rata Oatp1a1 (50%), Oatp1a4 (35%) y Oatp1b2 (40%) sin afectar al transporte de [<sup>3</sup>H]-ATC por la principal proteína encargada de la captación de ácidos biliares por los hepatocitos (NTCP). En los animales que recibieron la infusión de Balu-1 se produjo una marcada estimulación de flujo biliar (+70%,  $p < 0.05$ ), superior a la inducida por la administración de ATC (+20%,  $p < 0.05$ ). Esta diferencia se debe probablemente a que su concentración micelar crítica es 5 veces menor, lo que implica una mayor facilidad para formar micelas pequeñas con más actividad osmótica y efecto colerético. La faloidina redujo el flujo

biliar basal (-60%,  $p < 0,05$ ) y el estimulado por ATC (-55%,  $p < 0,05$ ), sin que en ningún caso se afectara la secreción neta de ácidos biliares, por lo que aumentaba su concentración en bilis. En los animales, además de la colestasis, se observaron signos de nefrotoxicidad, hematuria y zonas necróticas en el hígado. Sin embargo, en ratas tratadas con Balu-1, la administración de faloidina redujo el flujo biliar solo un 15% y no se apreció hematuria ni daño hepático.

**Conclusión.** El derivado de ácido biliar Balu-1 presenta un efecto protector frente a la hepatotoxicidad causada por faloidina, probablemente debido a tres acciones combinadas: retraso en la captación hepática de la toxina, facilitación de su salida a bilis por arrastre osmótico, solubilización biliar en micelas

#### EFFECTO ANTINEOPLASICO TRAS BLOQUEO DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN HEDGEHOG EN EL CARCINOMA HEPATOCELULAR

E.R. Lemmer<sup>1</sup>, A. Villanueva<sup>1</sup>, S. Yea<sup>1</sup>, S. Van Laarhoven<sup>1</sup>, A. Di Feo<sup>2</sup>, J. Peix<sup>1</sup>, M. Schwartz<sup>1</sup>, G. Narla<sup>1</sup>, J. Martignetti<sup>2</sup>, S. Waxman<sup>1</sup>, S.L. Friedman<sup>1</sup> y J.M. Llovet<sup>1,3</sup>

Division of Liver Diseases and Liver Cancer Program<sup>1</sup>. Human Genetics<sup>2</sup>. Mount Sinai School of Medicine, New York. BCCLC Group. Liver Unit. IDIBAPS. Hospital Clinic, Barcelona, Spain<sup>3</sup>.

El hepatocarcinoma (CHC) sigue siendo uno de los cánceres con mayores cifras de morbi-mortalidad. Consecuentemente, se impone el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas.

**Objetivo.** Definir el papel de la vía de señalización Hedgehog (Hh) en la hepatocarcinogénesis humana así como estudiar su activación en un modelo experimental de CHC.

**Material y métodos.** Estudiamos mediante qRT-PCR la expresión de 4 genes clave en la señalización Hh (PTCH, IHH, HHIP y Gli) en 77 muestras humanas y en tres líneas celulares humanas de CHC (Huh7, Hep3B, HepG2). Asimismo, determinamos la presencia de IHH (principal estimulante de la vía a nivel hepático) en CHC mediante inmunohistoquímica. Completamos el análisis estudiando los efectos de la ciclopamina (alcaloide natural con actividad bloqueante de Hh) sobre la viabilidad celular tumoral mediante el *MTT assay* y sobre la proliferación a través del *<sup>3</sup>H-Thymidine Incorporation Assay*. El impacto de esta molécula en el ciclo celular fue evaluado a través de Citometría de Flujo y usamos un *luciferase gene reporter* para la legión promotora de Gli para confirmar bloqueo de la vía Hh.

**Resultados.** IHH se sobreexpresa el doble en 60% de pacientes con CHC en comparación con tejido no tumoral ( $p=0,002$ ). Esto se acompaña de disminución significativa en la expresión del inhibidor fisiológico de Hh (HHIP, 0,03 veces en CHC avanzado en comparación con lesiones preneoplásicas,  $p < 0,001$ ), lo que sugiere su posible rol inicial en la hepatocarcinogénesis. A nivel proteico, 65% (13/20) de los CHC tiñen positivamente para IHH. In vitro, existe una marcada sobreexpresión de IHH ( $p < 0,0001$ ), PTCH ( $p < 0,0001$ ), y del oncogen GLI ( $p < 0,0001$ ). Por el contrario, la expresión del tumor supresor HHIP está virtualmente abolida ( $p < 0,0001$ ). La ciclopamina [5 µM] disminuyó la actividad de la vía en un 30-40% tras análisis de la actividad luciferasa asociada al *Gli-reporter*. Asimismo, la ciclopamina disminuyó la proliferación celular en un 40% en Huh7 mientras que un análogo inactivo (tomatidina) no presentó efecto alguno. Igualmente, la viabilidad celular de las tres líneas celulares tumorales se vio disminuida en un 50-60%. El análisis del ciclo celular no mostró un incremento significativo en la apoptosis.

**Conclusión.** 1) la activación de la vía de señalización Hh a través de IHH está presente en líneas celulares de CHC; 2) el bloqueo de dicha vía con ciclopamina reduce el crecimiento celular mediante de un mecanismo inhibitorio sobre la proliferación sin que la apoptosis se modifique de forma significativa; 3) estos datos aconsejan una valoración más exhaustiva del potencial antineoplásico derivado del bloqueo de Hh, principalmente en modelos animales y ulteriormente en humanos.

#### LA FLUIDEZ DE MEMBRANA MITOCONDRIAL REGULADA POR COLESTEROL DETERMINA LA RESPUESTA MITOCONDRIAL FRENTE A ESTÍMULOS APOPTÓTICOS EN LÍNEAS CELULARES DE HEPATOCARCINOMA

J. Montero, A. Colell, J.M. Lluís, A. Morales, C. García-Ruiz y J.C. Fernández-Checa

Unidad de Hepatología, Institut de Malalties Digestives, Hospital Clínic i Provincial y Departamento de regulación de proliferación y muerte celular, IDIBAPS, IIBB, CSIC, Barcelona.

El colesterol juega un papel esencial en la integridad y fluidez de las membranas celulares. No obstante, la pérdida del control sobre su síntesis es una característica común en células tumorales. Evidencias clínicas muestran niveles elevados de colesterol en pacientes con cirrosis que progresan a carcinoma hepatocelular. Agentes como las estatinas (inhibidores de la síntesis de colesterol) ejercen propiedades antineoplásicas expandiendo su posible uso en terapia antitumoral. Asimismo, se ha descrito un incremento en los niveles de rafts lipídicos enriquecidos con colesterol en cáncer de próstata, además de un mayor contenido de colesterol mitocondrial en tumores hepáticos y líneas celulares de hepatocarcinoma. En estudios previos hemos observado como el enriquecimiento *in vitro* de colesterol en mitocondria aislada previene la permeabilidad transitoria mitocondrial (PTM) inducida por atractílico (ATR).

**Objetivo.** Caracterizar los niveles de colesterol mitocondrial en líneas celulares de hepatocarcinoma y examinar la regulación del colesterol en la liberación mitocondrial de factores apoptogénicos.

**Métodos.** Los niveles de colesterol se determinaron por HPLC. La liberación de citocromo c (cit C) y Smac/DIABLO se analizó por western blot. La generación de anión superóxido se consiguió partir de la incubación con xantina + xantina oxidasa. La producción de ROS y el parámetro de ordenamiento de membrana se analizaron espectrofluorimétricamente utilizando dihidroetidium y 1,6-difenil-1,3,5-hexatrieno, respectivamente.

**Resultados.** Mitocondrias de células de hepatoma de rata Reuber H35 presentaban niveles de colesterol 2,5-3 veces mayores comparado con mitocondrias de hígado de rata ( $13 \pm 2$  vs  $4 \pm 0,5$  µg/mg prot.), efecto que se acompañaba de un incremento en el parámetro de ordenamiento de membrana. A diferencia de las mitocondrias de hígado, la incubación de mitocondrias de células H35 con ligandos del polo de membrana mitocondrial (ATR o FGIN-1-27), no provocaba liberación de cit C o Smac/DIABLO. Por el contrario, la disminución del colesterol mitocondrial, mediante incubación con Me-β-ciclodextrina, o la fluidificación de las membranas, recuperaban la PTM inducida por ATR o FGIN. Asimismo, la liberación de cit C inducida por anión superóxido incrementaba significativamente tras la disminución del contenido de colesterol mitocondrial. Resultados similares se observaban con mitocondrias de células de hepatoblastoma humano HepG2, también con un elevado contenido en colesterol ( $24 \pm 3$  µg/mg prot.). El tratamiento con lovastatina, disminuía los niveles de colesterol mitocondrial (30-40%) sensibilizando a las células H35 frente a la exposición a agentes inductores de la PMT.

**Conclusión.** Las líneas celulares de hepatoma muestran un elevado contenido en colesterol mitocondrial, el cual regula su respuesta frente determinados factores apoptóticos.

#### ESTUDIO DEL RECLUTAMIENTO DE CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES TRANSDUCIDAS CON VECTORES LENTIVIRALES EN UN MODELO ANIMAL DE CÁNCER HEPÁTICO

V. Fernández-Ruiz, M.P. Kawa, G. Yang, J. Prieto y C. Qian  
Terapia Génica del Cáncer, Centro para la Investigación Médica Aplicada (CIMA), Pamplona (España).

**Introducción y objetivo.** A partir de células mononucleares de médula ósea o de sangre periférica se pueden obtener células progenitoras endoteliales (EPC), las cuales poseen la capacidad de participar en la formación de vasos sanguíneos. Muchos tumores y especialmente el hepatocarcinoma (HCC) producen factores estimuladores de la angiogénesis que inducen el desarrollo de neovasos tu-

morales necesarios para el abastecimiento nutricional del tumor. El objetivo de este estudio ha sido analizar si las EPC ingenierizadas genéticamente pueden ser reclutadas activamente por tumores implantados en el hígado.

**Métodos.** Se obtuvieron EPC a partir de células mononucleares de la médula ósea de ratones C57BL/6, cultivadas durante 4 días sobre una matriz de fibronectina, utilizando un medio de cultivo EBM-2 suplementado con VEGF (Factor de Crecimiento de Endotelio vascular), bFGF (Factor de Crecimiento de Fibroblastos), IGF-1 (Factor de Crecimiento de Insulina), EGF (Factor de Crecimiento Epidermico) e Hidrocortisona. Las EPC se infectaron con vectores lentivirales conteniendo los genes reporteros de proteína de fluorescencia verde (GFP) o de la luciferasa. La eficiencia de transducción fue del 70% sin afectarse la viabilidad celular. Al cuarto día de transducción se inyectaron las EPC por vía intravenosa a ratones singénicos a los que previamente se habían implantado tumores en el hígado o en tejido subcutáneo de celulas MC38 (carcinoma de colon murino). El análisis del reclutamiento se realizó *in vivo* mediante el sistema de captación de bioluminiscencia IVIS y por técnicas de inmunohistoquímica, utilizando los anticuerpos anti-GFP o anti-luciferasa en los tejidos fijados con parafina.

**Resultados.** Las EPC mostraron un fenotipo positivo para los marcadores progenitores Sca-1, CD34 y VEGFR2, y para marcadores característicos del lineage endotelial Meca-32 y vWF (Factor de von Willebrand). Las EPC también expresaban en su membrana CXCR4, que es el receptor para SDF-1 (Factor derivado del Estroma), el cual es producido por los tejidos en anaerobiosis. La señal de las EPC-Luciferasa se pudo detectar *in vivo* en el lugar del tumor hasta 7 días después de la inyección intravenosa de las células y se pudo demostrar por inmunohistoquímica la presencia de células GFP positivas y luciferasa positivas en las muestras de tejido tumoral.

**Conclusiones.** Nuestros resultados muestran que las EPC genéticamente modificadas son activamente reclutadas por el tumor en modelos murinos de cáncer hepático metastásico. La administración de EPC genéticamente modificadas con vectores lentivirales portadores de genes terapéuticos con eficacia antitumoral podría constituir una nueva estrategia para el tratamiento de tumores sólidos en el hígado.

#### IMPORTANCIA DE LA GTP CICLOHIDROLASA Y DE LA SÍNTESIS DE TETRAHIDROBIOPTERINA EN LA REGULACIÓN DEL TONO VASCULAR HEPÁTICO

V. Matei<sup>1</sup>, R. Deulofeu<sup>2</sup>, A. Rodríguez Vilarrupla<sup>1</sup>, M. Fernández<sup>1</sup>, J. Bosch<sup>1</sup> y J.C. García Pagán<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Hemodinámica Hepática, IDIBAPS. Servicio de Hepatología. IMDIM. Hospital Clínic. Barcelona. <sup>2</sup>Laboratorio de Cromatografía. Servicio de Bioquímica. Hospital Clínic. Barcelona.

Se ha sugerido que en el hígado cirrótico una menor actividad de GTP ciclohidrolasa (GTPCH) con el consecuente déficit de tetrahidrobiopterina ( $\text{BH}_4$ ) contribuiría a disminuir la actividad de eNOS y la biodisponibilidad de óxido nítrico (ON), empeorando así el aumento de la resistencia vascular hepática y agravando la hipertensión portal. El objetivo del presente estudio fue definir el papel real de la actividad de GTPCH y de  $\text{BH}_4$  modulando la actividad de eNOS y el tono vascular hepático en ratas normales. Para ello se puso a punto un modelo experimental de deficiencia de  $\text{BH}_4$  en ratas control por inhibición de la GTPCH con el inhibidor selectivo 2,4-diamino-6-hydroxy-pirimidine (DAHP). DAHP se administró agudamente por administración i.p. de 2 dosis de 1 g/kg con 4 horas de diferencia. Los niveles hepáticos de  $\text{BH}_4$  (determinados por HPLC) disminuyeron de forma marcadamente tras DAHP i.p. En estudios ulteriores, tras administración i.p. de DAHP o vehículo (PBS) se determinaron *in vivo* la presión portal (PP), el flujo portal (FP), la presión arterial media (PAM) y la resistencia porto-hepática (PP/FP). En un grupo adicional de animales se evaluó *in vitro* el grado de disfunción endotelial mediante la evaluación de la respuesta endotelio-dependiente a Ach en hígado

dos aislados y perfundidos. DAHP produjo un incremento marcado y significativo de la resistencia porto-hepática ( $8,3 \pm 1$  vs  $5,9 \pm 0,4$  mmHg. g. min/ml en ratas control,  $p = 0,03$ ). Ello fue debido al efecto de DAHP disminuyendo el FP, mientras que la PP no se modificó. En los estudios en perfusión *in vitro*, los hígados de ratas tratadas con DAHP mostraron un aumento significativo de la resistencia intrahepática ( $1,6 \pm 0,1$  vs  $1,2 \pm 0,1$  mmHg. g. min/ml en las ratas PBS,  $p = 0,03$ ). Este efecto se asoció a un deterioro marcado en la relajación endotelio-dependiente a acetilcolina (disfunción endotelial) ( $10^{-7}$ :  $-14 \pm 2$  vs  $-23,6 \pm 3\%$  en ratas PBS,  $p = 0,023$ ;  $10^{-6}$ :  $-15,1 \pm 4$  vs  $-34,9 \pm 4\%$ ,  $p = 0,002$ ;  $10^{-5}$  mol/L:  $-6,6 \pm 5$  vs  $-43,9 \pm 4\%$ ,  $p = 0,000$ ). La suplementación i.v. con  $\text{BH}_4$  en ratas pretratadas con DAHP normalizó la resistencia intrahepática ( $1,18 \pm 0,1$  vs  $1,2 \pm 0,1$  mmHg. g. min/ml en ratas PBS tratadas con  $\text{BH}_4$ ; NS), así como la respuesta endotelio-dependiente a Ach ( $10^{-7}$ :  $-29,9 \pm 5$  vs  $-18,3 \pm 3\%$  en las ratas vehículo tratadas con  $\text{BH}_4$ ,  $p = 0,14$ ;  $10^{-6}$ :  $-46,6 \pm 9$  vs  $-32,3 \pm 6\%$ ,  $p = 0,26$ ;  $10^{-5}$  mol/L:  $-52,3 \pm 11$  vs  $-43,8 \pm 9\%$ ,  $p = 0,59$ ), apoyando que el efecto deletereo de DAHP sobre la circulación hepática era debido al descenso en los niveles de  $\text{BH}_4$ . Estos resultados apoyan el papel decisivo de la GTPCH y los niveles de  $\text{BH}_4$  modulando la circulación intrahepática en ratas normales y apoyan la importancia del hallazgo de una menor actividad GTPCH en la cirrosis en la génesis de la hipertensión portal.

#### PAPEL DUAL DE LA GENERACIÓN MITOCONDRIAL DE RADICALES LIBRES (RL) EN LA SUPERVIVENCIA/SUSCEPTIBILIDAD DE CÉLULAS DE HEPATOBLASTOMA HUMANO A LA HIPOXIA

J.M. Lluís, A. Morales, C. Blasco, A. Colell, M. Marí, C. García-Ruiz y J.C. Fernández-Checa

Unidad de Hepatología, Institut de Malalties Digestives, Hospital Clínic i Provincial, y Área de regulación de la proliferación y muerte celular, IDIBAPS, Universitat de Barcelona, CSIC, Barcelona.

La privación de oxígeno (hipoxia) ocurre cuando el suministro de oxígeno es menor que el necesario para satisfacer las necesidades metabólicas de las células y se asocia con diversas patologías incluyendo el cáncer. De hecho en este último contexto, el desarrollo de tumores sólidos conlleva un gradiente de oxígeno decreciente hacia la periferia del tumor, de manera que las necesidades energéticas de las células tumorales se satisfacen mediante el denominado efecto Warburg (glicolisis aeróbica). Asimismo, la hipoxia activa un complejo programa de expresión génica controlada por los factores de transcripción HIF-1α/NF-κB, y la estimulación de la generación de RL desde la mitocondria. Dado que la relación entre la formación de RL y la carcinogénesis es compleja y, a menudo, paradójica.

**Objetivo.** Evaluar el papel de la generación mitocondrial de RL inducido por hipoxia en la supervivencia/susceptibilidad de células de hepatoblastoma humano HepG2, y la influencia del nivel de GSH mitocondrial (GSHm) (J. Biol. Chem 280: 3224-3232, 2005).

**Métodos.** Las células HepG2 se cultivaron en hipoxia (5%  $\text{O}_2$ ) o normoxia (21%  $\text{O}_2$ ) durante 24-72 horas con o sin disminución del GSHm, determinándose la generación de RL, la regulación y activación de la tirosin quinasa c-Src en residuos Tyr 527, 416, 139, la activación de HIF-1α y NF-κB y la expresión génica por PCR cuantitativa (tiempo real), así como la supervivencia celular.

**Resultados.** 5%  $\text{O}_2$  indujo la generación de RL a lo largo del tiempo con respecto a 21%  $\text{O}_2$  (2,5-4,5 veces), que se previno tras la inhibición de la cadena electrónica mitocondrial por rotenona (Rot)/TTFA. En extractos nucleares se observó un incremento del complejo p65/p50 de NF-κB (2-3 veces) y del nivel de HIF-1α, inhibible por Rot/TTFA. Esta respuesta se acompañó de la inducción de PDK1, VEGF y cIAP-2, genes diana de HIF-1α y NF-κB. Mientras que los niveles de IκB-α y P-IκB-α (Ser 32) permanecieron constantes, la hipoxia estimuló la fosforilación de IκB-α en residuos de tiroamina. Además, se observó un incremento de c-Src y P-c-Src en residuos de tiroamina 416 y 319 por hipoxia que fue

previnida por Rot/TTFA. El inhibidor específico de c-Src, pp2, bloqueó la activación de NF-κB por hipoxia, y la delección de p65 por siRNA sensibilizó las células HepG2 a la hipoxia (40-60% de muerte celular). Por último, la disminución del GSH por DEM/BSO incrementó la susceptibilidad de las células HepG2 a la hipoxia (55-70% muerte celular) debido a la sobreproducción mitocondrial de RL (5-7 veces), siendo ambos efectos inhibidos por Rot/TTFA.

**Conclusión.** La producción moderada de RL por hipoxia protege a las células tumorales a través de la activación de NF-κB mediada por c-Src. Sin embargo, la sobreproducción de RL mediante la disminución del GSHm determina la susceptibilidad de las células tumorales a la hipoxia, sugiriendo que estrategias que controlen la producción de RL por hipoxia pueden ser de relevancia terapéutica.

#### MECANISMOS DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR DE LA HIPOTERMIA LEVE EN RATONES CON DAÑO HEPÁTICO INDUCIDO POR PARACETAMOL

J. Vaquero<sup>1</sup>, M. Belanger<sup>1</sup>, R. Herrero<sup>1</sup>, P. Desjardins<sup>1</sup>, A.T. Blei<sup>2</sup> y R.F. Butterworth<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Neuroscience Research Unit, CHUM, Montreal, QC, Canada.

<sup>2</sup>Northwestern University, Chicago, IL, USA.

**Introducción.** En estudios previos, la hipotermia leve redujo el daño hepático inducido por paracetamol (APAP) en ratones y se asoció a cambios tardíos en genes relacionados con la inflamación y citoprotección.

**Objetivos.** Identificar cambios precoces que expliquen mejor el efecto hepatoprotector de la hipotermia leve en la hepatotoxicidad del APAP, y evaluar su influencia sobre el modo de muerte celular.

**Métodos.** Ratones C57Bl6 (20-25 g) tratados con APAP (300 mg/kg i.p.) se mantuvieron normotérmicos (35,5-37,5°C) durante 2 h, intervalo en el que la mayor parte del APAP es bioactivado. Tras las 2 h, un grupo se mantuvo normotérmico (NT) y a otro se le permitió desarrollar hipotermia (HT, 32,0-34,5 °C). La temperatura corporal, medida en el recto, se moduló usando lámparas/colchonetas térmicas. Se evaluaron: 1) Amonáico arterial (ensayo enzimático), 2) Glucógeno hepático (extracción con etanol-KOH, método de hexoquinasa), 3) Infiltración hepática por neutrófilos (actividad mieloperoxidasa), 4) Contenido hepático de hemoglobina (reactivo de Drabkin), 5) Activación endotelial (ELISA de sICAM-1), 6) Apoptosis hepatocelular (TUNEL y detección de proteólisis de poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP) en Western blot).

**Resultados.** La administración de APAP depleció el glucógeno hepático a las 2 h (mmol glucosilo/g tejido: Sal 40,4 ± 7,6 vs NT 4,0 ± 1,7, p < 0,001); su recuperación fue más completa y precoz en ratones HT que en los NT (p < 0,01). La HT leve atenuó la congestión hepática inducida por el APAP, evaluada por la relación peso hígado/peso corporal (4 h: Sal 3,59 ± 0,06% vs NT 5,14 ± 0,79% vs HT 4,06 ± 0,22%, p < 0,01) y por el contenido hepático de hemoglobina (mg Hb/g tejido: Sal 12,2 ± 3,1; NT 4h 26,0 ± 31,6; 12h 54,4 ± 28,5; HT 4h 12,8 ± 3,1; 12h 18,8 ± 12,4, p < 0,01). Ningún animal presentó elevaciones significativas de sICAM-1 en suero en las primeras 8 h. Comparado con los animales NT, el desarrollo de HT leve redujo los niveles arteriales de amonáico a las 8 h (p < 0,001) y la infiltración hepática por neutrófilos a las 12 h (p < 0,01). La proteólisis de PARP se detectó a las 8-12 h sólo en el grupo NT. El número de hepatocitos TUNEL positivos aumentó en los ratones NT el doble que en los HT (p < 0,05).

**Conclusiones.** 1) La prevención de la congestión hepática y la recuperación del glucógeno hepático son mecanismos precoces de la hipotermia leve frente a la hepatotoxicidad del APAP. 2) La temperatura corporal influencia la apoptosis hepatocelular en ratones tratados con APAP; la falta de control de este parámetro puede haber interferido la evaluación de la apoptosis en estudios previos.

(Financiado por CIHR&CASL).

#### IDENTIFICACIÓN DE UN ACCESO RESTRINGIDO AL NÚCLEO DEL HEPATOCITO DE MOLÉCULAS ORGÁNICAS CON CAPACIDAD DE INTERACCIONAR CON EL ADN

R. Rosales, M.J. Monte, R.I.R. Macias, M. Ramos Vecino, M.R. Romero y J.J.G. Marín

Laboratorio de Hepatología Experimental y Vectorización de Fármacos (HEVEFARM), Universidad de Salamanca, Salamanca, España.

**Antecedentes.** El análisis por técnicas de alta precisión (GC-MS) de la composición del "pool" de ácidos biliares presentes en el citoplasma y en el núcleo del hepatocito reveló que existen marcadas diferencias en las proporciones de las especies moleculares en ambos compartimentos, lo que es de gran relevancia si consideramos la capacidad de algunos ácidos biliares, pero no de otros, de unirse a receptores nucleares e influir en el control de la homeostasis del colesterol y los oxisteroles.

**Objetivo.** Investigar si existen mecanismos que determinan una cierta selectividad en el acceso al núcleo del hepatocito de moléculas orgánicas que pueden interaccionar con el ADN nuclear con repercusiones fisiológicas o tóxicas.

**Métodos y resultados.** Hepatocitos de rata recién aislados por perfusión/digestión con colagenaza se incubaron con 10-200 mM de uno de los siguientes ácidos biliares que se habían marcado radiactivamente: taurocólico (TC), taouroursodesoxicólico (TUDC), tauro-quinodesoxicólico (TQDC) o taurodesoxicólico (TDC). Se aislaron los núcleos por lisis y centrifugación diferencial, y se determinó la radiactividad. Se encontró una relación no lineal entre la cantidad de ácido biliar captado por las células y la que alcanzaba el núcleo. Los mejores ajustes fueron una ecuación de Michaelis-Menten para el TC, y una ecuación exponencial para los demás. Mediante microscopía confocal se observó que los ácidos biliares glicocólico (GC) y glicuroursodesoxicólico (GUDC) conjugados con fluoresceína (FITC-GC y FITC-GUDC) no se distribuían de forma homogénea en el núcleo, sino que se localizaban mayoritariamente en regiones donde el ADN no era muy abundante. El análisis por citometría de flujo de la carga de fluorescencia de núcleos aislados e incubados durante 5 minutos con distintos compuestos reveló que la doxorubicina, el FITC, el FITC-GC y el FITC-GUDC entraban y se acumulaban en el núcleo. El contenido nuclear de FITC-GC y FITC-GUDC era 3-4 veces menor que el de FITC. Por otra parte, la entrada al núcleo estaba muy restringida para la calceína, la rhodamina, FITC-dextranos de distintos tamaños (10KDa > 40KDa = 70KDa). La presencia de ATP en el medio redujo la acumulación nuclear de doxorubicina y FITC, y abolió la de FITC-GC y FITC-GUDC. Estos efectos no se modificaron por vanadato ni por ciclosporina A. El eflujo de FITC-GUDC desde núcleos previamente cargados durante 30 minutos con este compuesto se estimulaba por la presencia de ATP y por la ausencia de Ca<sup>++</sup> en el medio.

**Conclusión.** La presencia en el núcleo del hepatocito de moléculas orgánica de tamaño medio no parece ser un fenómeno de libre acceso por difusión simple, sino que existen mecanismos, probablemente estimulados por ATP, que restringen selectivamente la entrada o facilitan la salida de diferentes compuestos al núcleo de estas células, y que pueden discriminar entre aniones y cationes orgánicos, entre distintos aniones orgánicos e incluso entre especies moleculares de ácidos biliares.

#### EFFECTO DEL L-NAME Y LA VITAMINA E EN LOS NIVELES DE PEROXINITRITO DE CÉLULAS MUSCULARES LISAS VASCULARES (CMLV) Y TEJIDO RENAL DE RATAS CON LIGADURA CRÓNICA DEL CONDUCTO BILIAR (LCB)

A. Alcaraz<sup>1</sup>, P. Romecín<sup>1</sup>, D. Iyú<sup>1</sup>, D. Hernández<sup>2</sup>, N.M. Atucha<sup>1</sup>, J. García-Estañ<sup>1</sup> y M.C. Ortiz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina Universidad de Murcia. Murcia. <sup>2</sup>Departamento de Medicina, Centro Regional de Hemodonación, Universidad de Murcia. Murcia.

**Introducción.** Estudios previos de nuestro laboratorio han demostrado la participación del óxido nítrico (NO) y de especies reactivas

derivadas del oxígeno ( $O_2^-$ ) en las alteraciones hemodinámicas y renales de la cirrosis hepática. Así, la rápida reacción entre el NO y el  $O_2^-$  ambos aumentados durante esta enfermedad, favorecería una mayor producción de peroxinitrito (ONOO $^-$ ) que podría contribuir al inicio y progresión de dichas alteraciones. El peroxinitrito es un potente oxidante y puede a su vez nitrosilar residuos tirosina de proteínas (formando nitrotirosina) como la óxido nítrico sintasa (NOS) y la superóxido dismutasa (SOD), entre otras, alterando la regulación de su expresión o funcionalidad final. Además, puede afectar a algunas rutas de señalización intracelular (por ej. ERK1/2 y PKB/Akt) que junto a la NOS y SOD participan en la regulación intracelular de los niveles de NO perjudicando así la función vascular y renal. Teniendo en cuenta nuestros resultados preliminares que demuestran una mayor actividad de la ERK 1/2 en CMLV y en tejido renal de ratas cirróticas, que es normalizada tras la administración de L-NAME y vitamina E, nos propusimos evaluar su efecto sobre los niveles de peroxinitrito en CMLV de aorta y en tejido renal de ratas cirróticas.

**Métodos.** El peroxinitrito se midió en CMLV procedentes de cultivos primarios de aorta torácica (4<sup>o</sup>-7<sup>o</sup> fase), mediante citometría de flujo y el uso de una sonda fluorescente (123-dihidrorodamina), y en tejido renal determinando la expresión de nitrotirosina por inmunohistoquímica en ratas controles y cirróticas (LCB; 4<sup>a</sup> semana). Para evaluar el papel del NO y del  $O_2^-$  en la formación de peroxinitrito, se administró L-NAME y vitamina E, de forma aguda directamente a las CMLV (300  $\mu$ M) o de forma crónica a los animales para estudiar los cambios en el tejido renal (L-NAME, 10 mg/kg/día en agua de bebida y vitamina E, 5000 UI/Kg de dieta). Como dadores o estimulantes de su producción, se usaron nitroprussiato sódico (NPS, 1000  $\mu$ M) y ácido deoxicólico (DOXCA, 200  $\mu$ M), aunque sólo en CMLV.

**Resultados.** Tanto las CMLV como el tejido renal (nitrotirosina) de los animales cirróticos, presentaron un aumento del 80% y del 50%, respectivamente, de la formación basal de peroxinitrito. El NPS y DOXCA administrados de forma conjunta, aumentaron los niveles de peroxinitrito en CMLV controles pero no en cirróticas. Los niveles de peroxinitrito se redujeron cuando las CMLV cirróticas fueron tratadas con L-NAME o vitamina E. En cambio, sólo la administración crónica de L-NAME pero no de vitamina E, a ratas con LCB normalizó la expresión aumentada de nitrotirosina renal.

**Conclusiones.** El evidente aumento de peroxinitrito en CMLV y en tejido renal (nitrotirosina) en ratas con LCB, hace pensar que éste podría estar contribuyendo a las alteraciones hemodinámicas y renales de esta enfermedad y que éstas a su vez, podrían revertirse tras la administración de inhibidores de su formación.

#### LA NUCLEOCÁPSIDE DEL VIRUS DE LA HEPATITIS DE LA MARMOTA INHIBE LA RESPUESTA CELULAR T CD4+ T IN VITRO E IN VIVO

L. Ochoa-Callejero, P. Berraondo, J. Crettaz, I. Otano, A. Pañeda, A. Vales, C. Olagüe, P. Sarobe, J. Prieto y G. González-Aseguinolaza

División de Terapia Génica y Hepatología. Facultad de Medicina. Fundación para la Investigación Médica Aplicada. Universidad de Navarra. Pamplona.

Un factor determinante para la persistencia del virus de la hepatitis B (HBV) es la ausencia en estos pacientes de una respuesta inmune específica potente. Existe una gran controversia sobre la función de las células dendríticas (DC) en pacientes crónicos de hepatitis B y actualmente está siendo investigado el papel que juegan estas DC sobre la disfuncionalidad de las células T. El mejor modelo animal disponible para investigar la patogénesis, prevención y tratamiento del HBV son marmotas infectadas con el virus de la hepatitis de la marmota (WHV). Hemos estudiado el efecto de la expresión de la proteína de la cápside del WHV (core) sobre la funcionalidad de DC murinas. Para ello, DC fueron infectadas con un adenovirus que codifica para el antígeno del core (DC+AdCore) y se analizó su capacidad para inducir respuestas inmunes alogénicas y singénicas.

En ambos casos se comprobó que la respuesta proliferativa inducida por DC cuando estas eran infectadas con el AdCore, pero no con un adenovirus control aparece considerablemente reducida. Cuando estas células se administraron a ratones singénicos estos no fueron capaces de inducir respuestas inmunes adeno-específicas. Además, la respuesta inmune humoral desarrollada por DC+AdCore fue muy inferior en comparación con DC transducidas con un adenovirus control. Por lo tanto, las DC+AdCore poseen una reducida capacidad para activar respuestas celulares T CD4+ tanto *in vivo* como *in vitro*. Las DC pueden representar una diana del HBV para evadir la respuesta inmune del huésped. La expresión de la proteína del core del HBV en DC infectadas podría alterar su función presentadora, dando lugar a una inmunidad anti-HBV defectiva que permitiría la cronificación de la infección. El estudio de estrategias experimentales en marmotas para restablecer la función de las DC podría ofrecer una nueva oportunidad para resolver la infección persistente.

#### REPLICACIÓN DE ADENOVIRUS HUMANO EN UN MODELO METÁSTASIS HEPÁTICAS DE CÁNCER DE PÁNCREAS EN HÁMSTERS INMUNOCOMPETENTES

S. Bortolanza, P. Alzuguren, M. Buñuelas, E. Carro, C. Qian, J. Prieto y R. Hernández-Alcoceba

Unidad de Hepatología y Terapia Génica. Universidad de Navarra-CIMA. Centro de Investigación Médica Aplicada. Pamplona.

**Antecedentes.** El cáncer de páncreas metastatiza frecuentemente en el hígado, y actualmente no existe un tratamiento satisfactorio para esta enfermedad. Los adenovirus oncolíticos suponen una nueva alternativa terapéutica. Sin embargo, la evaluación de la toxicidad y el efecto antitumoral *in vivo* de estos agentes se ve dificultada por la incapacidad de los adenovirus humanos de replicarse en células de ratón y rata. Los xenoinjertos de tumores humanos en ratones atípicos se utilizan como modelo alternativo, pero no permiten analizar la replicación del virus en los órganos sanos del animal ni el efecto del sistema inmune.

**Métodos.** Hemos evaluado la capacidad del adenovirus humano tipo 5 para infectar y replicarse en células de cáncer de páncreas derivadas de hámster sirios (*Mesocricetus auratus*), tanto *in vitro* como *in vivo*. Se han realizado ensayos de citotoxicidad, replicación, progenie viral y expresión de proteínas tardías del virus mediante PCR cuantitativa, inmunohistoquímica y western blot.

**Resultados.** La inoculación intrahepática de las células de cáncer de páncreas dio lugar a tumores invasivos con una cinética de crecimiento más rápida en el caso de la línea celular HaP-T1 respecto a las células H2T. Se ha demostrado la expresión de proteínas tardías y la replicación productiva de adenovirus en ambas líneas celulares tanto *in vitro* como *in vivo* tras inyección en los tumores intrahepáticos.

**Conclusión.** El hámster sirio sirve de base para el desarrollo de modelos tumorales en los que la eficacia de los adenovirus oncolíticos puede ser evaluada en el contexto de un animal inmunocompetente. Esto puede contribuir al avance de estos agentes terapéuticos contra el cáncer de páncreas y otras neoplasias.

#### CARACTERIZACIÓN DE LAS ALTERACIONES DE LA FUNCIÓN MOTORA ASOCIADAS CON LOS ESTADIOS INICIALES DE ENCEFALOPATÍA EN LA RATA CON DEVASCULARIZACIÓN HEPÁTICA: UN NUEVO MÉTODO PARA EVALUAR TRATAMIENTOS

N. Chatauret<sup>1</sup>, M. Oria<sup>1</sup>, N. Raguer<sup>2</sup> y J. Córdoba<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Medicina Interna-Hepatología y <sup>2</sup>Servicio de Neurofisiología Clínica, Hospital Valle Hebron, Barcelona.

**Introducción.** La encefalopatía hepática abarca desde alteraciones leves de la función motora (solo detectables mediante neurofisiología) hasta el coma. Se ha demostrado una disminución de la amplitud y un incremento del tiempo de conducción del potencial motor

(PM) en pacientes con cirrosis y encefalopatía mínima. Se ha postulado que se relaciona con un edema cerebral leve.

**Objetivos.** 1) Evaluar la presencia de alteraciones motoras en la rata con devascularización hepática y su relación con las manifestaciones neurológicas. 2) Investigar los mecanismos fisiopatológicos empleando diversas formas de tratamiento.

**Métodos.** Ratas con insuficiencia hepática por devascularización (anastomosis porto-cava y ligadura de la arteria hepática). Estudio de la latencia y amplitud del PM mediante neurofisiología (modelo sin anestesia) en estadio asintomático, pre-coma y coma. Evaluación de los efectos de disminuir el edema cerebral (manitol), la hiperamonemia (l-orinotina-l-aspartato) y la temperatura (hipotermia). Administración de antagonistas del receptor NMDA de glutamato (memantina) y el agonista inverso del GABA (RO154513). Determinación del agua cerebral por método gravimétrico.

**Resultados.** Se observó una disminución de la amplitud y un incremento del tiempo de conducción de los PM de forma precoz en ratas asintomáticas (a las 6 horas de la devascularización), que empeoraron con la progresión al coma. Las alteraciones precoces de los PM se acompañaron de un incremento del agua en el tronco cerebral. De todas las estrategias terapéuticas probadas, sólo la hipotermia mejoró la amplitud de los PM (pre-hipotermia:  $47 \pm 3\%$  vs 2 horas post-hipotermia:  $61 \pm 8\%$ ,  $p < 0,05$ ).

**Conclusiones.** Es posible reproducir las alteraciones motoras de la encefalopatía hepática mínima en ratas asintomáticas con insuficiencia hepática. La ausencia de efectos beneficiosos de diversos tratamientos, excepto la hipotermia indican que las alteraciones motoras no se relacionan con edema cerebral, hiperamonemia, activación NMDA o GABA. Estos hallazgos sugieren que el mecanismo de acción de la hipotermia no incluye los mecanismos previos. El estudio de los efectos protectivos de la hipotermia puede ayudar al diseño de nuevas estrategias terapéuticas para la encefalopatía hepática.

#### CONTRIBUCIÓN RELATIVA DE LAS VÍAS DE LA CICLOOXYGENASA-2 Y LA 5-LIPOOXYGENASA AL DESARROLLO DE INFLAMACIÓN Y FIBROSIS EN UN MODELO MURINO DE DAÑO HEPÁTICO

R. Horrillo<sup>1</sup>, A. Planagumà<sup>1</sup>, A. González-Périz<sup>1</sup>, A. Ferré<sup>1</sup>, E. Titos<sup>1</sup>, R. Miquel<sup>2</sup>, M. López-Parra<sup>1</sup>, J.L. Masferrer<sup>3</sup>, V. Arroyo<sup>4</sup>, J. Rodés<sup>4</sup> y J. Clària<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, <sup>2</sup>Servicio de Anatomía Patológica y <sup>4</sup>Unidad de Hígado, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Universitat de Barcelona, Barcelona, España; <sup>3</sup>Pfizer PGKD, St Louis MO, USA.

La ciclooxigenasa-2 (COX-2) y la 5-lipoxygenasa (5-LO) son las dos principales vías de biosíntesis de mediadores lipídicos de inflamación. En estudios previos en modelos experimentales hemos demostrado que ambas vías se hallan sobre-expresadas en el hígado durante la inducción de daño hepático con tetracloruro de carbono ( $CCl_4$ ).

**Objetivo.** Investigar la contribución relativa de las vías de la COX-2 y la 5-LO al desarrollo de inflamación y fibrogénesis en un modelo murino de lesión hepática inducida por  $CCl_4$ . En comparación con el grupo placebo, la administración de SC-236, un inhibidor selectivo de la COX-2, a ratones tratados con  $CCl_4$  redujo significativamente el grado de fibrosis hepática, evaluado mediante la cuantificación morfométrica del área teñida con Sirius Red. Este efecto antifibrogénico se asoció a un aumento significativo del grado de apoptosis -analizado mediante la técnica TUNEL- en las células no parenquimales hepáticas. Efectos similares se observaron tras la administración de CJ-13,610, un inhibidor selectivo de la 5-LO. La inhibición simultánea de ambas vías mediante la administración conjunta de SC-236 y de CJ-13,610 a ratones tratados con  $CCl_4$  produjo un perfil anti-inflamatorio superior que la inhibición de cada una de las vías por separado. Este efecto fue confirmado en un grupo de ratones genéticamente defi-

cientes en 5-LO y a los cuales se administró SC-236. En este grupo de animales, se observó también una disminución significativa de la expresión hepática de MCP-1. Con el objetivo de profundizar en estos resultados, se realizaron estudios *in vitro* en macrófagos, el principal tipo celular inflamatorio en el hígado. En estas células, SC-236 inhibió de forma concentración-dependiente la formación de prostaglandina (PG)  $E_2$  inducida por LPS, mientras que CJ-13,610 redujo significativamente la biosíntesis de leucotrieno  $B_4$ . La adición simultánea de SC-236 y CJ-13,610 a los cultivos de macrófagos produjo un efecto inhibitorio superior sobre la biosíntesis de PGE<sub>2</sub> que el obtenido con ML-3000 (licofelone), un inhibidor dual de COX/5-LO. Por último, CJ-13,610 redujo significativamente la expresión de interleuquina-6 inducida por PMA en macrófagos. Estos resultados indican que tanto la vía de la COX-2 como la vía de la 5-LO están implicadas en el desarrollo de inflamación y fibrosis hepática, y que la inhibición simultánea de ambas vías representa una potencial estrategia farmacológica de prevención frente al daño hepático.

#### DISMINUCIÓN DE LA PERMEABILIDAD VASCULAR PANCREÁTICA Y DE LA EXPRESIÓN DE INSULINA EN RATAS CIRRÓTICAS CON ASCITIS

P. Melgar-Lesmes<sup>1</sup>, S. Tugues<sup>1</sup>, M. Morales-Ruiz<sup>1</sup>, M. Párrizas<sup>1</sup>, J. Ros<sup>1</sup>, G. Fernández-Varo<sup>1</sup>, V. Arroyo<sup>2</sup>, J. Rodés<sup>2</sup> y W. Jiménez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Bioquímica y Genética Molecular y <sup>2</sup>Unidad de Hepatología-Institut de Malalties Digestives i Metabòliques, Hospital Clínic i Provincial de Barcelona, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Universidad de Barcelona, Barcelona.

**Introducción.** Diversos estudios han demostrado que la expresión de factores pro-angiogénicos y permeabilizantes vasculares como el factor endotelial vascular de tipo A (VEGF-A) y la angiopoietina-2 (Ang-2) permiten la correcta secreción de insulina a la circulación pancreática. Un factor común en la enfermedad hepática avanzada es la existencia de un grado variable de intolerancia a la glucosa que suele estar asociado a hiperinsulinemia. Sin embargo, se desconoce si la alteración en la expresión de factores pro-angiogénicos en células β podría estar relacionada con este fenómeno.

**Objetivos.** El objetivo de este estudio fue valorar si las alteraciones capilares pancreáticas podrían estar involucradas en la tolerancia anormal a la glucosa que se produce en la cirrosis hepática.

**Métodos.** El estudio se realizó en 21 ratas control y 18 ratas cirróticas con ascitis. La permeabilidad vascular se valoró mediante la inyección i.v. de Azul de Evans (30 mg/kg) y su posterior cuantificación en el páncreas. La extravasación vascular se estimó mediante la inyección i.v. de carbono coloidal (2 ml/kg) y su posterior visualización en cortes histológicos. El flujo pancreático se analizó con microesferas marcadas colorimétricamente. La expresión de insulina se evaluó mediante técnicas de inmunofluorescencia. Los niveles de VEGF-A y Ang-2 se analizaron mediante Western blotting e inmunohistoquímica.

**Resultados.** El escape transvascular de Azul de Evans fue significativamente menor en el páncreas de las ratas cirróticas con ascitis ( $10,1 \pm 2,9$  µg/mg de tejido,  $p < 0,01$ ) que en las ratas control ( $50,9 \pm 8,2$  µg/mg de tejido). El descenso de la permeabilidad vascular pancreática en las ratas cirróticas con ascitis se asoció a una disminución significativa de la abundancia proteica de VEGF-A ( $1,1 \pm 0,1$  unidades relativas de densitometría, URD vs  $3,3 \pm 0,6$  URD,  $p < 0,03$ ) y Ang-2 ( $1,1 \pm 0,1$  URD vs  $2,3 \pm 0,1$  URD,  $p < 0,01$ ) respecto las ratas control. La disminución de estos factores angiogénicos se localizó de forma exclusiva en los islotes pancreáticos. Paralelamente, la expresión tisular de insulina se vio dramáticamente reducida en las ratas cirróticas comparado con los animales control ( $22,5 \pm 2,0$  unidades de intensidad relativa (UIR) vs  $4,3 \pm 0,7$  UIR,  $p < 0,01$ ), respectivamente.

**Conclusiones.** Los islotes pancreáticos de las ratas cirróticas con ascitis presentan una marcada disminución en la expresión de insulina que parece asociarse a un importante descenso en la permeabi-

lidad vascular pancreática y a una notable disminución en la abundancia proteica de factores pro-angiogénicos. Estos resultados sugieren que los cambios en la estructura vascular del tejido pancreático pueden jugar un papel destacado en la patogénesis de la intolerancia a la glucosa en la cirrosis hepática.

#### **LA HIPOQUINESIA EN RATAS CON FALLO HEPÁTICO CRÓNICO ES CONSECUENCIA DEL AUMENTO DE GLUTAMATO Y DE LA ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR METABOTRÓPICO 1 EN LA SUSTANCIA NEGRA**

O. Cauli, M. Llansola, B. Piedrafita y V. Felipo

Los pacientes con encefalopatía hepática muestran distintas alteraciones motoras, hipoquinesia y enlentecimiento psicomotor. Los mecanismos que inducen estas alteraciones no se conocen bien. La sustancia negra *pars reticulata* (SNr) modula la actividad motora a nivel del circuito neuronal que incluye los ganglios basales, el tálamo y la corteza motora. En este trabajo nos propusimos estudiar: 1) las alteraciones neuroquímicas (por microdialisis cerebral *in vivo*) en el circuito sustancia negra-tálamo-corteza en ratas con fallo hepático crónico tras la inducción de anastomosis porta-cava (ratas PCS); 2) correlacionar estas alteraciones con las alteraciones en la actividad motora (hipoquinesia); 3) intentar restaurar mediante tratamiento farmacológico la actividad motora en las ratas PCS.

Comprobamos que la concentración extracelular de glutamato está significativamente aumentada en la SNr de las ratas PCS. La estimulación de los receptores metabotrópicos 1 (mGluRs 1) en la SNr induce hipolocomoción. Estudiamos si la activación excesiva de mGluR1 en SNr por el glutamato podría ser responsable de la hipoquinesia en las ratas PCS. Para ello estudiamos si bloqueando los receptores mGluR1 en SNr con un antagonista selectivo (CPC-COEt) se normaliza su actividad motora. El bloqueo de los mGluRs 1 restaura la actividad motora en las ratas PCS. La activación de los mGluRs 1 en la SNr aumenta de la concentración extracelular de GABA en el tálamo ventro-medial (VMT). El bloqueo de los mGluR1 en la SNr normaliza los niveles de GABA en el VMT. El VMT envía fibras glutamatérgicas a la corteza motora. El bloqueo de los mGluRs 1 en la SNr aumenta el glutamato extracelular en la corteza motora y la actividad motora en las ratas PCS. Estos resultados demuestran que el aumento de glutamato en la SNr y la subsiguiente activación excesiva de los receptores mGluRs 1 es responsable de la hipolocomoción en ratas con fallo hepático crónico. El hecho que el bloqueo de los mGluRs 1 en la SNr normalice la actividad motora en las ratas PCS sugiere la posibilidad de que antagonistas de los mGluRs 1 puedan ser una nueva herramienta terapéutica en el tratamiento de la hipoquinesia presente en los pacientes con enfermedades crónicas del hígado y encefalopatía hepática.

#### **EL NITROSOPROTEOMA DEL HEPATOCITO HUMANO: IMPLICACIONES FISIOLÓGICAS Y PATOFISIOLÓGICAS**

L.M. López-Sánchez<sup>1</sup>, F.J. Corrales<sup>2</sup>, P. López<sup>3</sup>, E. Fraga<sup>1</sup>, J. Serrano<sup>4</sup>, M. De la Mata<sup>1</sup>, J. Muntané<sup>1</sup> y A. Rodríguez-Arizá<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sección de Hepatología, Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

<sup>2</sup>Unidad de Hepatología y Terapia Génica Universidad de Navarra.

Pamplona. <sup>3</sup>Departamento de Cirugía Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. <sup>4</sup>Unidad de Cirugía HBP y Transplante Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

**Antecedentes.** La S-nitrosilación de proteínas es una modificación postraduccional con una importancia reguladora comparable a la de la fosforilación. En hígado se ha demostrado tanto un efecto citotóxico como citoprotector para el óxido nítrico, y la S-nitrosilación de proteínas puede estar implicada en algunos de los mecanismos responsables de este doble papel. El objetivo del presente trabajo fue la identificación mediante análisis proteómico de las proteínas S-nitrosiladas en hepatocitos humanos.

**Métodos.** Los hepatocitos se aislaron de resecciones hepáticas realizadas a pacientes con tumor hepático, previo consentimiento informado, mediante aislamiento por colagenasa. Se utilizó S-nitroso-L-cisteína (CSNO) como agente fisiológico trasnitrosilante. La necrosis y apoptosis se valoraron mediante la liberación de LDH y fragmentación de DNA, respectivamente. Los niveles celulares de nitrosotioles se determinaron mediante quimioluminiscencia y la actividad nitrosoglutatión reductasa se determinó espectrofotométricamente a 340 nm y 25 °C. Las proteínas nitrosiladas se marcaron utilizando el método “biotin-switch”, se detectaron con un anticuerpo anti-biotina y se purificaron con estreptavidina-agarosa. Se identificaron mediante digestión con tripsina, ionización con electrospray y espectrometría de masas en tandem (ESI-MS/MS).

**Resultados.** El tratamiento de los hepatocitos humanos con CSNO aumentó los niveles de nitrosotioles de alto peso molecular con un retorno a niveles basales relacionado con un aumento en la actividad nitrosoglutatión reductasa, encargada de reducir los nitrosotioles intracelulares. CSNO aumentó la nitrosilación de proteínas y la muerte celular de los hepatocitos. Se identificaron 20 proteínas S-nitrosiladas en hepatocitos tratados con CSNO, entre ellas las isoformas alfa, beta, gamma y pi de la alcohol deshidrogenasa, catalasa, peroxiredoxina, proteína disulfuro isomerasa, Hsp60, Hsp90 y GRP 75.

**Conclusiones.** La asociación de unos niveles altos de proteínas nitrosiladas y muerte celular, junto con un eficaz control de los niveles de nitrosotioles demuestra la importancia de la S-nitrosilación de proteínas en hepatocitos. La identificación en el nitrosoproteoma del hepatocito de proteínas implicadas en el metabolismo, el mantenimiento del estado redox y la homeostasis celular pone además de manifiesto la trascendencia de esta modificación postraduccional en la fisiología y la patofisiología del hepatocito.

#### **LA DISMINUCIÓN DE S-ADENOSIL-L-METIONINA (SAM) EN MITOCONDRIA INDUCIDA POR ETANOL PRECEDE A LA DISMINUCIÓN DEL GLUTATON MITOCONDRIAL (GSHM) Y ES INDEPENDIENTE DE LOS CAMBIOS EN LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE LAS MEMBRANAS**

A. Fernández, A. Colell, F. Caballero, C. García-Ruiz y J.C. Fernández-Checa

Unidad de Hepatología, Institut de Malalties Digestives, Hospital Clínic i Provincial, y Departamento de regulación de proliferación y muerte celular, IDIBAPS, IIBB, CSIC, Barcelona.

El consumo crónico de alcohol disminuye los niveles de SAM y afecta selectivamente al pool de GSH mitocondrial como resultado de un transporte mitocondrial alterado. Ambos defectos se han propuesto como factores que contribuyen al desarrollo de la enfermedad alcohólica hepática (EA). La suplementación con SAM retrasa la progresión de la EA en modelos experimentales y prolonga la supervivencia de enfermos con EA moderada. Asimismo, estudios en animales alimentados crónicamente con etanol muestran como la administración de SAM previene la disminución del GSHm al recuperar la fluidez de las membranas. A pesar de que el SAM se encuentra mayoritariamente en el citosol, en la mitocondria existe una porción significativa resultado de un sistema específico de transporte. No obstante, la regulación del SAM mitocondrial (SAMm) por alcohol no ha sido analizada hasta la fecha, por ello, el objetivo del presente estudio fue examinar los niveles de SAMm y su transporte mitocondrial en relación al GSHm tras una ingesta crónica de etanol.

**Métodos.** Ratones macho Sprague-Dawley se alimentaron con dieta líquida Lieber-DeCarli. Mitocondrias de hígado de rata control y alcohólica se aislaron semanalmente a lo largo de las 4 semanas de estudio. Los niveles de GSH, SAM y S-adenosilhomocisteína (SAH) se determinaron por HPLC. El contenido de colesterol se midió espectrofluorimétricamente tras conjugación con ac. oftalaldehído. El parámetro de ordenamiento de membrana se analizó mediante el empleo de la sonda fluorescente DPH. Los transportes de

GSHm y SAMm se determinaron utilizando sustratos radiactivos, a una concentración de GSH y SAM de 10mmol/L y 10umol/L, respectivamente.

**Resultados.** Los niveles de SAM disminuyeron en homogeneizado y mitocondria (30-35% vs Control) desde la primera semana de intoxicación alcohólica, mientras los niveles de GSHm no se vieron afectados hasta las 3 semanas de tratamiento. El cociente SAM/SAH se redujo durante las dos primeras semanas (25-50%) recuperando los valores control a las 4 semanas. El contenido de colesterol en mitocondria y homogeneizado incrementó progresivamente a lo largo del tiempo, siendo 1,5-2 veces mayor tras 4 semanas de alimentación con etanol. Mientras el transporte de GSH se vio alterado por el consumo de alcohol, el transporte de SAM fue similar en mitocondrias control y alcohólicas a lo largo de todo el estudio. Estudios *in vitro* utilizando mitocondrias controladas enriquecidas con concentraciones crecientes de colesterol mostraron como el transportador de SAMm es menos sensible a cambios en el contenido de colesterol y a la consecuente disminución de la fluidez de membrana mitocondrial.

**Conclusiones.** El consumo de etanol afecta tanto el contenido de GSH como de SAM mitocondrial, siendo la disminución de SAMm previa a la de GSHm. Mientras el transportador de GSHm es sensible a los cambios de las propiedades físicas de la membrana, el transporte de SAMm es independiente de la fluidez de membrana.

#### MAYOR SUSCEPTIBILIDAD AL DAÑO HEPÁTICO EN RATONES DEFICIENTES EN APOLIPOPROTEÍNA E

N. Ferré<sup>1</sup>, M. López-Parra<sup>1</sup>, A. González-Périz<sup>1</sup>, R. Horrillo<sup>1</sup>, A. Planagumà<sup>1</sup>, R. Bataller<sup>2</sup>, R. Miquel<sup>3</sup>, J. Camps<sup>4</sup>, J. Joven<sup>4</sup>, V. Arroyo<sup>2</sup>, J. Rodés<sup>2</sup> y J. Clària<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, <sup>2</sup>Unidad de Hígado,

<sup>3</sup>Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínic, IDIBAPS, Universitat de Barcelona, Barcelona, <sup>4</sup>Centre de Recerca Biomèdica, ICRIS, Reus, España.

Los ratones deficientes en apolipoproteína E (ApoE<sup>-/-</sup>) constituyen un modelo experimental de hipercolesterolemia muy útil en el estudio de las alteraciones en el metabolismo lipídico. El objetivo del presente estudio fue investigar si las alteraciones metabólicas presentes en los ratones ApoE<sup>-/-</sup> representan un factor determinante en el desarrollo de daño hepático. Para ello, se sometió ratones ApoE<sup>-/-</sup> (n = 15) y ratones control (ApoE<sup>+/+</sup>) (n = 15) a un protocolo de inducción de lesión hepática mediante la administración intraperitoneal de tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>) durante 4, 6 y 8 semanas. Un grupo adicional formado por 5 ratones ApoE<sup>-/-</sup> y 5 ratones ApoE<sup>+/+</sup> recibió aceite de oliva durante 4 semanas. En comparación con el grupo control, los ratones ApoE<sup>-/-</sup> presentaron a las 6 semanas de tratamiento un aumento del número de células positivas para el antígeno F4/80, indicativo de un incremento del número de células inflamatorias presentes en el hígado. En los ratones ApoE<sup>-/-</sup> también se observó un aumento del área teñida con Oil Red-O, indicativo de un incremento de deposición hepatocitaria de lípidos. A las 8 semanas de tratamiento, los ratones ApoE<sup>-/-</sup> presentaron un mayor grado de fibrosis hepática, evaluado mediante la cuantificación morfométrica del área teñida con Sirius Red y del área ocupada por células α-SMA positivas. En estos animales, se observó un descenso significativo del grado de apoptosis en células no parenquimales, analizado mediante la técnica TUNEL. El deterioro de la función hepática (ALT y AST) fue más acentuado en los ratones ApoE<sup>-/-</sup> que en los ratones control, y tanto la disfunción hepática como el grado de fibrosis se correlacionaron directamente con las concentraciones séricas y hepáticas de colesterol y triglicéridos. Con el objetivo de explorar los mecanismos subyacentes a estos resultados analizamos los cambios en la expresión génica en el hígado de ratones ApoE<sup>-/-</sup> y control mediante RT-PCR a tiempo real en tarjetas microfluídicas (arrays de baja densidad). Entre los genes diferencialmente expresados en ratones ApoE<sup>-/-</sup>, identificamos genes involucrados en la respuesta inflamatoria (MCP-1, receptor de RANTES y interleucina-1α), factores de transcripción (PPAR???) y vías de metabolismo del ácido araquidónico (fosfolipasa A<sub>2</sub>, ciclooxygenasa-1, 5-lipoxygenasa y 15-lipoxygenasa). Por último, en estudios *in vitro*, observamos que tanto la LDL oxidada como los metabolitos oxidados del colesterol (7-keto-colesterol, α-epóxido-colesterol y β-epóxido-colesterol) estimulaban la secreción de TGF-β al medio de cultivo e inducían la expresión génica de MCP-1 en macrófagos y modulaban la producción de lipoperóxidos en hepatocitos murinos. Estos resultados sugieren una contribución de las alteraciones del metabolismo lipídico a la presencia de una mayor susceptibilidad a desarrollar daño hepático.

tores de transcripción (PPAR???) y vías de metabolismo del ácido araquidónico (fosfolipasa A<sub>2</sub>, ciclooxygenasa-1, 5-lipoxygenasa y 15-lipoxygenasa). Por último, en estudios *in vitro*, observamos que tanto la LDL oxidada como los metabolitos oxidados del colesterol (7-keto-colesterol, α-epóxido-colesterol y β-epóxido-colesterol) estimulaban la secreción de TGF-β al medio de cultivo e inducían la expresión génica de MCP-1 en macrófagos y modulaban la producción de lipoperóxidos en hepatocitos murinos. Estos resultados sugieren una contribución de las alteraciones del metabolismo lipídico a la presencia de una mayor susceptibilidad a desarrollar daño hepático.

#### EFFECTO DE LA ROSIGLITAZONE SOBRE LA FUNCIÓN MITOCONDRIAL Y LAS LESIONES HEPÁTICAS EN RATONES OB/OB

I. García-Ruiz, C. Rodríguez-Juan, T. Díaz-Sanjuán, M.T. Muñoz-Yagüe y J.A. Solís-Herruzo

*Centro de Investigación. Servicio de Gastroenterología y Hepatología. Hospital "12 de Octubre". Universidad Complutense. Madrid.*

Aunque no es bien conocida la patogenia de la enfermedad grasa del hígado no alcohólica se sabe que la resistencia a la insulina juega un papel muy importante. La rosiglitazona (RGZ) (ligando específico de los PPAR<sub>g</sub>) aumenta la sensibilidad a la insulina. Por ello, se ha usado en el tratamiento de la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA). Aunque en el hombre parece eficaz, en algunos pacientes aumenta las transaminasas. El objetivo del presente estudio fue el de conocer los efectos de RGZ sobre las lesiones histológicas y sobre la disfunción mitocondrial existente en ratones obesos, ob/ob.

**Material y métodos.** Los estudios fueron realizados en tres grupos de ratones, machos, de 6 semanas de edad: (a) ratones delgados (n = 8), (b) ratones obesos (ob/ob; Lep<sup>-/-</sup>) (n = 11) y (c) ratones ob/ob tratados con 1 mg RGZ/Kg/día por vía intragástrica durante 12 semanas (n = 10). Tras este tiempo, los ratones fueron sacrificados y su hígado recogido para su estudio histológico, de las proteínas nitratadas en 3-tirosina (3-NT), de la función mitocondrial [cadena respiratoria mitocondrial (CRM), glutation reducido, β-oxidación] y de los lipoperóxidos.

**Resultados.** 1) El hígado de los ratones ob/ob mostraba una esteatosis que comprometía al 39 ± 21% de los hepatocitos (70-90% microvesicular). Tras el tratamiento con RGZ, la esteatosis comprometía al 78 ± 24% de los hepatocitos (85% microvesicular). El grado de degeneración hidrópica no se modificó con este tratamiento (ob/ob, 1,5 ± 0,52; ob/ob+RGZ, 1,2 ± 0,4; NS). Lo mismo ocurrió con los cuerpos de Mallory y el grado de infiltrados inflamatorios. El índice NAS (NAFLD activity score) ascendió en los ratones tratados desde 4,5 ± 0,68 a 5,3 ± 0,51. Así, mientras que el 54,5% de los ob/ob reunía criterios de EHNA, todos los ratones tratados los reunían. 2) En los ratones tratados, aumentaron los lipoperóxidos por encima de los existentes en ratones ob/ob (controles, 0,76 ± 0,13 nmol/ml; ob/ob, 1,87 ± 0,47 nmol/ml; p < 0,01; ob/ob+RGZ, 2,68 ± 0,56 nmol/ml; p < 0,001) y descendió el glutation mitocondrial (controles, 3,63 ± 0,21; ob/ob, 1,81 ± 0,17 (P < 0,001); ob/ob+RGZ, 1,09 ± 0,11 nmol/mg prot; p < 0,001). 3) La β-oxidación, que estaba aumentada en los ratones ob/ob, se mantuvo a esos niveles tras la RGZ. 4) El tratamiento con RGZ no mejoró la actividad de los complejos de la CRM que existe en los ratones ob/ob. Por el contrario, empeoró significativamente la actividad del complejo I (controles, 100%; ob/ob, 62,3 ± 12,5%; ob/ob+RGZ, 36,3 ± 9,3%, p < 0,001). 5) En los ratones ob/ob, las proteínas 3-NT estaban muy aumentadas y con la RGZ no disminuyeron. Lo mismo ocurrió con las proteínas mitocondriales.

**Conclusión.** El tratamiento de los ratones obesos con EGHNA empeoró las lesiones hepáticas existentes en estos ratones. Estos cambios se acompañaron de un aumento de las lipoperoxidaciones y de un empeoramiento de la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial (complejo I).

**LA PROTEÍNA VIRAL X (HBX) DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB) AFECTA A LA ACTIVACIÓN Y PERPETUACIÓN DE LAS CÉLULAS ESTRELLADAS HEPÁTICAS (CEHS) HUMANAS**

Y. Rodríguez-Muñoz<sup>1</sup>, S. Martín-Vilchez<sup>1</sup>, P. Sanz-Cameno<sup>1</sup>, M. López-Cabrera<sup>2</sup>, R. Moreno-Otero<sup>1</sup> y E. Lara-Pezzi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Hepatología, <sup>2</sup>Unidad de Biología Molecular, Hospital Universitario La Princesa. Madrid.

La proteína X del VHB es un transactivador viral, que se expresa durante la infección del virus capaz de interferir en diversos procesos celulares y juega un papel fundamental en la hepatocarcinogénesis mediada por VHB. El daño hepático crónico conlleva la activación de las células estrelladas hepáticas, hecho clave para el inicio de la fibrosis hepática caracterizada por un incremento en la síntesis y deposición de colágeno tipo I (COL-I), la principal molécula fibrogénica y la expresión de citoquinas como el factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF). Tras el inicio de la activación las CEHs sufren una segunda fase conocida como perpetuación, que viene determinada por una intensa proliferación de las CEHs.

**Objetivo.** Determinar si el transactivador viral HBx tiene efecto sobre la activación y perpetuación de las CEHs.

**Métodos.** Las CEHs primarias obtenidas de la casa comercial ScienCell (San Diego, CA) fueron incubadas con medios condicionados (0% FBS) procedentes de las siguientes líneas hepáticas: CMX generadas por transfección de la línea Chang-Liver (CHL) con la proteína viral HBx, que se expresa de manera inducible por dexametasona (CMXdx); 2.2.15 línea generada a partir de HepG2 y posee dos copias en tandem del genoma del VHB. Las líneas parentales CHL y HepG2 se emplearon como controles. Las CEHs fueron recogidas tras 24h de incubación con los medios condicionados de las distintas líneas hepatocitarias para luego estudiar la expresión de los marcadores fibrogénicos COL-I y CTGF mediante Western Blot y su capacidad proliferativa a través de la exclusión del colorante Trypan Blue y su recuento en un microscopio de contraste de fases.

**Resultados.** Detectamos un notable aumento en la expresión de COL-I y CTGF en las CEHs sometidas a los medios procedentes de hepatocitos capaces de expresar HBx frente a aquellas incubadas con los medios de control. De igual manera las CEHs expuestas a los medios que contienen la proteína viral experimentan una tasa de proliferación mayor a las CEHs incubadas con medios procedentes de las líneas parentales HepG2 y CHL.

**Conclusión.** Nuestros resultados sugieren que la expresión de la proteína viral X activan las CEHs, como lo demuestra la sobreexpresión de las moléculas fibrogénicas COL-I y CTGF. Además el aumento en la proliferación de las CEHs expuestas a HBx determina que la proteína viral no sólo es capaz de modular la activación de las CEHs, sino también su posterior fase de perpetuación.

**CARACTERIZACIÓN DEL PATRÓN DE EXPRESIÓN DE ENDOGLINA, RECEPTOR DE TIPO III DE TGF-BETA1, DURANTE EL PROCESO DE TRANSDIFERENCIACIÓN DE LAS CÉLULAS ESTRELLADAS HEPÁTICAS**

L. García Pozo<sup>1</sup>, C. Rodríguez Juan<sup>2</sup>, I. García Ruiz<sup>2</sup>, T. Díaz Sanjuán<sup>2</sup>, M.E. Miquilena Colina<sup>1</sup>, J.A. Solís Herruzo<sup>2</sup> y C. García Monzón<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Investigación (Laboratorio de Hepatología Experimental), Hospital Universitario Santa Cristina; <sup>2</sup>Servicio de Medicina Digestiva (Unidad Experimental), Hospital Universitario Doce de Octubre, Madrid.

**Introducción.** Las células estrelladas hepáticas (CEH) son las principales responsables del incremento de la síntesis de proteínas de matriz extracelular que conduce a la fibrosis hepática. Para ello, las CEH deben activarse produciéndose un cambio progresivo de su morfología, pasando de una célula redondeada con gotas de grasa en su interior (CEH quiescente) a una célula estrellada sin gotas de grasa (miofibroblasto). En este proceso de transdiferenciación juega un papel primordial el TGF-beta1, interaccionando con diferentes

receptores (tipos I, II y III). Endoglina es una glicoproteína de membrana que actúa como receptor tipo III de TGF-beta1, desconociéndose su función y su perfil de expresión durante el proceso de activación y diferenciación de las CEH.

**Objetivo.** Caracterizar la cinética de expresión de endoglina durante la transdiferenciación de las CEH.

**Métodos.** Se obtuvieron CEH de rata por el método de perfusión hepática con Pronasa-collagenasa seguido por ultracentrifugación en un gradiente de Larcoll. Las CEH se cultivaron en medio DMEM suplementado con un 10% de suero bovino fetal. La morfología de las CEH en cultivo se determinó por microscopía óptica y la expresión de endoglina (extra e intracelular) y alfa-actina de músculo liso (AML) (intracelular) se analizó cuantitativamente por citometría de flujo y Western blot, a diferentes tiempos del cultivo primario (2 y 9 días) y tras la 1<sup>a</sup> (P1) y 3<sup>a</sup> (P3) tripsinización. También se investigó la expresión de endoglina y AML en la línea LX2 de CEH humanas.

**Resultados.** A los 2 días de cultivo, las CEH tenían una morfología redondeada y con gotas de grasa en su interior (CEH quiescentes). Estas CEH no expresaban endoglina en la membrana mientras que una pequeña proporción expresaba endoglina (15 ± 5%) y AML (21 ± 10%) intracelularmente. A los 9 días de cultivo, la mayoría de las CEH tenían una morfología estrellada con escasas gotas de grasa (CEH activadas). Sólo un 6 ± 1% de estas CEH expresaban endoglina en la membrana mientras que la expresión intracelular de endoglina y de AML era del 30 ± 6% y del 43 ± 19%, respectivamente. La totalidad de las CEH en P1 y P3 presentaban una morfología estrellada sin gotas de grasa (CEH diferenciadas: miofibroblastos), objetivándose un claro incremento de CEH que expresaban endoglina, tanto en membrana (P1: 10 ± 2%, P3: 21 ± 9%) como más evidente aún en citoplasma (P1: 94 ± 4%, P3: 91 ± 3%), y de AML (P1: 73 ± 14%, P3: 69 ± 12%). Este patrón de expresión de endoglina se confirmó por Western blot. Un hallazgo interesante fue que endoglina, tanto en membrana como en citoplasma, se expresaba intensamente en la línea LX2.

**Conclusiones.** La expresión de endoglina, tanto en membrana como en citoplasma, se induce progresivamente durante el proceso de transdiferenciación de las CEH de rata in vitro, lo que sugiere que este receptor tipo III de podría participar en la fibrogenesis hepática. La endoglina, TGF-beta1 intracelular es un excelente marcador de CEH diferenciadas a miofibroblastos.

**IMPLICACIÓN DE NAT5 EN EL DESARROLLO DE HEPATOCARCINOMA (HCC)**

A. Ametzazurra, E. Larrea, M.P. Civeira, J. Prieto y R. Aldabe  
División de Terapia Génica y Hepatología. Centro para la Investigación Médica Aplicada-Universidad de Navarra. Pamplona.

**Introducción.** En los últimos años viene suscitando gran interés el tratamiento biológico dianizado del cáncer. Para llevarlo a cabo es preciso identificar dianas o funciones biológicas que sean esenciales para el crecimiento tumoral. La acetilación aminoterminal es un proceso cotraduccional que ocurre en la gran mayoría de las proteínas eucarióticas citosólicas, aunque existen pocos ejemplos que demuestren la importancia biológica de este tipo de acetilación. En levaduras se han descrito tres complejos proteicos encargados de catalizar esta reacción, NatA, NatB y NatC, observando que la inhibición de la actividad de cada uno de estos complejos provoca un retraso en la proliferación celular. En mamíferos, los pocos estudios existentes se han centrado en la acetiltransferasa mayoritaria NatA, habiendo sido implicada en el desarrollo de tejidos, proliferación celular y cáncer. Nuestro trabajo se centra en la proteína Nat5, ortólogo humano de la subunidad catalítica del complejo NatB en levaduras, de la cual no existen ningún dato en la literatura.

**Material y métodos.** Se han utilizado técnicas de clonaje y expresión molecular, así como técnicas de cultivo de células de HCC, en los que se ha estudiado la expresión y funcionalidad de Nat5 y se han analizado por western blot sus niveles en muestras de HCC y tejido no tumoral.

**Resultados.** Al analizar la cantidad de proteína Nat5 presente en hígado de ratones con hepatocarcinoma, hemos detectado un incremento en la expresión de Nat5 en comparación con el hígado de ratones que no han desarrollado hepatocarcinoma. En tejido hepático humano, el 66,7% de los pacientes con hepatocarcinoma analizados presentan una mayor expresión de Nat5 en la parte tumoral del hígado en comparación con la parte no tumoral del mismo hígado. Igualmente, hemos observado que la expresión de Nat5 en distintas líneas tumorales hepáticas está muy incrementada y que la inhibición de la expresión de Nat5 en células tumorales hepáticas HepG2 y Hep3B mediante siRNAs provoca una parada en la proliferación celular.

**Conclusión.** Nuestros datos demuestran una correlación directa entre la expresión de Nat5 y el desarrollo tumoral, e indican que esta proteína puede representar una diana de interés para el tratamiento biológico del cáncer hepático.

#### LA ANFIREGULINA, UN FACTOR DE CRECIMIENTO DE LA FAMILIA DEL EGF, PARTICIPA EN EL DESARROLLO DE LA FIBROSIS HEPÁTICA

A. Nicou, J. Castillo, M.J. Perugorría, M.U. Latasa, J. Prieto, C. Berasain y M.A. Ávila

División de Hepatología y Terapia Génica. CIMA. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona.

La fibrosis, definida como la acumulación excesiva de matriz extracelular (MEC), es una de las principales complicaciones de la lesión crónica hepática. Este proceso altera la arquitectura del parénquima hepático y puede participar en la transformación neoplásica del hígado. Como parte de la reacción regenerativa del hígado frente a la lesión se activan células productoras de MEC denominadas miofibroblastos, cuyo origen está en las células estelares y los fibroblastos periportales. En este proceso de activación de los miofibroblastos se han implicado diferentes citokinas y factores de crecimiento, sin embargo los mecanismos subyacentes no son del todo conocidos. Hemos descrito previamente que la expresión de la anfiregulina (AR), un factor de crecimiento de la familia del EGF indetectable en un hígado sano, se induce durante la regeneración hepática y la lesión aguda, y que este factor participa en los mecanismos endógenos de reparación del parénquima hepático. Sin embargo, la expresión de la AR se observa también en modelos de daño hepático crónico y en muestras de hígado humano cirrótico. Evidencias recientes sugieren que la activación del receptor del EGF puede participar en la activación de las células productoras de MEC en el hígado. Teniendo en cuenta estas observaciones hemos evaluado el posible papel profibrogénico de la AR empleando el modelo de administración crónica de CCl<sub>4</sub> en ratones *knockout* de este gen (AR-KO) y los correspondientes controles *wild type* (AR-WT). La administración de CCl<sub>4</sub> se realizó por vía intraperitoneal dos veces por semana, y los animales AR-KO y AR-WT (4 ratones tratados con CCl<sub>4</sub> y 4 controles) fueron sacrificados a las 4 y 6 semanas de tratamiento. La expresión de la AR (determinada por PCR en tiempo real) se vió incrementada en los ratones tratados con CCl<sub>4</sub>. Los animales AR-KO tratados con CCl<sub>4</sub> mostraron niveles de expresión del gen a1 (I) procolágeno significativamente inferiores a los animales AR-WT, lo cual correlacionó con una significativa reducción en el grado de fibrosis hepática estimada por tinción con Rojo Sirio. La deposición de MEC no depende sólo de la producción de colágeno, sino del equilibrio entre la síntesis y degradación de esta proteína, principal componente de la MEC. En este sentido, la expresión de la metaloproteasa de matriz 13 (MMP13), colagenasa intersticial en los roedores, fue superior en los animales AR-KO que en los AR-WT tratados con CCl<sub>4</sub>. Esta observación está también de acuerdo con la mayor deposición de MEC en los ratones AR-WT. Por otra parte, los niveles de TGFb, principal citoquina profibrogénica, se encontraron significativamente elevados en los ratones AR-WT. Todas estas observaciones indican que la expresión persistente de la AR en el parénquima hepático puede contribuir al desarrollo de la fibrosis, y que por tanto este factor de crecimiento puede ser una nueva diana en la terapia antifibrogénica.

#### EFFECTO DE UNA DIETA DEFICIENTE EN COLINA SOBRE LA COMPOSICIÓN LIPÍDICA MITOCONDRIAL Y LA MUERTE CELULAR EN EL CULTIVO PRIMARIO DE HEPATOCITOS DE RATA

M.A. Sánchez-Garrido<sup>1</sup>, Y. Chico<sup>3</sup>, P. Barrera<sup>1</sup>, A. Poyato<sup>1</sup>, B. Ochoa<sup>3</sup>, J. Muñoz<sup>1</sup>, M. De la Mata<sup>1</sup> y J. Muntané<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad Clínica Aparato Digestivo y <sup>2</sup>Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba, <sup>3</sup>Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad del País Vasco. Bilbao.

**Antecedentes.** La presencia de esteatosis hepática y esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) es una disfunción con alta prevalencia en los países desarrollados debido al alto contenido graso de la dieta. Se conoce que la esteatosis y EHNA se asocian a una importante disfunción mitocondrial.

**Objetivos.** Estudiar la composición lipídica mitocondrial y la susceptibilidad apoptótica celular en hepatocitos de rata obtenidos de animales con esteatosis hepática inducida por una dieta deficiente en colina (DDC).

**Métodos.** Se aislaron por el método clásico de disagregación enzimática con collagenasa hepatocitos procedentes de ratas alimentadas con una dieta control y una DDC durante 3 días. Se realizó un estudio cinético de muerte celular por TNF-alfa y actinomicina en hepatocitos en cultivo. Se midieron diversos parámetros de apoptosis y necrosis celular. Se valoraron los niveles de triglicéridos y fosfolípidos (fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina) por cromatografía de capa fina monodimensional en el homogenado celular y en mitocondria aislada. Se determinaron los niveles de óxido nítrico en el medio de cultivo mediante un analizador de óxido nítrico (NOA).

**Resultados.** La DDC provocó un aumento de la producción de óxido nítrico, fragmentación del DNA y activación de caspasa-3. La concentración de triglicéridos y fosfatidilcolina celular fue mayor en las células DDC que en las control. Los niveles de fosfatidiletanolamina no se vieron afectados por la dieta DDC. La dieta DDC disminuyó los niveles de fosfatidilcolina así como aumentó la concentración de fosfatidiletanolamina en la mitocondria de hepatocitos DDC.

**Conclusiones.** 1) Las células DDC en cultivo primario presentan mayor grado de apoptosis celular y mayor producción de óxido nítrico que las control. 2) La DDC provoca un aumento de fosfatidilcolina en la membrana plasmática. 3) En la membrana mitocondrial, la DDC provoca una disminución de fosfatidilcolina y un aumento de fosfatidiletanolamina.

#### ACCIONES METABÓLICAS DIRECTAS A NIVEL HEPÁTICO DE PIOGLITAZONA Y ROSIGLITAZONA EN HEPATOCITOS EN PERIFUSIÓN

N. Sanz, C. Sánchez, G. R-Villanueva, J.M. López-Novo, J.M. Recio, F. Alonso y M.Y. El-Mir

**Antecedentes.** Las Thiazolidindionas (TZDs) (rosiglitazona = ROSI, y Pioglitazona = PIO) son nuevos medicamentos antiidiabéticos orales de la clase tiazolidindiona que ejercen sus acciones antiidiabéticas hipoglucemiante, a medio y largo plazo, de forma indirecta por activación selectiva de los receptores PPAR $\gamma$  que son muy abundantes en el tejido adiposo pero no tanto en el hígado y en el músculo. Se sabe que las TZDs son capaces de actuar sobre el hígado y músculo esquelético donde dichos receptores son bastante escasos por lo que se plantea la posibilidad de que las TZDs puedan ejercer efectos DIRECTOS sobre el metabolismo hepático, no mediados por los receptores PPAR $\gamma$ . Objetivo: Investigar “in vitro” la existencia acciones metabólicas DIRECTAS (gluconeogénesis-GNG-, y glicólisis hepáticas) utilizando la nueva técnica de perfusión de hepatocitos de ratas, recientemente instalada en nuestro laboratorio.

**Métodos.** Los hepatocitos se aislaron de ratas Wistar macho en ayunas (24h) según el método de Berry & Friend. Los hepatocitos en suspensión eran perifundidos continuamente (5 ml/min) a 37 °C con tampón Krebs-bicarbonato saturado con O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (19/1) y eran

titrados con dihidroxacetona (DHA) como sustrato energético (0; 0,8; 1,6; 2,4; 3,2; 4,0 y 4,8 mM) en presencia o ausencia de 25 µM de PIO o de ROSI, para obtener siete estados estacionarios reales y sucesivos. Para cada condición de estado estacionario se determinó en perifusato celular glucosa, piruvato y lactato.

**Resultados.** En hepatocitos perfundidos, utilizando DHA como sustrato, la PIO y la ROSI inhibieron la producción de glucose (Jglc) por el hígado en un 40% y 65%, respectivamente. No obstante, tanto PIO como ROSI estimularon la glicólisis hepática (producción de lactato+piruvato = Jlac+pir) de forma similar (15%). Ambas moléculas inhibieron significativamente el metabolismo hepático global de DHA, pero aumentaron el potencial redox citosólico (NADH/NAD) estimulado como la relación lactato/piruvato. Conclusión: Las TZDs PIO y ROSI, además de sus documentados efectos antidiabéticos indirectos mediados por los receptores PPARg, ejercen efectos hipoglucemiantes DIRECTOS Y AGUDOS a nivel del hígado, por lo menos, mediante inhibición de la gluconeogénesis hepática.

#### PAPEL DE LA PROTEÍNA BCRP/ABCG2 EN LA FISIOLOGÍA HEPATOBILIAR COMO BOMBA CANALICULAR EXPORTADORA DE DERIVADOS DE ÁCIDOS BILIARES

A.G. Blázquez<sup>1</sup>, O. Briz<sup>1</sup>, M.A. Serrano<sup>1</sup>, D. Cassio<sup>2</sup>, B. Grossé<sup>2</sup> y J.J.G. Marín<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Hepatología Experimental y Vectorización de Fármacos (HEVEFARM), Universidad de Salamanca, Salamanca, España. <sup>2</sup>INSERM U757, Universidad de Paris-Sur, Orsay, Francia.

**Antecedentes.** El hígado juega un papel determinante en la excreción de aniones orgánicos endógenos o xenobióticos. En este proceso participan algunos transportadores miembros de la superfamilia de proteínas ABC (ATP-binding cassette) que se expresan en el canalículo biliar de los hepatocitos como la “bile salt export pump” (BSEP, gen ABCB11), responsable de la secreción de ácidos biliares, la “multidrug resistance associated protein 2” (MRP2, gen ABCC2), que exporta fármacos (cisplatino) y sustancias endógenas (bilirrubina conjugada) y la “breast cancer resistance protein” (BCRP, gen ABCG2) cuyo papel en la fisiología hepatobiliar se desconoce.

**Objetivo.** Investigar si la BCRP puede jugar un papel en la secreción biliar de ácidos biliares biotransformados, cuya proporción pueden aumentar en situaciones de colestasis por retención intrahepatocitaria y derivatización de ácidos biliares normales monoaniónicos.

**Métodos y resultados.** Se utilizó el modelo de expresión heteróloga de proteínas en oocitos de *Xenopus laevis*. Los oocitos se microinyectaron con el mRNA de Oatp1/1a1 y BCRP, Bsep o Mrp2 y 48 h después se realizaron estudios de captación a 25 °C durante 1 h. Como sustratos se utilizaron ácidos biliares marcados radiactivamente no conjugados (ácido cárlico) y conjugados con glicina (ácido glicocárlico) o con taurina (ácido taurocárlico, ácido taurodesoxicárlico, ácido tauroquenodesoxicárlico y ácido tauroversedesoxicárlico) y un derivado fluorescente del ácido glicocárlico, la coliglicilamido fluoresceína (CGamF). La captación de los ácidos biliares se potenció en los oocitos mediante la expresión del transportador Oatp1/1a1. La coexpresión con Bsep, pero no con BCRP, redujo el contenido celular de los ácidos biliares no conjugados y conjugados con glicina o taurina. Al contrario de lo que ocurría en los oocitos que expresaban Oatp1/1a1 y Mrp2, la coexpresión con BCRP redujo el contenido celular de CGamF. La reducción de la acumulación de CGamF inducida por BCRP fue abolida por ciclosporina A, un inhibidor de proteínas ABC. La capacidad de BCRP de transportar CGamF se confirmó utilizando la línea celular resistente al cisplatino, WIF-B9/R, que se obtuvo a partir de la línea WIF-B9. Estas células forman estructuras esféricas similares a canalículos biliares y además sobreexpresan Mrp1, Mrp2, Mrp3, Mdr1 y BCRP (más que Bcrp), pero no BSEP/Bsep, como se comprobó por RT-PCR a tiempo real, western blot e inmunocitoquímica. Las células WIF-B9/R fueron capaces de captar y secretar CGamF a los canalículos biliares. Cuando se investigó el efecto del verapamilo, probenecid, tauracolato y Hoechst 33342, el mayor efecto inhibidor de la secreción de CGamF lo ejerció el Hoechst 33342, un sustrato de la BCRP.

**Conclusión.** Nuestros resultados sugieren que el papel de la proteína BCRP en el canalículo biliar puede ser en parte la secreción canalicular de derivados de ácidos biliares, que se acumulan en colestasis o no pueden ser transportados por la BSEP o la MRP2.

#### EVIDENCIAS CONTRA EL PAPEL DE NADPH-OXIDASA EN LA REGULACIÓN DEL TONO VASCULAR HEPÁTICO EN LA CIRROSIS

J. Gracia-Sancho<sup>1</sup>, B. Laviña<sup>1</sup>, A. Rodríguez-Villarrupla<sup>1</sup>, R.P. Brandes<sup>2</sup>, M. Fernández<sup>1</sup>, J. Bosch<sup>1</sup> y J.C. García Pagán<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio Hemodinámica Hepática, IDIBAPS - Hospital Clínic, Barcelona. <sup>2</sup>Institut für Kardiovaskuläre Physiologie, Klinikum der J.W. Goethe-Universität, Frankfurt.

**Antecedentes.** La resistencia vascular hepática está aumentada en el hígado cirrótico. Esto es debido en parte a una reducción de la bio-disponibilidad de óxido nítrico (ON) ocasionada por dos hechos: una síntesis insuficiente de ON, y un secuestro de ON por radical superóxido ( $O_2^-$ ), que se encuentra en exceso en el hígado cirrótico. La enzima NADPH-oxidasa, debido a su capacidad de generar  $O_2^-$ , juega un papel importante incrementando el tono vascular en enfermedades cardiovasculares, y se ha sugerido que este sistema enzimático estaría involucrado en hepatopatías que cursan con estrés oxidativo.

**Objetivos.** a) Caracterización molecular y bioquímica de NADPH-oxidasa en el hígado cirrótico, y b) Investigar su posible papel en la modulación del tono vascular hepático en la cirrosis.

**Metodología.** a) En homogenados hepáticos de ratas control (n = 8) y cirróticas (n = 8) por CCl<sub>4</sub> se determinó: 1. Actividad enzimática de NADPH-oxidasa (quimioluminiscencia), 2. Expresión génica (Real-Time PCR) y proteica (Western blot) de las diferentes subunidades de NADPH-oxidasa; b) En ratas control (n = 6) y cirróticas por CCl<sub>4</sub> (n = 10) tratadas con apocinina (inhibidor selectivo de NADPH-oxidasa) (1,5 mM) o su vehículo se determinó: 1- Estudios hemodinámicos *in vivo*: presión arterial media (PAM), presión portal (PP) y flujo de la arteria mesentérica superior (FAMS), y 2- Evaluación de la función endotelial hepática, por medio de curvas dosis-respuesta de relajación a acetilcolina en hígados perfundidos y precontraídos con metoxamina.

**Resultados.** a) Los hígados cirróticos presentaron sobreexpresión del mRNA de las sub-unidades de NADPH-oxidasa Nox2, p22phox, p47phox y p67phox. Sin embargo, existió una menor expresión del mRNA de Nox4 y una menor expresión proteica de Nox4 y Nox2. Finalmente, la actividad de NADPH-oxidasa en hígado cirrótico estuvo significativamente reducida respecto a los controles. b) El tratamiento con apocinina disminuyó de forma significativa la actividad tisular de NADPH-oxidasa. Sin embargo, la inhibición de NADPH-oxidasa no ocasionó ningún cambio en la hemodinámica esplácnica o sistémica de las ratas cirróticas o controles. De forma similar, el tratamiento con apocinina no mejoró la deficiente respuesta endotelio-dependiente a acetilcolina de los hígados cirróticos.

**Conclusiones.** Los resultados del presente estudio muestran que el complejo enzimático NADPH-oxidasa no juega un papel relevante en la modulación del tono vascular del hígado cirrótico, y sugieren que la síntesis exagerada de radicales superóxido en hígado cirrótico no depende de una hiperactividad de este sistema enzimático.

#### LA PROGRESIÓN DE LA CIRROSIS ESTÁ ASOCIADA AL INCREMENTO GRADUAL DE ANGIOGENESIS Y LINfangiogenesis hepática. POSIBLE CORRELACIÓN CON LA EXPRESIÓN HEPÁTICA DE VEGF Y ANGIOPOYETINAS

S. Tugues<sup>1</sup>, M. Morales-Ruiz<sup>1</sup>, J. Ros<sup>1</sup>, J. Muñoz-Luque<sup>1</sup>, V. Arroyo<sup>2</sup>, J. Rodés<sup>2</sup> y W. Jiménez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Bioquímica y Genética Molecular y <sup>2</sup>Unidad de Hepatología-Institut de Malalties Digestives, Hospital Clínic y Provincial de Barcelona e Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Universidad de Barcelona. Barcelona.

Los procesos de angiogenesis y linfangiogenesis desempeñan una función clave en situaciones fisiológicas y fisiopatológicas. Recientemente, diversos estudios han demostrado la existencia de una es-

trecha relación entre la angio/linfangiogénesis y la cronificación de trastornos inflamatorios. Sin embargo, se desconoce si este vínculo también tiene lugar en enfermedades hepáticas avanzadas. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio consistió en investigar si la progresión de la cirrosis en ratas tratadas con  $\text{CCl}_4$  está asociada al desarrollo de angiogénesis y/o linfangiogénesis. Se estudiaron 10 ratas controles (CT) y 10 ratas cirróticas en cada uno de los siguientes períodos de tratamiento con  $\text{CCl}_4$ : *a*) de 8 a 12 semanas (CH) y *b*) de 17 a 20 semanas. Todos los animales cirróticos incluidos en este segundo grupo presentaron cirrosis avanzada y ascitis (CH+Asc). El tejido hepático de ratas CT, CH y CH+Asc fue procesado con la finalidad de cuantificar la formación vascular, la expresión de factores angiogénicos y linfangiogénicos (VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, PIGF, Ang-1 y Ang-2), así como la presencia de hipoxia hepática. Para ello, se utilizaron las técnicas de inmunohistoquímica y de RT-PCR. Los experimentos de inmunohistoquímica, realizados con anticuerpos específicos anti-factor vonWillebrand y anti-podoplanina, revelaron que la progresión de la cirrosis estuvo asociada a un incremento significativo de la densidad hepática de vasos sanguíneos ( $2,1 \pm 0,2$ ,  $6,8 \pm 0,5$  y  $19,4 \pm 0,8$  vasos/mm<sup>2</sup> para CT, CH y CH+Asc, respectivamente;  $p < 0,01$ ) y linfáticos ( $1,7 \pm 0,2$ ,  $3,6 \pm 0,3$  y  $16 \pm 0,4$  vasos/mm<sup>2</sup> para CT, CH y CH+Asc, respectivamente;  $p < 0,01$ ). En concordancia con estos resultados, se observó un incremento significativo de la expresión del mRNA de VEGF-A, VEGF-D, PIGF, Ang-1 y Ang-2 en hígados de ratas CH en comparación con hígados de ratas CT. Esta sobreexpresión de agentes pro-angiogénicos y linfangiogénicos fue a su vez significativamente superior en ratas CH+Asc en comparación con los animales CH. Los experimentos de inmunohistoquímica realizados en hígados controles revelaron una tenue presencia de VEGF-A y Ang-2 que estuvo localizada preferentemente en los hepatocitos perivenulares. En contraste, la expresión de VEGF-A y Ang-2 fue significativamente más elevada en las ratas CH y se localizó preferentemente en los hepatocitos proximales a los septos fibrosos. En el grupo CH+Asc, esta inmunoreactividad se hizo patente en el 90% del parénquima hepático. Por otra parte, la presencia de hipoxia hepática se colocalizó significativamente con la expresión hepática de las proteínas VEGF y Ang-2. En conclusión, estos resultados muestran que la progresión de la cirrosis está asociada al incremento gradual de angiogénesis y linfangiogénesis hepática. Asimismo, la sobreexpresión gradual de miembros de las familias de VEGF y Ang durante el transcurso de esta patología se correlacionó significativamente con las modificaciones vasculares observadas.

#### INDUCCIÓN DE LA VÍA INTRÍNSECA DE LA APOPTOSIS EN UN MODELO ANIMAL DE HEPATOCARCINOMA MEDIANTE EL TRATAMIENTO CON TNP-470

J.L. Mauriz<sup>1</sup>, P. González<sup>1</sup>, M.C. Durán<sup>1</sup>, J. Martín-Renedo<sup>1</sup>, J.P. Barrio<sup>1</sup>, J.M. Culebras<sup>2</sup> y J. González-Gallego<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología. Universidad de León. <sup>2</sup>Servicio de Cirugía II. Complejo Hospitalario de León.

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 la progresión del hepatocarcinoma (HCC) en modelos animales. La desregulación de la apoptosis está considerada como un paso crítico en la aparición de HCC, existiendo un desequilibrio entre la proliferación y la muerte celular por apoptosis. En experimentos previos hemos observado que el tratamiento con TNP-470 es capaz de reducir la proliferación celular en HCC, sin embargo hasta ahora son poco conocidos sus efectos sobre los mecanismos apoptóticos hepáticos.

**Objetivo.** Estudiar si el efecto antineoplásico del TNP-470 está relacionado con la inducción de los mecanismos de apoptosis en un modelo *in vivo* de HCC en ratas.

**Metodología.** Se indujo HCC en ratas Wistar macho por administración de dietilnitrosamina que actúa como un potente iniciador, 2-acetilaminofluoreno que inhibe la proliferación de hepatocitos normales y heptatectomía 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 HCC.

**Resultados.** Los hígados de todos los animales sometidos al proceso de hepatocarcinogénesis y sin tratamiento desarrollaron cambios microscópicos típicos del HCC. El HCC indujo una reducción significativa en la expresión de las proteínas pro-apoptóticas p21 y caspasa-3 (-63% y -56% respectivamente) y en la liberación de citocromo c al citosol (-50%); sin embargo, no se observaron cambios en la expresión de la caspasa-8, aunque se incrementó la expresión de la proteína anti-apoptótica Bcl-2 en las ratas con HCC. Todas estas modificaciones se inhibieron en los animales afectados de HCC que recibieron el tratamiento con TNP-470 durante 8 semanas.

**Conclusiones.** En nuestro modelo *in vivo* el tratamiento con TNP-470 es capaz de reducir el desarrollo del HCC; dicho efecto parece relacionado, al menos en parte, con la inducción de la vía intrínseca (mitocondrial) de la apoptosis. El TNP-470 puede constituir un interesante candidato a formar parte del arsenal quimioterapéutico en el tratamiento del HCC.

Financiado por el Programa de Investigación en Biomedicina de la Gerencia Regional de Salud de la Junta de Castilla y León.

#### EL MEDICAMENTO HEPATOPROTECTOR SILIBININA, ANTAGONIZA LOS EFECTOS PRO-DIABÉTICOS DEL GLUCAGÓN EN HEPATOCITOS EN PERIFUSIÓN

G. R-Villanueva<sup>1</sup>, A. Sánchez<sup>1</sup>, R. Naboulsi<sup>1</sup>, N. Sanz<sup>1</sup>, J.M. López-Novoa<sup>1</sup>, B. Guigas<sup>2</sup>, M.V. Rascón-Trincado<sup>3</sup> y M.Y. El-Mir<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología y Farmacología, Universidad Salamanca.

<sup>2</sup>INSERM. Universidad Grenoble-I, Grenoble. Francia. <sup>3</sup>Depto. Medicina, Universidad de Salamanca.

**Antecedentes.** La Silibinina (SB) es el componente mayoritario de la Silimarina utilizado actualmente en clínica debido a sus efectos hepatoprotectores (Legalon). Estudios previos en nuestro equipo demostraron que la SB posee acciones antidiabéticas inhibiendo la gluconeogénesis (GNG = JGlucosa) y la glicólisis hepática.

**Objetivos.** Utilizando hepatocitos de rata en perfusión: Investigar la capacidad de la SB de antagonizar las acciones pro-diabéticas del glucagón a nivel hepático. **Métodos:** Los hepatocitos se aislaron de ratas Wistar macho en ayunas (24h) según el método de Berry & Friend. Usando la técnica de perfusión de células, los hepatocitos de rata en suspensión, eran perfundidos (5 ml/min) a 37 °C con tampón Krebs-bicarbonato saturado con O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (19/1) y eran titrados con dihidroxiacetona (DHA) (0; 0,8; 1,6; 2,4; 3,2; 4,0 y 4,8 mM) como sustrato energético en presencia o ausencia de SB (100 μM) o de glucagón (10-7 M). Para cada concentración de DHA se determinó en perfusato extracelular glucosa (Glc), piruvato (pir) y lactato (lac) por técnicas espectrofotométricas. En células se determinaron, mediante técnicas espectrofluorimétricas, los intermediarios metabólicos intracelulares Dihidroxiacetonafosfato (DHAP), Fructosa-6-fosfato (F6P) y glucosa-6-fosfato (G6P).

**Resultados.** En hepatocitos perfundidos con DHA, el glucagón produjo, una estimulación potente de la GNG en un 124% (DHA 2,4 mM). La administración de SB antagonizó el efecto activador del glucagón sobre la GNG, disminuyendo dicha activación en un 80% (DHA 2,4 mM). De la misma manera, el glucagón solo, produjo un significativo aumento de los niveles de los intermediarios metabólicos DHAP, G6P y F6P en cada estado estacionario obteniendo así una doble relación entre la JGlucosa y esos intermediarios. En presencia de glucagón y de SB, se produjo una modificación de la relación entre, JGlucosa y los intermediarios DHAP, F6P y G6P con respecto al glucagón solo, desplazando, hacia la derecha, las curvas que representan las relaciones entre las concentraciones de DHAP, F6P y de G6P frente a JGlucosa antagonizando así claramente los efectos metabólicos del glucagón. En cuanto a la glicólisis hepática (Jlac+pir), el glucagón inhibe Jlac+pir en un 60% a altas concentraciones de DHA. Dicha inhibición de la glicólisis es menor en presencia de SB sobre todo a bajas concentraciones de

DHA, lo que indica que la SB antagoniza ligeramente el efecto inhibidor del glucagón sobre la glicólisis.

**Conclusión.** La silibinina antagonista al glucagón en la vía metabólica que cataliza la reacción de hidrólisis de G6P en glucosa. Este efecto puede deberse a una inhibición de la enzima glucosa-6-fosfatasa por la silibinina. Estos resultados demuestran por primera vez que la SB además de inhibir la GNG, posee nuevas acciones antidiabéticas antagonizando los efectos metabólicos del glucagón a nivel hepático.

#### RECLUTAMIENTO POR EL HÍGADO DE CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES TRANSDUCIDAS CON VECTORES LENTIVIRALES EN MODELOS ANIMALES DE DAÑO HEPÁTICO AGUDO Y CRÓNICO

M.P. Kawa, G. Yang, V. Fernández-Ruiz, C. Qian y J. Prieto  
*Terapia Génica del Cáncer, Centro para la Investigación Médica Aplicada (CIMA). Universidad de Navarra. Pamplona. España.*

**Objetivos.** En este trabajo hemos estudiado la capacidad de las células progenitoras endoteliales (EPC) ingenierizadas genéticamente para colonizar el hígado en modelos animales de daño hepático agudo y crónico.

**Métodos.** Las células EPC se obtuvieron mediante el aislamiento de las células mononucleares de la médula ósea de ratones sanos que se cultivaron durante 4 días sobre una base de fibronectina, utilizando un medio de cultivo endotelial suplementado con factores de crecimiento VEGF, bFGF, IGF-1, EGF e Hidrocortisona. Las EPC se transdijeron con vectores lentivirales portadores del gen reportero de la luciferasa, sin afectar su viabilidad celular. Se utilizaron dos modelos de daño hepático: Concanavalina A (una dosis de 12 mg/kg, daño hepático agudo) y CCl<sub>4</sub> (2 dosis por semana de 12 µL en parafina líquida durante 12 semanas, daño hepático crónico) en ratones C57BL/6 y Balb/c. Los animales recibieron 10<sup>6</sup> de EPC genéticamente modificadas por vía intravenosa o intraesplénica a las 24 horas tras la administración de ConA y a los 4 días tras la última administración de CCl<sub>4</sub>. Un grupo de animales sanos recibieron el mismo tratamiento. El seguimiento del reclutamiento se realizó *in vivo* mediante el sistema de captación de bioluminiscencia IVIS. La actividad luciferasa se determinó en los hígados tras el sacrificio de los animales.

**Resultados.** El estudio *in vivo* de la migración al hígado de las EPC transducidas, permitió determinar que el máximo reclutamiento de las EPC por los hígados dañados se producía entre las 48 y las 72 horas tras la inyección de las células por vía intravenosa. La presencia de las EPC-luciferasa en los animales se pudo observar durante una semana tras la administración de una única dosis de EPC. Los hígados con daño hepático crónico reclutaban 2 veces más EPC que los hígados sanos. Los hígados con daño hepático agudo reclutaban 4 veces más EPC en comparación con los hígados sanos. La administración de EPC por vía intraesplénica multiplicó por 10 la eficiencia del reclutamiento de las EPC por los hígados dañados en comparación con la administración de las células por la vía intravenosa.

**Conclusiones.** Las EPC modificadas genéticamente con vectores lentivirales administradas intravascularmente son reclutadas por los hígados con daño agudo y crónico lo que sugiere que las EPC podrían contribuir al proceso de reparación del hígado dañado. La transducción de las EPC con vectores lentivirales portadores de genes terapéuticos con función hepatoprotectora podría constituir una nueva estrategia para el tratamiento de lesiones hepáticas agudas y crónicas.

#### EVOLUCIÓN ONTOGÉNICA EN LA RATA DEL "POOL" DE ÁCIDOS BILIARES Y DE LA EXPRESIÓN DE GENES IMPLICADOS EN SU HOMEOSTASIS

P. Martínez-Becerra, S. Cuesta de Juan, M.J. Monte, R.I.R. Macías, M. Vicéns, F. Jiménez y J.J.G. Marín  
*Laboratorio de Hepatología Experimental y Vectorización de Fármacos. Hospital Universitario de Salamanca. Universidad de Salamanca.*

**Antecedentes.** El tamaño del "pool" de ácidos biliares (ABs) y la proporción de las diferentes especies moleculares dependen funda-

mentalmente de la expresión y actividad de enzimas hepáticas claves en su síntesis y de transportadores hepáticos e intestinales responsables de mantener a los ABs en la circulación enterohepática.

**Objetivo.** Estudiar en ratas la evolución ontogénica de la expresión hepática de genes relacionados con la homeostasis de los ABs y relacionarla con el tamaño y la composición del "pool" de estos esteroides.

**Métodos.** Se utilizaron fetos de 14 y 20 días de vida intrauterina, ratas de entre 1 y 56 días tras el nacimiento, así como ratas viejas de 9 y 24 meses de edad.

Se determinaron por métodos enzimáticos los niveles de ABs totales en el "pool" tras extraerlos del hígado y el intestino delgado por reflujo etanólico. Las diferentes especies moleculares de estos compuestos se identificaron por GC-MS. Los niveles de ARNm de las enzimas Cyp7a1, Cyp8b1, Cyp27, Cyp3a11, reductasas, y de los receptores nucleares Ftf, Fxr, Shp y Hnf4 alfa se determinaron por RT-PCR cuantitativa a tiempo real.

**Resultados.** El tamaño del "pool" de ABs en la rata, normalizado por el peso hepático en cada momento, se mantuvo relativamente constante desde la primera semana postnatal hasta la senescencia, salvo tras el destete, momento en el que aparecía un marcado incremento transitorio. El ácido cárboxico fue siempre la especie molecular más abundante en el "pool" de ABs de esta especie. Alcanzó sus niveles relativos más bajos después del destete y los máximos durante las etapas perinatal y senescente. La complejidad en cuanto a la composición del "pool" fue máxima una semana tras el destete. La expresión de Cyp27 se mantuvo relativamente constante desde el período neonatal hasta la senescencia, mientras que la de Cyp7a1 presentó un pico de máxima expresión tras el destete. La Cyp8b1 presentó su máxima expresión en las etapas perinatal y adulta. La expresión de Cyp3a11 se estabilizó después de la primera semana de vida hasta que descendió en la senescencia. Los cambios en los niveles de expresión de las reductasas coincidieron con la aparición de ABs planos típicos de etapas fetales y neonatales. La expresión de los receptores nucleares estudiados fue baja en el hígado fetal, pero alcanzó niveles similares a los del adulto en los primeros días tras el nacimiento. En la senescencia, Shp estaba sobre-expresado, mientras que Fxr presentó niveles similares a los del adulto y los de Ftf y Hnf4 alfa fueron muy bajos.

**Conclusiones.** La expresión de las enzimas Cyp7a1 y Cyp8b1 experimenta cambios importantes en la etapa postnatal y tras el destete, congruentes con las variaciones en el tamaño y la composición del "pool" de ABs. Así mismo, la evolución en la expresión de estas enzimas se correlaciona con las variaciones en la expresión hepática de los receptores nucleares, como el Hnf4 alfa y el sistema formado por el trío Fxr/Ftf/Shp, que regulan su expresión.

#### KETOTIFEN REDUCE LAS ALTERACIONES ESPLÁCNICAS EN LA HIPERTENSIÓN PORTAL PREHEPÁTICA EXPERIMENTAL: IMPLICACIÓN DE LAS CÉLULAS CEBADAS

M.A. Aller<sup>1</sup>, F. Sánchez-Patán<sup>1</sup>, C. Cuellar<sup>2</sup>, M. Rodero<sup>2</sup>, M.P. Nava<sup>3</sup>, Y. Saavedra<sup>4</sup>, R. Anchuelo<sup>1</sup>, P. Vergara<sup>4</sup> y J. Arias<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Catedra de Cirugía. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. <sup>2</sup>Catedra de Parasitología. Facultad de Farmacia.

Universidad Complutense de Madrid. <sup>3</sup>Departamento de Fisiología (Fisiología II). Facultad de Biológicas. Universidad Complutense de Madrid. <sup>4</sup>Unidad de Fisiología. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona.

**Introducción.** La hipertensión portal prehepática experimental cursa a corto plazo con una respuesta inflamatoria exudativa esplácnica que se asocia con un aumento de la infiltración de la mucosa intestinal y de los ganglios linfáticos mesentéricos por células cebadas.

**Objetivo.** Comprobar que la administración profiláctica de Ketotifen, un fármaco estabilizador de células cebadas, reduce las consecuencias de la respuesta inflamatoria esplácnica en la hipertensión portal.

**Material y métodos.** Se utilizaron ratas macho Wistar: Seudo-operadas (SO; n = 10) y con Triple ligadura parcial de la vena porta (TLVP; n = 11), a los que se inyectaron microesferas de ácido Polilacti-co-glicólico con vehículo por vía s.c 24 h. antes de la interven-

ción y SO ( $n = 10$ ) y con TLVP ( $n = 14$ ) a los que se administraron microesferas con Ketotifen. A las 48 h. del p.o. se midió la presión portal, se valoraron los niveles de quimasa (RMCP-II) en el complejo linfático mesentérico superior y se cuantificaron las células cebadas, granuladas y degranuladas, en ileon y ciego.

**Resultados.** La administración de Ketotifen antes de la intervención disminuyó la presión portal ( $p < 0,001$ ), la incidencia de vasculopatía venosa mesentérica ( $p < 0,001$ ), los niveles RMCP-II ( $p < 0,001$ ) en el complejo linfático mesentérico superior y el número de células cebadas activadas ( $p < 0,05$ ) en el ciego de las ratas con hipertensión portal.

**Conclusion.** La administración profiláctica de Ketotifen, un estabilizador de células cebadas, reduce las alteraciones inflamatorias esplácnicas precoces de la hipertensión portal prehepática.

#### EFECTO CITOPROTECTOR DE VITAMINA E FRENTE A LA MUERTE CELULAR INDUCIDA POR D-GALACTOSAMINA Y ÁCIDO GLICOQUENODEOXICÓLICO ASOCIADO A REGULACIÓN DE EXPRESIÓN DE iNOS (NOS-2) Y CYP3A4 EN CULTIVO PRIMARIO DE HEPATOCITOS HUMANOS

R. González<sup>1</sup>, P. López<sup>2</sup>, F. Pareja<sup>3</sup>, J.M. Álamo<sup>3</sup>, E. Fraga<sup>1</sup>, A. Bernardos<sup>3</sup>, P. Laurel<sup>4</sup>, J.M. Pascussi<sup>4</sup>, A. Poyato<sup>1</sup>, M. de la Mata<sup>1</sup> y J. Muntané<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad Clínica Aparato Digestivo y <sup>2</sup>Departamento de Cirugía, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba. <sup>3</sup>Unidad Cirugía HBP y Trasplantes. Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla. <sup>4</sup>Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, INSERM U632 Universidad de Montpellier, Francia.

**Introducción.** D-galactosamina (D-GalN) y el ácido glicoquenodeoxicólico (GCDA) inducen muerte celular en hepatocitos de rata. Vitamina E regula estrés oxidativo y muerte celular, y citocromo P4503A4 (CYP3A4): principal detoxificador en hepatocitos humanos. Objetivo: determinar si citoprotección de vitamina E se relaciona con regulación de estrés oxidativo y la producción de óxido nítrico en hepatocitos humanos.

**Materiales y métodos.** Hepatocitos aislados de resecciones hepáticas realizadas a pacientes con tumor hepático. Vitamina E (50 µM) administrada 10 h después de D-GalN (40 mM) o GCDA (0,5 mM) en hepatocitos. El inductor (rifampicina, 10 µM) o inhibidor (ketoconazole, 5 µM) de CYP3A4 administrado 24 h antes de tóxico. Se valoró la apoptosis, necrosis celular y expresión de iNOS, CYP3A4, PPAR-α, PXR, RXR-α, CPT1-A, GR y CAR por RT-PCR. Construcciones del promotor de CYP3A4 transfectadas a HepG2.

**Resultados.** D-GalN y GCDA incrementan estrés oxidativo, apoptosis y necrosis celular en hepatocitos. Efecto citotóxico asociado al aumento de NF-κB y disminución del receptor PXR. Vitamina E redujo muerte celular inducida por los tóxicos, reduciendo activación de NF-κB, expresión de iNOS, y aumento expresión de PXR y CYP3A4, confirmado por transfección. Inducción de CYP3A4 por rifampicina potencia efecto citoprotector de vitamina E. La inhibición de CYP3A4 por ketoconazole bloquea dicho efecto citoprotector.

**Conclusiones.** Los tóxicos inducen muerte celular en cultivo primario de hepatocitos humanos. El efecto citoprotector de la vitamina E frente a la muerte celular inducida por los tóxicos relacionado con reducción de la activación de NF-κB y la expresión de iNOS, así como con el incremento de PXR y la expresión de CYP3A4 en hepatocitos.

#### LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE MELATONINA ES CAPAZ DE INHIBIR LA VÍA INTRÍNSECA DE LA APOPTOSIS HEPÁTICA EN UN MODELO IN VIVO DE ENVEJECIMIENTO EN RATAS

J.L. Mauriz, V. Molpeceres, M.V. García-Medivilla, P. González, J.P. Barrio y J. González-Gallego

Departamento de Fisiología. Universidad de León. León.

El envejecimiento ha sido relacionado con un incremento del estrés oxidativo que puede llevar a la inducción de la apoptosis celular. El proceso de apoptosis puede llevarse a cabo mediante dos rutas: extrín-

seca (relacionada con receptores específicos en la membrana plasmática) e intrínseca (en la que la mitocondria juega un papel central). La melatonina, una hormona producida principalmente por la glándula pineal, es una molécula altamente lipofílica capaz de atravesar membranas celulares lo que le permite penetrar en compartimentos subcelulares como la mitocondria, donde se puede acumular en altas concentraciones. La síntesis y secreción de la melatonina disminuye con la edad, sugiriendo que podría estar relacionada, dado su capacidad antioxidante, con el proceso de envejecimiento y sus patologías asociadas.

**Objetivo.** Estudiar si la melatonina puede afectar a los mecanismos apoptóticos, tanto intrínsecos como extrínsecos, hepáticos en un modelo *in vivo* de envejecimiento en ratas.

**Metodología.** Se utilizaron ratas macho de raza Wistar de 3 y 24 meses de edad (jóvenes y ancianas respectivamente), siendo a su vez divididas en otros dos grupos, según recibieran o no melatonina en el agua de bebida a una concentración final de 20 mg/L durante 8 semanas.

**Resultados.** El estudio de los hepatocitos de las ratas ancianas mostró hallazgos ultrastructuralmente compatibles con un incremento de la apoptosis, además de un incremento de la actividad de la caspasa-3 (+86%). El análisis de los marcadores de la vía intrínseca de la apoptosis reveló un incremento significativo en la liberación de citocromo c desde la mitocondria (-47%) al citosol (+116%), junto con modificaciones en la expresión de la proteína anti-apoptótica Bcl-2 (-20%) y de la pro-apoptótica Bax (+20%). Todos estos efectos estaban relacionados con el incremento del estrés oxidativo detectado (TBARS +60%, GSSG/GSH +20%). Dichas modificaciones se revertieron con la administración de melatonina vía oral. En el estudio de la vía extrínseca no se detectaron cambios ni en la actividad de la caspasa-8 ni el contenido de Fas-L en ninguno de los grupos.

**Conclusiones.** En nuestro modelo *in vivo* de envejecimiento la apoptosis hepática es inducida por la vía intrínseca y la acción antiapoptótica de la melatonina parece relacionada con su capacidad antioxidante.

#### LOS FLAVONOIDEOS QUERCITINA Y KAEMPFEROL REDUCEN LA EXPRESIÓN DE LA ENZIMA ÓXIDO NÍTRICO SINTASA INDUCIBLE Y LA FORMACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO Y NITRÓGENO EN CULTIVOS DE CÉLULAS ENDOTELIALES HUMANAS

I. Crespo, M.V. García-Medivilla, S. Sánchez-Campos, M. Almar, M.J. Tuñón y J. González-Gallego

Instituto de Biomedicina. Universidad de León.

El hígado es un órgano que, por su función fisiológica, está sometido a un alto grado de estrés oxidativo, y por tanto es frecuente que en él se produzcan fenómenos inflamatorios. Las células endoteliales juegan un papel preponderante en estos fenómenos produciendo mediadores de la inflamación tales como el óxido nítrico y otras especies reactivas de oxígeno (EROs) y nitrógeno (ERNs). Los flavonoides son moléculas que presentan una elevada capacidad antioxidante y una acción protectora en fenómenos inflamatorios.

**Objetivos.** Evaluar los efectos de los flavonoles quercitina y kaempferol sobre la producción de EROs y ERNs, y sobre la expresión de la enzima óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) en células endoteliales humanas tratadas con citoquinas proinflamatorias.

**Metodología.** Se utilizaron células HUVEC tratadas con citoquinas proinflamatorias (TNF-alfa, IL-1beta e INF-gamma, 250 U/mL de cada una). Otro grupo de células fueron tratadas simultáneamente con las citoquinas (CK) y quercitina (Q) o kaempferol (K) (dosis 1, 5, 10 y 50 µM). Se emplearon como controles células sin ningún tipo de tratamiento. Transcurridas 24 horas se determinó mediante técnicas de citometría de flujo la producción de anión superóxido y la formación de otras EROs y de ERNs utilizando como fluoróforos DHE y DCFH-DA, respectivamente. Asimismo se determinó la expresión génica de iNOS por Western blot.

**Resultados.** El tratamiento de las células HUVEC con las citoquinas indujo un incremento significativo de la producción de EROs y ERNs con respecto al grupo control (+211%) que se revertía parcialmente en las células tratadas con ambos flavonoides, en especial a las dosis más altas (K50: -145%; Q50: -112%, respecto a CK).

Asimismo, se produjo un incremento en la producción de anión superóxido en las células tratadas con las citoquinas con respecto al grupo control (+103%) que se redujo tras el tratamiento con los flavonoides (K50: -34%; Q50: -61%, respecto a CK). La expresión de iNOS se incrementó un 160% en las células tratadas con las citoquinas, observándose una disminución dependiente de la dosis hasta alcanzar valores próximos al grupo control (K50:-39%; Q50:-44%).

**Conclusiones.** Los flavonoides quercitina y kaempferol reducen en células endoteliales la producción de EROS y ERNs así como la expresión de la enzima iNOS inducidos tras tratamiento con citoquinas proinflamatorias, lo que refuerza el importante papel preventivo que pueden jugar estos flavonoles en los procesos que cursan con daño oxidativo/inflamatorio.

Financiado por el Plan Nacional I+D.

#### LA INFECCIÓN CON ADENOVIRUS RECOMBINANTES REDUCE LA SECRECIÓN DE APOPROTEÍNAS POR HEPATOCITOS EN CULTIVO L. Palacios, I. García-Arcos, Y. Rueda, O. Fresnedo y B. Ochoa

Los adenovirus recombinantes se concentran rápidamente en el hígado tras su administración sistémica, por lo que se han considerado buenos candidatos para la transferencia génica en este tejido. Su aplicación terapéutica requiere, entre otros estudios, un análisis detallado de los efectos del vector sobre las funciones de los hepatocitos. En este trabajo se analiza si la infección de hepatocitos de rata en cultivo afecta a su velocidad de secreción de apoproteínas. Para ello se generan dos construcciones adenovirales con capacidad de infección pero no de propagación; una porta un cDNA y la otra un fragmento del mismo cDNA pero en dirección antisentido. Testada la efectividad de estas construcciones se infectan hepatocitos de rata en cultivo primario. Se mide la cantidad de apoB48, apoB100, apoAI y apoE secretadas en la fracción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y en la fracción de densidad  $1,015 < d < 1,24$  g/ml (HDL y VLDL densas) durante los 2 períodos de 24 horas siguientes a la infección, comparándose con las secretadas por hepatocitos sin infectar. Durante el primer período de 24 horas la infección provoca un descenso en la secreción tanto de apoE como del número de partículas de VLDL que contienen apoB48, sin afectar al número de VLDL que llevan apoB100. Las VLDL densas contienen sólo apoB48 y apoE y la cantidad de estas apoproteínas no se modifica; sin embargo, disminuye la cantidad de apoAI y por tanto de HDL secretadas. Durante el siguiente período de 24 horas se produce un drástico descenso de todas las apoproteínas encontradas en ambas fracciones, siendo más acusado en las de muy baja densidad. Pese a estos cambios la viabilidad celular no se ve afectada.

**Conclusiones.** La infección de hepatocitos primarios con adenovirus recombinantes promueve un descenso en la secreción de apoE y de lipoproteínas, tanto VLDL como HDL, que se acentúa con el tiempo de cultivo.

Financiado por el G.V. S-PR05UN01 y SA2005/00240

#### ALTERACIONES DEL SISTEMA COLINÉRGICO EN CIRROSIS HEPÁTICA

M.S. García-Ayllón<sup>1</sup>, O. Caulí<sup>2</sup>, M.X. Silveyra<sup>1</sup>, R. Jover<sup>3</sup>, A. Candela<sup>4</sup>, A. Compañ<sup>4</sup>, R. Insauti<sup>5</sup>, Pérez-Mateo<sup>3</sup>, V. Felipo<sup>2</sup> y J. Sáez-Valero<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Neurociencias de Alicante, Universidad Miguel Hernández-CSIC, San Juan de Alicante; <sup>2</sup>Laboratorio de Neurobiología, Fundación Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia; <sup>3</sup>Departamento de Gastroenterología, Hospital General Universitario de Alicante, Alicante;

<sup>4</sup>Departamento de Patología y Cirugía, Universidad Miguel Hernández, San Juan de Alicante; <sup>5</sup>Departamento de Ciencias de la salud y CRIB, Facultad de Medicina, Universidad de Castilla-La Mancha. Albacete.

En pacientes con cirrosis hepática y en el contexto de una mala función hepática pueden aparecer alteraciones neurológicas. Como ocurre en otros trastornos metabólicos y degenerativos del sistema nervioso central (SNC), en la encefalopatía hepática (EH) se encuentran afectados varios sistemas de neurotransmisores. Hasta la fecha exis-

ten pocos estudios que describan alteraciones del sistema colinérgico en complicaciones neurológicas derivadas de cirrosis. Los niveles correctos del neurotransmisor acetilcolina en el cerebro se mantienen gracias a la actividad de dos enzimas: la colinacetyltransferasa (ChAT), responsable de la síntesis de acetilcolina, y la acetilcolinesterasa (AChE) encargada de la inactivación rápida del neurotransmisor después de su liberación en las sinapsis colinérgicas. En este estudio hemos analizado la posible afectación del sistema colinérgico en ratas con ligadura del conducto biliar (LCB), un modelo animal que simula la cirrosis biliar primaria del humano, y en muestras de corteza de humano con EH obtenidas postmórtén. En ratas LCB, la actividad específica de AChE mostró un incremento significativo del 20% en comparación con la obtenida en ratas control "sham" operadas. En cambio no se observó alteración de la actividad ChAT por la LCB. Este desbalance de enzimas colinérgicas es en parte responsable de la disminución del 50% en los niveles de acetilcolina en ratas LCB. Estudios mediante el test de evitación activa demostraron alteraciones en el modelo LCB. Cuando a las ratas LCB se les indujo hiperamoniamia por la ingesta de amonio (acetato de amonio) los resultados no difirieron de los obtenidos para LCB, y en animales no intervenidos quirúrgicamente y con hiperamoniamia inducida por dieta no se observó cambio alguno respecto a controles. Parece pues que el amonio no es un factor que contribuya en gran medida a las alteraciones del sistema colinérgico cerebral asociadas a cirrosis. En lo que respecta a humanos con EH, en extractos de corteza frontal se obtuvo un aumento del 30% en la actividad AChE sin variación en los niveles de ChAT. Estos resultados llevan a especular sobre una posible alteración en los niveles del neurotransmisor acetilcolina, responsable, en parte, del déficit cognitivo observado en pacientes con EH. Además también abre las puertas al posible uso en la terapia de EH de fármacos inhibidores de AChE, que restablezcan los niveles de acetilcolina, tal y como se están utilizando para la enfermedad de Alzheimer.

#### ESTUDIO COMPARADO DEL EFECTO DE DISTINTOS FLAVONOIDEOS SOBRE LA FORMACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO Y NITRÓGENO Y EL ESTADO OXIDATIVO CELULAR EN UN MODELO DE INFLAMACIÓN IN VITRO EN CÉLULAS CHANG LIVER

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

Instituto de Biomedicina. Universidad de León.

Los flavonoides poseen un gran potencial terapéutico en diversas patologías, incluyendo las enfermedades hepáticas. El efecto protector de estas moléculas se debe, en gran medida, a su capacidad antioxidante y antiinflamatoria, condicionada por su estructura química.

**Objetivos.** Comparar, en un modelo de inflamación *in vitro*, los efectos protectores de quercitina, kaempferol, taxifolina y apigenina sobre la viabilidad celular, la producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y el estado oxidativo celular.

**Metodología.** Se utilizaron células Chang liver tratadas con citoquinas proinflamatorias en presencia o ausencia de quercitina (Q), kaempferol (K), taxifolina (T) o apigenina (A) (5-50 mM). La formación de peróxido de hidrógeno, peróxidos orgánicos, y peroxinitritos, así como de óxido nítrico y anión superóxido, se estudió mediante citometría de flujo utilizando los fluoróforos DCFH-DA, DAF-2DA y DHE, respectivamente. Se utilizó la relación glutatión reducido/oxidado (GSH/GSSG) como marcador de estrés oxidativo.

**Resultados.** Si bien el tratamiento con la mezcla de citoquinas no afectó a la viabilidad celular, la apigenina sí la disminuyó de forma dosis-dependiente respecto a control ( $A_{50}$ : -35%). El tratamiento de las células con las citoquinas indujo un incremento de la fluorescencia DCF (+234%). Dicha inducción se redujo mediante el tratamiento con quercitina y kaempferol de forma dosis-dependiente ( $Q_{50}$ : -30%;  $K_{50}$ : -22%), incrementándose taxifolina y apigenina ( $T_{50}$ : +64%;  $A_{50}$ : +69%). La producción de anión superóxido también se incrementó tras el tratamiento con las citoquinas (+159%), reduciéndose con quercitina, kaempferol y taxifolina ( $Q_{50}$ : -43%;  $K_{50}$ : -43%;

$T_{50}$ : -44%). La formación de óxido nítrico aumentó con las citoquinas (+120%), se redujo al administrar quericitina y kaempferol ( $Q_{50}$ : -18%;  $K_{50}$ : -44%) y se incrementó con taxifolina y apigenina ( $T_{50}$ : +48%;  $A_{50}$ : +106%). El tratamiento con la mezcla de citoquinas provocó una disminución de la relación GSH/GSSG (-78%), que se revirtió parcialmente de forma dosis-dependiente por la quericitina y el kaempferol ( $Q_{50}$ : +279%;  $K_{50}$ : +113%) y de forma menos marcada por la apigenina ( $A_{50}$ : +83%) y la taxifolina ( $T_{50}$ : +31%).

**Conclusiones.** Los flavonoides quericitina y kaempferol, similares estructuralmente, presentan un marcado efecto protector frente al daño oxidativo en nuestro modelo *in vitro*, disminuyendo la formación de las distintas especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y recuperando el glutatión celular, mientras que la taxifolina y en mayor medida la apigenina parecen mostrar un cierto efecto prooxidante.

\*Financiado por el Plan Nacional I+D

## Posters cirrosis hepática y sus complicaciones

### CARACTERIZACIÓN DE BIOMARCADORES DE FIBROSIS HEPÁTICA EN ORINA

L. Odriozola, E. Santamaría, J. Fernández-Irigoyen, J. Muñoz, L. Sesma, S. Beaumont, J. Prieto y F. Corrales

Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA), Pamplona, España.

Las principales condiciones patológicas responsables de la progresión de la cirrosis y el hepatocarcinoma son las infecciones crónicas con los virus de la hepatitis B (HBV) y C (HCV), y la esteatohepatitis. A pesar de la diferente etiología, las enfermedades crónicas de hígado se caracterizan por el desarrollo de fibrosis hepática, una acumulación de matriz extracelular que conlleva la desorganización de la estructura hepática. Hoy en día el método utilizado para la caracterización de la fibrosis es la biopsia de hígado, sin embargo, ésta es una técnica invasiva que conlleva cierto riesgo, así como una gran variabilidad. Para identificar marcadores de fibrosis hepática en orina, hemos usado una combinación de electroforesis en dos dimensiones y espectrometría de masas. Se recogieron más de 50 mililitros de orina de controles sanos y pacientes con fibrosis y se almacenaron a -80°C hasta su utilización. Las muestras de centrifugaron para eliminar los materiales insolubles, se concentraron mediante ultracentrifugación y las proteínas se aislaron mediante precipitación. A partir de estas muestras, se obtuvieron geles 2D que permitían el análisis de más de 500 proteínas. De esta manera, se compararon las muestras de 6 controles y 11 enfermos de fibrosis en estado avanzado (F4 Metavir score), y se localizaron cuatro proteínas significativamente incrementadas en el 75% de los pacientes de fibrosis hepática. Estas proteínas se identificaron por nanoHPLC-ESI/MS/MS como uromodulina (regulador de la actividad de citoquinas circulantes), alfa-1-glicoproteína (involucrada en la reacción de fase aguda), proteína de unión a Mac2 (involucrada en la adhesión celular) y catepsina A (proteasa).

### EL GRADIENTE DE PRESIÓN VENOSA HEPÁTICA (GPVH) PREDICE LA DESCOMPENSACIÓN CLÍNICA (DC) EN PACIENTES CON CIRROSIS COMPENSADA

C. Ripoll<sup>1,2</sup>, R. Groszmann<sup>1,2</sup>, G. Garcia-Tsao<sup>1,2</sup>, N. Grace<sup>3,4</sup>, A. Burroughs<sup>5</sup>, R. Planas<sup>6</sup>, A. Escorsell<sup>7</sup>, J.C. García-Pagan<sup>7</sup>, R. Makuch<sup>2</sup>, D. Patch<sup>5</sup>, D.S. Matloff<sup>4</sup>, J. Bosch<sup>7</sup> and the Portal Hypertension Collaborative Group

<sup>1</sup>Veterans Affairs CT Healthcare System, West Haven, <sup>2</sup>Yale University School of Medicine, New Haven, <sup>3</sup>Brigham and Women's Hospital, Boston, <sup>4</sup>Faulkner Hospital, Jamaica Plain Mass, <sup>5</sup>Royal Free Hospital and School of Medicine, London, <sup>6</sup>Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, <sup>7</sup>Hospital Clínic i Provincial de Barcelona.

**Introducción.** La identificación de factores predictores de DC en pacientes con cirrosis compensada puede ser de utilidad ya que la

aparición de descompensaciones va a determinar su supervivencia. El objetivo del estudio fue identificar factores predictores de DC en pacientes con cirrosis compensada incluyendo la presión portal determinada por el GPVH.

**Métodos.** Se analizó una cohorte de 213 pacientes con cirrosis compensada sin varices incluida en un ensayo clínico diseñado para evaluar el uso de betabloqueantes en la prevención del desarrollo de varices (NEJM 2005;353:2254). A todos los pacientes se les realizó un estudio hemodinámico hepático basal con medición del GPVH. Los pacientes fueron seguidos cada 3 meses hasta a) el desarrollo de varices o hemorragia digestiva por varices, b) el fin del estudio (09/2002). Para nuestro estudio, completamos la información de la cohorte original de los pacientes para completar su seguimiento hasta 09-2002 mediante revisión de historias clínicas. La variable principal fue el desarrollo de DC que fue definida por la presencia de ascitis, encefalopatía hepática (EH) y/o hemorragia por varices (HV). Los pacientes que fueron trasplantados se censuraron en el momento del trasplante. Se elaboraron modelos de regresión de Cox para identificar los factores predictores de descompensación clínica. Se construyeron curvas ROC y curvas de supervivencia.

**Resultados.** 62/213 pacientes (29%) desarrollaron DC: 44 (20,7%) ascitis, 7 (3,3%) HV, 18 (8,5%) EH. Diez pacientes fueron trasplantados y 12 murieron sin DC. La mediana de seguimiento fue 51,1 meses (rango 0-109). El GPVH basal fue de 11 mmHg (rango 6-25). En el análisis multivariante, se identificaron 3 factores predictores de DC: GPVH [HR: 1,11 (95% IC 1,05-1,17)]; MELD [HR: 1,15 (1,03-1,29)]; y albúmina [HR 0,37 (0,22-0,62)]. La capacidad diagnóstica del GPVH [estadístico C 0,71 (95% CI 0,64-0,78)] fue mayor que la del MELD [0,64 (0,55-0,72)] y la puntuación de Child-Pugh [0,61 (0,52-0,7)]. Un valor de GPVH de 10 mmHg diferenció dos poblaciones con distinta incidencia de DC y con un valor predictivo negativo del 90%.

**Conclusiones.** El GPVH, la puntuación MELD y la albúmina son factores predictores independientes de DC en pacientes con cirrosis compensada. Los pacientes con un GPVH < 10 mmHg tienen un 90% de probabilidad de no desarrollar DC en un tiempo mediano de seguimiento de 4 años.

### DETECCIÓN DE EDEMA CEREBRAL DE BAJO GRADO EN PACIENTES CON ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA AGUDA

M.J. Poveda<sup>1</sup>, A. Bernabeu<sup>2</sup>, E. Roa<sup>2</sup>, L. Concepción<sup>2</sup>, E. de Madaria<sup>1</sup>, P. Zapater<sup>3</sup> y R. Jover<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Gastroenterología. Hospital General Universitario de Alicante, <sup>2</sup>Inscanner Resonancia Magnética. Hospital General Universitario de Alicante, <sup>3</sup>Departamento de Farmacología Clínica. Hospital General Universitario de Alicante.

**Introducción.** La encefalopatía hepática es una complicación frecuente de la cirrosis hepática. Recientemente se ha propuesto la implicación del edema cerebral de bajo grado como elemento clave en su fisiopatología.

**Objetivos.** El objetivo del estudio es valorar la existencia de edema cerebral en pacientes con encefalopatía hepática, utilizando para ello aplicaciones de la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y espectroscopia.

**Métodos.** Se incluyeron 20 pacientes cirróticos hospitalizados con encefalopatía hepática aguda (EHA), a los que se realizó RMN con espectroscopia en el momento de la EHA. En un subgrupo de ellos (n = 5) se realizó el mismo estudio 5 días después de la resolución del episodio agudo (EH5). Además se incluyeron 18 controles (9 sanos y 9 cirróticos sin encefalopatía (CH)). En la RMN se determinaron, en la sustancia gris parietal, la tasa de transferencia de magnetización (MTR), cuyo descenso traduce un aumento del contenido en agua cerebral; y el coeficiente de difusión aparente (ADC), cuya variación apoya la existencia de edema cerebral. En la espectroscopia se determinaron niveles de glutamina y mio-inositol.

**Resultados.** Se observa un descenso significativo de la MTR durante el episodio de EHA (EHA: 52,8 ± 3,3; CH: 57,8 ± 4,9; sano 59,1 ± 2,7; p < 0,05). No hay cambios significativos en MTR a los 5 días

del episodio de EHA. En cuanto al ADC, no se han encontrado diferencias entre los grupos de EHA, controles cirróticos y controles sanos. En cambio, se ha observado un descenso significativo en el ADC en sustancia gris a los 5 días respecto al inicio de la EHA (EHA:  $1136 \pm 138$ ; EH5:  $990 \pm 147$ ;  $p = 0,04$ ), lo que sugiere la resolución de un edema vasogénico. Se observa una correlación significativa entre MTR y ADC en sustancia gris en pacientes con EHA. En el estudio espectroscópico, encontramos un aumento de glutamina en EHA (EHA 4.0; CH 2.8; sano 1.8;  $p = 0,0001$ ) y un descenso de mio-inositol (EHA: 0.4; CH 0.3; sano 0.7;  $p = 0,02$ ). Se observa una correlación significativa en pacientes con EHA entre MTR y glutamina ( $r = -0,531$ ) y entre ADC y glutamina ( $r = -0,424$ ).

**Conclusión.** En el episodio de encefalopatía hepática aguda se observan signos de edema cerebral de bajo grado. Este edema ocurre en presencia de un aumento en la glutamina y un descenso en el mio-inositol intracerebral. El edema cerebral vasogénico inicia su resolución en los primeros días tras la desaparición de los síntomas de encefalopatía.

#### RESPUESTA AGUDA A PROPRANOLOL Y RIESGO DE HEMORRAGIA POR HIPERTENSIÓN PORTAL

V. la Mura, J.G. Abraldes, O. Retto, P. Bellot, S. Raffa, J.C. García-Pagán y J. Bosch  
Servicio de Hepatología. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona.

En pacientes con cirrosis tratados con beta-bloqueantes ± nitratos para prevenir la hemorragia por varices un descenso en el gradiente de presión venosa hepática (GPVH) de más del 20% o a  $< 12$  mmHg se asocia con un menor incidencia de primera hemorragia o recidiva hemorrágica. Sin embargo, la evaluación de la respuesta al tratamiento farmacológico requiere la realización de dos cateterismos. El objetivo del presente estudio fue evaluar si la respuesta aguda del GPVH 20 min tras la inyección i.v. de propranolol en el estudio pre-tratamiento puede predecir el riesgo de hemorragia.

**Métodos.** Se estudiaron retrospectivamente 97 pacientes consecutivos con cirrosis y varices esofágicas en los que se evaluó la respuesta aguda a propranolol (0,15 mg/kg) y que recibieron posteriormente tratamiento farmacológico para prevenir la hemorragia. El seguimiento fue de 4 años.

**Resultados.** 26 pacientes desarrollaron hemorragia por hipertensión portal. Los criterios clásicos de respuesta al tratamiento farmacológico (descenso en el GPVH del 20% y/o a  $< 12$  mmHg) aplicados a la respuesta aguda no tuvieron valor predictivo de hemorragia. El valor de respuesta aguda que mejor discriminaba el riesgo de hemorragia en el seguimiento fue 12,5%, por lo que este valor se utilizó para clasificar a los pacientes como respondedores (R;  $n = 58$ ) o no respondedores (NR;  $n = 39$ ). La probabilidad de presentar hemorragia por hipertensión portal a los 4 años fue 50% en los NR vs 22% en los R. En el análisis univariado el grupo de Child-Pugh, MELD, la presencia de signos rojos en las varices, antecedente de hemorragia por varices, tamaño de las varices y respuesta aguda a propranolol se asociaron significativamente con el riesgo de hemorragia. En el análisis multivariado el Child-Pugh, la presencia de signos rojos en las varices y la respuesta aguda a propranolol se asociaron de forma independiente con el riesgo de hemorragia. La curva ROC del modelo predictivo incluyendo estas variables mostró un AUC de 0,793, significativamente mejor que la de un modelo predictivo formado exclusivamente con Child-Pugh y signos de riesgo (AUC: 0,727;  $p = 0,038$ ). Con estas tres variables se pudo clasificar a los pacientes en 8 categorías de riesgo (tabla). El valor discriminativo de la respuesta aguda a propranolol se limitó a los pacientes sin signos rojos (el 75% de los pacientes de nuestra muestra), cualquiera que fuese el grado de Child-Pugh.

**Conclusión.** En pacientes sin signos rojos endoscópicos sobre las varices la respuesta aguda a propranolol permite identificar un subgrupo de pacientes con un riesgo especialmente alto de hemorragia a pesar de tratamiento farmacológico para prevenirla. El hecho que la evaluación de la respuesta aguda requiera un solo cateterismo podría mejorar la relación coste/efectividad de los estudios hemodinámicos.

Tabla: Probabilidad actuarial de hemorragia a los 4 a.

	Child A		Child BC	
	Resp	No Resp	Resp	No Resp
No signos rojos	0%	39%	17%	58%
Signos rojos	51%	33%	75%	100%

#### EVOLUCIÓN ESPONTÁNEA DE LA ENCEFALOPATÍA HEPÁTICA MÍNIMA

D. Núñez, J. Córdoba, R. Jover, J. del Olmo, R. Rey, E. Madaria, C. Montoliu, M. Ramírez, M. Flavià, L. Company, J.M. Rodrigo, V. Felipo y M. Romero Gómez  
*UGC Enfermedades Digestivas. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. Servicio de Medicina Interna-Hepatología. Hospital Vall d'Hebrón. Barcelona. Servicio de Gastroenterología. Hospital General de Alicante. Alicante. Servicio de Hepatología. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Laboratorio de neurociencias. Centro de Investigación Príncipe Felipe. Valencia.*

**Propósito.** Conocer la evolución espontánea de la EHM, detectada mediante tests psicométricos (escala PHES) y de la medición de la frecuencia crítica de parpadeo (FCP).

**Pacientes y métodos.** Incluimos 114 pacientes con cirrosis hepática y 103 controles estudiados en cuatro hospitales españoles. Se practicó estudio basal de función hepática (Child-Pugh y MELD), se midió la FCP (Hepatonorm®, Freiburg, Alemania) y se realizaron los tests psicométricos (TCN-A, TCN-B, TSN, TPS, TLQ). Se realizó seguimiento clínico para valorar el desarrollo de EH, complicaciones (ascitis, hemorragia por varices o hepatocarcinoma) necesidad de trasplante y supervivencia, y a los 12 meses se repitió el estudio en una endocohorte de 60 pacientes que no desarrollaron complicaciones de la cirrosis. Consideramos MHE cuando el resultado de la batería PHES fue inferior a -4 puntos corregidos por las tablas de normalidad para la población española (<http://www.redeh.org/>). Consideramos FCP alterado si era inferior a 38 Hz.

**Resultados.** La FCP fue significativamente más baja en pacientes con EHM que en cirróticos sin EHM o controles sanos. La FCP correlacionó con el PHES ( $r = 0,54$ ;  $p < 0,001$ ). Tanto la EHM (log-rank: 11,7;  $p < 0,001$ ) como una FCP alterada (log-rank: 14,2;  $p < 0,001$ ) se acompañaron de un riesgo aumentado de desarrollar EH en el seguimiento. En el análisis multivariado utilizando regresión de Cox la FCP alterada y el Child-Pugh B/C fueron las variables independientes asociadas con el riesgo de desarrollar EHM. El Child-Pugh fue la única variable que se asoció independientemente con la supervivencia. En la cohorte de 60 pacientes en los que se repitió el estudio, 33 pacientes estaban en Child A y 27 en Child B. Presentaban PHES alterados 18/60 (30%), FCP alterado: 21/60 (36%). En el segundo estudio presentaban PHES alterados (12/60 (20%) y FCP alterado 23/60 (38,3%). Desarrollaron EHM 7 pacientes y la EHM basal desapareció en 10 casos. No encontramos factores relacionados con la aparición de EHM (EH previas, Child, MELD, tamaño varices esófago-gástricas, etiología alcohólica, sexo).

**Conclusiones.** Tanto la alteración de los PHES (EHM) como de la FCP predicen riesgo de EH clínica pero no supervivencia. En pacientes cirróticos compensados la EHM puede desaparecer espontáneamente en un tercio de los pacientes y aparecer en la cuarta parte de los pacientes sin EHM en un año de seguimiento. Estos datos sobre la evolución espontánea de la EHM, se han de tener en cuenta cuando se diseñen ensayos clínicos para el tratamiento de la EHM.

Agradecimiento: Red EH G03/155, PI040384

#### SOBRECARGA DE HIERRO E INCIDENCIA DE PERITONITIS BACTERIANA ESPONTÁNEA EN PACIENTES CIRRÓTICOS CON ASCITIS

A. Pardo, J. Ortega y E. Quintero  
*Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario de Canarias. La Laguna. Tenerife.*

La sobrecarga de hierro produce diversas alteraciones inmunológicas (disfunción de macrófagos y neutrófilos, inhibición de la proli-

feración linfocitaria) que predisponen a la aparición de infecciones bacterianas. En otras situaciones, la ferritina sérica se ha mostrado como un factor predictivo de infecciones bacterianas. Este aspecto no ha sido estudiado en la cirrosis.

**Objetivo.** Evaluar el valor de la ferritina sérica como variable predictiva de la aparición de peritonitis bacteriana espontánea (PBE) en pacientes cirróticos con ascitis.

**Pacientes y métodos.** Se incluyeron de forma consecutiva (1998-2005), tras su ingreso hospitalario por primera descompensación ascítica a 177 pacientes cirróticos (edad media  $59 \pm 12$  años) que fueron seguidos prospectivamente hasta la aparición de PBE o muerte (tiempo medio de seguimiento  $24 \pm 19$  meses). En el momento de la primera valoración 29 pacientes (16%) eran Child-Pugh A, 108 (61%) Child-Pugh B y 40 (23%) Child-Pugh C. La etiología de la cirrosis fue alcohólica en 126 casos (71%). Se determinó la ferritina sérica en la primera valoración y semestralmente durante el seguimiento. Se definió hiperferritinemia como ferritina sérica superior a 500 ng/ml. Se evaluó la supervivencia libre de PBE mediante el método de Kaplan-Meier y se compararon las curvas de supervivencia entre pacientes con y sin hiperferritinemia (log-rank test). Se evaluaron las variables predictivas de aparición de PBE mediante el modelo de regresión de Cox.

**Resultados.** 79 pacientes (45%) presentaban hiperferritinemia en el momento de la inclusión. Las puntuaciones medias de Child-Pugh ( $8,9 \pm 1,8$  frente a  $7,8 \pm 1,7$ ;  $p < 0,001$ ) y de MELD ( $7,56 \pm 16$  vs  $6,51 \pm 11$ ;  $p < 0,01$ ) fueron significativamente superiores a las obtenidas en pacientes sin hiperferritinemia. 43 pacientes (24%) presentaron PBE durante el seguimiento, con una incidencia significativamente superior en aquellos con hiperferritinemia (32% frente a 18%;  $p = 0,04$ ). La supervivencia libre de PBE en el grupo con hiperferritinemia fue significativamente inferior a la observada en los pacientes sin hiperferritinemia (47 frente a 75 meses; log rank = 0,003). Estas diferencias en supervivencia se mantuvieron tras estratificar por índice de Child y por persistencia o no del consumo de alcohol durante el seguimiento. En el análisis de regresión de Cox, la concentración baja ( $< 1$  g/dl) de proteínas en líquido ascítico, la puntuación del índice de MELD y la presencia de hiperferritinemia (RR 2,3 [IC 95% 1,2-4,2];  $p = 0,008$ ) se mantuvieron como factores predictivos independientes de la aparición de PBE durante el seguimiento.

**Conclusiones.** La hiperferritinemia se asocia a una mayor probabilidad de aparición de PBE, que es independiente del grado de insuficiencia hepática y de la persistencia del consumo de alcohol. Estos resultados sugieren que la depleción de la sobrecarga de hierro podría incidir en el riesgo de aparición de PBE.

#### CAPACIDAD PREDICTIVA DE LA RESPUESTA AGUDA A 3b-BLOQUEANTES EN LA PROFILAXIS PRIMARIA DE LA HEMORRAGIA VARICOSA. RESULTADOS FINALES DE UN ESTUDIO PROSPECTIVO

C. Aracil, A. Colomo, I. Ordás, C. Guarner, A. Gallego, X. Torras, C. Villanueva y J. Balanzo

Unidad de Sangrantes. Servei Patología Digestiva. Hospital Sant Pau. Barcelona.

La respuesta al tratamiento farmacológico de la hipertensión portal, se considera adecuada cuando en el estudio control, efectuado 1-3 meses después del basal, el gradiente de presión portal (GPP) disminuye a  $< 12$  mmHg o  $> 20\%$ . En distintos estudios, se ha establecido sólidamente que los respondedores tienen un bajo riesgo de hemorragia y mejor supervivencia. La identificación de los no-respondedores puede permitir un tratamiento de rescate. Sin embargo, el requerir una hemodinámica de control expone a un período de riesgo que podría obviarse y expone a un segundo estudio invasivo. El objetivo del presente estudio consistió en evaluar si la respuesta a la administración aguda de propranolol, en un único estudio hemodinámico, puede proporcionar información pronostica.

**Métodos.** Se incluyeron 88 pacientes con cirrosis y varices esofágicas grandes, sin antecedentes de hemorragia previa. En todos ellos se efectuó un estudio hemodinámico con determinación del GPP.

Tras las determinaciones basales se administraron 0,15 mg/kg i.v. de propranolol y se repitieron las determinaciones 20 minutos después. Posteriormente se inició tratamiento crónico con nadolol para la profilaxis de hemorragia varicosa y se efectuó un segundo estudio hemodinámico 1 a 3 meses después. Se definió como respuesta hemodinámica el descenso del GPP a  $< 12$  mmHg o  $> 20\%$  del basal. Se incluyeron 88 pacientes con cirrosis y varices esofágicas grandes, sin antecedentes de hemorragia previa. En todos ellos se efectuó un estudio hemodinámico con determinación del GPP. Tras las determinaciones basales se administraron 0,15 mg/kg i.v. de propranolol y se repitieron las determinaciones 20 minutos después. Posteriormente se inició tratamiento crónico con nadolol para la profilaxis de hemorragia varicosa y se efectuó un segundo estudio hemodinámico 1 a 3 meses después. Se definió como respuesta hemodinámica el descenso del GPP a  $< 12$  mmHg o  $> 20\%$  del basal.

**Resultados.** Durante un tiempo de seguimiento medio de 36+/-27 meses, 14 pacientes (16%) presentaron hemorragia y 14 fallecieron. Treinta pacientes (34%) fueron respondedores a la administración aguda de b-bloqueantes. La probabilidad actuarial de hemorragia fue significativamente menor en los respondedores agudos que en los que no lo fueron (7% vs 23% a 30 meses,  $P = 0,01$ ). La probabilidad de fallecimiento también fue significativamente menor en los respondedores agudos (7% vs 31% a 30 meses,  $P < 0,01$ ). Se efectuó un segundo estudio hemodinámico para determinar la respuesta crónica al tratamiento en 60 pacientes, 18 de los cuales (30%) fueron respondedores crónicos. Se observó una correlación significativa entre las variaciones aguda y crónica del GPP con b-bloqueantes ( $r = 0,7$ ,  $P < 0,001$ ). Siete pacientes fueron respondedores agudos pero no crónicos. En 6 de ellos (86%) se observó un descenso del GPP del 10% al 20% en el estudio crónico. Empleando curvas ROC el descenso del GPP del 10% fue el mejor valor de corte para la predicción de hemorragia, tanto en el estudio agudo como en el crónico. Durante un tiempo de seguimiento medio de 36+/-27 meses, 14 pacientes (16%) presentaron hemorragia y 14 fallecieron. Treinta pacientes (34%) fueron respondedores a la administración aguda de b-bloqueantes. La probabilidad actuarial de hemorragia fue significativamente menor en los respondedores agudos que en los que no lo fueron (7% vs 23% a 30 meses,  $P = 0,01$ ). La probabilidad de fallecimiento también fue significativamente menor en los respondedores agudos (7% vs 31% a 30 meses,  $P < 0,01$ ). Se efectuó un segundo estudio hemodinámico para determinar la respuesta crónica al tratamiento en 60 pacientes, 18 de los cuales (30%) fueron respondedores crónicos. Se observó una correlación significativa entre las variaciones aguda y crónica del GPP con b-bloqueantes ( $r = 0,7$ ,  $P < 0,001$ ). Siete pacientes fueron respondedores agudos pero no crónicos. En 6 de ellos (86%) se observó un descenso del GPP del 10% al 20% en el estudio crónico. Empleando curvas ROC el descenso del GPP del 10% fue el mejor valor de corte para la predicción de hemorragia, tanto en el estudio agudo como en el crónico.

**Conclusiones.** La evaluación de la respuesta a la administración aguda de b-bloqueantes, en un único estudio hemodinámico, puede proporcionar una información pronostica suficientemente válida en la profilaxis primaria de la hemorragia varicosa. La evaluación de la respuesta a la administración aguda de b-bloqueantes, en un único estudio hemodinámico, puede proporcionar una información pronostica suficientemente válida en la profilaxis primaria de la hemorragia varicosa.

#### EL TRATAMIENTO CON LIGADURA DE VARICES ESOFÁGICAS COMPARADO CON LA ESCLEROSIS DISMINUYE LA MORTALIDAD A LAS 6 SEMANAS TRAS UN EPISODIO DE HEMORRAGIA POR VARICES

S. Augustin<sup>1</sup>, L. Muntaner<sup>1</sup>, A. González<sup>1</sup>, E. Saperas<sup>2</sup> y J. Gesneca<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medicina Interna-Hepatología Vall d'Hebron. <sup>2</sup>Digestivo Vall d'Hebron.

**Objetivo.** Identificar factores pronósticos de recidiva hemorrágica y muerte a las 6 semanas en pacientes cirróticos con hemorragia por

varices esofágicas, utilizando variables poco analizadas (edad, comorbilidades -HIV, EPOC-, grado de varices, MELD, etiología, tipo de tratamiento endoscópico).

**Pacientes y métodos.** Se incluyeron de manera prospectiva 198 episodios consecutivos de hemorragia por varices esofágicas ingresados en la Unidad de Sangrantes de nuestro centro entre enero de 2001 y octubre de 2006. Realizamos una regresión logística uni y multivariante para identificar factores pronósticos de recidiva y muerte a las 6 semanas.

**Resultados.** Se registraron 52 muertes (26%) y 46 recidivas hemorrágicas (24,5%). Excluyendo los 26 pacientes con hepatocarcinoma, la mortalidad bajaba al 21,5%. Fueron factores independientes de riesgo de recidiva a las 6 semanas la presencia de trombosis portal y la etiología alcohol+VHC. Los factores asociados a mortalidad fueron: fallo de control de la hemorragia, hepatocarcinoma, infección durante el ingreso, recidiva a las 6 semanas y grado de varices. Excluyendo los pacientes con hepatocarcinoma, la puntuación de Child se asociaba de forma independiente a la mortalidad, mientras que el tratamiento mediante ligadura de varices en la fase aguda era un factor protector de muerte a las 6 semanas (OR 0,198, p = 0,03). De hecho, los pacientes tratados con ligadura presentaron una mortalidad a las 6 semanas del 10%, muy inferior al 28% de los pacientes tratados con esclerosis de varices (p = 0,02).

**Conclusión.** Tras un episodio de hemorragia por varices esofágicas, además de los factores clásicos asociados a recidiva y muerte a las 6 semanas encontrados, nuestros datos sugieren que la ligadura de varices en la fase aguda disminuye la mortalidad a las 6 semanas comparado con la esclerosis.

#### EL GRADIENTE DE PRESIÓN VENOSA HEPÁTICA ES UNA VARIABLE PREDICTIVA INDEPENDIENTE DE PRIMERA DESCOMPENSACIÓN EN PACIENTES CON CIRROSIS POR EL VIRUS C DE LA HEPATITIS

D. Rincón, O. Lo Iacono, A. Hernando, J. Gómez, M. Salcedo, M.V. Catalina, C. Sanz, G. Clemente, A. Matilla, O. Núñez y R. Bañares

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

**Antecedentes.** En pacientes con cirrosis por virus C, el desarrollo de la primera descompensación implica un cambio en la evolución de su enfermedad y un pronóstico significativamente peor. El gradiente de presión venosa hepática (GPVH) y el MELD son variables predictivas independientes de mortalidad en pacientes descompensados. Sin embargo, no se conocen con precisión las variables que predicen la primera descompensación.

**Objetivo.** Determinar la capacidad del GPVH como variable predictiva de primera descompensación en pacientes con cirrosis por virus C.

**Métodos.** Se incluyeron todos los pacientes con hepatitis crónica por virus C (HCC) que recibieron un estudio hemodinámico hepático (EHH) entre 1/2001-12/2005. Se definió primera descompensación como aparición de ascitis, hemorragia varicosa o encefalopatía en pacientes previamente compensados. Se realizaron análisis uni/multivariante para determinar las variables predictivas de primera descompensación.

**Resultados.** 364 pacientes con HCC recibieron un EHH; se excluyeron 20 por carencia de seguimiento adecuado y 37 por ausencia de cirrosis. De los 307 pacientes finalmente incluidos, 145 (47%) estaban compensados en el momento del EHH, y 162 (53%) habían tenido descompensaciones previas. Los pacientes descompensados presentaron varices con mayor frecuencia (84% vs 34%, p = 0,0001), una puntuación MELD superior [14,4 (6,4) vs 9,8 (4,7), p = 0,0001] y un mayor trastorno hemodinámico [GPVH, 19,1 (5,3) vs 13 (6,3) mmHg, p = 0,0001; PAM, 81(17) vs 91(19) mmHg, p = 0,0001; GC 7,3 (2,1) vs 6,6 (1,9) L/min, p = 0,054]. Tras una mediana de seguimiento de 18,3 (1-96,2) meses, 28/145 (19,5%) pacientes compensados presentaron su primera descompensación: ascitis, 24 (86%); encefalopatía, 3 (11%); y hemorragia varicosa, 1 (3%). La probabilidad actuarial de descompensación fue de 12%-22%-37% a 1-2-3 años. Las variables asociadas a primera descompensación en el análisis univariante: INR [HR 4,49 (1,45-13,93), p = 0,005]; bilirrubina [HR

1,21 (1,08-1,35), p = 0,0001]; sodio [HR 0,89 (0,8-0,97), p = 0,035]; albúmina [HR 0,47 (0,28-0,77), p = 0,003]; MELD [HR 1,094 (1,02-1,16), p = 0,004]; y GPVH [HR 1,071 (1,01-1,13), p = 0,018] se incluyeron en el análisis multivariante, excepto INR y bilirrubina por pertenencia al MELD. Se asociaron independientemente a primera descompensación: sodio [HR 0,88 (0,78-0,99), p = 0,04]; MELD [HR 1,073 (1,01-1,14), p = 0,026]; y GPVH [HR 1,069 (1,01-1,13), p = 0,03]. La probabilidad actuarial de primera descompensación en pacientes con GPVH < 10 fue de 3%-6%-12% a 1-2-3 años, frente al 14%-30%-50% en paciente con GPVH ≥ 10 [HR 4,47 (1,35-14,84), p = 0,0055]. El valor predictivo negativo para primera descompensación de un GPVH < 10 es 93,5%.

**Conclusión.** 1) El GPVH, además de la puntuación MELD y el sodio sérico, es una variable predictiva independiente de primera descompensación en pacientes con cirrosis compensada por el virus C. 2) El riesgo de descompensación a 3 años en pacientes con GPVH < 10 mmHg es muy bajo.

#### VALIDACIÓN EXTERNA DE LA ELASTOGRAFÍA DE TRANSICIÓN (FIBROSCAN®) PARA LA VALORACIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA DE DISTINTAS ETILOGÍAS

J.C. Marín Gabriel<sup>1</sup>, J. de la Cruz Bértolo<sup>2</sup>, I. Fernández Vázquez<sup>1</sup>, A. Martín Algíbez<sup>1</sup>, R. Muñoz Gómez<sup>1</sup>, J.D. F. Colina Ruizdelgado<sup>3</sup> y J.A. Solís Herruzo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Medicina de Aparato Digestivo. <sup>2</sup>Unidad de Epidemiología Clínica. <sup>3</sup>Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

**Objetivos.** La elastografía de transición permite cuantificar el grado de fibrosis hepática (FH) de manera no traumática. El objetivo de este estudio es evaluar la validez del FibroScan® (FS) para cuantificar el grado de FH independientemente de la etiología utilizando dos puntos de corte diferentes ya publicados.

**Pacientes y métodos.** Se incluyeron 110 pacientes consecutivos sometidos a un biopsia hepática - BH (percutánea n = 109 o transjugular n = 1) por distintos motivos. Para estadificar el grado de fibrosis en las muestras histológicas se utilizó la clasificación de Scheuer. El estudio con FS se realizó el mismo día de la BH. Se evaluaron los parámetros de sensibilidad (S), especificidad (E), valores predictivos positivos y negativos (VPP y VPN, respectivamente) así como la razón de verosimilitud positiva (RVP).

**Resultados.** La distribución por sexos fue: 60,4% H y 39,6% M. La mediana de edad fue de 47 años (rango: 21 - 74). Los motivos de petición de la BH fueron: VHC (n = 68; de los cuales VIH positivos n = 22), hepatopatía grasa (n = 13), en injerto (n = 26; de los cuales VHC n = 12), VHB (n = 7) y otras (n = 16). En 38 pacientes se encontraron 2 causas de hepatopatía y 3 etiologías en 2 de los casos. La medición de la elasticidad (EL) con el FS se logró obtener en 103 pacientes (93,6%) con una mediana de 5,85 kPa (rango: 2,9 - 54,3). El porcentaje de éxito en las 10 mediciones realizadas fue > 60% en 87 pacientes (83,6% de los casos en los que se pudo realizar el FS). Cuando se emplearon los puntos de corte publicados por Castera et al. para F ≥ 2 y EL ≥ 7,1, los resultados de S, E, VPP, VPN y RVP fueron: 70,8%; 79,7%; 51,5%; 90% y 3,5 respectivamente. Para F ≥ 3 y EL ≥ 9,5 KPa, los valores fueron: 83,3%; 86,8%; 45,4%; 97,5% y 6,3 respectivamente. Para F4 y EL ≥ 12,5 KPa, los resultados fueron: 75%; 87,8%; 20%; 98,9% y 6,2 respectivamente. Cuando se emplearon los puntos de corte publicados por Zirol et al. para F ≥ 2 y EL ≥ 8,8, los datos obtenidos fueron: 66,7%; 87,3%; 61,5%; 89,6% y 3,5 respectivamente. Para F ≥ 3 y EL ≥ 9,6 KPa, los valores no se modificaron respecto a los obtenidos con el otro punto de corte para ese grado de fibrosis. Para F4 y EL ≥ 14,6 KPa, los resultados fueron: 75%; 92,9%; 30%; 99% y 10,6 respectivamente.

**Conclusión.** El FS es un método simple para cuantificar el grado de FH independientemente de la causa de hepatopatía. Los parámetros de validez de la prueba son similares a los publicados previamente aunque la graduación de la FH se lleve a cabo con una clasificación diferente a la METAVIR. Los elevados resultados de E y VPN indican que se trata de una prueba muy útil para valorar el grado de FH.

**ACTIVACIÓN DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO EN PACIENTES CON CIRROSIS Y ASCITIS EN RESPUESTA A LA PRESENCIA DE ADN BACTERIANO**

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

Unidad Hepática, Hospital General Universitario Alicante, España.

La activación del Sistema del Complemento (SC) inicia una respuesta inmune inespecífica que incluye la opsonización y fagocitosis de bacterias. La proteína C3 es un factor predictivo del desarrollo de peritonitis bacteriana espontánea (PBE) en los pacientes con cirrosis. El SC puede ser activado por lipopolisacárido, pero se desconoce el comportamiento del SC en respuesta a otros antígenos como el ADN bacteriano (ADNbact) y a su posible variabilidad con respecto al tipo de bacteria origen (Gram+/-).

**Objetivo.** Evaluar la activación de las proteínas del SC en respuesta a la presencia de ADNbact en suero y LA de pacientes con cirrosis y ascitis con cultivo negativo.

**Pacientes y métodos.** Pacientes con cirrosis y ascitis con cultivo negativo fueron incluidos en el estudio. Los grupos I y II estuvieron formados por pacientes sin/con ADNbact, respectivamente, identificado por mediante broad-range PCR del gen 16S rRNA de procariontes y análisis por secuenciación. El grupo III incluyó pacientes con PBE y el grupo IV pacientes en DIS con norfloxacina. La activación del SC se puede evaluar mediante la degradación de sus componentes y el acúmulo de sus residuos truncados (C3b, C5a y complejo de ataque a membrana -CAM-). Su valoración en suero y LA se realizó mediante ELISA y se determinaron correlaciones entre grupos y muestras.

**Resultados.** Las tablas 1A y 1B resumen los valores en suero y LA de pacientes distribuidos en los grupos de estudio. El análisis de los grupos II y III de acuerdo con la clasificación de Gram no reveló diferencias significativas para ninguno de los factores del SC (Tabla 2).

**Conclusiones.** El ADNbact es capaz de inducir la degradación de proteínas del SC en pacientes con ascitis no infectada de forma independiente de endotoxina. La presencia de ADNbact en un subgrupo de estos pacientes causa una respuesta de este sistema similar a la observada en pacientes con PBE.

Tabla 1A.

	Grupo I (n = 19)		Grupo II (n = 16)	
	Suero	FA	Suero	FA
C3b (μg/mL)	81,61 ± 24,11	89,47 ± 5,19	115,64 ± 21,06*	127,98 ± 22,81*
CAM (ng/mL)	99,57 ± 25,83	98,71 ± 15,44	152,42 ± 37,76*	141,82 ± 34,54*
C5a (ng/mL)	80,83 ± 24,34	87,97 ± 36,15	99,81 ± 24,02	110,18 ± 25,76

Valores expresados como media ± desviación estándar; \*p < 0,05 comparado con el grupo I

Tabla 1B.

	Grupo III (n = 9)		Grupo IV (n = 9)	
	Suero	FA	Suero	FA
C3b (μg/mL)	132,28 ± 41,24*	143,55 ± 37,73*	83,18 ± 15,39	94,97 ± 17,78
CAM (ng/mL)	150,70 ± 51,56*	141,70 ± 53,34*	96,88 ± 13,55	93,18 ± 20,32
C5a (ng/mL)	118,15 ± 28,77	118,58 ± 31,25	78,67 ± 21,58	85,54 ± 22,11

Valores expresados como media ± desviación estándar; \*p < 0,05 comparado con el grupo I

Tabla 2.

	Grupo II (ADNbact +)		Grupo III (SBP)	
	Gram - (15)	Gram + (6)	Gram - (7)	Gram + (2)
Suero C3b (μg/mL)	115,26 ± 22,98	116,68 ± 17,53	123,57 ± 37,50	162,80 ± 52,75
Suero CAM (ng/mL)	148,51 ± 36,26	164,18 ± 45,42	144,98 ± 53,20	170,75 ± 57,06
Suero C5a (ng/mL)	96,43 ± 23,87	109,98 ± 24,74	114,93 ± 29,30	129,45 ± 33,87
FA C3b (μg/mL)	126,91 ± 22,82	130,95 ± 26,04	143,41 ± 36,27	142,30 ± 59,11
FA CAM (ng/mL)	147,32 ± 34,03	128,35 ± 37,41	156,35 ± 51,43	90,44 ± 11,79
FA C5a (ng/mL)	106,15 ± 19,12	122,28 ± 41,46	126,09 ± 31,18	92,32 ± 14,45

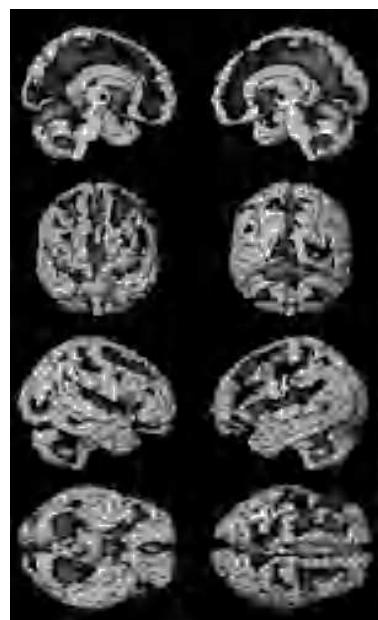
Valores expresados como media ± desviación estándar; FA: fluido ascítico.

**NUEVAS TÉCNICAS DE RESONANCIA MAGNÉTICA REVELAN HALLAZGOS COMPATIBLES CON ATROFIA CEREBRAL EN PACIENTES CON CIRROSIS**

M.E. Baccaro<sup>1</sup>, M. Guevara<sup>1</sup>, B. Gómez-Ansón<sup>2</sup>, C. Testa<sup>3</sup>, A. Torre<sup>1</sup>, G. C Monté-Rubio<sup>2</sup>, M.N. Pépin<sup>1</sup>, M. Martín-Llahí<sup>1</sup>, C. Terra<sup>1</sup>, V. Arroyo<sup>1</sup> y P. Ginès<sup>1</sup>

Unidad de Hepatología<sup>1</sup> y Servicio de Radiología<sup>2</sup>. Hospital Clínic Barcelona. Centro S. Giovanni di Dio-Fatebenefratelli. Brescia<sup>3</sup>.

La encefalopatía hepática se considera una alteración funcional y reversible de la función cerebral. Sin embargo, estudios anatómopatológicos y morfológicos mediante TAC cerebral sugieren que los pacientes con cirrosis presentan alteraciones orgánicas cerebrales consistentes en atrofia y alteraciones estructurales de las células cerebrales. No obstante, la localización e intensidad de estos posibles cambios estructurales así como su posible relación con la severidad de la cirrosis no se ha investigado. En este estudio aplicamos técnicas de resonancia magnética (RM), que se han utilizado para evaluar enfermedades degenerativas (enfermedad de Alzheimer), a pacientes con cirrosis hepática. Se realizó una RM cerebral a 60 pacientes con cirrosis hepática en diferentes estadios de la enfermedad (19 Child A, 17 Child B y 24 Child C) y a 51 sujetos sanos pareados por edad y sexo. La imágenes se analizaron usando el método de Sienax, que es un método que cuantifica volúmenes cerebrales, y el método de morfometría basada en voxel (voxel-based morphometry -VBM-), que permite evaluar la pérdida de densidad de la sustancia blanca y gris en distintas áreas del cerebro. Los pacientes con cirrosis presentaron un volumen cerebral total significativamente inferior al de los sujetos sanos ( $1206 \pm 72$  vs  $1273 \pm 65$ , respectivamente;  $p < 0,001$ ); además, los volúmenes de sustancia gris y blanca también fueron inferiores en los pacientes con cirrosis. El uso del VBM identificó áreas de disminución de densidad compatibles con pérdida de sustancia gris y blanca, en diversas zonas cerebrales, en particular el lóbulo frontal y occipital y el giro cingulado (Figura: RM de pacientes con cirrosis: las áreas de colores representan áreas de disminución de densidad). Estos cambios fueron más intensos en los pacientes con cirrosis alcohólica, aunque también estaban presentes en la cirrosis por virus de la hepatitis C, y se correlacionaron con la severidad de la cirrosis, estimada por la clasificación de Child-Pugh, y la encefalopatía hepática. En conclusión, la aplicación de técnicas avanzadas de RM revela la existencia de áreas cerebrales con disminución de densidad que se correlacionan con la etiología de la cirrosis, su severidad y la presencia de encefalopatía hepática. Estos hallazgos podrían ser relevantes en el conocimiento de los efectos de la cirrosis sobre la función cerebral.



### EFEKTOS AGUDOS DE ILOPROST SOBRE LA HEMODINÁMICA PULMONAR, ESPLÁCNICA Y SISTÉMICA EN PACIENTES CON HIPERTENSIÓN PORTOPULMONAR

J.G. Abraldes<sup>1</sup>, J.C. García-Pagan<sup>1</sup>, M.T. Melgosa<sup>2</sup>, J.L. Valera<sup>2</sup>, P. Bellot<sup>1</sup>, J. Bosch<sup>1</sup>, R. Rodríguez-Roisin<sup>2</sup> y J.A. Barberà<sup>2</sup>  
*Servicios de Hepatología<sup>1</sup> y Pneumología<sup>2</sup>. Hospital Clínic. Barcelona.*

El uso de vasodilatadores para el tratamiento de la hipertensión porto-pulmonar se ve limitado por los efectos deletéreos de los vasodilatadores sobre la circulación sistémica de los pacientes con hipertensión portal. El tratamiento con iloprost (ILO, análogo estable de la prostacilina) es eficaz en la hipertensión pulmonar primaria, mejorando los síntomas y la hemodinámica pulmonar. Su administración por vía endovenosa se asocia con descenso de la presión arterial sistémica, mientras que esto no es así cuando se administra por vía inhalatoria. Por ello, el ILO inhalado podría constituir un tratamiento eficaz y seguro en la hipertensión porto-pulmonar. En este estudio piloto se investigaron los efectos hemodinámicos agudos de ILO sobre la hemodinámica pulmonar, esplácnica y sistémica de pacientes con hipertensión porto-pulmonar.

**Métodos.** En 10 pacientes con cirrosis e hipertensión porto-pulmonar (3 con shunt portosistémico) se realizaron mediciones basales de presión arterial pulmonar (PAP), gasto cardíaco y presión arterial sistémica basalmente y a los 15, 30, 45 y 60 minutos tras la administración por vía inhalatoria de 2,8 µg de ILO. En 5 pacientes se obtuvieron mediciones del gradiente de presión venosa hepática simultáneas.

**Resultados.** La administración de ILO redujo significativamente la PAP y la resistencia vascular pulmonar. Estos efectos fueron máximos a los 15 min (PAP basal  $47 \pm 9$  mmHg vs  $40 \pm 10$  mmHg a los 15 min,  $p < 0,05$ ), volviendo a los valores iniciales a los 60 minutos ( $45 \pm 9$  mmHg). No se observaron cambios significativos en el GPVH (basal:  $17,8+4,3$  mmHg vs  $16,8+5,0$  y  $16,5+5,5$  mmHg a los 30 y 60 min respectivamente; ns) ni en la presión arterial media (basal:  $88 \pm 27$  mmHg vs  $82 \pm 12$  y  $84 \pm 13$  a los 30 y 60 min; ns).

**Conclusión.** La administración por vía inhalatoria de Iloprost induce un efecto vasodilatador transitorio sobre la circulación pulmonar, sin efectos deletéreos sobre la circulación esplácnica y sistémica.

### RESULTADOS A LARGO PLAZO CON LOS TRATAMIENTOS ACTUALMENTE EMPLEADOS PARA LA PREVENCIÓN DE RECIDIVA HEMORRÁGICA POR VARICES

C. Aracil, A. Colomo, I. Ordás, C. Guarner,  
 J.M. López-Balaguer, J. Miñana, A. Gallego, X. Torras,  
 C. Villanueva y J. Balanzó

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

Después de un episodio de hemorragia aguda por varices esofágicas el riesgo de fallecer durante el primer año es del 33% al 57%, en pacientes no tratados. En los últimos años diferentes tratamientos como los B-bloqueantes asociados a nitratos, la ligadura sola o asociada a fármacos, y la DPPI, han demostrado ser eficaces en la prevención de recidiva hemorrágica durante un período de seguimiento de 2-3 años. Sin embargo, su eficacia a más largo plazo no ha sido suficientemente evaluada. El objetivo del presente estudio fue evaluar la influencia de estos tratamientos en el pronóstico a largo plazo tras un episodio agudo de hemorragia varicosa.

**Métodos.** En todos los pacientes con hemorragia por varices esofágicas admitidos en nuestra Unidad durante los últimos 15 años, se inició tratamiento para la prevención de recidiva hemorrágica al 5º día de ingreso con B-bloqueantes+nitratos (43%), ligadura (22%), escleroterapia (9%) o la asociación de fármacos+ligadura (25%). Se realizaron visitas de seguimiento cada 4 meses. El seguimiento fue censurado 6 meses después de la última inclusión.

**Resultados.** Se incluyeron un total de 400 pacientes con un seguimiento medio de  $48 \pm 40$  meses, con edad media de  $59 \pm 12$  años,

65% varones, 48% de etiología alcohólica y un 81% Child-Pugh B/C. A los 3 meses de seguimiento, un 49% fueron Child-Pugh B/C, un 52% desarrollaron ascitis y un 16%, hepatocarcinoma. Entre los alcohólicos, un 77% eran abstinentes. En 114/302 (38%) se objetivo un descenso del GPSH a  $< 12$  mmHg o  $> 20\%$  respecto al basal (respondedores hemodinámicos). La probabilidad de recidiva a 1,3,5,7 y 10 años fue del 30%, 39%, 47%, 49% y 54%, y la de fallecimiento del 21%, 40%, 52%, 61% y 68%, respectivamente. Tanto la probabilidad de permanecer sin recidiva como la de supervivencia fueron significativamente superiores en los respondedores que en los no-respondedores (73% vs 44% y 46% vs 23% a 10 años, respectivamente,  $P < 0,001$  en ambos casos). El Child-Pugh a los 3 meses, la abstinencia del alcohol y la respuesta hemodinámica fueron predictores independientes de recidiva. Siendo la recidiva, Child-Pugh a los 3 meses, el GPSH a los 1-3 meses, la edad y el gasto cardíaco basal, predictores independientes de fallecimiento.

**Conclusiones.** Con los tratamientos actualmente empleados en profilaxis secundaria, la probabilidad de recidiva es del 30% al año de seguimiento y aumenta  $<= 5\%$  anual hasta los 15 años de seguimiento. La probabilidad de supervivencia esperada mejora, siendo de 79%, 60% y 48% a 1, 3 y 5 años, respectivamente. La recidiva hemorrágica es un predictor independiente de supervivencia a largo plazo, siendo el Child-Pugh a los 3 meses, la respuesta hemodinámica y la abstinencia del alcohol predictores independientes de recidiva a largo plazo.

### LA EXPANSIÓN CON ALBÚMINA NO ES NECESARIA EN PACIENTES CIRRÓTICOS CON PERITONITIS BACTERIANA ESPONTÁNEA SIN CRITERIOS DE RIESGO DE MORTALIDAD

M. Casas<sup>1</sup>, G. Soriano<sup>1</sup>, E. Ayala<sup>1</sup>, C. Guarner Argente<sup>1</sup>, I. Ordás<sup>1</sup>, J. Mercé<sup>2</sup>, J. Balanzó<sup>1</sup> y C. Guarner<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Unidad de Hepatología. Servicio de Patología Digestiva. <sup>2</sup>Servicio de Bioquímica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.*

La expansión con albúmina disminuye la incidencia de disfunción renal y la mortalidad en pacientes cirróticos con peritonitis bacteriana espontánea (PBE) seleccionados (edad  $< 80$  años sin shock, hemorragia digestiva, tratamiento antibiótico previo, fíleo, encefalopatía grado 3-4, nefropatía orgánica, creatinina  $> 265$  mmol/l, insuficiencia cardíaca ni HIV) (Sort, NEJM 1999). Sin embargo, se ha sugerido que la albúmina no mejoraría el pronóstico en los pacientes con PBE y bajo riesgo de mortalidad (bilirrubina  $< 70$  mmol/l y urea  $< 12$  mmol/l).

**Objetivo.** Determinar la incidencia de PBE con bajo riesgo de mortalidad en una serie no seleccionada de pacientes con PBE, así como la mortalidad en dichos pacientes y su relación con la expansión con albúmina.

**Pacientes y métodos.** Se han analizado todos los episodios de PBE en pacientes cirróticos diagnosticados en el hospital durante el período 2000-2004 y se ha determinado la mortalidad de los pacientes con bajo riesgo de mortalidad.

**Resultados.** Se identificaron un total de 125 episodios de PBE. Entre los 72 pacientes (57,6%) que presentaban criterios de alto riesgo de mortalidad (bilirrubina  $\geq 70$  mmol/l o urea  $\geq 12$  mmol/l) fallecieron durante el ingreso 32 (44,4%), mientras que entre los 53 pacientes (42,4%) con criterios de bajo riesgo fallecieron 5 (9,4%) ( $p < 0,001$ ). No hubo diferencias en la mortalidad entre los pacientes de bajo riesgo que recibieron albúmina y los que no la recibieron (2/8, 25% vs 3/45, 6,6% (pNS)). Si en el grupo con bajo riesgo de mortalidad se excluyen los pacientes con criterios de exclusión del estudio de Sort, NEJM 1999, quedan 27 pacientes, de los cuales falleció sólo 1 (3,7%) de los 5 tratados con albúmina y ninguno de los 22 que no recibieron albúmina (p NS).

**Conclusiones.** Los pacientes cirróticos con PBE y bajo riesgo de mortalidad (bilirrubina  $< 70$  mmol/l y urea  $< 12$  mmol/l) representan casi la mitad de los pacientes con PBE en una serie no seleccionada. Estos pacientes presentarían un buen pronóstico que no mejoraría con la expansión con albúmina.

**LA TRASLOCACIÓN BACTERIANA INDUCE LA SÍNTESIS DE CITOCINAS PROINFLAMATORIAS Y EMPEORA LA CIRCULACIÓN HIPERDINÁMICA EN PACIENTES CON CIRROSIS Y ASCITIS**

P. Bellot<sup>1</sup>, J.C. García-Pagán<sup>1</sup>, R. Francés<sup>2</sup>, J.G. Abraldes<sup>1</sup>, J.M. González-Navajas<sup>2</sup>, M. Navasa<sup>1</sup>, M. Pérez-Mateo<sup>2</sup>, J. Such<sup>2</sup> y J. Bosch<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Hemodinámica Hepática, Servicio de Hepatología, IMDIM, IDIBAPS Hospital Clínic de Barcelona. <sup>2</sup>Unidad de Hepatología, Hospital General Universitario de Alicante.

En pacientes con cirrosis hepática las infecciones bacterianas, debido al estímulo de citoquinas inflamatorias, ocasionan un deterioro de la hemodinámica sistémica y esplácnica. La traslocación de bacterias desde el intestino es un paso previo importante en el desarrollo de infección en pacientes cirróticos, si bien en la mayoría de las ocasiones son eliminadas por el sistema inmune sin que se desarrolle ésta. La presencia de fragmentos de ADN bacteriano (ADNbact) en ausencia de infección ha mostrado ser un marcador directo de traslocación bacteriana, además de ser capaz de provocar "per se" una respuesta inflamatoria.

**Objetivos.** Investigar la relación entre traslocación bacteriana (estimada por la presencia de ADNbact en plasma), respuesta inflamatoria y alteraciones hemodinámicas sistémicas y hepáticas en pacientes cirróticos.

**Pacientes y métodos.** Se incluyeron 59 pacientes con cirrosis sin evidencia de infección bacteriana activa (40 de ellos con ascitis), a los que se les realizó una determinación de ADNbact (broad-range PCR del gen 16S y posterior secuenciación de nucleótidos), determinación de nitratos y nitritos (NOx), factor de necrosis tumoral alfa (TNFα), lipopolisacaride binding protein (LBP), hemocultivos y estudio hemodinámico, con determinación del gradiente de presión venosa hepática (GPVH) y cateterismo cardiopulmonar.

**Resultados.** 15 pacientes presentaron ADNbact en plasma (11 perteneciente a bacilos Gram- y 4 a bacterias Gram+) y en 44 la determinación de ADNbact fue negativa. Solo se detectó ADNbact en pacientes con ascitis. Por ello, el estudio se centró en los pacientes con ascitis ADNbact (+) (n = 15) y ADNbact (-) (n = 25). No existieron diferencias significativas entre ambos grupos en cuanto a la edad, sexo ni etiología de la cirrosis. El grado de insuficiencia hepática fue ligeramente mayor en los pacientes ADNbact (+) (MELD de  $17 \pm 4$  vs  $14,5 \pm 4$  puntos; p = 0,072). Sin embargo, los pacientes ascitis ADNbact (+) tenían unos niveles de LBP y TNFα significativamente superiores que los pacientes ADNbact (-) (LBP =  $92 \pm 27$  vs  $57 \pm 26$  µg/mL; p = 0,007 y TNFα =  $415 \pm 116$  vs  $173 \pm 70$  µg/mL; p = 0,001). Esto se asoció con unos niveles más elevados de NOx ( $36,8 \pm 11,3$  vs  $29,4 \pm 12,7$  µg/mL; p = 0,07). La presión arterial media y la resistencia vascular sistémica fue significativamente inferior en los pacientes ADNbact (+) con respecto a los ADNbact (-) (PAM =  $74 \pm 9$  vs  $86 \pm 11$  mmHg; p = 0,007 e IRVS =  $1241 \pm 442$  vs  $1537 \pm 410$  dyn\*seg\*m<sup>-2</sup>\*cm<sup>-5</sup> respectivamente; p = 0,04); sin diferencias significativas en el gasto cardíaco, frecuencia cardíaca ni en GPVH. Los resultados fueron similares independientemente que el ADN fuera proveniente de gérmenes Gram- o Gram+.

**Conclusiones.** Este estudio apoya la hipótesis de que en los pacientes cirróticos con ascitis, el paso de productos bacterianos desde el intestino a la circulación contribuye a agravar la vasodilatación sistémica probablemente a través de una activación de citoquinas inflamatorias y aumento del óxido nítrico.

**COMPARACIÓN PROSPECTIVA ENTRE LA ELASTOGRAFÍA, EL APRI Y LA PRUEBA DE FORNS PARA LA VALORACIÓN DE LA FIBROSIS EN PACIENTES CON SIGNOS HISTOLÓGICOS DE ENFERMEDAD GRASA DEL HÍGADO NO ALCOHÓLICA (EGHNA)**

J.C. Marín Gabriel<sup>1</sup>, J. de la Cruz Bértolo<sup>2</sup>, M. Pérez Carreras<sup>1</sup>, A. Martín Algíbez<sup>1</sup>, I. Fernández Vázquez<sup>1</sup>, R. Muñoz Gómez<sup>1</sup>, F. Colina Ruizdelgado<sup>3</sup>, G. López Alonso<sup>3</sup> y J.A. Solís Herruzo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Medicina de Aparato Digestivo. <sup>2</sup>Unidad de Epidemiología Clínica. <sup>3</sup>Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

**Objetivos.** La elastografía de transición permite cuantificar el grado de fibrosis hepática (FH) de manera no traumática. No se ha evaluado

si la presencia de EGHNA altera los datos que aporta la realización del FibroScan® (FS). El objetivo de este estudio es evaluar la utilidad del FS y de los marcadores bioquímicos más sencillos de aplicar en la práctica clínica para cuantificar el grado de FH en pacientes con EGHNA.

**Pacientes y métodos.** Se incluyeron 111 pacientes consecutivos sometidos a una biopsia hepática percutánea (BHP) entre diciembre de 2005 y junio de 2006. De ellos, 47 (42,3%) presentaban cambios histológicos de EGHNA con o sin esteatohepatitis asociada. Para estandarizar el grado de fibrosis en las muestras histológicas se utilizó la clasificación de Scheuer. El estudio con FS y la extracción de muestras séricas para los análisis bioquímicos se realizaron el mismo día de la BHP. La utilidad para detectar el grado de fibrosis mediante las pruebas no invasivas se estimó mediante el cálculo del área bajo la curva (ABC-ROC).

**Resultados.** La distribución por sexos fue: 66% H y 34% M. La mediana de edad fue de 47 años (rango: 21 - 74). La mediana del índice de masa corporal (IMC) fue de 26,4 kg/m<sup>2</sup> (rango: 14,6 - 41,5). El porcentaje de pacientes diabéticos fue del 8,5%. En el 42,6% de los casos la afectación era < 5% del parénquima, en el 36,2% de los pacientes alcanzaba entre el 5 y el 33%, en el 10,6% entre el 33 y el 66% y era masiva en el 8,5% de los casos. Se observaron signos histológicos de esteatohepatitis en el 55,3% de los casos. La distribución por grados de fibrosis evaluada por el estudio histológico fue: F0 en 17 pacientes (36%), F1 en 19 (40,4%), F2 en 5 (10,6%) y F3 en 3 (6,4%) y F4 en 3 (6,4%). La medición de la elasticidad (E) con el FS se logró obtener en 44 pacientes (93,6%) con una mediana de 5,85 kPa (rango: 2,9 - 26,6). Por grados de FH, la media de E y su DE fueron:  $5,4 \pm 2,6$  kPa para F0;  $6,5 \pm 2$  kPa para F1;  $7,8 \pm 2,9$  kPa para F2;  $10,2 \pm 4,9$  kPa para F3 y  $18,1 \pm 8,1$  kPa para F4. El valor de la mediana del APRI fue de 0,49 (rango: 0,15 - 3,36). Con el test de Forns la mediana fue 5,15 (rango: -0,3 - 9,1). Las ABC-ROC para el FS, APRI y test de Forns fueron: 0,83, 0,74, y 0,69 respectivamente para F ≥ 2 (p = 0,01); 0,88, 0,84, y 0,73 respectivamente para F ≥ 3 (p = 0,02) y 0,97, 0,83, y 0,76 respectivamente para F4 (p = 0,003).

**Conclusión.** El FS es un método simple para cuantificar el grado de FH en pacientes con esteatosis hepática. Su precisión diagnóstica fue superior a la obtenida cuando se utilizan como marcadores bioquímicos de FH el APRI o la prueba de Forns para cualquier grado de FH.

**CIRROSIS HEPÁTICA EN PACIENTES INFECTADOS POR VIH: ETIOLOGÍA, EPIDEMIOLOGÍA, EVOLUCIÓN CLÍNICA Y UTILIDAD DE LA ELASTOGRAFÍA DE TRANSICIÓN**

C. Castellares, P. Barreiro, A. Moreno<sup>1</sup>, A. Ruiz-Sancho, M. Romero<sup>1</sup>, S. Albertos<sup>1</sup>, J. García-Samaniego<sup>1</sup> y V. Soriano  
Servicios de Enfermedades Infecciosas y <sup>1</sup>Hepatología. Hospital Carlos III, Madrid.

**Introducción.** La disminución de las entidades definitorias de SIDA por el uso de la terapia antirretroviral de gran actividad, y la elevada prevalencia de enfermedad hepática crónica en pacientes con infección por VIH, han tenido como consecuencia que la cirrosis hepática (CH) sea una de las causas principales de morbi-mortalidad en esta población. La elastografía de transición (FibroScan®, FS) es una técnica de imagen que permite evaluar la fibrosis hepática de manera no invasiva y cuya utilidad ha sido demostrada recientemente en la hepatitis crónica por VHC.

**Pacientes y métodos.** Estudio trasversal que incluyó a todos los pacientes infectados por VIH atendidos en nuestro hospital a los que se realizó un FS desde septiembre de 2004 a junio de 2006. Se recogieron las variables demográficas, clínicas y los parámetros de laboratorio de la población analizada. El diagnóstico elastográfico de CH se definió por valores de FS > 12 Kpa (F4).

**Resultados.** Se evaluó un total de 2.168 pacientes VIH+. De ellos 182 (9%) cumplieron criterios elastográficos de CH. La prevalencia de CH fue del 1% (12/1284) en pacientes monoinfectados por VIH, 7% (6/84) en HBsAg+; 19% (149/777) en antiVHC+ y 50% (9/18)

en pacientes con coinfección VHB/VHC. La principal causa de CH fue la infección por VHC (83%) Los pacientes con cifras de CD4 < 200 células/ml presentaron CH en mayor proporción que los que tenían recuentos superiores a 200 (18 vs 12% [p < 0,05]).

Todos los pacientes cirróticos VHB+ recibían tratamiento con LAM+TDF y el 75% de los pacientes cirróticos VHC+ habían sido tratados previamente. La prevalencia de eventos clínicos relacionados con la cirrosis fue: varices esofágicas: 60%, ascitis 22%, hemorragia por varices 12%, y encefalopatía 12%. El estadio de la enfermedad hepática según la clasificación de Child-Pugh se distribuyó de la siguiente manera: A 67%, B 27% y C 4%. Los siguientes valores de FS se asociaron con el riesgo de varices esofágicas: 20 Kpa (79% sensibilidad, 68% especificidad); encefalopatía: 33 Kpa (80% sensibilidad y especificidad); Child B: 20 Kpa (75% sensibilidad, 50% especificidad); Child C: 60 Kpa (67% sensibilidad, 96% especificidad). La incidencia anual de muerte entre los pacientes cirróticos fue del 7,5% al año.

**Conclusiones.** La CH tiene una prevalencia del 9% en los pacientes VIH+ y es especialmente frecuente en los pacientes coinfectados por VHC y/o múltiples virus hepatotropos. La hepatitis crónica por VHB no parece incrementar el riesgo de CH probablemente por el empleo de tratamiento antiviral con actividad antiVHB. El hallazgo de valores de FS > 20 Kpa puede ser útil para identificar a los pacientes cirróticos VIH+ subsidiarios de profilaxis primaria de hemorragia por varices esofágicas.

#### ANÁLISIS EX-VIVO DE LA CAPACIDAD DE RESPUESTA A ENDOTOXINA DE LOS LEUCOCITOS POLIMORFONUCLEARES EN PACIENTES CIRRÓTICOS. CORRELACIÓN CON LA EVOLUCIÓN CLÍNICA

A.R. Guerra, F. Casafont, M. Cobo, A. Estébanez  
y F. Pons Romero

Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander.

En los pacientes con cirrosis hepática es frecuente la translocación de endotoxinas bacterianas desde el lumen intestinal. En respuesta los PMNs generan la proteína BPI, que presenta una elevada afinidad por la endotoxina (LPS) y es capaz de neutralizar sus efectos pro-inflamatorios. Si bien en estudios previos hemos observado que un número significativo de pacientes cirróticos son capaces de generar BPI, existe un subgrupo en los que no se detectan niveles elevados de esta proteína. Para intentar dilucidar si la falta de respuesta puede deberse a una disfunción leucocitaria nos hemos propuesto.

**Objetivo.** Valorar ex-vivo la capacidad de generar BPI, por parte de los PMNs de pacientes cirróticos, en respuesta al estímulo con endotoxina. Analizar su correlación con la evolución clínica.

**Pacientes.** Se seleccionó un grupo de 14 enfermos cirróticos cuyo nivel in vivo de BPI fue similar al de los individuos sanos (pacientes 6,93 ng/ml; controles 10,50 ng/ml). 10 sujetos sanos fueron tomados como control.

**Métodos.** Se extrajeron muestras de sangre de cada paciente en tubos libres de pirógeno. En un sistema ex-vivo de sangre total se valoró la capacidad de los PMNs de liberar BPI en presencia de distintas concentraciones de LPS tras una incubación de 5 horas. La cantidad de BPI liberada al medio se determinó mediante ELISA. Durante el seguimiento del paciente se analizó una variable compuesta que incluía fallecimiento o reingreso por causas relacionadas con la hepatopatía.

**Resultados.** La liberación de BPI por parte de los leucocitos de los sujetos controles aumentó de forma proporcional al tiempo de incubación y a la concentración de endotoxina utilizada. Al cabo de las 5 horas de incubación destacaron dos grupos de pacientes: en 7 de ellos se apreciaron niveles de BPI similares a los de los controles sanos (pacientes 136,2 ng/ml vs controles 115,5 ng/ml; p = 0,28). Por el contrario en otros 7 pacientes se observó una menor respuesta a este estímulo, con una producción de BPI significativamente inferior (38,8 ng/ml) a la de los controles (115,5 ng/ml); p < 0,01. Durante el período de seguimiento (4,9 ± 1,9 meses) todos los

pacientes que presentaron una menor respuesta al test ex-vivo requirieron nuevos ingresos o fallecieron. Por el contrario solo dos de aquellos con una respuesta adecuada ex-vivo tuvieron esta evolución (p = 0,01). Estos datos sugieren la existencia de enfermos cirróticos con una disfunción leucocitaria que se traduce en una inadecuada liberación de BPI en presencia de endotoxina en los estudios ex-vivo. Además se ha observado que esta disfunción leucocitaria guarda relación con la evolución clínica, por lo que pudiera ser de utilidad para identificar un subgrupo de pacientes con peor pronóstico.

#### EFFECTO DE LAS FLEBOTOMÍAS EN LA RESISTENCIA INSULÍNICA EN LOS PACIENTES CON SOBRECARGA DE HIERRO

M. Vázquez Romero<sup>1</sup>, A.P. Giménez<sup>2</sup>, M. Matías Prats<sup>2</sup>, J.R. Foruny Olcina<sup>1</sup>, M. Rodríguez Gandía<sup>1</sup> y D. Boixeda de Miquel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gastroenterología. <sup>2</sup>Bioquímica Clínica. Hospital Ramón y Cajal (Madrid).

**Introducción.** Una de las medidas terapéuticas más eficaces para el manejo de las situaciones de sobrecarga de hierro consiste en la realización de flebotomías periódicas habiéndose propuesto que además podrían mejorar la resistencia insulínica que frecuentemente ocurre en estos pacientes.

**Objetivo.** Valorar la eficacia de las flebotomías terapéuticas en la evolución de la resistencia insulínica en un grupo de pacientes con sobrecarga de hierro.

**Material y métodos:** Se estudiaron prospectivamente 223 pacientes con sobrecarga de hierro (48 con hemocromatosis hereditaria y 175 con hemosiderosis secundarias). Inicialmente en cada paciente se determinaron los parámetros bioquímicos relacionados con el hierro, así como las pruebas de función hepática. Asimismo, en 103 de ellos se determinaron la glucemia y la insulinemia para el cálculo posterior de los tests de resistencia insulínica:

HOMA:  $(\text{insulina (mU/l}) \times \text{glucosa (mmol/l)}) / 22,5$

QUICKI:  $1 / [\log_{10}(\text{insulinemia}) - \log_{10}(\text{glucemia})]$

Tras realizar 10-20 flebotomías bisemanales, se determinaron los mismos parámetros. Los datos se procesaron con el programa SPSS 11.0. Se compararon los resultados pre y post-flebotomías de cada paciente con el t-test para datos pareados y se consideró significativa una p < 0,05.

**Resultados.** 155 pacientes eran varones (69,5%) y 68 mujeres (30,5%), siendo la edad media de 45,5 (± 13,8) años. Se valoraron las diferencias pre y post-tratamiento observándose descensos estadísticamente significativos en las cifras de hierro sérico (p < 0,001), índice de saturación de transferrina (p < 0,001), ferritina sérica (p < 0,001), GPT (p = 0,004) y fosfatasa alcalina (p < 0,001), sin objetivarse descensos significativos en otros parámetros analíticos como glucemia, colesterol, triglicéridos, GGT, GOT y bilirrubina. Sin embargo, no se detectaron descensos estadísticamente significativos de los índices de resistencia insulínica HOMA y QUICKI (tabla1).

Tabla 1: Índices HOMA y QUICKI pre y post-flebotomías

Parámetro analítico	Diferencia pre/post	Significación estadística
Índice QUICKI	-0,01 (dt: 0,03)	NS
Índice HOMA	-0,13 (dt: 1,9)	NS

NS: No significativa / dt: Desviación típica.

**Conclusión:** Como ya es sabido, en las situaciones clínicas de sobrecarga de hierro la realización de un número moderado de flebotomías mejora de forma precoz y evidente los parámetros del hierro e induce asimismo una mejoría en las pruebas de función hepática, pero sin embargo no se ha podido observar dicho efecto con respecto a la resistencia insulínica. Posiblemente sea necesario realizar estudios con tratamientos más prolongados y con distintos subgrupos de pacientes en función de su situación metabólica basal.

**RESULTADOS DE LA DERIVACIÓN PORTOSISTÉMICA  
INTRAHEPÁTICA NO RECUBIERTA EN LA CIRROSIS Y SÍNDROME  
DE BUDD-CHIARI. NECESIDAD DE UN SEGUIMIENTO  
HEMODINÁMICO ESTRECHO**

M. Cabanillas<sup>1</sup>, J.M. Pascasio<sup>1</sup>, J. Peiró<sup>2</sup>, J.M. Sousa,  
A. Iglesias<sup>2</sup>, M. Sayago<sup>1</sup>, A. Garrido<sup>1</sup>, T. Ferrer<sup>1</sup>, S. Aoufi<sup>1</sup>,  
A. Talegón<sup>2</sup> y J.L. Márquez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Aparato Digestivo. <sup>2</sup>Radiodiagnóstico. H.U. Virgen del Rocío. Sevilla.

**Objetivos.** Analizar los resultados de la derivación portosistémica intrahepática (DPSI) no recubierta en pacientes con cirrosis (CI) y síndrome de Budd-Chiari (SBC).

**Métodos.** 32 pacientes (29 CI, 3 SBC) a los que realizó DPSI. Se realizó ecografía-doppler (ECO) cada 3 meses y estudio hemodinámico (HEM) cada 6 meses o ante recurrencia clínica o sospecha ecográfica de disfunción (DF) de la DPSI. Se analizaron: indicaciones, morbilidad temprana (6 semanas) y en el seguimiento hasta la muerte, trasplante hepático o última revisión. Se valoró la presencia de DF ecográfica y hemodinámica de la DPSI y la necesidad y tipo de tratamiento.

**Resultados.** Edad: 53 ± 14 años. Sexo: Hombres (72%). Seguimiento (medianas): 396 días (14-1117). Indicaciones-DPSI: Hemorragia digestiva (HD), 20 casos (19 CI, 1 SBC); Ascitis/Hidrotórax (A/H), 10 casos (8 CI, 2 SBC); Otras, 2 casos. Se controló la HD en el 100% de los casos y recurrió en 5 (4 CI, 1 SBC) (25%). La DPSI eliminó la necesidad de para/toracocentesis en el 80% de los casos con A/H (75% en CI; 100% en SBC). Fallecieron 6 pacientes (19%), todos CI y 3 en fase temprana. El 59% tuvo complicaciones tempranas, más frecuentes en el grupo de A/H que en HD (70 vs 20%; p = 0,012); encefalopatía (40 vs 10%; p = 0,076), disfunción hepática (50 vs 10%; p = 0,026), insuficiencia cardíaca (30 vs 0%; p = 0,030). En el seguimiento, la encefalopatía (57 vs 30%) y la ascitis (87 vs 55%) tendieron a ser más frecuentes en el grupo de A/H (p = ns). No hubo diferencias en la supervivencia entre ambas indicaciones de DPSI, si bien la mortalidad temprana sólo ocurrió en la A/H (20 vs 0%). Se realizaron 59 HEM, detectando DF en 40 (68%), de los que el 27% (11/40) presentaban recurrencia clínica. La DF fue tratada eficazmente mediante angioplastia en 36 (90%) y con nueva DPSI en 4 (10%). La ECO detectó el 27% de los casos de DF. Tasas similares de DF se observaron en los primeros 6 meses: ECO (30%), HEM (74%).

**Conclusiones.** 1) La HD constituyó la principal indicación de la DPSI, consiguiendo un excelente control de la misma, con una aceptable tasa de recurrencias que siempre pudieron ser tratadas. 2) Se controló la A/H en el 80% y, aunque la mayoría desarrolló ascitis en algún momento del seguimiento, no requirieron paracentesis. 3) Los pacientes con A/H presentaron mayor morbilidad temprana y tendieron a desarrollar más complicaciones en el seguimiento posterior, por lo que la indicación de DPSI ha de hacerse con cautela. 4) La precoz y frecuente detección de DF obliga a un seguimiento temprano y estrecho. 5) La ECO mostró pobre sensibilidad para la detección de DF, lo que hace necesario un seguimiento hemodinámico precoz y frecuente para detectar DF parcial, tributaria de tratamiento angioplástico, que reduzca el riesgo de obstrucción completa de la DPSI y de recurrencia clínica.

**LA MODULACIÓN DE LA TRASLOCACIÓN BACTERIANA  
MEDIANTE ANTI-TNF-ALFA EN RATAS CON CIRROSIS Y ASCITIS  
NO SE OBSERVA EN ANIMALES TRATADOS CON  
INMUNOGLOBULINA G INESPECÍFICA**

R. Francés, M. Chiva, E. Sánchez, J.M. González-Navajas,  
T. Llobet, P. Zapater, G. Soriano, C. Muñoz, J. Balanzó,  
M. Pérez-Mateo, X. Song, C. Guarner y J. Such

Unidad Hepática. Hospital General Universitario. Alicante, España.  
Unidad Hepática. Hospital de la Sta. Creu i St. Pau. Barcelona,  
España. Centocor R & D, Inc., Malvern, USA.

La traslocación bacteriana (TB) induce un incremento de los niveles de factor de necrosis tumoral alfa (TNFa) que a su vez puede facilitar nuevos episodios de TB. Nuestro grupo ha demostrado previa-

mente que la administración de anti-TNFa reduce significativamente la incidencia de TB en el modelo experimental de cirrosis inducida por tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>). Desconocemos si este efecto es secundario a la capacidad inmunogénica intrínseca de la Inmunglobulina o a su efecto anti-TNFa.

**Objetivo.** Evaluar la especificidad del tratamiento con anticuerpo anti-TNFa monoclonal comparando sus efectos con los del tratamiento con IgG inespecífica.

**Animales y métodos.** 28 ratas Sprague-Dawley con cirrosis inducida por administración de CCl<sub>4</sub> y presencia de ascitis fueron tratadas con anti-TNFa (15 mg/kg ip los días 0 y 4) (Grupo I), e inmunoglobulina G (IgG2a) (Grupo II) como control en las mismas dosis. 10 días después del inicio del estudio se practicó una laparotomía en condiciones estériles obteniendo muestras de ganglios linfáticos mesentéricos, hígado, bazo, líquido ascítico y pleural, y sangre de cava para su cultivo. Se determinaron los niveles en sangre de TNFa y sus receptores solubles del TNFa, p55 y p75 mediante ELISA.

**Resultados.** La incidencia de TB en el grupo I (n = 11) fue del 9% mientras que en el grupo II (n = 9) fue del 55,5% (p < 0,05). Los valores basales de TNFa y sus receptores en los dos grupos resultaron similares y fueron significativamente superiores en el curso de la laparotomía en la mayoría de los casos (Tabla 1). Los cultivos realizados mostraron dentro del grupo I: 1 rata con E. coli en GLMs; y dentro del grupo II: 3 animales con E. coli en GLMs, 1 rata con E. coli en líquido pleural y 1 rata con enterococcus en líquido pleural.

**Conclusiones.** EL tratamiento con anti-TNFa reduce específicamente la TB a través de su porción Fab', ya que la IgG control no lo consigue. El aumento en los niveles de TNFa se deben a una cinética de aclaramiento más lenta de los inmunocomplejos TNFa-anti-TNFa y a la incapacidad del ELISA de distinguir entre TNFa libre (activo) y unido al anticuerpo (inactivo). La presencia continuada de TNFa en el medio aumenta la expresión de sus receptores p55 y p75, independientemente del tratamiento utilizado.

Tabla 1.

		Paracentesis	Laparotomía	p
Grupo I (n = 11)	TNF alpha (pg/mL)	9,93 ± 12,02	47,66 ± 71,14	< 0,05
	p55 (pg/mL)	134,23 ± 35,73	791,52 ± 508,80	< 0,01
	p75 (pg/mL)	1457,35 ± 423,05	1863,40 ± 485,43	< 0,05
Grupo II (n = 9)	TNF alpha (pg/mL)	17,76 ± 11,46	22,66 ± 11,76	ns
	p55 (pg/mL)	133,50 ± 36,42	621,27 ± 63,45	< 0,01
	p75 (pg/mL)	1310,38 ± 500,16	1870,63 ± 480,22	ns

**IMPORTANCIA DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS  
ANTINUCLARES ESPECÍFICOS EN LA GRAVEDAD Y CURSO  
DE LA CIRROSIS BILIAR PRIMARIA**

A. Parés<sup>1</sup>, C. Liaskos<sup>2</sup>, D.P. Bogdanos<sup>2\*</sup>, Ll. Caballería<sup>1</sup>,  
G. Norman<sup>3</sup>, D. Vergani<sup>2</sup> y J. Rodés<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Hepatología, Institut de Malalties Digestives Hospital, Clínic, IDIBAPS, Barcelona, España. <sup>2</sup>Institute of Liver Studies, King's College London School of Medicine at King's College Hospital, London, Gran Bretaña. <sup>3</sup>Inova Diagnostics, San Diego, EUA.

**Introducción y objetivos.** La cirrosis biliar primaria (CBP) se caracteriza por la presencia de anticuerpos antimitocondriales (AMA) frente al complejo de la 2-oxoácido deshidrogenasa (M2), anticuerpos antinucleares (ANA) con un patrón en anillo (PA) dirigidos frente al antígeno del poro nuclear (gp210) y anticuerpos con patrón tipo moteado nuclear múltiple (PMN) frente al antígeno sp100. Debido a que se ha sugerido que la presencia de estos anticuerpos antinucleares pueden estar relacionadas con la gravedad y un peor pronóstico de la CBP, se ha evaluado la prevalencia y significado clínico de estos anticuerpos antinucleares específicos en una serie de 170 pacientes con CBP (160 mujeres, edad 59,2 ± 12,2 años).

**Métodos.** Se determinó la presencia de AMA y ANA por inmunofluorescencia indirecta (IIF). Los AMA también se evaluaron mediante ELISA utilizando un antígeno M2 (Inova Diagnostics). Los subtipos de ANA se analizaron en células Hep-2 y mediante ELISA para detectar ANA anti-gp210 y sp100. Todos los pacientes seguían

tratamiento con ácido ursodesoxicólico (15 mg/kg/d), y se monitorizaron los cambios clínicos, bioquímicos y immunológicos en el momento del diagnóstico y durante el curso de la CBP.

**Resultados.** 155 pacientes tenían AMA por IIF y/o ELISA. 13 pacientes (8%), y 41 pacientes (41%) mostraban el PA o PMN, respectivamente, incluyendo dos casos con doble positividad. 19 pacientes (11%) tenían anti-gp210, y 34 pacientes (20%) anti-sp100. No se observaron diferentes especificidades antinucleares según la presencia de AMA. Los niveles basales de fosfatasa alcalina ( $865 \pm 500$  vs  $591 \pm 462$  u/l,  $p = 0,016$ ), bilirrubina ( $1,3 \pm 0,8$  vs  $0,82 \pm 0,5$  mg/dl,  $p < 0,001$ ), e índice de riesgo de Mayo ( $4,55 \pm 0,99$  vs  $4,12 \pm 0,78$ ,  $p = 0,038$ ) fueron más elevados en los pacientes con anti-gp210. La presencia de estos anticuerpos no se relacionó con el curso de la CBP (supervivencia, trasplante hepático o mortalidad), ni con la gravedad histológica. En comparación a los pacientes ANA negativos, los pacientes con un PA y/o anti-gp210 ( $n = 27$ ) tuvieron unos niveles más altos de fosfatasa alcalina al inicio ( $p = 0,04$ ) y al año ( $p = 0,026$ ), y de bilirrubina basal al inicio ( $p < 0,001$ ). La existencia de ANA con PMN y/o anti sp100 no se relacionaron con la gravedad ni con el curso de la enfermedad.

**Conclusión.** La presencia de anticuerpos antinucleares específicos de la CBP con patrón en anillo y/o anti-gp210 están asociados con la gravedad en el momento del diagnóstico, pero no permiten predecir el curso de la enfermedad.

#### INFECCIONES BACTERIANAS POR *ESCHERICHIA COLI* CON BETALACTAMAS DE ESPECTRO AMPLIADO (BLEA) EN PACIENTES CIRRÓTICOS. INCIDENCIA Y FACTORES PRONÓSTICOS

O. García, C. Rodríguez, J. Fernández, M. Navasa, P. Ginès y V. Arroyo

IMDiM, Hospital Clínic Barcelona.

Las infecciones bacterianas causadas por enterobacterias resistentes a antibióticos  $\beta$ -lactámicos constituyen un problema emergente en la población general. Su incidencia y factores pronósticos son desconocidos en pacientes cirróticos.

**Métodos.** Estudio prospectivo que evaluó todas las infecciones bacterianas producidas durante 1 año en una serie consecutiva de pacientes cirróticos ingresados en una Unidad de Hepatología.

**Resultados.** Se produjeron 161 infecciones bacterianas en 140 pacientes cirróticos (73% de origen comunitario). Las infecciones más frecuentes fueron la peritonitis bacteriana espontánea (45%), las infecciones urinarias (15%) y las neumonías (11%). Un 49% de las infecciones con cultivo positivo fueron causadas por bacilos gram-negativos y un 44% por cocos gram-positivos. De los 28 *Escherichia coli* aislados en el estudio, 10 (36%) poseían betalactamasas de espectro ampliado, siendo responsables del 6% del total de las infecciones (5 peritonitis bacterianas espontáneas, 2 bacteriemias espontáneas, 2 infecciones urinarias y 1 neumonía). El origen intrahospitalario de la infección (14% versus 3%;  $p = 0,03$ ), un ingreso hospitalario reciente (16% versus 2%;  $p = 0,001$ ) y la administración previa de antibióticos beta-lactámicos (24% versus 2%,  $p = 0,0001$ ) constituyeron factores predictores del desarrollo de infecciones por *E. coli* BLEA en el análisis univariado.

**Conclusiones.** La incidencia de infecciones bacterianas causadas por *E. coli* BLEA sigue siendo baja en pacientes cirróticos. Sin embargo, su incidencia en infecciones nosocomiales en pacientes con ingresos previos recientes o tratados recientemente con antibióticos beta-lactámicos es elevada, por lo que en este subgrupo de riesgo el tratamiento antibiótico empírico debería incluir un antibiótico carbapenémico.

#### INFLUENCIA DE LA DESNUTRICIÓN EN LA APARICIÓN DE COMPLICACIONES Y MORTALIDAD EN PACIENTES CIRRÓTICOS

M. Castellanos Fernández, S. Santana Porben, E. García Jordà y A. Rodríguez de Miranda

**Introducción.** La desnutrición puede constituir un predictor negativo para la supervivencia de los pacientes cirróticos; con el objetivo de conocer como se comporta esta problemática en nuestro medio,

nos decidimos a realizar un estudio descriptivo, prospectivo, para determinar la frecuencia de desnutrición en cirróticos y su vínculo a la mortalidad y aparición de complicaciones.

**Objetivos.** Identificar la influencia del estado nutricional de los pacientes con cirrosis hepática en la aparición de complicaciones y mortalidad.

**Metodología.** Se realizó un estudio descriptivo prospectivo desde febrero del 2005 a enero del 2006, se reclutaron un total de 121 pacientes con cirrosis hepática, con edades comprendidas entre los 16 y 80 años de edad, a todos los pacientes incluidos en la investigación se les realizó una encuesta subjetiva global del estado nutricional y evaluación antropométrica (peso, talla, circunferencia braquial, pliegue cutáneo tricipital y subescapular), con estos datos se realizaron análisis de reconstrucción de la composición corporal, grasa corporal (Durnin-Womersley) y masa muscular (Heymsfield). Todos estos datos nos permitieron clasificarlos en desnutridos y no desnutridos, la severidad de la enfermedad hepática se clasificó según estadio de Child Pugh. Se utilizaron tests estadísticos basados en la distribución Chi cuadrado ( $X^2$ ) para evaluar la fuerza de las asociaciones propuestas.

**Resultados.** La distribución por sexo no mostró grandes diferencias (64 mujeres y 57 hombres), el 59% de ellos tenían menos de 60 años, la raza blanca fue la que predominó. Las causas mas frecuentes de CH fueron el virus de la hepatitis C (VHC), el alcoholismo y el virus de la hepatitis B (VHB), el 92% de los casos tenían un período de evolución de la enfermedad menor de 5 años. La evaluación subjetiva del estado nutricional arrojó un 45% de desnutrición. La evaluación del estado nutricional según estadio de Child arrojó como resultado que es directamente proporcional el estadio de progresión de la enfermedad y la incidencia de desnutrición encontrándose un 56% de desnutrición en los pacientes con Child B y un 90% en el C. La privación de los compartimentos grasos y musculares se registró en el 36 y 37% de los casos respectivamente. El 60% de los pacientes que se complicaron estaban desnutridos ( $p = 0,00022$ , RR: 4,05). La mortalidad fue de 11%, de ellos, el 92% se catalogó como desnutrido ( $p = 0,00042$ , RR: 17,45).

**Conclusiones.** Los pacientes con cirrosis hepática desnutridos tienen mayor riesgo de complicaciones y muerte que los no desnutridos.

#### EFFECTO DE LA REALIZACIÓN DEL ESTUDIO HEMODINÁMICO SOBRE LA RECIDIVA DE LA HEMORRAGIA DIGESTIVA VARICOSA

M.A. Amorós<sup>1</sup>, J.M. Palazón<sup>1</sup>, L. Sempere<sup>1</sup>, E. de Madaria<sup>1</sup>, S. Pascual<sup>1</sup>, F. Carnicer<sup>1</sup>, J. Sola-Vera<sup>2</sup>, R. Laveda<sup>2</sup> y M. Pérez-Mateo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad Hepática. Hospital General Universitario de Alicante.

<sup>2</sup>Aparato Digestivo. Hospital general Universitario de Elche.

**Introducción.** El riesgo de hemorragia digestiva varicosa en cirróticos oscila en torno al 35%; y la frecuencia de recidiva alcanza el 70%; por esto, la profilaxis de la hemorragia está justificada. La prevención se realiza mediante fármacos (betabloqueantes y nitratos) combinados o no con ligadura endoscópica con bandas. La hipótesis con sobre la que hemos desarrollado el presente estudio es que el tratamiento, ajustado al estudio hemodinámico, reduce el número de recidivas de la hemorragia digestiva varicosa.

**Objetivo.** Valorar la utilidad de la realización del estudio hemodinámico previo a la elección de la profilaxis, comparando el riesgo de recidiva hemorrágica en dos grupos de pacientes: los que se someten al estudio y los que no.

**Material y métodos.** Se incluyeron un total de 40 pacientes cirróticos que habían ingresado por hemorragia digestiva varicosa en los hospitales de Alicante y Elche (en cada grupo se incluyeron 20 pacientes). A los pacientes de Alicante se les realizó un primer estudio hemodinámico en el que se valoró la respuesta a propranolol. Los pacientes "respondedores" (aqueños cuyo gradiente de presión venosa hepática disminuyó por encima de un 20% respecto al inicial, o se hizo menor o igual a 12 mmHg) fueron tratados con propranolol combinado o no con bandas (si el tamaño de las varices permitía la ligadura). Los pacientes "no respondedores", recibieron, inicialmente propranolol combinado o no con bandas y fueron sometidos

a un segundo estudio hemodinámico (crónico) en el que, de nuevo, se valoró la respuesta al betabloqueante. Los "respondedores" fueron tratados con propranolol con o sin bandas, y en los "no respondedores" se suspendió el propranolol y se mantuvo la ligadura endoscópica. Por otra parte, los pacientes del Hospital de Elche no fueron sometidos al estudio hemodinámico; y la profilaxis se realizó con betabloqueantes combinados con ligadura con bandas.

**Resultados.** De los pacientes a los que se les realizó el estudio hemodinámico, 1 (12,5%) resangró por varices (los otros dos lo hicieron por úlceras postbandas) y de entre los pacientes a los que no se les realizó el estudio, 7 (87,5%) presentaron un nuevo episodio de hemorragia varicosa; con una p estadísticamente significativa ( $p = 0,04$ ).

**Conclusión.** Nuestros resultados avalan la recomendación de monitorizar el tratamiento profiláctico secundario mediante la utilización de la respuesta hemodinámica del gradiente de presión venosa hepática a la administración de propranolol.

#### AUMENTO DEL GASTO ENERGÉTICO BASAL EN LA CIRROSIS. RELACIÓN CON LA COMPOSICIÓN CORPORAL Y RESISTENCIA A INSULINA

C. Prieto de Frías<sup>1</sup>, M. Payeras<sup>1</sup>, M. Conchillo<sup>1</sup>, G. Frühbeck<sup>2</sup>, M.J. Gil<sup>3</sup>, C. Muguet<sup>3</sup>, M. Iñarrairaegui<sup>1</sup>, F. Alegre<sup>1</sup>, J.I. Herrero<sup>1</sup>, B. Sangro<sup>1</sup>, S. Salvador<sup>2</sup>, J. Prieto<sup>1</sup> y J. Quiroga<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Hepatología (Dpto. de Medicina Interna), <sup>2</sup>S. de Endocrinología, <sup>3</sup>Dpto. de Bioquímica. Clínica Universitaria de Navarra. Universidad de Navarra. Pamplona.

**Introducción y objetivos.** No hay datos concluyentes acerca del gasto energético basal (GEB) en la cirrosis. El objetivo de este estudio fue evaluar el GEB en pacientes cirróticos varones y relacionarlo con la composición corporal, el metabolismo intermedio y sus hormonas reguladoras y la ingesta.

**Métodos.** Se estudiaron 46 pacientes cirróticos varones (Child: A: 17, B: 20, C: 9). El GEB se evaluó mediante calorimetría indirecta y se expresa como % sobre el valor teórico correspondiente a cada individuo. La composición corporal se evaluó mediante Bod-Pod y DEXA. Insulina, glucagón, adiponectina y leptina se determinaron mediante radioinmunoensayo. La ingesta se cuantificó mediante encuesta dietética y se comparó con la teórica para individuo sano.

**Resultados.** 18 (39%) pacientes presentaron GEB normal (85 a 115%) y 28 (61%) elevado (116 - 160%). Los pacientes con GEB elevado presentaron en comparación con el grupo normometabólico: menor índice de Child ( $p < 0,05$ ), menor grasa corporal total ( $p < 0,001$ ), menor porcentaje corporal de grasa ( $p < 0,003$ ), ( $p < 0,05$ ), mayor porcentaje de tejido magro corporal ( $p < 0,003$ ), niveles más elevados de insulina ( $p < 0,07$ ), mayor resistencia a insulina valorada por el índice HOMA ( $p < 0,01$ ) y menor concentración de leptina sérica ( $p < 0,015$ ). Aunque ambos grupos mostraron déficit de ingesta calórica con respecto a la esperable en sujetos normales, en el grupo con mayor GEB este déficit fue menor ( $p < 0,02$ ).

**Conclusiones:** Aproximadamente un 60% de los cirróticos varones muestran aumento del GEB. Estos pacientes se caracterizan por enfermedad hepática menos avanzada, una relación tejido graso/tejido magro mayor y mayor resistencia insulínica. Es posible que el avance de la cirrosis con progresiva pérdida de masa muscular lleve a una reducción del GEB en estadios más avanzados de la enfermedad.

#### PAPEL DE LA INMUNOSUPRESIÓN Y LOS FACTORES DE VIRULENCIA BACTERIANOS EN LA PERITONITIS BACTERIANA ESPONTÁNEA POR DE E COLI

F. Cereto<sup>1</sup>, J. Herranz<sup>1</sup>, E. Moreno<sup>2</sup>, A. Andreu<sup>2</sup>, M. Vergara<sup>3</sup>, D. Fontanals<sup>4</sup>, M. Roget<sup>5</sup>, A. González<sup>1</sup>, G. Prats<sup>2</sup> y J. Genescà<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Medicina Interna-Hepatología y <sup>2</sup>Servicio de Microbiología, Hospital Universitari de la Vall d'Hebron, Barcelona, <sup>3</sup>Servicio de Digestivo y <sup>4</sup>Servicio de Microbiología, Hospital Parc Taulí de Sabadell y <sup>5</sup>Servicio de Medicina Interna, Hospital de Terrassa.

**Introducción.** La peritonitis bacteriana espontánea (PBE) por *E. coli* resistente a quinolonas (RQ) es una enfermedad emergente. Se

ha sugerido un efecto de la inmunosupresión (IS) tanto en la aparición de PBE por *E. coli* RQ, como en la mortalidad global de la PBE por *E. coli*. Además, desconocemos el papel de los factores de virulencia (FV) y grupo filogenético (GF) de las cepas de *E. coli* causantes de PBE.

**Objetivo.** Comprobar prospectivamente el papel de la IS (tratamiento inmunosupresor/quimioterápico, HIV positivo o diabetes) y los FV-GF en la RQ y mortalidad en las PBE por *E. coli*.

**Material y métodos.** Se identificaron de forma prospectiva todos los casos de PBE por *E. Coli* detectados en el H. Vall d'Hebrón, H. de Terrasa y H. Parc Taulí desde enero-2004 a diciembre-2005. Se recogieron datos epidemiológicos, clínicos y analíticos y caracterizaron los GF: A, B1, B2 y D y 15 genes codificadores de FV: *papA*, *papGI*, *papGII*, *papGIII*, *fimH*, *afa/draBC*, *sfa/focDE*, *hlyA*, *cnfI*, *iutA*, *fyuA*, *kpsMII*, *ibeA*, *traT* y *malX*, mediante PCR. La sensibilidad a las fluoroquinolonas se estudió mediante disco difusión. Comparamos los FV y GF detectados con un grupo de 50 *E. coli* causantes de pilonefritis aguda (PNA).

**Resultados.** De las 47 PBE por *E. coli*, 18 (38%) fueron por cepas RQ, siendo 39 sensibles (62%). Los pacientes con PBE por *E. Coli* RQ presentaron significativamente menor edad, más profilaxis con norfloxacino y mayor resistencia a trimetoprim-sulfametoazol y cefotaxima. No se encontraron diferencias en la IS, ni el curso clínico. La mortalidad relacionada con el episodio agudo de PBE estuvo asociada de forma independiente en el análisis multivariado con la IS (OR 12,4, IC 1,13-136,  $p = 0,03$ ), la insuficiencia renal (OR 15,2, IC 1,15-201,  $p = 0,03$ ) y la falta de resolución de la PBE (OR 18,7, IC 1,62-215,  $p = 0,01$ ). En el cálculo de la mortalidad a 3 meses se observó una asociación independiente con la IS (OR 43,2, IC 2,1-871,  $p = 0,01$ ), la insuficiencia renal (OR 34,1, IC 1,5-746,  $p = 0,02$ ), y la encefalopatía hepática (OR 193, IC 2-1838,  $p = 0,02$ ). Las cepas de *E. coli* aisladas en PBE presentaron significativamente menos FV que las aisladas en PNA, con un mayor porcentaje de los GF considerados "no patógenos" A y B1 (37% en PBE vs 14% en PNA,  $p = 0,02$ ). Las cepas de *E. coli* RQ mostraron significativamente menos FV que las cepas sensibles y un menor porcentaje de los GF patógenos B2 y D (36% vs 76%,  $p = 0,05$ ). No hubo correlación entre FV o GF con la IS o la mortalidad.

**Conclusiones.** La presencia de IS aumenta la mortalidad en la PBE por *E. Coli*, aunque no favorece la aparición de infecciones por cepas RQ. Las cepas de *E. coli* RQ son menos virulentas que las cepas de *E. coli* sensible, pero la virulencia no afecta a la mortalidad.

#### Posters hepatitis virales

##### RESULTADOS A 2 AÑOS DEL ENSAYO GLOBE EN PACIENTES CON HEPATITIS B: MAYOR EFICACIA CLÍNICA Y ANTIVIRAL DE TELBIVUDINA (LdT) VS LAMIVUDINA

C.L. Lai<sup>1</sup>, M. Buti<sup>2</sup>, M. Diago<sup>3</sup>, M. Rodríguez-García<sup>4</sup> y J. Crespo<sup>6</sup> en nombre del Grupo de Estudio GLOBE

<sup>1</sup>University of Hong Kong, Hong Kong. <sup>2</sup>Hospital Universitario Vall d'Hebrón, Barcelona. <sup>3</sup>Hospital General de Valencia, Valencia.

<sup>4</sup>Hospital General de Asturias, Oviedo. <sup>5</sup>Hospital Marqués de Valdecilla, Santander.

**Antecedentes.** Los resultados del primer año del ensayo GLOBE, publicados en 2005, mostraron mayor eficacia de telbivudina vs lamivudina en todos los parámetros directos de eficacia antiviral y en diversas variables claves de eficacia clínica. Se presentan ahora los resultados de este ensayo a 2 años.

**Métodos.** El estudio GLOBE es un ensayo de fase III, aleatorizado, doble ciego, que compara telbivudina (LdT) (600 mg/día PO) vs tratamiento estándar con lamivudina (Lam) (100 mg/día PO) durante 2 años, en una población por intención de tratar (ITT) de 1367 pacientes (pts) con hepatitis B crónica reclutados en 20 países. Los criterios de inclusión fueron HBsAg+, ADN-VHB > 6 log10 copias/ml mediante PCR por test COBAS Amplicor, ALT 1,3-10

xULN y enfermedad hepática compensada. Los pacientes fueron pre-estratificados de acuerdo al HBeAg (+/-) y al nivel de ALT > 6 < 2,5xULN. Se realizaron biopsias hepáticas de seguimiento al año, que no fueron repetidas a los 2 años.

**Resultados.** Los dos grupos fueron comparables en las características basales de los pacientes. En la tabla se muestran los resultados de eficacia (ITT) en la semana 104. A los 2 años, LdT fue superior a Lam en la variable principal de eficacia (Respuesta Terapéutica: ADN-VHB < 5 log10 con negativización de HBeAg o normalización de ALT) y en el resto de indicadores directos de eficacia antiviral tanto en pacientes HBeAg+ como HBeAg-. De acuerdo a las recomendaciones de tratamiento según las guías AASLD y Asia-Pacífico (ALT basal ≥ 2xULN), la negativización del HBeAg fue significativamente superior en el grupo tratado con LdT en este subgrupo de pacientes. La normalización de ALT fue más frecuente en el grupo LdT, tanto en pacientes HBeAg+ como HBeAg- ( $p = 0,08$ ). Los fallos de tratamiento fueron significativamente más frecuentes en el grupo Lam en ambos subgrupos. Se están llevando a cabo análisis de resistencia genotípica que podrán presentarse en el congreso. Los dos fármacos en estudio fueron en general bien tolerados, con una incidencia similar de acontecimientos adversos clínicos.

**Conclusiones.** Durante 2 años de tratamiento, telbivudina presentó una eficacia antiviral significativamente superior que lamivudina, y se asoció con mayor eficacia clínica sostenida en pacientes con hepatitis B crónica HBeAg+ y HBeAg-.

HBeAg Positivo	HBeAg Negativo			
	LdT	Lam	LdT	Lam
n**	458	463	222	224
Disminución media del ADN-VHB log10	-5,7*	-4,4	-5,0*	-4,2
% PCR negativo	54*	38	79*	53
% normalización ALT	67	61	75	67
% Respuesta Terapéutica	61*	47	74*	62
% Negativización HBeAg	34	29	-	-
% Negativización HBeAg (ALT basal ≥ 2 xULN)	40*	32	-	-
% seroconversión HBeAg	29	24	-	-
% Fallo primario del tratamiento***	4*	12	0*	3

\*p ≤ 0,05, LdT vs Lam.

\*\*El análisis incluye toda la población ITT que inició el ensayo.

\*\*\*ADN-VHB nunca < 5 log10 copias/mL (guías AASLD).

#### SUPRESIÓN PRECOZ MÁXIMA DE LA CARGA VIRAL COMO FACTOR PREDICTIVO DE EFICACIA A LOS 2 AÑOS EN PACIENTES CON HEPATITIS B TRATADOS CON NUCLEÓSIDOS. RESULTADOS DEL ENSAYO GLOBE

M. Diago<sup>1</sup>, M. Buti<sup>2</sup>, M. Rodríguez-García<sup>3</sup>, J. Crespo<sup>4</sup>

y A. DiBisceglie<sup>5</sup> en nombre del Grupo de Estudio GLOBE

<sup>1</sup>Hospital General de Valencia, Valencia, <sup>2</sup>Hospital Universitario Vall d'Hebrón, Barcelona, <sup>3</sup>Hospital General de Asturias, Oviedo, <sup>4</sup>Hospital Marqués de Valdecilla, Santander, <sup>5</sup>St. Louis University, MO, USA.

**Antecedentes.** Estudios previos han relacionado el grado de supresión precoz del VHB con la posterior eficacia clínica y viral en pacientes (pts) con hepatitis B en tratamiento antiviral. Se presenta un análisis de la relación entre la carga viral a las 24 semanas y la eficacia a los 2 años de tratamiento obtenida en un ensayo de fase III a gran escala.

**Métodos.** El ensayo GLOBE reclutó 1367 pacientes con hepatitis B de 20 países con un ADN-VHB pretratamiento > 6 log10 copias/ml, ALT 1,3-10 xULN, y enfermedad hepática compensada, que fueron aleatorizados a recibir telbivudina (LdT) (600 mg/día PO) vs tratamiento estándar con lamivudina (Lam) (100 mg/día PO) durante 2 años. En el presente análisis se comparan los resultados de eficacia a los 2 años en 4 subgrupos de pacientes según el nivel de ADN-VHB en la semana 24 (S24): PCR-negativo (< 300 copias/mL mediante Amplicor COBAST™); PCR-detectable pero < 3 log; 3-4 log; y > 4 log10 copias/mL. Se combina la respuesta en ambos grupos de tratamiento.

**Resultados.** Se presentan datos a 2 años de 1346 pacientes. Todos los parámetros clínicos y virológicos de eficacia a los 2 años mejo-

raron de forma inversamente proporcional al nivel de ADN-VHB en la S 24 (tabla). El porcentaje de pacientes con PCR negativa en la S 24 fue superior con LdT (57%) respecto a Lam (45%), y menos pacientes con LdT presentaron una carga viral residual > 4 logs en la S 24 (17% vs 27%, respectivamente). Resultados preliminares muestran que el 77% y 74% de los pacientes HBeAg + y HBeAg - con PCR negativa a las 24 semanas tenían ADN indetectable a los 2 años. Contrariamente, el DNA era detectable a los 2 años en el 88% y 90% de los pacientes con ADN > 4 log10 en la semana 24. La relación entre la respuesta precoz y la eficacia a los 2 años fue similar para los pacientes con LdT y Lam, aunque en conjunto los resultados de eficacia fueron proporcionalmente superiores con LdT. Se están llevando a cabo los análisis de resistencia.

**Conclusiones.** La magnitud de la supresión viral precoz con nucleósidos antivirales determina la eficacia posterior del tratamiento durante al menos 2 años. La eficacia a los 2 años es elevada cuando la supresión del ADN-VHB en la semana 24 es máxima, coincidiendo con la mayor eficacia antiviral de telbivudina. La escasa eficacia observada en los pacientes con ADN-VHB > 4 log en la semana 24 sugiere que debería considerarse la intensificación del tratamiento en dichos casos. Las relaciones descritas pueden contribuir a optimizar el manejo del paciente.

Respuesta a los 2 años					
ADN-VHB en suero semana 24 (copias/mL)	PCR -ve	< 3 log	3-4 log	> 4 log	
Pts HBeAg +	Número de pts	349	120	162	272
	Seroconversión HBeAg (%)	45	38	19	6
	Normalización ALT (%)	79	76	63	43
	PCR-negativa (%)	77	58	32	12
Pts HBeAg -	n	335	38	40	30
	Normalización ALT (%)	77	74	58	21
	PCR-negativa (%)	74	66	40	10

#### PLATAFORMA INTELIGENTE PARA HEPATITIS CRÓNICA C: MODELIZACIÓN DE LA ENFERMEDAD Y PREDICCIÓN DE LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO

M. Trapero-Marugán<sup>1</sup>, M. Marín<sup>2</sup>, X. Salcedo-Mora<sup>1</sup>,

J.M. del Río<sup>2</sup>, J.P. Pivel<sup>1</sup> y R. Moreno-Otero<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Universitario de La Princesa, U.A.M.,

<sup>2</sup>APARA solutions company, Madrid.

**Introducción.** No se tiene constancia práctica de una plataforma bioinformática dedicada a estudiar y predecir la evolución clínica y la respuesta al tratamiento antiviral en la hepatitis crónica C (HCC). Se estima que la tasa de acierto en cuanto a la predicción del pronóstico evolutivo de la HCC es inferior al 50%.

**Objetivos.** Desarrollar una plataforma bioinformática sencilla basada en algoritmos de decisión (redes bayesianas) para predecir mejor y más eficientemente la respuesta al tratamiento antiviral. Tratar de identificar puntos clave en la progresión de la enfermedad hepática y establecer nuevos factores predictivos de evolución y respuesta terapéutica.

**Pacientes y métodos.** Se incluyeron 240 pacientes consecutivos con HCC (edad media 45 ± 9 años; 45% mujeres) tratados con interferón pegilado (PEG-IFN) más ribavirina. Se han incluido en una base de datos más de 40 variables (epidemiológicas, bioquímicas, virológicas, histológicas, tipo de tratamientos previos, respuesta al tratamiento, efectos adversos, abandonos, etc). Se ha utilizado la plataforma DLIFE en el 80% de los pacientes (192) para construir el modelo de la enfermedad, basándose en redes bayesianas y nuevos algoritmos que permiten modelar y simular diferentes situaciones en las que algunos datos pueden no ser conocidos, permitiendo así la automatización del conocimiento. Posteriormente, se ha procedido a validar el modelo en el 20% de la muestra restante (48 pacientes) y comparando los datos con un estudio retrospectivo de los mismos.

**Resultados.** La precisión de esta plataforma bioinformática para predecir la respuesta al tratamiento antiviral, dividida en respuesta virológica sostenida (RVS), recidiva y no respuesta (NR) fue de 76%, 25% y 100% respectivamente. Globalmente, el porcentaje de pacientes correctamente diagnosticados fue del 81,3%, lo que supo-

ne una cifra claramente superior al obtenido por los médicos al analizar los datos de pacientes tratados en la práctica clínica habitual o en ensayos clínicos que oscila entre el 50 y el 65%. Se detectaron variables clave en el modelo para evaluar la respuesta al tratamiento: edad al comienzo del mismo, sexo, peso, comorbilidad, tipo de tratamiento, carga viral basal, cifras de transaminasas, variables hematológicas y carga viral durante el tratamiento y el seguimiento. El área bajo la curva ROC para los diferentes tipos de respuesta terapéutica (RVS, recidiva y NR) fue de 0,918, 0,847 y 1 respectivamente.

**Conclusiones.** La plataforma bioinformática desarrollada es una herramienta fácil, accesible, cómoda y muy intuitiva que los médicos pueden utilizar en la atención a pacientes con HCC. Es eficiente en la predicción y la simulación de la respuesta al tratamiento antiviral, aumentando la exactitud y efectividad de la práctica clínica diaria.

#### SOBREEXPRESIÓN DE LA INDOLEAMINA 2,3 DIOXYGENASA EN LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C

E. Larrea, J. Riezu-Boj, L. Gil-Guerrero, N. Casares, R. Aldabe, P. Sarobe, M.P. Civeira, F. Borrás-Cuesta, J.J. Lasarte y J. Prieto  
*Área de Hepatología y Terapia Génica, Centro de Investigación Médica Aplicada CIMA, Pamplona.*

La enzima indoleamina 2,3 dioxygenasa (IDO) constituye un mediador importante en la inducción de tolerancia periférica. IDO es inducida por citoquinas proinflamatorias y por células T que expresan la molécula inmunosupresora CTLA4. Las acciones inmunosupresoras de IDO, derivadas de la degradación del triptófano, podrían jugar un papel importante en la infección por el virus de la hepatitis C (VHC). Con el fin de estudiar el posible papel que podrían jugar IDO y CTLA4 en el establecimiento de la infección crónica por el VHC, analizamos por PCR a tiempo real los niveles de RNA mensajero intrahepático para estas dos moléculas en muestras de hígado procedentes de pacientes con infección crónica C, pacientes que habían resuelto o no la infección tras el tratamiento con IFN-alfa, pacientes con otras enfermedades hepáticas y de muestras de hígado sanos. También analizamos por HPLC el cociente kinurenina/triptófano (K/T) en el suero de los pacientes, como un indicador de la actividad de la enzima IDO. Encontramos que los pacientes con hepatitis crónica C (HCC) presentaban una sobre expresión intrahepática de IDO y de CTLA4 con respecto al resto de pacientes ( $p < 0,05$  en todos los casos) así como un cociente K/T sérico elevado. Durante la fase de infección aguda por VHC, el cociente K/T permaneció elevado durante los meses 2-3 de la infección en aquellos pacientes que no resolvieron la enfermedad mientras que experimentó un descenso en aquellos que eliminaron el virus espontáneamente ( $p = 0,02$ ). La replicación del virus de la hepatitis C en células Huh7 indujo la sobre expresión de IDO en respuesta al IFN-gamma cuando estas células se co-cultivaron en presencia linfocitos T activados. Nuestros resultados sugieren que la infección por el VHC crea un ambiente local de inmunosupresión mediante la inducción de IDO y de CTLA4 que puede favorecer la persistencia viral. Estos hallazgos abren nuevas vías para el desarrollo de estrategias terapéuticas en pacientes con hepatitis crónica C.

#### LOS MARCADORES SÉRICOS DIRECTOS DE FIBROGÉNESIS HEPÁTICA AUMENTAN LA PRECISIÓN DIAGNÓSTICA DE LOS MARCADORES INDIRECTOS PARA FIBROSIS HEPÁTICA EN PACIENTES CON HEPATITIS C CRÓNICA

O. Núñez<sup>1</sup>, M.A. Martín<sup>1</sup>, R. Lorente<sup>1</sup>, M. Senosiain<sup>1</sup>, A. Matilla<sup>1</sup>, E. Salinero<sup>2</sup>, M.V. Catalina<sup>1</sup>, D. Rincón<sup>1</sup>, M.A. Muñoz<sup>3</sup> y G. Clemente<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sección de Hepatología, Servicio de Digestivo. <sup>2</sup>Servicio de Anatomía Patológica. <sup>3</sup>Servicio de Inmunología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

**Objetivo.** El objetivo del estudio fue construir un modelo capaz de detectar fibrosis hepática en pacientes con hepatitis C crónica, utili-

zando parámetros clínicos y analíticos de uso general en práctica clínica (marcadores indirectos). El segundo objetivo fue evaluar si la determinación de marcadores séricos directos de fibrogénesis hepática (MFH) aumentaba la precisión diagnóstica.

**Material y métodos.** Un modelo predictivo de fibrosis hepática fue realizado mediante análisis de regresión de logística a partir de una cohorte de 143 pacientes con hepatitis C crónica y posteriormente validado en una segunda cohorte de 169 pacientes, ambas del mismo centro. Las puntuaciones individuales fueron calculadas a partir de variables asociadas de manera independiente con fibrosis hepática significativa, estadio 3 a 6 según la clasificación de Ishak. En los pacientes de la cohorte de validación, una muestra de suero había sido obtenida en el momento de la biopsia hepática percutánea y congelada a -70°C. Se realizó determinación mediante ELISA de MFH (TIMP-1, MMP-2, MMP-9, Ácido hialurónico, VCAM-1 y ICAM-1). Mediante curvas ROC se calculó el área bajo la curva para estimar la precisión diagnóstica del modelo en ambas cohortes. Finalmente, en la cohorte de validación, aquellos MFH asociados de manera significativa mediante análisis univariante fueron introducidos en un modelo de regresión logística, junto al modelo previo, para evaluar si el nuevo modelo obtenido mejoraba la capacidad diagnóstica del previamente validado.

**Resultados.** Un nivel de glucosa en ayunas > 108 mg/dl, la ingesta de alcohol > 40 gr/día y la edad fueron incluidos en el modelo inicial. El área bajo la curva en la cohorte de estimación y validación fueron de 0,726 (IC 95%, 0,623-0,828) y 0,773 (IC 95%, 0,697-0,848), respectivamente. El ácido hialurónico, ICAM-1 and VCAM-1 séricos fueron incluidos, junto al modelo previamente validado, en un modelo de predicción de fibrosis hepática con un área bajo la curva de 0,922 (IC 95%, 0,880-0,965). Las puntuaciones más elevadas se asociaron con fibrosis hepática significativa, de tal forma que un punto de corte de "0" obtenía una elevada precisión para fibrosis hepática significativa con un valor predictivo positivo del 81,4%, y una especificidad del 93,1%. Un punto de corte de "-1,5" presentaba un valor predictivo negativo del 96,6%. Usando ambos puntos de corte un 72,5% de los pacientes podían ser correctamente clasificados.

**Conclusiones.** El uso conjunto de parámetros clínicos y determinaciones de marcadores séricos de fibrogénesis hepática pueden predecir con elevada precisión diagnóstica la presencia de fibrosis hepática y por tanto, podrían ser de ayuda en las decisiones diagnósticas y terapéuticas en pacientes con hepatitis C crónica.

#### EVALUACIÓN DE UN PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE SOPORTE DURANTE EL TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS C

J.A. Galeras<sup>1</sup>, M.D. Giménez<sup>1</sup>, C. Márquez<sup>1</sup>, P. Castellví<sup>1</sup>, R. Navinés<sup>2</sup>, E. Clot<sup>3</sup>, I. Cirera<sup>1</sup>, E. Salas<sup>3</sup>, R. Martín-Santos<sup>2</sup> y R. Solà<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sección de Hepatología, Hospital del Mar. Universitat Autònoma de Barcelona. (Barcelona) <sup>2</sup>Servicio de Psiquiatría, Hospital del Mar / Unidad de Investigación en Farmacología, Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM) (Barcelona). <sup>3</sup>Servicio de Farmacia, Hospital del Mar (Barcelona).

Diferentes evidencias han confirmado el impacto de la adherencia y del cumplimiento en el resultado del tratamiento de la hepatitis C.

**Objetivo.** Evaluar la eficacia y el impacto en la calidad de vida de un programa de atención multidisciplinario (PAM) en el tratamiento de la hepatitis C.

**Método.** 188 pacientes consecutivos con hepatitis C, no tratados previamente que iniciaron tratamiento en la Sección de Hepatología del Hospital del Mar de 2003 a 2005. Todos los pacientes fueron tratados con Peg-IFN alfa-2a 180 µg/semana y ribavirina (RBV) (G1/4: 1000-1200, 12 meses G2/3: 800, 6 meses). Los pacientes se dividieron en dos grupos: *Grupo 1:* 91 pacientes incluidos en el PAM (2005) y *Grupo 2:* 97 pacientes controlados de forma convencional (2003-2004). El equipo del PAM incluye hepatólogos, enfermería, farmacéutico, psicólogo y psiquiatra y comprende información estandarizada al paciente, programación abierta y flexible, control ac-

tivo de la medicación, evaluación continua del riesgo psiquiátrico y manejo protocolizado de los efectos secundarios. Se consideró como cumplimiento cuando el paciente recibía el 80% de la dosis total prescrita de ambos fármacos durante el 80% del tiempo de tratamiento. La calidad de vida se evaluó mediante el SF-36 antes y a 1, 3 y 6 meses de tratamiento.

**Resultados.** Los pacientes de ambos grupos no presentaron diferencias en relación a edad, sexo, genotipo, carga viral ni grado de fibrosis.

	Grupo 1	Grupo 2	P
Cumplimiento (%)	95,6	80,4	0,0002
Retirada (%)	4,4	6,2	NS
Dosis < 80% (%)	0	13,4	0,0003
Descenso medio Hb 0-6 meses	3,1	2,9	NS
Dosis Peg-IFN 100% (%)	100	89	0,02
Dosis RBV 100% (%)	98,8	80,2	0,0001
EPO (%)	3,3	1	NS
Respuesta virol. fin tto. (%)	86,8	78,3	0,1

Realizaron tratamiento psiquiátrico 34 (37,4%) y 21 (21,6%) pacientes de cada grupo ( $P = 0,02$ ). La alteración del perfil del estado de salud durante el tratamiento fue inferior en todos los parámetros en el grupo 1, alcanzando significación estadística en la percepción de dolor corporal y de salud general y mental.

**Conclusiones.** El programa de atención multidisciplinaria mejora el cumplimiento del tratamiento de la hepatitis C y la percepción de la calidad de vida de los pacientes.

#### EVALUACIÓN DE LA TASA DE PROGRESIÓN DE LA FIBROSIS) EN PACIENTES CON HEPATOPATÍA HEPÁTICA POR ELASTOGRAFÍA HEPÁTICA (FIBROSCAN CRÓNICA C)

J. Mendoza-Jiménez, E. Gómez-Domínguez,  
M. Trapero-Marugán, L. González-Moreno,  
J.A. Moreno-Monteagudo, L. García-Buey y R. Moreno-Otero  
*Hospital Universitario La Princesa. Servicio de Aparato Digestivo.  
Unidad de Hepatología. Universidad Autónoma de Madrid.*

**Introducción.** La valoración de la fibrosis hepática es un objetivo primordial en el seguimiento de los pacientes con hepatopatía crónica. El tratamiento antiviral modifica la tasa de progresión de fibrosis e incluso puede revertirla. El desarrollo de técnicas no invasivas, como la Elastografía Hepática (EH), ha abierto nuevas vías en la evaluación de estos enfermos, especialmente en su seguimiento a largo plazo.

**Objetivo.** Valorar la tasa de progresión de fibrosis mediante EH en pacientes con infección crónica por VHC.

**Material y métodos.** Estudio prospectivo, realizado en: 1. pacientes con infección crónica por VHC tratados con terapia antiviral y con biopsia hepática (valorada mediante el sistema METAVIR), previa al tratamiento, y 2. pacientes no tratados en los que se pudo estimar el tiempo de evolución (contagio transfusional o ADVP). Se realizó EH por un mismo especialista, excluyéndose aquellos pacientes en los que no se obtuvieron al menos 10 mediciones válidas. Se calculó el estadio de fibrosis según los puntos de corte aparecidos en la literatura ( $F \geq 2$ : 7,1 KPa;  $F \geq 3$ : 9,5 KPa y  $F = 4$ : 12,5 KPa). Se recogieron igualmente datos analíticos y de la historia clínica de todos los pacientes.

**Resultados.** Se incluyeron en el estudio 91 pacientes (fallo de la técnica en 4 pacientes) (EM:  $48,09 \pm 9,7$  años; 56 hombres (61,5%); IMC medio:  $25,9 \pm 3,5$  Kg/cm<sup>2</sup>; Elasticidad media:  $8,9 \pm 6$  KPa; IQR:  $1,7 \pm 1,6$  KPa; Tasa éxito:  $78 \pm 27,3\%$ ). 67 pacientes recibieron tratamiento antiviral (IFN: 11,9%; IFN+Ribavirina: 32,8,2% y PEG-IFN+Ribavirina: 55,2%) con un intervalo de evolución medio (entre biopsia y EH) de  $60,18 \pm 33$  meses. Se estudiaron 24 pacientes no tratados con un tiempo de evolución medio de  $18,25 \pm 11$  años. Las tasas medias de progresión de fibrosis obtenidas fueron de:  $-0,1 \pm 0,4$  estadio METAVIR/año para pacientes tratados frente a  $0,3 \pm 0,48$  estadio METAVIR/año en pacientes no tratados, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,005$ ). En los pa-

cientes tratados, se obtuvieron unas tasas de progresión entre respondedores y no respondedores de  $-0,7 \pm 0,2$  y  $-0,2 \pm 0,3$  respectivamente, sin encontrar diferencias entre ambos grupos, ni tampoco entre los distintos regímenes de tratamiento utilizados.

**Conclusiones.** 1. La EH es un método seguro y eficaz para evaluar la tasa de progresión de fibrosis en pacientes con hepatopatía crónica C. 2. Los pacientes tratados con tratamiento antiviral presentan una menor tasa de progresión de fibrosis que los no tratados. 3. El tratamiento antiviral produce una disminución de la tasa de progresión de fibrosis, tanto en respondedores como en no respondedores, independientemente del régimen terapéutico utilizado.

#### RELACIÓN DEL GENOTIPO A2 CON LA RESISTENCIA PRIMARIA AL TRATAMIENTO CON ADEFOVIR DIPIVOXIL (ADV)

N. Chueca<sup>1</sup>, C. Nogales<sup>2</sup>, A. Gila<sup>1</sup>, E. Suárez<sup>2</sup>, B. Puche<sup>2</sup>, B. Figueruela<sup>2</sup>, A. Peña<sup>1</sup>, M. Romero<sup>2</sup>, J. Martín<sup>3</sup>, R. Daza<sup>4</sup>, R. Andrade<sup>5</sup>, S. López<sup>5</sup>, P. Muñoz de Rueda<sup>1</sup>, M.A. Hernandez<sup>6</sup>, M. Rueda<sup>6</sup>, F. García<sup>1</sup> y J. Salmerón<sup>1</sup>

<sup>1</sup>H. San Cecilio, Granada, <sup>2</sup>H. Valme, Sevilla, <sup>3</sup>H. de Osuna, Sevilla, <sup>4</sup>H. Torrecárdenas, Almería, <sup>5</sup>H. Virgen de la Victoria, Málaga, <sup>6</sup>Gilead Sciences Inc, Madrid, Spain.

**Introducción.** ADV es un fármaco antiviral que ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de los pacientes con hepatitis crónica por virus B (HCB). Las mutaciones asociadas a resistencia a ADV se producen de forma infrecuente y tardía. Por otro lado, hay pacientes que no presentan mutaciones asociadas a resistencia a ADV y son no respondedores al tratamiento. Hasta el momento no se conocen con exactitud los factores virológicos que pueden estar relacionados con la falta de respuesta primaria a ADV.

**Objetivo.** Estudiar los factores virológicos relacionados con la falta de respuesta a ADV en pacientes con HCB tratados durante 1 año en Andalucía.

**Pacientes y métodos.** Se incluyeron 53 pacientes tratados con ADV durante un 1 en 5 centros hospitalarios de Andalucía (mediana de edad 43 años, 67% varones; 85% HBeAg –). 25 pacientes fueron tratados previamente con lamivudina y el resto eran naïve. El ADN-VHB se determinó mediante TaqMan HBV (Roche Diagnostics; límite de detección 12UI/ml) y la secuenciación de la polimerasa del virus se realizó con kit de genotipado Trugene de VHB (Bayer). Se ha realizado análisis filogenético de la secuencia del gen S para clasificar el subtipo responsable de la infección. La respuesta virológica al tratamiento se definió como el descenso de los niveles de ADN-VHB a valores  $\leq 10^5$  cop/mL en la población HBeAg+ e inferiores a  $10^4$  cop/mL en la población HBeAg – tras un año de tratamiento con ADV.

**Resultados.** De los 53 pacientes, 40 (75%) presentaban genotipo D y 13 (25%) genotipo A. De los 13 pacientes con genotipo A, 3 (23%) tenían subtipo A1 y 10 (77%) A2; 15 pacientes (28%) fueron no respondedores a ADV. De los 40 pacientes con genotipo D, 9 (23%) eran no respondedores; mientras que de los 10 pacientes con genotipo A2, 6 (60%) fueron no respondedores ( $P = 0,021$ ). En los no respondedores, se identificaron las mutaciones asociadas a resistencia a ADV (A181V, N236T o ambas), en 4 de los 9 pacientes con genotipo D y en 1 de los 6 pacientes con genotipo A2. En relación con las mutaciones asociadas recientemente a resistencia primaria a ADV, la mutación I233V, no fue identificada en la basal en ninguno de los pacientes no respondedores. Por otro lado, la presencia de una Arginina en la posición 217, también asociada a resistencia primaria a ADV, se ha observado en todas las secuencias de los pacientes que tienen subtipo A2 ( $n = 10$ ). Sin embargo, 4 de ellos fueron respondedores a ADV. En 3 de estos 4 pacientes se localizó una Histidina (H) en las posiciones 122 o 126 igual que ocurría en todos los pacientes respondedores infectados por el subtipo A1.

**Conclusiones.** El genotipo A2 se asocia con la no respuesta al tratamiento con ADV. La presencia de una Arginina en la posición 217 no es una mutación, sino un cambio natural que se presenta en el genotipo A2. Deben realizarse más estudios para investigar si este cambio natural se relaciona o no con resistencia primaria a ADV.

**ENFERMEDAD DEL HIGADO GRASO NO ALCOHÓLICO (EHGNA) EN EL NIÑO OBESO. IMPORTANCIA DEL ESTRÉS OXIDATIVO (EO) Y LA RESISTENCIA A LA INSULINA (RI)**

A. Goicoechea<sup>1</sup>, A. Salmerón<sup>2</sup>, J. León<sup>3</sup>, J.M. Fernández García<sup>1</sup>, M. Garofano<sup>2</sup>, E. Ocete<sup>1</sup>, A. Palacios<sup>3</sup>, A. Martínez<sup>3</sup>, P. Muñoz de Rueda<sup>3</sup>, J. Salmerón<sup>3</sup> y A. Ruiz Extremera<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Pediatría, <sup>2</sup>Radiología y <sup>3</sup>Unidad de Ap. Digestivo. Hospital Universitario San Cecilio Granada.

**Justificación.** El 14% de los niños y adolescentes españoles son obesos, y otro 12% presenta sobrepeso. La EHGNA es un problema emergente en esa población. Aunque este síndrome tiene una etiología multifactorial, la obesidad es el factor que se asocia de forma más consistente. La RI y el EO son fundamentales en el desarrollo de este cuadro.

**Objetivos.** Primero, conocer en niños y adolescentes la prevalencia de esteatosis, mediante ecografía, y de aumento de ALT, como expresión EHGNA. Segundo, estudiar el papel de la RI y el EO en el EHGNA.

**Métodos.** Se han estudiado de forma prospectiva 134 pacientes con una edad entre 4 y 15 años, remitidos a la consulta de endocrinología infantil por obesidad ( $IMC > p95$ ). Tras un ayuno de 10 horas se tomaron muestras de sangre venosa para la determinación de la bioquímica, la RI por el método HOMA y los marcadores de EO (sistema glutation intraeritrocitario -GP, GRD, GSSG- y nitratos en plasma). La esteatosis hepática fue valorada mediante ecografía (leve, moderada y grave) por el mismo observador en 98 niños.

**Resultados.** El 43% de los niños obesos presentaban esteatosis, en el 13,6% fue moderada-grave. En el 8% la ALT estaba aumentada ( $> 40U/L$ ). El 89% de los niños con aumento de ALT presentaban esteatosis frente al 40% con ALT normal ( $P = 0,01$ ). En los niños con esteatosis el índice HOMA estaba aumentado ( $4 \pm 3$  vs  $2,6 \pm 1$ ,  $P = 0,002$ ). El grado de esteatosis se relacionó (ANOVA) con mayor IMC ( $P = 0,04$ ), mayor índice HOMA ( $P = 0,001$ ) y aumento de ALT ( $P = 0,01$ ). Los niños con aumento de ALT también presentaron mayor RI (HOMA:  $4,9 \pm 2,7$  vs  $3,1 \pm 9,3$ ,  $P = 0,02$ ) que los niños con ALT normal. Las enzimas encargadas del mantenimiento del sistema glutation estaban aumentadas en los niños con esteatosis (GP:  $39 \pm 10$  vs  $32 \pm 12$ ,  $P = 0,032$ ; GRD:  $2,7 \pm 0,8$  vs  $2,2 \pm 0,9$  nmol-gHG). Sin embargo, no había diferencias significativas en la GSSG y glutation total, lo que indica que el sistema glutation se mantiene. En cambio, en los niños con aumento de ALT, el GSSG ( $1 \pm 0,2$  vs  $0,7 \pm 0,4$  nmol-gHG,  $P = 0,025$ ) y glutation total ( $6,6 \pm 0,8$  vs  $5,7 \pm 1,3$  nmol-gHG,  $P = 0,013$ ) estaban aumentados, lo cual indica un mayor estrés oxidativo.

**Conclusión.** La esteatosis hepática es un hallazgo frecuente en los niños con obesidad y se relaciona con la RI y el EO, aunque sin desequilibrar la homeostasis celular del glutation. El aumento de ALT es menos frecuente, y también se relaciona con la RI y más intensamente con el EO, ya que aparecen cambios en los niveles de glutation total y GSSG.

**MUTACIONES EN EL GEN DE LA POLIMERASA DEL VHB ASOCIADAS CON RESISTENCIA AL TRATAMIENTO CON ENTECAVIR EN PACIENTES QUE NO HAN RECIBIDO TRATAMIENTO ANTIVIRAL**

R. Jardi<sup>1</sup>, F. Rodríguez-Frías<sup>1</sup>, M. Schaper<sup>1</sup>, G. Ruiz<sup>1</sup>, R. Esteban<sup>2</sup>, J. Guardia<sup>2</sup> y M. Buti<sup>2</sup>

Departamentos de <sup>1</sup>Bioquímica y <sup>2</sup>Hepatología. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona.

La detección y significado de variantes del virus de la hepatitis B (VHB) relacionadas con resistencia a tratamiento con entecavir ha sido poco estudiado. El objetivo de este estudio ha sido determinar la prevalencia de las variantes rtI169T, rtT184G, rtS202I, rtM250V asociadas a resistencia al entecavir en pacientes con hepatitis crónica B (HCB) que no han recibido tratamiento antiviral.

**Pacientes y métodos.** Se han incluido 111 pacientes con HCB previamente no tratados que posteriormente iniciaron tratamiento con

lamivudina. Las muestras de suero se obtuvieron al inicio y durante el tratamiento. Las variantes del VHB asociadas a resistencia a entecavir se analizaron mediante secuenciación de la retrotranscriptasa viral.

**Resultados.** Antes de la terapia con lamivudina: En 5 (4,5%) de los 111 pacientes se observaron substituciones en el gen de la polimerasa del VHB relacionadas con resistencias a análogos de nucleósidos, en 3 casos los cambios estaban asociados con resistencia a entecavir, (S202S/I) y en 2 casos con resistencia al tratamiento con lamivudina (rtL180L/M y rtM204M/I). Los pacientes con resistencias asociadas a entecavir no presentaban mutaciones virales de resistencia a lamivudina. Durante la terapia con lamivudina: Las sustituciones asociadas con resistencia a entecavir se detectaron en 10 pacientes no respondedores a lamivudina que no presentaban estos cambios al inicio del tratamiento; en 2 casos la detección se observó antes de la emergencia de las mutaciones de resistencia a lamivudina. En 2 pacientes las sustituciones en el gen de la polimerasa asociadas a entecavir dejaron de detectarse durante la terapia con lamivudina.

**Conclusiones.** La detección de variantes relacionadas con resistencia a entecavir en pacientes que nunca han recibido tratamiento antiviral sugiere que pueden estar presentes en una proporción significativa de la quasispecie viral. Las variantes asociadas con entecavir emergen durante la terapia con lamivudina. Estos resultados indican la necesidad de determinar estas variantes antes del inicio de tratamiento antiviral.

**IDENTIFICACIÓN DE MARCADORES VIROLÓGICOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B PREDICTIVOS DE NO RESPUESTA A LA TERAPIA CON ADEFOVIR DIPIVOXIL**

F. Rodríguez-Frías<sup>1</sup>, M. Schaper<sup>1</sup>, R. Jardi<sup>1</sup>, M. Rueda<sup>3</sup>, T. Gimferrer<sup>1</sup>, R. Esteban<sup>2</sup>, J. Guardia<sup>2</sup> y M. Buti<sup>2</sup>

Departamentos de <sup>1</sup>Bioquímica y <sup>2</sup>Hepatología. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona. <sup>3</sup>Gilead Sciences LTD-Madrid.

La selección de mutaciones rtN236T, rtI233V y rtA181V/T en el gen de la polimerasa del virus de la hepatitis B (VHB) durante la terapia con adefovir dipivoxil (ADV) se ha asociado a la resistencia al tratamiento. Sin embargo, no se han descrito características virológicas que puedan ser útiles como factores predictivos de la respuesta o no-respuesta a esta terapia.

**Objetivos.** Determinar posibles marcadores virológicos en el pre-tratamiento que puedan predecir la respuesta o no-respuesta al tratamiento con ADV.

**Pacientes y métodos.** Se han estudiado retrospectivamente 41 pacientes afectos de hepatitis crónica por VHB (HCB) en tratamiento con ADV, 22 (54%) HBeAg-positivos. Las muestras de suero se obtuvieron al inicio del tratamiento y a lo largo del mismo. Para investigar las mutaciones asociadas con la resistencia al ADV se analizó por secuenciación un fragmento del gen del polimerasa viral que incluía los aminoácidos 58 a 257. Para establecer el genotipo viral e identificar polimorfismos y mutaciones se compararon las secuencias obtenidas con secuencias consenso establecidas a partir de 185 secuencias del GenBank.

**Resultados.** De los 41 HCB, 14 (34%) fueron genotipo A, 25 (61%) genotipo D y 2 (5%) genotipo F. Se observó la respuesta al tratamiento ( $ADN\text{-VHB} < 10^3$  copias/mL) en 15 (37%) casos: un paciente con genotipo A (subgenotipo A1) y en 14 (56%) de genotipo D ( $P = 0,006$ ). En relación al estadio HBeAg, el 21% de los HBeAg positivos y el 59% de los HBeAg-negativo fueron respondedores ( $P = 0,02$ ). La detección del genotipo A en pre-tratamiento tenía un valor predictivo de no-respuesta del 93%, y la positividad del HBeAg del 79,2%. La combinación genotipo no-A y HBeAg negativo presentaba un valor predictivo positivo de respuesta del 75%. Al comparar las secuencias obtenidas en las muestras pre-tratamiento con las secuencias consenso del GenBank se observaron sustituciones en 85 de los 200 aminoácidos analizados, la mayoría de ellas debidas a polimorfismo naturales, a destacar la variante polimórfica rtL217R. En esta posición se observó R217, característica

del subgenotipo A2, en 11 casos, todos ellos no respondedores ( $P = 0,003$ ), por lo que la detección pre-tratamiento de esta variante presentaba un valor predictivo de no-respuesta del 100%, mientras que la combinación de la detección de la variante rt L217 con el estado HBeAg negativo presentaba un valor predictivo positivo de respuesta al tratamiento del 77%.

**Conclusiones.** Los resultados de este estudio muestran varias características virológicas identificadas en muestras pre-tratamiento (estadio HBeAg, genotipo viral y polimorfismo rtL217R) que parecen ser útiles como predictores de no-respuesta al tratamiento con ADV.

#### LA INMUNIZACIÓN CON LA PROTEÍNA NS3 Y AGENTES INMUNOPOTENCIADORES INDUCE RESPUESTAS T CD4 Y CD8 FRENTE AL VIRUS DE LA HEPATITIS C

A. Zabala<sup>1</sup>, L. Arribillaga<sup>1</sup>, D. Llopiz<sup>1</sup>, J. Dotor<sup>1</sup>, J.J. Lasarte<sup>1</sup>, J. Prieto<sup>1</sup>, F. Borrás-Cuesta<sup>1</sup>, J.I. Esteban<sup>2</sup>, J. Quer<sup>2</sup>, F. Vayreda<sup>3</sup> y P. Sarobe<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Área de Hepatología y Terapia Génica, Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA), Universidad de Navarra Pamplona. <sup>2</sup>Unidad de Hepatología. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. <sup>3</sup>R&D Biokit S.A. Barcelona.

La inmunización con péptidos que corresponden a epítopos T CD8 del virus de la hepatitis C junto con agentes inmunopotenciadores (ácido poliinosínico-policitidílico (poly(I:C)) y un anticuerpo agonista anti-CD40) induce potentes respuestas T CD8 frente a los péptidos. Con objeto de activar también la respuesta T CD4, aumentar el espectro de epítopos frente a los que se inducen respuestas T CD8 así como de evitar la restricción impuesta por las moléculas MHC, se realizaron experimentos de inmunización utilizando como antígeno la proteína NS3. La inmunización con dosis bajas de NS3 (5 µg/ratón) indujo únicamente respuestas T CD4, mientras que la inmunización con dosis de NS3 superiores a 25 µg/ratón indujo respuestas CD4 y CD8, siendo en este último caso multiepitópicas. Además, se indujeron ambos tipos de respuestas en ratones con diferentes moléculas de MHC. Finalmente, la inmunización con la proteína NS3, al contrario de lo que ocurre con los péptidos que corresponden a epítopos T CD8, induce respuestas que reconocen a células que expresan endógenamente las proteínas del VHC. Estos resultados sugieren que esta estrategia de vacunación que combina la proteína NS3 junto con agentes inmunopotenciadores podría ser útil en la prevención y tratamiento de la infección por VHC.

#### IMPACTO DEL TRATAMIENTO ANTIRRETRÓVIRAL DE GRAN ACTIVIDAD SOBRE LA PROGRESIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA EN COINFECTADOS VHC/VIH

J. Aguilar Reina, M. Garzón y A. Cayuela

Sección de Hepatología. Servicio de Ap. Digestivo. HH UU Virgen del Rocío. Sevilla.

La coinfección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) de pacientes portadores de virus de la hepatitis C (VHC) provoca aumento de la velocidad de progresión de la fibrosis hepática. Existe un número limitado de estudios, con metodología poco uniforme, sobre la influencia que tienen los tratamientos antirretrovirales en el desarrollo de fibrosis, con resultados contradictorios.

**Propósito.** Conocer las diferencias que pudieran existir en cuanto a la velocidad de progresión de la fibrosis hepática en una cohorte de pacientes coinfecados (VHC+VIH) en los que ha tenido éxito el tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA), comparados con una serie pacientes monoinfectados por VHC.

**Pacientes y métodos.** Estudio prospectivo incluyendo todos los pacientes a los que se realizó biopsia hepática entre el 1 de enero de 2.004 y el 31 de diciembre de 2.005 por considerarlos candidatos para tratamiento de la infección VHC con interferón y ribavirina, en los que se habían descartado otras causas de enfermedad hepática y

que presentaban ARN-VHC positivo en suero. Todos los VHC+VIH incluidos tenían viremia VIH indetectable y >300 CD4 en sangre periférica como consecuencia de tratamiento previo con TARGA. Las biopsias hepáticas se clasificaron según los criterios de Scheuer.

**Resultados.** Se incluyeron 343 pacientes, 111 VHC+VIH y los otros 232 con monoinfección VHC. Datos de la serie completa: edad:  $39,9 \pm 20,2$  años; 74,9% varones; genotipo: 1:73%; 2-3: 14,6%; 4: 11,6%. Presentaron sobrepeso 23,6%, consumo > 30 gr de alcohol/día, 44%, diabetes 3,7%, esteatosis 35%, y fibrosis en estadio 3-4 el 24,8%. Se pudo estimar el tiempo de evolución de la infección en 197 pacientes ( $20,2 \pm 8,9$  años). Los pacientes VHC+VIH fueron (con significación estadística) más frecuentemente varones, consumidores de alcohol, infectados por genotipo 4, antiguos adictos a drogas por vía parenteral y tenían menor índice de masa corporal (IMC), mayor carga viral VHC y menor tiempo de evolución de la infección que los monoinfectados VHC. El estadio de fibrosis no fue diferente en el momento de la biopsia, pero sí fue mayor el índice de progresión anual de la fibrosis (IPAF). No se encontraron diferencias en el resto de los parámetros. Al comparar los consumidores de alcohol con los que no consumían, los primeros eran, con significación estadística, más frecuentemente coinfetados, varones, portadores de genotipo 2-3 y mostraron estadio más avanzado de fibrosis y mayor IPAF. Además IPAF se relacionó con la tasa de consumo de alcohol. El estudio multivariante mostró que IPAF se relacionó independientemente con el sexo masculino ( $p < 0,005$ ), la esteatosis en la biopsia ( $p < 0,001$ ) y el consumo de alcohol ( $p > 0,004$ ), y no con la presencia o ausencia de infección VIH.

**Conclusiones.** Los pacientes coinfetados con respuesta a TARGA no muestran mayor progresión de la fibrosis hepática y el consumo de alcohol es el único factor externo que acelera la progresión.

#### FACTORES PREDICTIVOS DE MORTALIDAD EN LA HEPATITIS ALCOHÓLICA: VALOR DE PARÁMETROS CLÍNICOS, ANALÍTICOS, HISTOLÓGICOS Y HEMODINÁMICOS

M. Domínguez-García, R. Bataller, R. Miquel, P. Bellot, J. Colmenero, P. Sancho-Bru, M. Moreno, R.A. Fernández, J.C. García-Pagán, V. Arroyo, J. Caballería y P. Ginès

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

**Introducción y objetivo.** Los pacientes con hepatopatía alcohólica crónica pueden presentar episodios de hepatitis alcohólica (HA), que cursan con una elevada mortalidad. Diversos estudios han identificado parámetros analíticos que se asocian a una mayor gravedad de un episodio de HA (Indice de Maddrey, MELD). El tratamiento estándar en los casos graves consiste en la administración de corticoides. No existen estudios que evalúen de forma conjunta el valor de parámetros clínicos, histológicos, hemodinámicos y terapéuticos sobre la mortalidad a corto y largo plazo de estos pacientes. El presente estudio evalúa el valor predictivo de dichos parámetros en una serie de pacientes con HA en los que existe una confirmación histológica.

**Métodos.** Se incluyó los pacientes ingresados en el Servicio de Hepatología en el período 2000-2006 con diagnóstico clínico e histológico de HA. Se determinó la influencia de parámetros analíticos, complicaciones clínicas, hallazgos histológicos, parámetros hemodinámicos hepáticos y tratamiento con corticosteroides sobre la mortalidad a corto y largo plazo.

**Resultados.** Se incluyó 103 pacientes con diagnóstico clínico-histológico de HA. La edad media fue  $49 \pm 9$  años, con 67% de varones. El consumo medio de alcohol fue de  $118 \pm 66$  gramos/día. Al ingreso, el Indice de Maddrey fue de  $54 \pm 35$  y el MELD  $21 \pm 7$ . La mortalidad a corto plazo (3 meses) fue del 21,35% y la supervivencia media fue de 64,08% (seguimiento medio de 80,93 meses). El grado de hipertensión portal (HVPG) fue de  $19,6 \pm 6,34$  mmHg. En el análisis multivariado, los parámetros que se asociaron a una

mayor mortalidad a los 3 meses fueron: colesterol sérico y creatinina sérica al ingreso, natremia, recuento plaquetario y de neutrófilos y tiempo de protrombina a los 7 días. Asimismo, se evaluó los parámetros que influyen en la supervivencia a largo plazo. La creatinina sérica, el tiempo de protrombina al ingreso y la creatinina sérica, colesterol sérico, natremia, recuento de plaquetas y tiempo de protrombina a los 7 días se asociaron a una mayor mortalidad a largo plazo. El desarrollo de descompensaciones clínicas durante el ingreso (ascitis, hemorragia digestiva, encefalopatía, infecciones bacterianas) no se asociaron a una mayor mortalidad en el análisis multivariado. El Índice de Maddrey y MELD al ingreso se correlacionó con la mortalidad, tanto a corto como a largo plazo. El valor de HVPG y los hallazgos histológicos no se relacionaron con la supervivencia. Por último, el tratamiento con corticosteroides se asoció a una menor mortalidad a largo plazo.

**Conclusiones.** La HA se asocia a una elevada mortalidad. Los parámetros analíticos son los mejores predictores de mortalidad en estos pacientes. Los hallazgos histológicos y el grado de hipertensión portal no parecen influir en el pronóstico de estos pacientes.

#### LA TERAPIA ANTIVIRAL COMBINADA MODULA LOS NIVELES SÉRICOS DE MARCADORES SOLUBLES DE ANGIOGENÉSIS Y DE FIBROSIS EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C (HCC)

X. Salcedo-Mora, P. Sanz-Cameno, J. Medina, S. Martín-Vilches, M. Trapero-Marugán, L. García-Buey, J.A. Moreno-Monteagudo, M.J. Borque<sup>1</sup> y R. Moreno-Otero

Unidad de Hepatología, Unidad de biología molecular<sup>1</sup>. Hospital Universitario de La Princesa.

**Introducción.** Angiogénesis y fibrosis parecen coparticipar patogénicamente en la progresión de la HCC. La evaluación de factores solubles de angiogénesis (FSA) y marcadores de fibrosis (MF) proporciona evidencias acerca de la progresión de enfermedad y respuesta terapéutica.

**Objetivos.** 1-Comparar los niveles basales en suero de FSA y MF en pacientes con HCC y controles sanos. 2- Monitorizando las variaciones posteriores a la terapia combinada en pacientes respondedores y no respondedores.

**Método.** Se analizaron 71 pacientes con HCC antes y después del tratamiento. Todos recibieron terapia combinada con peg-IFNα mas ribavirina. 30 controles sanos fueron incluidos. Se analizaron por ELISA los niveles de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), su receptor, Flk.1; Angiopoietina-2 y su receptor Tie-2; Peptido Aminoterminal del Pro colágeno III (PIIINP) y Ácido Hialurónico. Para el análisis estadístico. Chi cuadrado y test de Student's.

**Resultados.** En comparación con los controles sanos, los pacientes con HCC presentaban niveles séricos de FSA y MF significativamente más elevados: VEGF (335 ± 118 vs 430 ± 207 pg/ml; p < 0,05), Ang-2 (782 ± 400 vs 1107 ± 408 pg/ml; p < 0,005); en contraste con los niveles séricos de sus receptores: (Flk-1 2090 ± 643 vs 2039 ± 500 pg/ml; p = 0,6), Tie-2 (2,24 ± 0,6 vs 2,70 ± 0,7 ng/ml; p = 0,9), que fueron similares. Igualmente en los MF: PIIINP (3,93 ± 1,2 vs 5,99 ± 2,2 µg/ml; P < 0,005), AH (146 ± 104 vs 236 ± 116 ng/ml; p < 0,001). Posterior a la terapia se observó una disminución significativa del VEGF (p = 0,001), Ang-2 (P = 0,0001), PIIINP (p < 0,0001), AH (p < 0,0001), y elevación de los receptores Flk-1 (P < 0,01), Tie-2 (p < 0,001). Igualmente se observó una dis-

minución de Ang-2, PIIINP y AH en los pacientes que respondieron con respecto a los que no respondieron (p < 0,05, p < 0,02 y p = 0,06, respectivamente).

**Conclusión.** El tratamiento antiviral combinado de la HCC reduce los niveles en suero de MF y factores proangiogénicos, y disminuye los niveles de sus receptores solubles. La reducción significativamente mayor de Ang-2, PIIINP y AH en pacientes respondedores con respecto a los no respondedores sugiere que estos marcadores séricos pueden ser candidatos para la monitorización de la respuesta al tratamiento y por su potencial valor pronóstico, en el seguimiento a largo plazo.

#### SEGURIDAD Y EFICACIA DEL TRATAMIENTO CON PEG-IFN Y RIBAVIRINA EN PACIENTES CON CIRROSIS VIRUS C TRAS EMBOLIZACIÓN ESPLÉNICA PARCIAL (EEP)

R. Bárcena<sup>1</sup>, A. Moreno<sup>2</sup>, J.R. Foruny<sup>1</sup>, J. Blázquez<sup>3</sup>, C. Quereda<sup>2</sup>, L. Gil-Grande<sup>1</sup>, J. Moreno<sup>1</sup>, M.A. Rodríguez-Gandía<sup>1</sup>, M. García-González<sup>1</sup>, F. García-Hoz<sup>1</sup>, A. López-San Román<sup>1</sup>, M.J. Pérez-Elías<sup>2</sup>, J. Sánchez<sup>3</sup> y S. Moreno<sup>2</sup>

Servicios de Gastroenterología<sup>1</sup>, Enfermedades Infecciosas<sup>2</sup> y Radiología Vasculares Intervencionista<sup>3</sup>. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

**Introducción.** La EEP mejora la pancitopenia por hipersplenismo, que en pacientes con cirrosis virus C contraindica el uso de peg-IFN/RBV. Este trabajo evaluó la utilidad de la EEP para permitir el uso de peg-IFN/RBV en estos pacientes.

**Métodos.** En nuestro centro se realizó EEP con este fin en 24 pacientes; 20 (83%) han iniciado peg-IFN/RBV, con datos completos en 15 (75%).

**Resultados.** La media pre-EEP de MELD y edad, 13 ± 2,7 (9-18) y 43 ± 8; varones 20 (83%), 13 VIH (54%), 83% genotipo 1. Seis (25%) pacientes eran transplantados hepáticos. Las medias basales de hemoglobina, plaquetas y neutrófilos fueron 12,6 ± 1,6 g/dl, 44,483 ± 15,019 céls/ml (< 50,000 15, 63%) y 1,494 ± 1,238 céls/ml (< 1,000 en 10, 42%). Previamente al tratamiento antiviral la EEP no sólo mejoró las cifras de plaquetas (p = 0,0001), neutrófilos (p = 0,002) y hemoglobina (p = 0,002); también la bilirrubina (p = 0,035), actividad de protrombina (p = 0,0001), INR (p = 0,009) y MELD (p = 0,003). 14 ± 8 semanas tras EEP 20 pacientes iniciaron RBV (14,7 ± 3 mg/kg/día) y dosis-plenas de peg-IFN-α-2a (n = 11) o peg-IFN-α-2b (n = 9). RNA-VHC basal 5,6 ± 0,9 log<sub>10</sub> UI/ml. Sólo un sujeto redujo peg-IFN (semana 18), pero no por toxicidad hematológica. La dosis de RBV se ajustó en 5 (25%) pacientes con hemoglobina < 10 g/dl, (tras 19 ± 6 semanas), con uso de EPO en 2. Tres pacientes recibieron EPO sin ajustar RBV. Se utilizó G-CSF en 3 sujetos (15%) con neutrófilos < 500. 4 pacientes (20%) suspendieron tratamiento prematuramente, no relacionado con toxicidad en 3. En 15 pacientes con datos completos las tasas de respuesta viralógica precoz, a fin de tratamiento y RVS fueron 47%, 33%, y 20%, respectivamente. 5 pacientes no respondedores mantuvieron tratamiento prolongado (52-139 semanas) a dosis plenas, por mejoría histológica y/o bioquímica. En los 15 pacientes con datos completos, tras una mediana de seguimiento de 107 semanas, e independientemente de la respuesta viral, se observaron mejorías significativas de la GPT (p = 0,028), GGT (p = 0,027); INR (p = 0,002), actividad de protrombina (p = 0,001), MELD (p = 0,009), plaquetas (p = 0,001), y neutrófilos (p = 0,03).

	CHC antes de la terapia				CHC después de la terapia		
	Sanos	Todos	Resp.	No-resp	Todos	Resp.	No-resp
N	30	71	35	36	71	35	36
VEGF	334,7 ± 118,1	430,8 ± 207,4*	405,7 ± 172,3	455,2 ± 236,4	292,9 ± 167,7	280,6 ± 125,7	304,9 ± 201,5
Ang-2	782,2 ± 400,1	1107 ± 408,2*	1064,3 ± 349,3	1147,1 ± 459,8	701,2 ± 259,0*	645,4 ± 262,2*	755,3 ± 243,3
Ang-1	1364 ± 469,8	1386,3 ± 485,9	1351,2 ± 456,2	1421,3 ± 519,5	1001,8 ± 383,3*	1003,5 ± 323,9	1000,0 ± 443,8
Tie-2	2,2 ± 0,6	2,3 ± 0,7	2,2 ± 0,6	2,2 ± 0,6	2,7 ± 0,7*	2,5 ± 0,4	2,8 ± 0,9
P NP	3,9 ± 1,2	5,09 ± 2,2*	6,0 ± 1,7	5,9 ± 2,7	4,7 ± 2,1*	4,1 ± 1,7*	5,2 ± 2,3
AH	146,2 ± 104,5	236,0 ± 116,7*	224,8 ± 114,0	246,8 ± 119,8	132,2 ± 103,2*	109,5 ± 97,7*	154,3 ± 105,0

\*p<0,05

**Conclusiones.** La EEP permitió el uso seguro de peg-IFN/RBV en cirróticos virus C *a priori* no candidatos a tratamiento, con una tasa de RVS del 20%. El seguimiento a largo plazo mostró mejoría significativa de los parámetros de función hepática, independientemente de la respuesta al tratamiento antiviral.

#### EL TRATAMIENTO CON ADEFOVIR DIPIVOXIL (ADV) EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA B (HCB) INDUCE NORMALIZACIÓN DE LOS NIVELES DE ALT Y DESCENSO DE CARGA VIRAL ASOCIADO A MODULACIÓN DE NIVELES SÉRICOS DE IL-2,-4,-12p70 Y-18

A. Caro-Patón<sup>1</sup>, A. López-Morante<sup>2</sup>, F. Sáez-Royuela<sup>2</sup>, F. Jorquerá<sup>3</sup>, G. Sánchez-Antolín<sup>1</sup>, F. González San Martín<sup>4</sup>, M.T. Arranz<sup>5</sup>, G. Karpman<sup>6</sup>, J.L. Olcoz<sup>3</sup>, M.A. Hernández<sup>7</sup>, L. Herrera<sup>7</sup>, M. Villarreal<sup>8</sup>, E. Reyes<sup>8</sup> y M. Álvarez-Mon<sup>8,9</sup>

<sup>1</sup>Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. <sup>2</sup>Hospital Gral. Yagüe. Burgos. <sup>3</sup>Hospital de León. León. <sup>4</sup>Hospital Clínico. Universitario. Salamanca. <sup>5</sup>Hospital Clínico. Universitario. Valladolid. <sup>6</sup>Hospital de El Bierzo. León. <sup>7</sup>Gilead Sciences. Madrid. <sup>8</sup>Laboratorio de Enf del Sistema Inmune y Oncología. Dpto de Medicina, Unidad I+D Asociada al CNB-CSIC. UAH. Alcalá de Henares, Madrid. <sup>9</sup>Servicio de Enf del Sistema Inmune y Oncología. Hospital Príncipe de Asturias. Madrid.

**Introducción.** ADV es un antiviral con mostrada eficacia en el tratamiento de pacientes con HCB. La HCB es un proceso de patogenia compleja con evidencia de inadecuada respuesta del sistema inmune del paciente al virus. En este trabajo investigamos los efectos de ADV en pacientes con HCB sobre parámetros funcionales del sistema inmune y su relación con la respuesta clínica.

**Material y métodos.** Se han incluido 23 pacientes (18 varones/5 Mujeres), de entre 29-69 años, con 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 según la práctica clínica habitual (10 mg/día v.o.). 5 eran AgHBe+. Se han incluido 19 controles sanos pareados en edad y sexo con los pacientes. Mediante ELISA se midieron niveles séricos basales de IL-1β, -1Ra, -2, -4, -6, -12p70, -18 e IFNγ y a las 24 y 48 semanas de tratamiento. (Límites de sensibilidad de 5, 100, 10, 0,5, 0,8, 0,75, 3 y 5 pg/ml respectivamente).

**Resultados.** Los resultados clínicos demostraron normalización de ALT en 21 pacientes (91,30%) y descenso de carga viral en 20 (86,95%). En el estudio immunológico se observaron niveles basales significativamente elevados de IL-2, -4, -6, -12p70 y -18 de los pacientes vs controles sanos (Tabla 1). En relación a los niveles de IL-2, -4, -12p70 y -18 se observó un paulatino descenso durante el seguimiento con normalización tras 48 sem de tratamiento. Los niveles séricos de IL-1β fueron significativamente menores vs controles sanos ( $p < 0,003$ ). Estas diferencias significativas en niveles de IL-1β, -6 y la -18 se mantuvieron tras 24 y 48 semanas de seguimiento.

**Conclusión.** Los enfermos con HCB padecen una marcada alteración del sistema inmune con una elevación significativa de citoquinas proinflamatorias del compartimento monocitario y linfocitario T. ADV consigue en la mayoría de los enfermos la normalización de la hepatolisis y un descenso de carga viral con notoria recuperación de la función inmunitaria.

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

	Pacientes		Controles sanos
	Basal (n = 23)	24 sem (n = 21)	(n = 19)
IL-1β (pg/ml)	4,34 ± 3,72*	4,13 ± 25,65*	8,53 ± 3,82*
IL-1Ra (ng/ml)	0,20 ± 7,51	0,15 ± 6,36*	0,21 ± 2,25
IL-2 (pg/ml)	24,36 ± 10,05*	23,51 ± 12,51*	10,27 ± 7,71**,**
IL-4 (pg/ml)	0,81 ± 4,45*	0,71 ± 0,47	0,63 ± 5,08**
IL-6 (pg/ml)	1,94 ± 4,19*	1,87 ± 2,35*	1,94 ± 1,25*
IL-12p70 (pg/ml)	0,27 ± 5,84*	0,30 ± 0,98†	0,18 ± 0,37**
IL-18 (pg/ml)	512,55 ± 115,27*	409,30 ± 80,50*	402,98 ± 80,49**,**
IFNγ (pg/ml)	3,54 ± 7,43	3,42 ± 5,29	3,66 ± 1,57
			3,95 ± 1,95

Los valores se expresan como media ± DS. \*Indica diferencias significativas vs controles sanos ( $p < 0,05$  Mann-Whitney Test). \*\*Diferencia significativa vs basal ( $p < 0,05$  Wilcoxon Signed Ranks Test). \*\*\*Diferencia significativa vs determinación realizada tras 24 sem de tto ( $p < 0,05$  Wilcoxon Signed Ranks Test).

#### CUANTIFICACIÓN Y ANÁLISIS FUNCIONAL DE CÉLULAS T CD8+ VHC ESPECÍFICAS EN LA INFECIÓN PERSISTENTE POR VHC

S. Benito<sup>1</sup>, M. Calvino<sup>1</sup>, J.R. Larrubia<sup>1,2</sup>, A. Arias<sup>1</sup>, J. Pérez de Hornedo<sup>1</sup>, E. Sanz de Villalobos<sup>2</sup>, F. González Mateos<sup>2</sup>, S. García Garzón<sup>2</sup>, A. Bienvenido<sup>2</sup> y T. Parra<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Investigación. <sup>2</sup>S. Aparato Digestivo. Hospital Universitario de Guadalajara.

**Introducción.** La respuesta celular citotóxica específica contra el VHC juega un papel central en el control viral. Los pacientes que resuelven la infección desarrollan una respuesta celular citotóxica vigorosa con capacidad de expansión clonal, mientras que esta respuesta está insuficientemente estudiada en los sujetos que evolucionan hacia una infección crónica.

**Objetivos.** Cuantificar la frecuencia de células T CD8+ específicas contra dos epítitos immunodominantes del VHC (NS3<sup>1406-1415</sup> y NS3<sup>1073-1081</sup>) en sangre periférica e hígado de pacientes con hepatitis crónica C (HCC) CMH-A2+ y analizar su funcionalidad a través de su capacidad de expansión clonal *in-vitro* tras estimulación con péptidos específicos.

**Materiales y métodos.** Mediante gradiente de Ficoll-Hypaque se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de 20 sujetos con HCC y CMH-A2+ y 11 sujetos con HCC y CMH-A2-, que se emplearon como controles negativos (CN); y por digestión de un fragmento del cilindro de biopsia hepática con DNAasa y colagenasa-I, células mononucleares intrahepáticas (CMIH) de 5 y 7 sujetos de estos dos grupos respectivamente. Las CMSP y las CMIH se marcaron con complejos pentaméricos-PE (Pent+) y anticuerpos anti-CD8-Cy5 y se analizaron mediante Citometría de Flujo. Se consideró positivo un valor igual o superior a la media + 2DE de los CN (10 células Pent+ por 50.000 CD8+). Para analizar la capacidad de expansión clonal, 5x10<sup>5</sup> CMSP se estimularon con los péptidos (1mM), IL-2 (25IU/ml) y toxoide tetánico (0,5mM), durante 10 días. Los resultados se presentan como la mediana de frecuencia de células T CD8+/Pent+ sobre el total de células T CD8+ más la variación intercuartil (IQR).

**Resultados.** En 9 de los 20 pacientes con HCC (45%) se observó una respuesta celular citotóxica específica con una frecuencia de células CD8+/Pent+ de 0,06% IQR: 0,13 para el epítito NS3<sup>1073-1081</sup> y de 0,02% IQR: 0,04 para NS3<sup>1406-1415</sup>. De los 9 pacientes con respuesta específica sólo se logró expansión clonal en uno de ellos. Se observó un secuestro de las células T CD8+ NS3<sup>1406-1415</sup> específicas en hígado (sangre: 0,02%, hígado: 0,4%).

**Conclusiones.** La respuesta citotóxica VHC específica en la infección persistente por VHC se caracteriza por ser: 1) Débil: se encuentran en una frecuencia inferior a 0,06% o están ausentes. 2) Estas células funcionalmente defectivas respecto a su capacidad de expansión clonal. Todas estas características pueden influir en la incapacidad del sistema inmune para el control viral en la HCC.

#### TRATAMIENTO CON INTERFERÓN PEGILADO Y RIBAVIRINA DE LA HEPATITIS C RECURRENTE COLESTÁSICA TRAS EL TRASPLANTE HEPÁTICO

E. Ulloa<sup>1</sup>, I. Fernández<sup>1</sup>, F. Colina<sup>2</sup>, R. Gómez<sup>3</sup>, J.C. Meneu<sup>3</sup>, R. Muñoz<sup>1</sup>, G. Castellano<sup>1</sup>, A. Fuertes<sup>4</sup>, E. Moreno<sup>3</sup> y J.A. Solís-Herruzo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicios de <sup>2</sup>Medicina Aparato Digestivo, <sup>3</sup>Anatomía Patológica,

<sup>3</sup>Cirugía General y Unidad de Trasplantes Abdominales y

<sup>4</sup>Microbiología. Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

La recurrencia de la infección por el virus de la hepatitis C (VHC) es universal tras el trasplante hepático. En un pequeño subgrupo de pacientes, esta recurrencia se puede manifestar en forma de hepatitis colestásica, entidad que ocasiona con frecuencia un daño acelerado e irreversible del injerto. Describimos una serie de 15 pacientes transplantados por cirrosis por VHC con hepatitis C colestásica (14 genotipo 1, 1 genotipo 2), diagnosticada como media a los 176 días del trasplante (rango 60-670). El diagnóstico se hizo de acuerdo con la Conferencia de Consenso de Trasplante Hepático y Hepa-

titis C (Liver Transp 2003; 9:S1-S9). Cuatro eran mujeres y 11 hombres; la edad media de 51 años (rango 34-70). El valor medio de la bilirrubina era de 19,7 mg/dl (6-45 mg/dl), de la GGT de 692 mg/dl (184-2339 mg/dl) y de la fosfatasa alcalina de 575,8 mg/dl (297-1452 mg/dl). En 10 de los 15 pacientes se detectaron cifras de carga viral en sangre superiores a  $5 \times 10^6$  UI/mL ( $2,4 \times 10^6$ - $200 \times 10^6$  UI/mL). En todos los pacientes se inició tratamiento con IFN-Peg (1,5 µg/kg/semana) y ribavirina (800-1000 mg/d). Cuatro pacientes (27%) fallecieron entre los 2-4 meses por fallo de injerto, sin respuesta a la medicación antiviral. Diez (67%) de los 15 pacientes normalizaron las transaminasas durante el tratamiento. Cuatro de estos 10 pacientes (27%) consiguieron una respuesta viral sostenida (RVS) al retirar la medicación antiviral, dos de ellos tras 12 meses de tratamiento y dos tras sólo 8 meses, cuando fue suspendido por efectos secundarios. En los 6 pacientes restantes, la viremia permanecía detectable al final del tratamiento: uno falleció por insuficiencia hepática en relación con una recidiva grave de la infección tras suspender la medicación antiviral y en el resto el tratamiento antiviral se reinstauró a las pocas semanas de suspendido ante el empeoramiento del perfil hepático; en todos ellos se consiguió de nuevo normalizar la analítica hepática. Entre los efectos secundarios de la medicación antiviral destacó la anemia hemolítica (11/14 pacientes requirieron darbopoetina y/o transfusión), y la neutropenia (2 pacientes necesitaron Filgastrim). En un caso el tratamiento se suspendió al 4º mes por rechazo agudo y en dos casos, con RVS, el tratamiento se suspendió al 8º mes por colestasis y ductopenia leve en la biopsia hepática.

**Conclusiones:** 1) El tratamiento combinado con IFN-Peg y ribavirina consiguió normalizar la analítica hepática en el 67% de los pacientes trasplantados con hepatitis C recurrente colestásica, erradicando la infección viral en el 26%. 2) El tratamiento antiviral de mantenimiento parece ser necesario en aquellos pacientes en los que mejora la función del injerto pero permanecen con viremia. 3) Se debe vigilar de forma estrecha la aparición de efectos adversos de la medicación antiviral, especialmente las citopenias y el rechazo.

#### EN LA HEPATITIS CRÓNICA C LA ESTEATOSIS HEPÁTICA INFLUYE EN LA EXPRESIÓN DE CITOQUINAS

L.I. Fernández, J.M. González, A. León<sup>1</sup>, R. Aller, B. Velayos y J.A. Garrote<sup>1,2</sup>

Servicio de Aparato Digestivo. Unidad de Investigación<sup>2</sup>. Hospital Clínico de Valladolid. IBGM. Universidad de Valladolid<sup>1</sup>. España.

**Introducción.** En la hepatitis crónica C la actividad inflamatoria y fibrosis se asocian a la síntesis de diferentes citoquinas. Las citoquinas también intervienen en la patogenia de la enfermedad hepática por depósito de grasa. Hay esteatosis aproximadamente en el 50% de las biopsias hepáticas de pacientes con hepatitis crónica C y se asocia a formas más graves. Por tanto la esteatosis podría influir en la síntesis de citoquinas en la hepatitis crónica C.

**Objetivos.** Determinar si la presencia de esteatosis en el tejido hepático de pacientes con hepatitis crónica C modifica el patrón de producción de citoquinas.

**Material y métodos.** Hemos medido los niveles de ARNm de IFN gamma, IL6, TGFbeta, TNFalfa, IL1beta, IL10, IL12 (p40 and p35) en tejido hepático de 30 pacientes con hepatitis crónica C biopsiados antes de recibir tratamiento antiviral. Tras la obtención de las muestras, éstas se sumergieron inmediatamente en 1mL de solución RNALater® (Ambion inc, TX, USA) y fueron almacenadas a -20°C para preservar la integridad del ARN hasta su procesamiento. El ARN total fue extraído del resto de la biopsia usando el reactivo TRIZOL® (Invitrogen, Live Technologies, USA). Los valores de ARNm fueron determinados con PCR en tiempo real con LightCycler® (Roche Applied Science, Mannheim Germany). Las reacciones se realizaron en un volumen de 20 ul usando el FastStart SYBR Green I MasterMix (Roche) y 1 ul de Uracil DNA Glicosilase (UDG) (Roche) termolábil para evitar contaminaciones. Los resultados obtenidos como un cociente entre el ARNm de cada citoquina

y de beta-actina se han expresado con unidades arbitrarias. Hemos comparado los niveles de ARNm de las diferentes citoquinas en pacientes con y sin esteatosis teniendo en cuenta el genotipo y los diferentes grados inflamatorios y estadios de fibrosis, y también en los pacientes con esteatosis según el genotipo sea 3 ó 1 y/o 4. Hemos empleado las pruebas de U Mann Whitman y de Chi cuadrado.

**Resultados.** La esteatosis hepática se asocia a menor expresión de ARNm de TNfalfa (p 0,01), IL12p35 (p 0,01) y TGFbeta (p 0,07) en el global de pacientes y entre pacientes infectados por genotipo 1 y/o 4 (TNFalfa p 0,04, IL12p35 p 0,002, TGFbeta p 0,005). Estas diferencias persisten en pacientes con diferentes grados de actividad y estadios de fibrosis. Entre los pacientes con esteatosis el genotipo 3 se asocia a menor expresión de IL6 (p 0,03) e IFNgamma (p 0,04).

**Conclusiones.** En la hepatitis crónica C la esteatosis hepática se asocia a menor expresión de citoquinas de tipo Th1. La IL 6 podría inhibir la respuesta de tipo Th1. En la hepatitis crónica C la esteatosis podría inducir la fibrosis por un mecanismo independiente de TGFbeta.

#### MUTANTES DE ESCAPE A LA VACUNA ANTI-HEPATITIS B EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA B SIN RESPUESTA AL TRATAMIENTO ANTIVIRAL

J. Sheldon<sup>1</sup>, B. Ramos<sup>1</sup>, J. García-Samaniego<sup>2</sup>, M. Romero<sup>2</sup>, A. Moreno<sup>2</sup>, P. Ríos<sup>1</sup> y V. Soriano<sup>1</sup>

Servicios de Enfermedades Infecciosas<sup>1</sup> y Hepatología<sup>2</sup>. Hospital Carlos III, Madrid, España.

**Introducción.** El genoma del virus de la hepatitis B (VHB) contiene 4 genes que codifican diversas proteínas complejas y multifuncionales. El tratamiento a largo plazo con análogos de nucleos (t)idos puede dar lugar al desarrollo de mutantes de resistencia que pueden convertirse con el tiempo en las especies dominantes. La DNA polimerasa del VHB se solapa con el gen de la envoltura que codifica el HBsAg, de tal manera que la selección de mutaciones de resistencia pueden afectar la antigenicidad y/o la producción de HBsAg. La primera situación favorece el escape a la vacuna específica y la segunda puede dar lugar a infección oculta por VHB.

**Métodos.** Se estudiaron 62 pacientes con hepatitis crónica por VHB (19 monoinfectados y 43 con coinfección VHB/VIH) y carga viral detectable a pesar del tratamiento con nucleos (t)idos a los que se realizó secuenciación del DNA-VHB en busca de mutaciones en los genes de la polimerasa y el HBsAg.

**Resultados.** Las principales características de la población del estudio se resumen en la tabla. El tiempo medio de tratamiento con lamivudina (LAM), tenofovir (TDF), adefovir (ADV), y emtricitabina (FTC) fue de 39, 13, 22 y 9 meses, respectivamente.

	VHB	VHB/VIH	p
Nº de pacientes	19	43	
Fármacos antivirales	ADV (10)	TDF + LAM (38)	
ADV + LAM (9)	TDF + FTC (2)	LAM (2) TDF (1)	
Genotipos			
A	6	36	
D	10	6	
E	2		
F	1		
G		1	
Mutaciones de resistencia		19	
LAM (rtL180M, rtM204V/I, rtV173L, rtV207I, rtV191I)	1	1	
TDF (rtA194T)		2	
LAM + TDF			
ADV (rtN236T, rtQ215S, rtL233V, rtS213T, rtV214P)	5		
LAM + ADV	2		
Mutaciones determinante "a" (sP120T, sM133I, sD144E)	4	1	0,013
Mutaciones "c" terminal (sE164D, sI195M, sW196L/S, sM198I, sL216stop, sW199stop, sW182stop)	5	19	

En los pacientes VIH (-) con hepatitis crónica B se detectaron mutaciones tanto en el determinante "a" como en "c" terminal principalmente en aquéllos con genotipo D. En los pacientes coinfecados por VIH todas las mutaciones en "c" terminal se detectaron en el genotipo A. En el análisis multivariante las mutaciones en el determinante "a" eran dependientes del genotipo mientras que las mutaciones en el "c" terminal no guardaron relación con el genotipo y se seleccionaron con el tratamiento con lamivudina.

**Conclusiones.** Las mutantes de escape a la vacuna parecen ser más frecuentes en los pacientes con genotipo D y en este estudio se observaron más frecuentemente en pacientes monoinfectados por VHB. La circulación de las variantes que afectan al gen de la envoltura del VHB seleccionadas por fármacos antivirales necesita mayor investigación para determinar sus eventuales repercusiones de salud pública.

#### VALORACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DE LA FIBROSIS EN PACIENTES CON HEPATITIS C MEDIANTE ANÁLISIS ÓPTICO DE IMÁGENES DE TAC DE HÍGADO (FIBROCT®)

A. Madrazo, E. Gómez-González, M. Vera, V.M. Castellano, M. Nevado, J.C. Alcón, L. Rodrigo, R. Pérez, R. Solà, J.M. Pérez-Moreno, J.M. Navarro, R. Andrade, J. Salmerón, M. Diago y M. Romero Gómez  
*UGC Enfermedades Digestivas. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. Grupo de Física multidisciplinar. Depto Física aplicada III. Universidad de Sevilla. Servicio de Patología. Hospital Fundación Fuenlabrada. Madrid. Servicio de Patología. Fundación Hospital Alcorcón. Madrid. Servicio de Radiodiagnóstico. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Central de Asturias. Oviedo. Sección de Hepatología. Hospital del Mar. Barcelona. Sección de Aparato Digestivo. Hospital de Puerto real. Cádiz. Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Costa del Sol. Marbella. Málaga. Sección de Hepatología. Hospital Virgen de la Victoria. Málaga. Unidad Clínica de Digestivo. Hospital San Cecilio. Granada. Sección de Hepatología. Hospital General de Valencia. Valencia.*

**Introducción.** La distribución de la fibrosis en el hígado en pacientes con hepatitis C parece no ser homogénea, observándose diferencia de un estadio en un tercio de los pacientes cuando se analizan biopsias de ambos lóbulos. El fibroscan® detecta diferentes velocidades de ondas en el modificar el punto de medición en un mismo paciente. El análisis óptico de imágenes de TC de hígado permite analizar el hígado en su totalidad y conocer la distribución de la fibrosis.

**Propósito.** Analizar la homogeneidad de la distribución de la fibrosis en el hígado y su influencia en la correlación con la biopsia hepática histológica.

**Material y métodos.** Incluimos 70 pacientes con hepatitis C que no habían sido tratados con antivirales. Analizamos la fibrosis histológica según Scheuer por dos patólogos expertos e independientes. Las biopsias debían medir al menos 15 mm y mostrar más de 10 espacios porta. Se practicó TC de hígado helicoidal, sin contraste oral ni intravenoso (Toshiba Asteion, 120kV, 190-205mAs) con cortes axiales de 5 mm. Los niveles de ventana se mantuvieron constantes y las imágenes fueron digitalizadas (Microtek 9800XL+TMA 1600, 300 dpi, 8 bpp). El análisis digital permitió conocer la distribución de la fibrosis y el cálculo de la fibrosis media ponderada (FMP). Los pacientes se clasificaron en tres grados de homogeneidad en la distribución de la fibrosis: homogénea, heterogénea e intermedia según el número de áreas de cada estadio de fibrosis detectada.

**Resultados.** Presentaban una distribución homogénea 23 pacientes (32,8%), heterogénea 22 casos (31,4%) e intermedia 25 pacientes (35,7%). La FMP correlacionó con la fibrosis histológica (FH) ( $r = 0,51$ ;  $p < 0,001$ ). La capacidad diagnóstica según curva ROC para predecir fibrosis no significativa (F0-F1) fue de 0,73 (IC95%: 0,61-0,85). En el grupo de pacientes con distribución homogénea de la fibrosis el AUC para F0-F1 fue de 0,80 y para F3-F4 de 1,00. En los casos con distribución heterogénea el AUC fue de 0,65 y 0,62 respectivamente. La correlación entre FH y FMP fue superior en los

pacientes con distribución homogénea ( $n = 23$ ;  $r = 0,65$ ;  $p < 0,001$ ) que en los de distribución heterogénea ( $N = 22$ ;  $r = 0,34$ ;  $p < 0,05$ ). El kappa entre patólogos fue de 0,65;  $p < 0,0001$ .

**Conclusiones.** El análisis óptico digital de imágenes de TC de hígado en pacientes con hepatitis C permite conocer el estadio y la distribución de la fibrosis. Un tercio de los pacientes muestran una distribución heterogénea de la fibrosis. La concordancia entre la biopsia y el fibroCT depende de la homogeneidad de la distribución de la fibrosis y es similar a la concordancia entre patólogos. Por tanto, el fibroCT® es un método útil y seguro para valorar la distribución de la fibrosis en la totalidad del hígado.

*Agradecimientos: III Plan Andaluz de Investigación, proyecto 43/03, 102/04 Y 56/05 de la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía.*

#### EFEITO DEL FENOFIBRATO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DEL HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICA (EHGNA)

M. Pérez-Carreras<sup>1</sup>, C. Fernández-Miranda<sup>2</sup>, F. Colina<sup>3</sup>, G. López-Alonso<sup>3</sup>, C. Vargas<sup>4</sup> y J.A. Solís-Herruzo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medicina Aparato Digestivo. <sup>2</sup>Medicina Interna. <sup>3</sup>Anatomía Patológica. <sup>4</sup>Bioquímica. Hospital Universitario "12 de Octubre". Madrid.

**Introducción.** El síndrome metabólico, la insulinorresistencia y la dislipemia son factores de riesgo que se asocian a la EHGNA y que pueden mejorar con la administración de fenofibrato.

**Objetivo.** Evaluar el efecto del fenofibrato en la evolución clínica, analítica e histológica de un grupo de pacientes con EHGNA.

**Material y métodos.** Se incluyeron 16 pacientes con diagnóstico histológico de EHGNA, los cuales recibieron una dosis diaria de 200 mg de fenofibrato durante 12 meses. En todos ellos se realizó un seguimiento clínico y bioquímico cada 3 meses y una segunda biopsia hepática al finalizar el tratamiento.

**Resultados.** Todos los pacientes cumplieron los 12 meses de tratamiento, sin detectarse efectos adversos. Al finalizar el estudio se encontró una disminución significativa en los niveles plasmáticos de triglicéridos, glucosa, fosfatasa alcalina y gamma-glutamil transpeptidasa, así como un incremento en los de apolipoproteína A. Además, se obtuvo una disminución significativa en la proporción de pacientes con niveles anormales de transaminasas (ALT: 93,7% vs 62,5%;  $p = 0,02$ , AST: 50% vs 18,7%;  $p = 0,02$ ). No se encontró ningún cambio en el índice de masa corporal, aunque sí una reducción significativa del número de pacientes con síndrome metabólico (43,7% vs 18,7%;  $p = 0,04$ ). El estudio histológico hepático efectuado al finalizar el tratamiento reveló una mejoría significativa en el grado degeneración hepatocitaria balonizante ( $p = 0,03$ ). Sin embargo, no se hallaron modificaciones en la severidad de la esteatosis, la inflamación lobulillar ni la fibrosis. Tampoco se encontró ningún cambio en el índice de actividad de la EHGNA.

**Conclusiones.** El fenofibrato es un tratamiento seguro en pacientes con EHGNA. Mejora los niveles de glucemia, triglicéridos y amiotransferasas. Disminuye el porcentaje de pacientes con síndrome metabólico. Reduce la degeneración balonizante de los hepatocitos, sin modificar el grado de esteatosis, la inflamación ni la fibrosis.

#### TRATAMIENTO CON ADEFOVIR DE LA HEPATITIS CRÓNICA B EN PACIENTES RESISTENTES A LAMIVUDINA: FACTORES PREDICTIVOS DE RESPUESTA VIROLÓGICA PERSISTENTE

M. Buti, I. Elefsiniotis, V. Vargas, R. Jardi, F. Rodríguez-Frías, S. Bonovas, M. Schapper y R. Esteban

*Servicio de Hepatología y de Bioquímica del Hospital Universitario Valle Hebrón. Barcelona.*

El adefovir es el fármaco de elección en los pacientes con hepatitis crónica B y resistencia a lamivudina. Los factores asociados a una respuesta favorable no están bien definidos.

**Objetivos.** Estudiar los factores predictivos de respuesta virológica mantenida al tratamiento con adefovir en pacientes previamente resistentes a lamivudina.

**Pacientes y métodos.** 54 pacientes con resistencia a lamivudina ((81,5% varones, edad:  $51,1 \pm 12,1$  años, 37% con cirrosis, 46% HBeAg-positivo, Genotipo VHB: 23A / 29D / 2F) fueron tratados con adefovir monoterapia ( $n = 28$ ) ó la combinación de Adefovir y lamivudina ( $n = 26$ ) durante un tiempo medio de  $30,4 \pm 15,9$  meses. Al inicio del tratamiento y cada 3 meses se determinaron los niveles de DNA-VHB por Real Time PCR (LID: < 1.000 copies/ml) y en los casos positivos se estudiaron la presencia de resistencia al adefovir mediante secuenciación directa. Las variables que se evaluaron fueron todos los factores basales, la respuesta virológica a los 12, 24 y 48 semanas, la emergencia de resistencias al adefovir, el tipo de tratamiento (ADV vs ADV y lamivudina). El análisis estadístico se basó en el análisis tiempo-evento (supervivencia), test log-rank y modelo de Cox de riesgos proporcionales ( $p < 0,05$ ).

**Resultados.** Treinta y ocho pacientes (70,4%) alcanzaron una respuesta virológica inicial (22,2% al mes 3, 14,8% al mes 6 y 33,3% al mes 12). Todos ellos mantuvieron la respuesta virológica durante el seguimiento. Seis de los pacientes HBeAg + negativizaron el HBeAg (entre los meses 3 y 30) siendo la tasa anual de seroconversión del 10,7%. Ocho pacientes (14,8%) desarrollaron resistencias al ADV. El análisis univariado mostró que la respuesta virológica no se asocia al sexo ( $p = 0,29$ ), cirrosis ( $p = 0,83$ ), Genotipo VHB ( $p = 0,20$ ), ALT basales ( $p = 0,39$ ) o tipo de tratamiento ( $p = 0,29$ ): pero estaba significativamente relacionado con la edad del paciente ( $p = 0,025$ ), el HBeAg ( $p = 0,015$ ) y los niveles basales de viremia ( $p = 0,006$ ) y la negativización del DNA-VHB en la semana 48. En el análisis multivariado, los factores independientes predictivos fueron los bajos niveles de DNA-VHB (HR = 0,65, 95% CI: 0,45-0,95,  $p = 0,027$ ), HBeAg-negativo (HR = 0,37, 95% CI: 0,14-0,96,  $p = 0,040$ ) y el sexo femenino (HR = 0,20, 95% CI: 0,05-0,76,  $p = 0,018$ ).

**Conclusión.** El tratamiento con Adefovir suprime la replicación viral durante el primer año de tratamiento en más del 70% de los pacientes resistentes a lamivudina. Esta inhibición se mantiene durante el tratamiento. Los factores predictivos de respuesta mantenida identificados fueron la negativización del DNA antes de la semana 48, los bajos niveles de viremia y el sexo femenino.

#### RESULTADOS DEL PROGRAMA DE USO COMPASIVO CON ADV EN ESPAÑA: VALORACIÓN DE EFICACIA Y ESTUDIO DE RESISTENCIAS

M. Buti<sup>1</sup>, F. Rodríguez<sup>2</sup>, J.L. Calleja<sup>3</sup>, R. Jardi<sup>2</sup>, F. Pons<sup>4</sup>, J. Crespo<sup>4</sup>, T. Casanovas<sup>5</sup>, J. Enríquez<sup>6</sup>, F. Carnicer<sup>7</sup>, M. Romero<sup>8</sup>, M. García Bengoechea<sup>9</sup>, M. Prieto<sup>10</sup>, J. García Samaniego<sup>11</sup>, Manuel Miras<sup>12</sup>, F. Pérez Roldán<sup>13</sup>, M. Rueda<sup>14</sup> y R. Esteban<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hepatología. <sup>2</sup>Bioquímica, H.U. Vall d'Hebrón. <sup>3</sup>Gastroenterología. H. Puerta de Hierro. <sup>4</sup>Gastroenterología H. Marqués de Valdecilla.

<sup>5</sup>Gastroenterología C.S.U. de Bellvitge. <sup>6</sup>Gastroenterología H. Sta Creu i St Pau. <sup>7</sup>Gastroenterología H. General de Alicante. <sup>8</sup>Gastroenterología H. de Valme. <sup>9</sup>Gastroenterología H. de Donostia. <sup>10</sup>Gastroenterología H. La Fe. <sup>11</sup>Gastroenterología H. Carlos III. <sup>12</sup>Gastroenterología H.U. La Arrrixaca. <sup>13</sup>Gastroenterología H. La Mancha Centro. <sup>14</sup>Gilead Sciences, Ltd. Madrid.

**Introducción y objetivo.** El tratamiento prolongado con lamivudina de los pacientes con hepatitis crónica B se asocia a la emergencia de resistencias. Los pacientes con resistencia a la lamivudina presentan una pérdida de la respuesta bioquímica y virológica y una mayor progresión de la enfermedad hepática. El adefovir dipivoxil, un análogo de los nucleótidos, es eficaz en el tratamiento de los pacientes con resistencia a lamivudina. El objetivo de este estudio ha sido evaluar la eficacia, seguridad y resistencias del adefovir dipivoxil en pacientes con hepatitis crónica B refractarios al tratamiento con lamivudina.

**Pacientes y métodos.** Se han incluido 120 pacientes afectos de hepatitis crónica B refractarios al tratamiento con lamivudina tratados con adefovir dipivoxil, de los cuales 74 han sido seguidos durante 2 años. En todos los casos se ha determinado el ADN-VHB por PCR

y en los casos sin respuesta al tratamiento, se han estudiado la presencia de resistencias a adefovir dipivoxil y a lamivudina.

**Resultados.** A los 2 años de tratamiento se observó una respuesta virológica del 54%, una respuesta bioquímica del 62% y la eliminación del HBeAg en el 21% de los casos. Se detectaron resistencias a adefovir dipivoxil en el 20% de los pacientes, siendo las mutaciones más frecuentes detectadas A181V, A181T y N236T. La seguridad del fármaco fue excelente detectándose solo un efecto adverso relacionado con el tratamiento.

**Conclusiones.** El tratamiento durante 2 años con adefovir dipivoxil en monoterapia en pacientes previamente refractarios a lamivudina, se asocia a una alta tasa de respuesta bioquímica y virológica con una seguridad excelente. Sin embargo, el porcentaje de resistencias a este fármaco es superior al observado en pacientes no tratados previamente si se utiliza como tratamiento secuencial.

#### TRATAMIENTO CON INTERFERÓN PEGILADO ALFA-2A Y RIBAVIRINA EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA ESTABLECIDA POR VHC RECURRENTE POST-TRASPLANTE HEPÁTICO

J.M. Pascasio<sup>1</sup>, J.M. Sousa<sup>1</sup>, M. Cabanillas<sup>1</sup>, F. Gavilán<sup>2</sup>, M. Sayago<sup>1</sup>, M.T. Ferrer<sup>1</sup>, M.A. Gómez<sup>3</sup>, J.L. Márquez<sup>1</sup> y A. Bernardos<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Digestivo. <sup>2</sup>Anatomía Patológica. <sup>3</sup>Cirugía y Trasplante Hepático. H.U. Virgen del Rocío. Sevilla.

**Objetivos.** Analizar la respuesta virológica persistente (RVP), tolerancia y complicaciones del tratamiento (TTO) con dosis plenas de interferón pegilado alfa-2a (PEG2a) y ribavirina (RBV) en pacientes con hepatitis crónica (HC) establecida por VHC recurrente post-trasplante hepático.

**Métodos.** 21 pacientes (57% hombres), de  $56 \pm 9$  años, con HC establecida por VHC y estadio de fibrosis ( $F \geq 1$ ) (índice de Scheuer) en la biopsia. Los enfermos recibieron desde el inicio dosis plenas de PEG2a (180 mcg/sem) y RBV (1000-1200 mg/d) o las mayores posibles según los parámetros hematológicos y la función renal durante 48-52 semanas; en 3 (14%) pacientes se prolongó hasta 72 semanas. Se utilizaron eritropoyetina (EPO) ( $Hgb < 9$  g/dl) y G-CSF (sólo en un caso). La mediana de tiempo desde el trasplante hepático al inicio del TTO fue de 31,6 (6-94) meses. Seis (29%) recibían ciclosporina (CsA) y 15 (71%) tacrolimus (Tac); en 8 (38%) se asociaba Micofenolato (MMF) a CsA o Tac. El 67% fueron genotipo 1. La carga viral (mediana-log10) fue de 6 (3,8-7,1) UI/ml (62% con carga viral elevada  $> 600000$  UI/ml). El 76% tenía fibrosis avanzada (F3-F4).

**Resultados.** 15 pacientes (71,4%) tuvieron respuesta virológica al final del TTO y 11 (52,4%) RVP. La RVP se asoció a la negativización del ARN-VHC a las 4 semanas (100 vs 33,3%;  $p = 0,007$ ) y a las 12 semanas (75 vs 25%;  $p = 0,04$ ). Se observó una tendencia a mayor tasa de RVP en los pacientes con índice de masa corporal  $\leq 25$  (78 vs 33%;  $p = 0,056$ ), TTO con CsA vs Tac (83 vs 40%;  $p = 0,094$ ), ausencia de MMF (61 vs 37%), no diabéticos (60 vs 33%), genotipo no-1 (71 vs 43%) y carga viral baja (75 vs 38%). La severidad de la fibrosis no se asocia a la RVP. Presentó neutropenia ( $< 750/\text{mm}^3$ ) el 67%, trombopenia ( $< 50000/\text{mm}^3$ ) el 33% y anemia ( $Hgb < 10$  g/dl) el 67% de los enfermos. El 38% precisó EPO y el 14,3% transfusión. Fue necesario reducir la dosis de PEG2a en el 71% y de RBV en el 76% y suspender el TTO antiviral por efectos adversos en el 33,3% de los pacientes. Cinco enfermos (24%) presentaron rechazo agudo/crónico que motivó suspensión del TTO en 3 casos.

**Conclusiones.** 1) El TTO con PEG2a más RBV en la HC establecida por VHC post-trasplante hepático consiguió una buena tasa de RVP global y en genotipo 1, cercana a la referida en los no trasplantados, si bien a costa de importantes efectos secundarios que obligaron con frecuencia a reducir dosis, utilizar EPO e incluso transfusiones. 2) Estos buenos resultados justifican el manejo agresivo de estos pacientes a pesar de conllevar incluso la suspensión anticipada del TTO en hasta un tercio de ellos. 3) Las variables predictivas de RVP parecen similares a las definidas en los no trasplantados.

**IDENTIFICACIÓN PRECOZ DE LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C GENOTIPO 1**

A. Hernández Albújar<sup>1</sup>, F. Domper Bardají<sup>1</sup>,  
C. Martínez Delgado<sup>2</sup>, J.C. González Rodríguez<sup>3</sup>  
y E. Rodríguez Sánchez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Aparato Digestivo. <sup>2</sup>Unidad de Investigación. <sup>3</sup>Sección de Microbiología. Hospital General de Ciudad Real.

**Objetivo:** Identificar qué factores predicen la respuesta al interferón pegilado α2b y ribavirina en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1.

**Material y métodos:** Se evaluaron de forma prospectiva y consecutiva a los pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1 remitidos a nuestra consulta de Hepatología, entre enero de 2004 y abril de 2006, para tratamiento antiviral. Se recogieron datos basales y viremia medida mediante PCR cualitativa y cuantitativa a las 2, 4 y 12 semanas de iniciado el tratamiento. Se valoró la respuesta virológica al final del tratamiento (RFT) y la respuesta virológica sostenida (RS). La viremia se extrajo horas antes de la dosis semanal de interferón pegilado.

**Resultados:** Se incluyeron 58 pacientes, habiendo concluido el seguimiento 35. Un 66% eran varones (n = 23), con edad media de 42 años +/- 11 (26-65). La carga viral basal fue mayor de 800.000 UI/mL en el 75% (n = 26). Se hizo biopsia hepática en el 86% (n = 30), 9 tenían fibrosis grado III-IV. 25 eran naives, 3 recidivas y 7 no respondedores. La adherencia al tratamiento fue muy buena en el 97% (n = 34). Solo en un paciente se modificó la dosis de ribavirina por efecto secundario (anemia con respuesta parcial a la eritropoyetina). La RFT y RS fueron de 49% y 31% respectivamente. En el análisis multivariante se asociaron significativamente a RS, la GGT basal ( $p=0,021$ ; OR 1,041) y el descenso de la viremia  $\geq 2$  logaritmos a las 2, 4 y 12 semanas ( $p = 0,001$ ). El descenso de la viremia a las 2 semanas se asoció con una RS del 100%. A las 4 semanas, el VPN y VPP fueron del 92% y 91% respectivamente.

**Conclusiones:** En nuestro estudio el descenso de la viremia  $\geq 2$  logaritmos a las 2 semanas de iniciado el tratamiento aseguró la RS. A las 4 semanas identificamos a la gran mayoría de los no respondedores.

**ASOCIACIÓN ENTRE DAÑO HEPÁTICO Y RESPUESTA CELULAR CITOTÓXICA ESPECÍFICA EN LA INFECCIÓN PERSISTENTE POR VHC**

S. Benito<sup>1</sup>, M. Calvino<sup>1</sup>, J.R. Larrubia<sup>1,2</sup>, J. Pérez de Hornedo<sup>1</sup>, A. Arias<sup>1</sup>, E. Sanz de Villalobos<sup>2</sup>, F. González Mateos<sup>2</sup>, S. García Garzón<sup>2</sup>, A. Bienvenido<sup>2</sup> y T. Parra<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Investigación. <sup>2</sup>S. Aparato Digestivo. Hospital Universitario de Guadalajara.

**Introducción.** La respuesta celular citotóxica específica puede tener un doble papel en la infección persistente por VHC, ya que a la vez que parece imprescindible para controlar el virus, si es vigorosa puede asociarse al desarrollo de daño hepático. Este último aspecto no ha sido suficientemente estudiado.

**Objetivos.** Estudiar la relación entre la respuesta celular citotóxica VHC específica y el daño hepático en la hepatitis crónica por virus C (HCC).

**Materiales y métodos.** Se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de 20 pacientes con hepatitis crónica C (HCC) CMH-A2+ mediante gradiente de Ficoll-Hypaque. Se marcaron con complejos pentaméricos-PE (Pent+) contra el epítopo NS3<sup>1073-1081</sup> y anticuerpos anti-CD8-Cy5 y se analizaron mediante Citometría de Flujo. El daño hepático se evaluó mediante los valores de la transaminasa sérica ALT. La carga viral (CV) se evaluó mediante COBAS HCV Amplificación y Detección v2.0; Roche Diagnostics, CA. La frecuencia de células CD8+/Pent+ sobre el total de células CD8+ se expresa como la mediana más la variación intercuartil (IQR).

**Resultados.**

Porcentaje (CD8-Pent+)/ CD8+	Edad	Tiempo evolución (años)	Genotipo 1 VHC	CV basal (millones de copias)	ALT
<0,02%	44 IQR: 13,5	28 IQR: 20	66%	3,58 IQR: 3,8	85 IQR: 32
≥ 0,02%	42 IQR: 5	20 IQR: 6	60%	3,66 IQR: 13,13	95 IQR: 53
P valor	NS	NS	NS	NS	p = 0,029

**Conclusiones.** Tanto los pacientes con una respuesta CD8+ NS3<sup>1073-1081</sup> específica superior al 0,02% como los que la presentan inferior, no son capaces de controlar el virus. Sin embargo la presencia de una respuesta CD8+ NS3<sup>1073-1081</sup> específica superior al 0,02% de las células CD8+ de sangre periférica se asocia a mayor grado de daño hepático en la infección persistente por VHC.

**¿ES POSIBLE EL TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS C EN LA POBLACIÓN PENITENCIARIA?**

R. Jiménez, J. Ortiz, M. Roget, R. Pallàs, M. Piqueras, S. Galter y J. Boadas

Unidad de Digestología, Servicio de Medicina Interna del Consorci Sanitari de Terrassa.

**Introducción.** La infección por VHC supone un grave problema de salud en la población de los Centros Penitenciarios con una prevalencia estimada en Catalunya del 44%. En nuestro centro se atienden pacientes que están en régimen penitenciario (P) y pacientes externos (E).

**Objetivos.** Evaluar y comparar la respuesta al tratamiento con IFN-PEG + Ribavirina en los pacientes con hepatitis crónica C tratados en régimen P y E, analizando qué variables influyen en la respuesta viral sostenida (RVS).

**Material y métodos.** Desde el año 2001 hasta agosto de 2006 109 pacientes con hepatitis crónica C han sido tratados con IFN-PEG y Ribavirina. N = 109: P = 49 E = 60. Características basales de las dos poblaciones:

	P (n = 49)	E (n = 60)	p
<b>Edad (X ± 2DS) años</b>	33,3 ± 16,7	43,3 ± 20	<b>0,000</b>
% Hombres	98,00%	63,30%	<b>0,000</b>
<b>Años de infección (X ± 1DS)</b>	11,72 ± 6,7	19,40 ± 10,49	<b>0,017</b>
% ADVP	83,70%	25,00%	<b>0,000</b>
% Genotipo 1	51,00%	73,30%	<b>0,016</b>
% Genotipo 2	0,00%	3,30%	0,109
% Genotipo 3	32,70%	16,70%	<b>0,049</b>
% Genotipo 4	16,30%	6,70%	0,109
<b>PCR cuantitativa VHC (X ± 1DS)</b>	813.457 ± 546.820	769.561 ± 520.903	0,675
<b>Índice Knodel (X ± 1DS)</b>	5,55 ± 2,81	6,32 ± 3,99	0,360
<b>Fibrosis (X ± 1DS)</b>	0,67 ± 0,9	1,23 ± 1,15	<b>0,022</b>

Para el análisis estadístico comparativo se ha utilizado el Test de X<sup>2</sup>, U Mann-Whitney y comparación de medias. Las variables significativas se han incluido en un análisis de regresión logística multivariante.

**Resultados.** La RVS por intención de tratamiento ha sido: P: 57,1% vs E: 56,7% ( $p = 0,96$ ). El índice de abandonos en ambos grupos fue P: 14,3% vs E: 6,7% ( $p = ns$ ). Las pérdidas en el seguimiento fueron superiores en P: 18,4% vs E: 1,7% ( $p = 0,003$ ). Las variables independientes que influyen en la RVS son el genotipo 3 y la edad.

**Conclusiones.** 1) El factor más negativo en la población P para la RVS es la pérdida de seguimiento de los pacientes; a pesar de ello, la RVS no presenta diferencias estadísticamente significativas respecto la población E. 2) La elevada prevalencia del genotipo 3 y el hecho de ser pacientes más jóvenes favorece la buena respuesta al tratamiento de la población P.

**INFLUENCIA DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA (HOMA) EN LOS NIVELES DE ALANIN AMINOTRANSFERASA EN PACIENTES OBESOS NO DIABÉTICOS**

R. Aller<sup>1</sup>, J.M. González<sup>1</sup>, D.A. de Luis<sup>2</sup>, M. González Sagrado<sup>2</sup>, O. Izaola<sup>2</sup> y R. Conde<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Digestivo. Hospital Clínico de Valladolid. <sup>2</sup>Instituto de Endocrinología y Nutrición. Facultad de Medicina de Valladolid.

La elevación de las transaminasas de los pacientes obesos es una alteración bioquímica frecuente. La detección de los factores de ries-

go que pueden influir en estas alteraciones es importante para instaurar diferentes medidas preventivas y/o terapéuticas.

**Objetivos.** El objetivo principal de nuestro estudio fue evaluar la influencia de la resistencia a la insulina en los niveles séricos de alanina aminotransferasa (ALT) en pacientes obesos no diabéticos.

**Material y métodos.** Se evaluó una muestra de 91 pacientes obesos no diabéticos. Los criterios de exclusión fueron hepatitis B, C, infecciones por citomegalovirus o Epstein Barr, presencia de anticuerpos organoespecíficos, consumo de alcohol, defectos hereditarios (hierro, cobre, Alfa-1 antitripsina), diabetes mellitus o intolerancia a los hidratos de carbono. Se utilizó el HOMA (glucosa (mmol/L) xinsulina (UI/L)/22,5) como determinante de la resistencia a la insulina. A todos los pacientes se les realizó un estudio antropométrico convencional, una bioimpedanciometría, encuesta nutricional de 3 días y análisis de lipidograma completo.

**Resultados.** La edad media fue de  $39,2 \pm 16,7$  años con un índice de masa corporal (IMC) de  $34,4 \pm 5,2$ . Las variables antropométricas mostraron las siguientes medias: circunferencia de la cintura ( $109,2 \pm 14,7$  cm), índice cintura-cadera ( $0,94 \pm 0,9$ ) y peso ( $92,2 \pm 17$  kg). La bioimpedancia mostró  $49,8 \pm 14,4$  Kg de masa magra y  $40,1 \pm 12,7$  kg de masa grasa. Los pacientes fueron clasificados en el grupo I (controles, n = 74, niveles de ALT normales) y grupo II (hígado graso no alcohólico (HGNA), n = 17, ALT > 43 UI/L). La circunferencia de la cintura, la masa grasa y el índice cintura-cadera fueron superiores en los pacientes del grupo II. Los niveles de insulina ( $13,5 \pm 7,8$  mUI/L vs  $24,9 \pm 16,7$  mUI/L; p < 0,05), HOMA ( $1,9 \pm 1,1$  vs  $3,9 \pm 2,8$ ) y triglicéridos ( $115,1 \pm 66,8$  mg/dl vs  $153,2 \pm 71,2$  mg/dl; p < 0,05) fueron superiores en el grupo II que en el I. Los niveles de HDL fueron superiores en el grupo I ( $54,9 \pm 10,3$  mg/dl vs  $45,2 \pm 15,7$  mg/dl; p < 0,05). En el modelo de regresión logística con la variable dependiente ALT (dicotómica), la resistencia a la insulina (HOMA) permaneció en el modelo, con una probabilidad para tener ALT > 43 de OR 2,18 (CI: 95%: 1,12-4,2) con cada unidad que aumenta la resistencia a la insulina ajustado por edad, sexo, IMC e ingesta dietética.

**Conclusión.** La resistencia a la insulina en pacientes obesos se relaciona de manera independiente con los niveles de ALT y por ello con la presencia de hígado graso no alcohólico.

#### INFLUENCIA DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA Y DE ADIPOCITOQUINAS CIRCULANTES EN EL GRADO DE ESTEATOSIS DE PACIENTES CON ENFERMEDAD HEPÁTICA GRASA NO ALCOHÓLICA

R. Aller<sup>1</sup>, L. Fernández<sup>1</sup>, F. de la Calle<sup>1</sup>, B. Velayos<sup>1</sup>, J.L. Olcoz<sup>2</sup>, L. del Olmo<sup>1</sup>, T. Arranz<sup>1</sup>, D.A. de Luis<sup>3</sup>, O. Izaola<sup>3</sup>, M. González Sagrado<sup>3</sup>, R. Conde<sup>3</sup> y J.M. González<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Digestivo, Hospital Clínico de Valladolid. <sup>2</sup>Digestivo, Hospital de León. <sup>3</sup>Instituto de Endocrinología y Nutrición. Unidad de Apoyo a la Investigación. Facultad de Medicina de Valladolid.

El hígado grado no alcohólico (HGNA) es actualmente la patología hepática crónica más frecuente. Por ello los trabajos que intentan valorar su etiopatogenia presentan alto interés al abrir las puertas para posibles tratamientos.

**Objetivo.** Fue evaluar la influencia de la resistencia a la insulina y los niveles de adipocitoquinas circulantes en los grados de esteatosis de pacientes con biopsia que mostraba HGNA

**Material y métodos.** Se estudió una muestra de 24 pacientes con HGNA, en corte transversal. Se realizaron las siguientes determinaciones (peso, talla, índice de masa corporal, calorimetría indirecta, bioimpedancia y encuesta nutricional de 3 días). Se realizaron las siguientes determinaciones analíticas en ayunas: glucosa, insulina, Colesterol total, LDL colesterol, HDL colesterol, triglicéridos, resistina, leptina, adiponectina, interleukina 6 y TNF alfa. Se utilizó el HOMA (glucosa (mmol/L) xinsulina (UI/L)/22,5) como determinante de la resistencia a la insulina.

**Resultados.** La edad media fue de  $41,6 \pm 8,7$  años y el índice de masa corporal de  $29,4 \pm 4,7$ . Un total de 12 pacientes tenían un gra-

do leve de esteatosis (grado 1 de Brunt) y 12 pacientes tenían un alto grado de esteatosis (grado 2 y 3). Los datos antropométricos convencionales, impedanciometría, ingesta nutricional y calorimetría indirecta fueron similares en ambos grupos. En el análisis univariante, la resistencia a la insulina HOMA fue superior en los pacientes con alto grado de esteatosis ( $1,4 \pm 0,5$  vs  $2,8 \pm 1,7$ ; p < 0,05). Los niveles de adiponectina fueron superiores en el grupo de bajo grado de esteatosis ( $37,7 \pm 22,5$  ng/ml vs  $24,2 \pm 33$  ng/ml; p < 0,05). Los niveles de resistina fueron superiores en el grupo de alto grado de esteatosis ( $2,36 \pm 0,6$  ng/ml vs  $2,8 \pm 0,6$  mg/ml; p < 0,05), sin existir diferencias en los niveles de TNFalfa e IL-6. En el análisis de regresión logística (variable dependiente grado de esteatosis bajo/alto), solo la resistencia a la insulina (HOMA) permaneció en el modelo, con una odds ratio de 7,8 (CI: 95%: 1,8-75) por cada aumento de 1 punto en la resistencia a la insulina ajustado por edad, sexo e índice de masa corporal.

**Conclusión.** La resistencia a la insulina determinada mediante el método HOMA influye en el grado de esteatosis de pacientes con HGNA, siendo la resistina y adiponectina variables subrogadas a la resistencia a la insulina.

#### SÍNDROME DE REYE EN EL ADULTO: ¿TRASPLANTE HEPÁTICO INNECESARIO A PESAR DE SIGNOS DE INSUFICIENCIA HEPATOCELULAR AVANZADA?

A. Mas<sup>1</sup>, J. Bernauau<sup>2</sup>, V. Das<sup>3</sup>, M. Bruguera<sup>1</sup>, D. Cazals-Hatem<sup>2</sup>, E. Maury<sup>3</sup>, O. Chazouillères<sup>3</sup>, D. Lebrec<sup>2</sup>, G. Offenstadt<sup>3</sup>, F. Durand<sup>2</sup> y D. Valla<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hospital Clínic, Barcelona, <sup>2</sup>Hôpital Beaujon, Clichy, <sup>3</sup>Hôpital Saint-Antoine, Paris.

El Síndrome de Reye (SR) cursa con una esteatosis hepática microvesicular, signos de insuficiencia hepática aguda grave (IHAG) y edema cerebral. Describo fundamentalmente en pediatría y muy raramente en adultos, aparece tras una infección viral y/o ingesta de ácido acetilsalicílico (AAS). El objetivo de este estudio es analizar los casos de SR en adultos en la era del trasplante hepático urgente en la IHAG. El diagnóstico de SR se basó en el antecedente reciente de ingesta de AAS, la presencia de signos de IHAG (encefalopatía hepática), en ausencia de otras causas de la misma, y la evidencia de esteatosis microvesicular en la biopsia hepática. Un total de seis pacientes (5 varones, edades límite 16-36 años) han sido diagnosticados de SR en base a los criterios mencionados en los últimos 20 años en 3 hospitales. Todos habían consumido AAS (entre 7-12 g en los 5-7 días previos a su ingreso), y habían presentado vómitos por lo que 3 habían sido tratados con metoclopramida y uno con domperidona. Los valores iniciales de bilirrubina fueron inferiores a 4 mg/dl en todos los casos, las transaminasas oscilaron entre 7 y 125 veces por encima del valor alto de la normalidad (en todos menos en uno fueron superiores a 20 veces este límite), y la tasa de protrombina entre 26 y 51%. En 4/4 pacientes se observó edema cerebral en el TAC craneal. Las cifras de amoniemia (disponibles en 5 pacientes) fueron superiores a 120 umol/L en todos (< 200 umol/l en 3 pacientes). El examen del líquido cefalorraquídeo fue normal en 4/4 casos.

Un solo paciente falleció en el contexto de fallo multiorgánico y edema cerebral. Los 5 restantes, a pesar de que tenían datos que indicaban un mal pronóstico (encefalopatía grado III-IV, tiempo de protrombina entre 16-36%, factor V 11-18%) se recuperaron sin necesidad de trasplante hepático urgente. De hecho, éste se indicó en 3 casos pero todos mejoraron en el tiempo de espera y pudieron ser retirados de la lista.

**Conclusiones:** 1. El SR es muy infrecuente en adultos. 2. Sus características clínicas corresponden a una IHAG de curso hiperagudo. 3. En ocasiones existen fármacos que quizás contribuyan al empeoramiento de la encefalopatía (metoclopramida). 4. La buena evolución espontánea a pesar de la presencia de criterios de mal pronóstico (y por tanto indicación de trasplante hepático urgente) obliga a una valoración específica de la necesidad de trasplante en esta situación.

**ESTUDIO OBSERVACIONAL COMPARATIVO NO RANDOMIZADO DE TRATAMIENTO CON IFN-PEGILADO 2A Y 2B ASOCIADOS A RIBAVIRINA EN LA HEPATOPATÍA CRÓNICA POR VIRUS C**

A. Escudero, F. Rodríguez, M.A. Serra, J.A. del Olmo y J.M. Rodrigo

Servicio de Hepatología. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Universitat de València.

**Objetivo.** Analizar si existen diferencias respecto a la eficacia y retirada por efectos secundarios entre el Interferón pegilado 2a (Peg-IFN-2a) y 2b (Peg-IFN-2b), en enfermos con Hepatitis crónica por virus C (HC-VHC+).

**Material y métodos.** Estudio retrospectivo en 162 pacientes diagnosticados de Hepatitis Crónica por virus C (HC-VHC+), sin tratamiento previo, tratados de forma consecutiva no randomizada con Peg-IFN (2a ó 2b), asociado a ribavirina según peso. Los grupos de tratamiento no resultaron diferentes respecto a: sexo, edad, genotipo, carga viral basal, peso basal, superficie corporal, lesión hepática ni coeficiente de fibrosis (APRI). El estudio estadístico se realiza mediante chi<sup>2</sup> y test de Fisher.

**Resultados.** Analizamos los pacientes que iniciaron el tratamiento no encontrando diferencias según el tipo de Peg-IFN respecto a respuesta sostenida (RNA-VHC negativo 6 meses postratamiento) ni retirada por efectos secundarios (8 pacientes) tabla 1.

Tabla 1. Pacientes con intención de tratar

	Carga (log)	Gen 1	Peso (Kg)	Sup Corp (m <sup>2</sup> )	Edad	Sexo% (H/M)	APRI	Retirada efect 2º	Resp. Sosten
Peg-IFN-2a	5,8 ± 0,5	64%	78,4 ± 13,8	1,9 ± 0,2	44,3 ± 9,5	72/28	1,1 ± 0,6	6,02%	68,7%
Peg-IFN-2b	5,8 ± 0,4	67%	74,2 ± 13,7	1,8 ± 0,2	43,1 ± 10	61/39	1,1 ± 0,9	3,79%	60,8%

Tampoco se observó diferencias en la respuesta viral al mes y a los tres meses de tratamiento según el tipo de Peg-IFN tanto en el global de pacientes como en genotipo 1. Analizamos los pacientes con intención de tratar con genotipos 1 (gen 1) exclusivamente, ambos grupos son homogéneos respecto a: sexo, edad, peso, superficie corporal, carga viral basal, lesión hepática ni APRI, y tampoco existen diferencias en cuanto a la respuesta sostenida al tratamiento.

Tabla 2.

	Carga (log)	Resp. Sosten	APRI	Sup corp (m <sup>2</sup> )	Edad	Sexo% (H/M)	Peso (Kg)
Peg-IFN-2a	5,92 ± 0,53	54,7%	1,06 ± 0,65	1,89 ± 0,20	45,6 ± 10,2	67,9/32,1	78,2 ± 14,6
Peg-IFN-2b	5,84 ± 0,37	45,3%	1,13 ± 1,03	1,85 ± 0,20	44,6 ± 10,3	58,5/41,5	74,8 ± 14,5

Analizamos los pacientes que completan el tratamiento en al menos 80%, tanto en el grupo global como en el grupo de genotipo 1 sin encontrar diferencias estadísticamente significativas.

**Conclusiones.** 1. En nuestra experiencia la eficacia en el tratamiento de la Hepatitis crónica por virus C es similar con ambos tipos de Peg-IFN asociado a Ribavirina. 2. La respuesta viral al mes y a los tres meses es superponible con los dos tipos de Peg-IFN. 3. La retirada de tratamiento por efectos secundarios es poco frecuente, en nuestra experiencia, y superponible en ambos tipos de Peg-IFN.

**ESTUDIO COMPARATIVO RETROSPECTIVO DE LA EFICACIA DE LOS INTERFERONES PEGILADOS EN EL TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS CRÓNICA C EN LA PRÁCTICA CLÍNICA HABITUAL**

J. Fuentes<sup>1</sup>, E. Sánchez<sup>1</sup>, R. Uribarrena-Amezaga<sup>1</sup>, A. Martínez-Sapiña<sup>2</sup>, R. Uribarrena-Echevarría<sup>1</sup>, H. Navarro<sup>3</sup> y M.A. Simón<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Digestivo Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza.

<sup>2</sup>Microbiología Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza.

<sup>3</sup>Farmacía Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. <sup>4</sup>Digestivo Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza.

**Introducción.** Hay pocos datos acerca de la comparación de los dos interferones pegilados aprobados para el tratamiento de la hepatitis

C. Sin embargo, un metaanálisis reciente ha encontrado diferencias entre los dos interferones en términos de eficacia.

**Objetivo.** Comparar la eficacia de los regímenes de tratamiento basados en interferón pegilado alfa-2a (dosis fija) y alfa-2b (dosis según peso) + Ribavirina, en la práctica clínica habitual en España.

**Métodos.** Entre enero de 2003 y diciembre de 2004 se trataron 148 pacientes consecutivos con hepatitis crónica C en el Hospital Miguel Servet de Zaragoza. Las pautas de tratamiento fueron 180 mcg/semana para el PEG-IFN alfa-2a y 1,5 mcg/kg/semana para el PEG-IFN alfa-2b, en combinación con Ribavirina. La duración se estableció en función del genotipo, y el tipo de interferón fue elegido por el médico responsable del paciente. Todos los pacientes que recibieron al menos una dosis de interferón se han incluido en el análisis. Se excluyeron los pacientes con infección VIH. La respuesta viral mantenida (SVR) se definió como negatividad del RNA del VHC 6 meses después de finalizar el tratamiento.

**Resultados.** Solamente se han podido evaluar 135 pacientes (59 tratados con PEG-IFN alfa-2a y 76 con PEG-IFN alfa-2b). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en cuanto a sexo (varones 72,1% vs 75,6%), edad > 40 años (62,3% vs 61,4%), cociente AST/ALT, recuento de leucocitos y plaquetas, genotipo (63,9% vs 67,5% G1/4), fibrosis (35,8% vs 35,1% F3/4), presencia de cirrosis en la biopsia pretratamiento (19,2% vs 22,1%) o dosis de Ribavirina (977 vs 949 g/d). Los niveles basales de RNA no se han incluido porque se han empleado diferentes métodos de cuantificación durante el período de estudio. Los resultados de eficacia, recaídas y supresión de tratamiento por efectos adversos se resumen en la siguiente tabla.

	Resultados PEG-IFN α-2a	PEG-IFN α-2b	OR (95% IC)
<b>SVR</b>			
Genotipo 1,4 (n, %)	13/38 (34,2%)	26/52 (50%)	<b>1,923 (0,811-4,558)</b>
Genotipo 2,3 (n, %)	18/21 (85,7%)	18/24 (75%)	<b>0,5 (0,108-2,314)</b>
Todos los pacientes (n, %)	31/59 (52,5%)	44/76 (57,9%)	<b>1,242 (0,626-2,462)</b>
<b>Recaídas</b>			
Genotipo 1,4 (n, %)	6/19 (31,6%)	4/30 (13,3%)	<b>3 (0,718-12,532)</b>
Genotipo 2,3 (n, %)	0/18	2/20 (10%)	-
Todos los pacientes (n, %)	6/37 (16,2%)	6/50 (12%)	<b>1,3 (0,399-4,233)</b>
Abandonos por EA (n, %)*	<b>4/59 (6,6%)</b>	<b>5/76 (6,5%)</b>	<b>0,917 (0,235-3,572)</b>

\*No hubo abandonos de tratamiento en los genotipos 2, 3.

**Conclusiones.** Los tratamientos con PEG-INF a-2a o PEG-INF a-2b logran tasas de SVR similares a las de los estudios de registro. Pero parece que en los pacientes con infección por genotipo 1 tratados con PEG-INF a-2b se obtiene una mejor SVR, que debe confirmarse en estudios diseñados adecuadamente.

## Posters hepatocarcinoma

### ANÁLISIS DE CLONALIDAD DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR MULTICÉNTRICO MEDIANTE LA SECUENCIACIÓN DEL ADN MITOCONDRIAL

M. Varela<sup>1</sup>, L. Boix<sup>2</sup>, M. Solé<sup>3</sup>, A. Forner<sup>1</sup>, A. Hessheimer<sup>1</sup> y J. Bruix<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Hepatología. IMDIM. <sup>2</sup>Laboratorio de Oncología Hepática.

<sup>3</sup>Servicio de Anatomía Patológica. CDB. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, IDIBAPS. Barcelona.

**Introducción.** Los hepatocarcinomas múltiples de origen policlonal (sincrónicos) presentan resultados excelentes en supervivencia post-trasplante hepático, mientras que en los tumores multifocales metastásicos derivados de un único clon celular (monoclonales diseminados) la recidiva de la neoplasia disminuye la supervivencia a medio plazo. Actualmente no existe un criterio válido para tal distinción y los criterios de selección de pacientes se basan en las pruebas de imagen (número y tamaño de nódulos) por lo que pueden excluirse candidatos óptimos que excedan los criterios convencionales. Por

otro lado, el ADN mitocondrial (ADNmt) exhibe una tasa de mutación 10 veces superior a la del ADN nuclear, debido al daño generado por las especies reactivas de oxígeno generadas por el metabolismo celular, por carecer de histonas protectoras y porque los sistemas de reparación del ADNmt son inefficientes. Cada una de las células contiene varios miles de copias de ADNmt y hasta un 90% de las mitocondrias pueden exhibir mutaciones sin comprometer la viabilidad celular. Esto hace que las mutaciones persistan y que se puedan considerar representativas de expansión clonal.

**Objetivo.** Detectar la presencia de cambios en el ADNmt del carcinoma hepatocelular (CHC) y utilizar estas diferencias para definir la naturaleza monoclonal o policlonal de los tumores multicéntricos en pacientes cirróticos.

**Pacientes, materiales y métodos.** Se incluyeron en el estudio 13 pacientes cirróticos (11 hombres, 9 VHC, 9 trasplantados y 4 resecados, 6 Child-Pugh A, edad media 56 años, diámetro medio tumoral 30 mm), con hepatocarcinoma multifocal que se pudieron clasificar de manera incontrovertible como sincrónicos ( $n = 6$ ) o diseminados ( $n = 7$ ) desde el punto de vista anatomo-patológico (AP): grado de diferenciación y localización relativa (satélites/invasión vascular). Se analizaron los cambios en la secuencia poli-C localizada en la región D-loop del ADNmt mediante secuenciación directa, de 2 o más lesiones tumorales del explante/pieza de resección utilizando tejido fijado en formol e incluido en parafina. Se compararon los resultados de la secuenciación con el dictamen anatomo-patológico utilizado como gold-estándar.

**Resultado.** Se obtuvo una concordancia del 100% entre el criterio AP y el análisis de la secuencia poli-C del ADNmt tanto en los casos de tumores sincrónicos (6 pacientes, 13 CHC analizados) como en los casos de tumores diseminados (22 CHC analizados, 7 de ellos correspondientes a un único caso).

**Conclusión.** El análisis de la secuencia poli-C localizada en la región D-loop del ADNmt clasifica correctamente los CHC multicéntricos de acuerdo con el gold-estándar anatomo-patológico. Además de su potencial utilidad en la selección de los candidatos ideales para el trasplante esta distinción es relevante para el pronóstico de pacientes con recidiva de la enfermedad tras tratamientos radicales.

#### INCIDENCIA Y FACTORES ASOCIADOS CON EL DESARROLLO DE CARCINOMA HEPATOCELULAR EN PACIENTES ESPAÑOLES CON INFECCIÓN CRÓNICA POR VHB

L.G. Diéguez, A. Linares, R. Pérez, N.G. Sotorriós, R. de Francisco, L. Rodrigo y M. Rodríguez  
*S. Digestivo. Hospital Universitario Central de Asturias.*

**Introducción.** La infección crónica por el VHB es un conocido factor de riesgo para el desarrollo de carcinoma hepatocelular (CHC). Sin embargo, la incidencia y las condiciones que favorecen su aparición, varían entre las distintas áreas geográficas.

**Objetivo.** Conocer la incidencia y los factores que se asocian con el desarrollo de CHC en pacientes de nuestro medio con infección crónica por VHB.

**Pacientes y métodos.** Analizamos la incidencia de CHC en 834 pacientes con infección crónica por VHB nacidos en España, seguidos prospectivamente y que no presentaban CHC en el momento del diagnóstico. De ellos, 576 eran varones y en el momento de la inclusión 335 presentaban replicación viral con DNA-VHB>10<sup>5</sup> cop/ml (228 HBeAg+ y 107 HBeAg-), 129 estaban coinfectados por VHC y/o VHD, 120 tenían cirrosis y 81 eran bebedores excesivos de alcohol. Durante el seguimiento, 188 recibieron tratamiento.

**Métodos.** Los pacientes fueron seguidos prospectivamente, con determinaciones de AFP y/o ECO periódicamente. El diagnóstico de CHC se basó en los criterios establecidos en cada momento. El seguimiento finalizó en caso de diagnóstico de CHC, muerte, trasplante o pérdida. Se utilizaron las curvas ROC para conocer el valor con mayor capacidad discriminante y 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 9,3 años, se diagnosticaron 32 casos de CHC (423,8 casos por 100.000 personas-año). El desarrollo de CHC se asoció con el sexo masculino ( $p = 0,01$ ), con la edad > 43 años ( $p < 0,0001$ ), con la presencia de replicación viral ( $p < 0,0001$ ), con la existencia de cirrosis ( $p < 0,0001$ ) y con el abuso de alcohol ( $p < 0,0001$ ). No hubo relación con la presencia de HBeAg ( $p = 0,8$ ) ni con la existencia de coinfección por otros virus ( $p = 0,1$ ). En el análisis multivariado, únicamente se asociaron de forma independiente la presencia de cirrosis [11,5 (4,6-28,3);  $p < 0,0001$ ], la ingesta excesiva de alcohol [2,9 (1,3-6,5);  $p = 0,006$ ] y la existencia de replicación viral [8,4 (1,0-68,2);  $p = 0,04$ ]. La incidencia anual por 100.000 personas fue de 25 casos para los pacientes sin replicación viral y sin cirrosis, de 2,870 para aquellos con replicación y cirrosis y de 202 para los que tenían uno de los dos factores de riesgo.

**Conclusiones.** La incidencia de CHC en pacientes españoles con infección crónica por VHB es similar a la observada en otras poblaciones donde la infección es endémica. Sin embargo, en nuestro medio su desarrollo se relaciona fundamentalmente con la presencia de cirrosis y en menor medida con la replicación viral y con la ingesta de alcohol. El conocimiento de los factores de riesgo que se asocian con el desarrollo de CHC en una población determinada puede ser útil para aplicar medidas preventivas y para seleccionar subgrupos de pacientes que deben ser incluidos en programas de vigilancia.

#### PRONÓSTICO EN EL CARCINOMA HEPATOCELULAR: COMPARACIÓN DE CUATRO SISTEMAS DE ESTADIFICACIÓN (OKUDA, CLIP, BCLC Y JIS) SOBRE UNA COHORTE RETROSPECTIVA DE 215 PACIENTES

M. Fernández Ruiz<sup>1</sup>, J.M. Guerra Vales<sup>1</sup>, P. Ferrando Vivas<sup>2</sup>, J. de la Cruz Bertolo<sup>2</sup> y F. Colina Ruiz Delgado<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Medicina Interna. <sup>2</sup>Unidad de Investigación-Epidemiología Clínica. <sup>3</sup>Registro Hospitalario de Tumores. Hospital Universitario "12 de Octubre". Madrid.

**Objetivos.** La supervivencia de los pacientes con carcinoma hepatocelular (CHC) está condicionada tanto por la extensión tumoral como por el grado de insuficiencia hepática. No existe consenso acerca de la utilidad pronóstica de los diversos sistemas de estadificación diseñados para el CHC. Pretendemos comparar la capacidad discriminante en cuanto a supervivencia de cuatro de ellos: Okuda, Cancer of the Liver Italian Program (CLIP), Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) y Japan Integrated Staging system (JIS).

**Pacientes y métodos.** Analizamos retrospectivamente 215 pacientes con CHC (153 varones; edad media: 66 ± 11 años), de los que obtuvimos las variables clínicas y morfológicas necesarias para su clasificación según los cuatro sistemas seleccionados. Las curvas de supervivencia fueron diseñadas según el modelo Kaplan-Meier y comparadas entre diferentes estadios mediante el test de log-rank. El análisis multivariante se basó en el modelo de riesgos proporcionales de Cox. Calculamos para cada sistema el área bajo la curva ROC, empleando su capacidad de predicción de supervivencia a los 12 meses del diagnóstico.

**Resultados.** Finalizado el período de seguimiento (mediana: 10,4 meses; rango: 0,1-71), 180 pacientes (83,7%) habían sido censurados. La supervivencia global de la cohorte estimada a los 12, 24 y 36 meses del diagnóstico fue del 46%, 28% y 18%, respectivamente. El análisis multivariante (modelo de Cox) identificó las siguientes variables como predictores independientes de pobre supervivencia: estadio Child-Pugh, fosfatasa alcalina > 350 UI/L, albúmina < 3,2 g/dL, α-fetoproteína > 20 ng/mL, y carácter no localizado (según criterios de Milán) ( $p < 0,05$ ). Los cuatro modelos estratificaron adecuadamente a los pacientes en función de su supervivencia (log-rank,  $p < 0,001$ ), si bien no se obtuvieron diferencias significativas entre las curvas correspondientes a los estadios extremos de los sistemas JIS y CLIP. El área bajo la curva ROC para el sistema BCLC fue de 0,876, superior al CLIP (0,872), JIS (0,867) y Okuda (0,840).

**Conclusiones.** En nuestra cohorte, el grado de insuficiencia hepatocelular (albúmina y estadio Child-Pugh), niveles elevados de α-fetoproteína y fosfatasa alcalina, y el carácter diseminado del CHC (exce-

diendo los criterios de Milán) actuaron como variables pronósticas independientes. Si bien los cuatro modelos de estadificación exhibieron una notable capacidad de predicción, el sistema BCLC parece mejorar la capacidad discriminante de los modelos Okuda, CLIP y JIS.

#### RELEVANCIA DE LA EXPRESIÓN DE P27, P21 Y P53 EN HEPATOCARCINOMA

I. Ranchal, M. Pleguezuelo, P. Barrera, T. Marchal, J. Muntané y M. de la Mata

*Unidad Clínica Aparato Digestivo, Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.*

**Antecedentes.** El carcinoma hepatocelular (HCC) representa el 5% de los casos de cáncer diagnosticados en todo el mundo, siendo uno de los procesos neoplásicos más letales. El trasplante hepático ortotópico (THO) es el único tratamiento terapéutico del HCC. Se ha sugerido que la expresión de proteínas de ciclo celular como p21, p27 y p53 son un factor pronóstico en la evolución de los pacientes sometidos a THO por HCC. Los objetivos del estudio es evaluar la expresión de p27, p21 y p53 en pacientes diagnosticados de HCC y sometidos a THO. Determinar la asociación existente entre su expresión y diversos parámetros asociados al tumor y a la evolución clínica del paciente.

**Material y métodos.** La presencia de p27, p21 y p53 fue detectada mediante inmunohistoquímica en cortes histológicos de tejido hepático sano y tumoral procedentes de 24 pacientes sometidos a transplante hepático en el Hospital Universitario Reina Sofía (entre 1990 y 2003, nódulo único igual o menor a 5 cms o hasta un máximo de 3 nódulos iguales o menores a 3 cms). Se diferenciaron dos grupos de pacientes según tumores, bien diferenciados ( $n = 12$ ) y moderadamente diferenciados ( $n = 12$ ), divididos por etiologías (HBV, HBC y cirrosis alcohólica). Se analizaron diversas variables bioquímicas, así como la supervivencia y causa de la muerte.

**Resultados.** La expresión de p27 y p21 en el tejido sano peri-tumoral es superior a la observada en el tejido tumoral de los pacientes con HCC, por el contrario, la expresión de p53 en tumor es superior a la observada en tejido sano, siendo superior la expresión en el caso de los tumores moderadamente diferenciados frente a los diferenciados. En el tejido tumoral se observa una leve expresión de p21 y p27, así como una marcada expresión de p53 en los dos estadios de diferenciación del tumor. Los pacientes con HCC moderadamente diferenciado presentan unos niveles más elevados de g-GT, ALT, AST y fosfatasa alcalina que en el caso de tumores diferenciados. La expresión de p21 y p27 en el tumor y disminución en el tejido sano se asocia con una mayor supervivencia de los pacientes. Por el contrario, la elevada expresión de p53 en el tumor o reducida en el tejido sano se asocia una menor supervivencia de los pacientes con HCC.

**Conclusiones.** 1) La disminución de la expresión de p27 y p21, y un incremento en la expresión de p53, caracteriza a las células tumorales del HCC en comparación con la expresión en las células peri-tumorales. 2) La elevada expresión de p21 y p27, así como la leve expresión de p53, en el tejido tumoral se correlaciona con una menor mortalidad en los pacientes con HCC. 3) La disminución de la expresión de p21 y p27, así como un incremento de la expresión de p53 en el tejido sano se correlaciona con una mayor supervivencia en los pacientes con HCC.

#### EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA COMBINACIÓN DE QUIMIOEMBOLIZACIÓN TRANSARTERIAL E INYECCIÓN PERCUTÁNEA DE ETANOL SECUENCIALES COMO TRATAMIENTO DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR EN ESTADIO INTERMEDIO: RESULTADOS DE UN ESTUDIO PILOTO

J.F. Castroagudín<sup>1</sup>, E. Molina<sup>1</sup>, M. García-Vázquez<sup>2</sup>, C. Seoane<sup>2</sup>, A. Villanueva<sup>1</sup>, J. Iglesias-Canle<sup>1</sup> y M. Álvarez del Castillo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Hepatología, Servicio de Aparato Digestivo. <sup>2</sup>Servicio de Radiología. Hospital Clínico Universitario de Santiago, Santiago de Compostela, España.

**Objetivo.** Analizar la eficacia antitumoral y el perfil de seguridad de la combinación secuencial de quimioembolización transarterial

(QETA) e inyección percutánea de etanol (IPE) como tratamiento del carcinoma hepatocelular (CHC) en estadio intermedio.

**Métodos.** Criterios de inclusión: CHC en estadio B ó intermedio de la clasificación de Barcelona (lesión única >5 cms, 2-3 nódulos con al menos uno >3 cms, >3 lesiones de cualquier tamaño, sin evidencia de invasión vascular ni diseminación extrahepática, estadio A de Child-Pugh, PST 0). Tratamiento intravascular: Quimoembolización transarterial mediante protocolo estándar con Adriamicina (1 mg/Kg), Iomeprol y Lipiodol. Evaluación de la respuesta local según los criterios de la OMS-EASL a las 4 semanas mediante TC helicoidal. Tratamiento percutáneo: Los tumores con respuesta parcial o enfermedad estable fueron sometidos a IPE secuencial. Re-evaluación de la respuesta local a las 4 semanas mediante TC helicoidal. *End-points:* Respuesta terapéutica local post-QETA y tras la terapia combinada, supervivencia.

**Resultados.** Durante un período de 29 meses, fueron incluidos 15 pacientes (14 varones, edad media  $67,9 \pm 7,1$  años, rango 53-77). Se obtuvo consentimiento informado por escrito antes del tratamiento en todos los enfermos. La etiología de la cirrosis fue alcohólica en 10 pacientes (66,7%), VHC en 2 y sendos casos de infección por VHB, hemocromatosis y criptogénica. Los niveles de AFP basal fueron  $105 \pm 209,3$  ng/mL (rango 1-731,9). El CHC era multifocal en 11 enfermos (73,3%). Tras la QETA, la respuesta local fue completa (RC) en 1 caso, parcial (RP) en 5, enfermedad estable (EE) en 5 y enfermedad progresiva (EP) en 4 casos. Ocho pacientes fueron sometidos a IPE secuencial obteniendo RC en 4, RP en 3 y EP en 1 caso. Las tasas de respuesta-objetivo (RC y RP) fueron más elevadas con el tratamiento secuencial respecto a la QETA sola (87,5% versus 33,3%,  $p = 0,027$ ). La supervivencia global fue del 65,6% a los 2 años.

**Conclusiones.** La combinación de QETA e IPE secuenciales constituye un procedimiento eficaz y seguro en el tratamiento del CHC en estadio intermedio. La IPE secuencial permite, además, mejorar la tasa de respuesta-objetivo del CHC previamente tratado mediante QETA.

#### LA APLICACIÓN DE CRITERIOS RESTRICTIVOS DE SELECCIÓN PERMITE OPTIMIZAR LOS RESULTADOS DE SUPERVIVENCIA DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR SOMETIDO A TRATAMIENTO ABLATIVO PERCUTÁNEO

J.F. Castroagudín, E. Molina, A. Villanueva, F. Macías, S. Seijo, J. Mera y A.M. Álvarez

*Unidad de Hepatología, Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Clínico Universitario de Santiago. Santiago de Compostela, España.*

**Introducción.** Los tratamientos ablativos percutáneos constituyen la alternativa más eficiente del carcinoma hepatocelular (CHC) no quirúrgico. Aunque los resultados son excelentes en tumores en estadio inicial (A de la clasificación de Barcelona), varios autores han propuesto el tratamiento percutáneo del CHC que sobreponen estos criterios, bien desde el punto de vista morfológico (diámetro, número de nódulos) como funcional (PST, Child-Pugh).

**Objetivo.** Analizar la eficacia en términos de supervivencia del tratamiento percutáneo del carcinoma hepatocelular (CHC) en función del cumplimiento de criterios restrictivos de selección.

**Métodos.** Durante un período de 88 meses, 47 pacientes (41 varones, edad media  $68,6 \pm 6,4$  años, rango 45-84) con CHC no candidatos a tratamiento quirúrgico fueron tratados mediante IPE y/o RF. Se consideraron sobrepasados los criterios restrictivos en caso de presentar al menos uno de los siguientes: Lesión única >5 cms de diámetro, 2-3 lesiones con al menos una >3 cms, >3 lesiones de cualquier tamaño, performance status test (PST) >0, Child-Pugh B. La etiología de la cirrosis fue alcohólica en 20 pacientes (42,5%), VHC en 21 (44,7%), VHB en 3, hemocromatosis en 1 y criptogénica en 2 casos. El 80,8% de los pacientes eran Child-Pugh A. Los niveles de AFP basal fueron  $104,7 \pm 363,5$  ng/mL (rango 1-2378). El CHC era único en 35 pacientes (74,5%). Se trataron un total de 67 nódulos, con un diámetro medio de  $32 \pm 15,2$  mm. El 83% de los tumores fueron clasificados como estadio A de la clasificación de

Barcelona. Catorce pacientes (29,8%) sobrepasaron los criterios restrictivos de selección en el momento del procedimiento percutáneo.

**Resultados.** La supervivencia global fue del 83,1% al año, 53,1% a los 3 años, y 30,1% a los 5 años. El diámetro de la lesión de mayor tamaño ( $< 5$  cms *versus*  $> 5$  cms), el PST (0 *versus* > 0) y el estadio según la clasificación de Barcelona (A *versus* B) se asociaron a una mayor supervivencia. En definitiva, los enfermos que cumplían los criterios restrictivos de selección presentaron mayores tasas de supervivencia (90%, 60,7% y 41,7% a 1, 3 y 5 años, respectivamente) respecto a aquellos que los sobrepasaron (64,6%, 32,3%, 0% a 1, 3 y 5 años, respectivamente;  $p = 0,009$ ).

**Conclusiones.** Los métodos ablativos percutáneos son eficaces en el manejo terapéutico no quirúrgico del CHC. Es fundamental aplicar criterios restrictivos de selección para obtener resultados óptimos de supervivencia.

#### IMPACTO PRONÓSTICO DE LOS NIVELES SÉRICOS DE $\alpha$ -FETOPROTEÍNA EN EL CARCINOMA HEPATOCELULAR: ANÁLISIS RETROSPECTIVO DE 230 PACIENTES

M. Fernández Ruiz<sup>1</sup>, J.M. Guerra Vales<sup>1</sup>, J. Llenas García<sup>1</sup>, J. de la Cruz Bertolo<sup>2</sup>, P. Ferrando Vivas<sup>2</sup> y F. Colina Ruizdelgado<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Medicina Interna. <sup>2</sup>Unidad de Investigación-Epidemiología Clínica. <sup>3</sup>Registro Hospitalario de Tumores. Hospital Universitario "12 de Octubre". Madrid.

**Objetivos.** La elevación de los niveles séricos de  $\alpha$ -fetoproteína ( $\alpha$ -FP) en los pacientes con carcinoma hepatocelular (CHC) ha motivado su empleo generalizado en programas de diagnóstico precoz. Por otra parte se ha propuesto su aplicación como marcador pronóstico de la enfermedad; así, su magnitud al diagnóstico del CHC se correlacionaría con varias de sus características, tanto clínico-patológicas (extensión o grado tumorales) como evolutivas. Pretendemos analizar el impacto pronóstico de los niveles de  $\alpha$ -FP en la historia natural del CHC.

**Pacientes y métodos.** Estudio longitudinal retrospectivo de 230 casos de CHC (167 varones; edad media:  $65,2 \pm 11$  años) atendidos en el Hospital Universitario "12 de Octubre" en el quinquenio 1999-2003. Fueron estratificados según el nivel de  $\alpha$ -FP al diagnóstico: normal ( $< 20$  ng/mL) [grupo 1], elevado (20-400 ng/mL) [grupo 2], y diagnóstico ( $> 400$  ng/mL) [grupo 3]. Recurrimos al test de  $\chi^2$  y al análisis de regresión logística, estimando la supervivencia a través del método de Kaplan-Meier y comparándola en distintos subgrupos mediante la prueba de log-rank.

**Resultados.** La distribución según los niveles de  $\alpha$ -FP fue: 115 (50%), 54 (23,5%) y 61 pacientes (26,5%) en los grupos 1, 2 y 3, respectivamente. La supervivencia media global fue de  $22,5 \pm 1,7$  meses. Obtuvimos significación estadística entre un nivel elevado de  $\alpha$ -FP ( $> 400$  ng/mL) y las siguientes variables: edad  $> 65$  años; ascitis; invasión portal; carácter multifocal; extensión bilobar; estadio tumoral avanzado en los sistemas de Okuda, BCLC y JIS; y carácter no localizado (según criterios de Milán). En el análisis multivariante, por su parte, la presencia de invasión portal, edad  $> 65$  años y estadificación avanzada en los modelos BCLC y JIS conservaron significación estadística. La supervivencia media observada en el grupo 1 (29,6 meses) fue significativamente superior a la de los grupos 2 (20,7 meses) ( $p < 0,05$ ) y 3 (10 meses) ( $p < 0,005$ ). Esta capacidad predictora de la  $\alpha$ -FP se mantiene tanto en los casos sometidos a tratamiento quirúrgico (TOH o resección) ( $p < 0,05$ ), como entre los no subsidiarios de terapia específica ( $p < 0,005$ ), y desaparece en el subgrupo tratado mediante quimoembolización transarterial ( $p = 0,87$ ).

**Conclusiones.** El nivel de  $\alpha$ -FP al diagnóstico del CHC actúa como un aceptable indicador pronóstico. Su elevación se asocia de forma independiente con una estadificación avanzada en los modelos BCLC y JIS y con la presencia de datos clínico-patológicos adversos (invasión portal), y permite seleccionar a pacientes con pobre supervivencia, particularmente entre los no subsidiarios de tratamiento específico.

#### FACTORES PRONÓSTICO ASOCIADOS A LA SUPERVIVENCIA DE LOS TRATAMIENTOS NO QUIRÚRGICOS EN EL CARCINOMA HEPATOCELULAR

S. Pascual, J. Irurzun, J. Sánchez, S. Gil, P. de la Iglesia, F. Carnicer, J.M. Palazón, J. Such, F. España y M. Pérez-Mateo  
Unidad Hepática, unidad de radiología vascular e intervencionista y unidad de epidemiología. Hospital General Universitario de Alicante.

**Introducción.** Menos del 10% de los pacientes con carcinoma hepatocelular (CHC) son subsidiarios de tratamiento (TTO) quirúrgico (trasplante hepático o resección), un tercio no recibe TTO y el resto (60%) son tratados mediante técnicas de ablación percutánea (AP), quimoembolización arterial (QE) o combinación de ambas.

**Objetivo.** Determinar los factores pronósticos asociados a la supervivencia en los pacientes con CHC sometidos a tratamiento no quirúrgico.

**Material y métodos.** Se incluyó 115 pacientes diagnosticados de CHC entre oct-96 y feb-04 sometidos a AP ( $n = 44$ ), QE+AP ( $n = 12$ ) y QE ( $n = 39$ ). Seguimiento hasta ago-04, fallecimiento o pérdida (mediana de seguimiento: 17 meses). Se incluyeron variables demográficas, clínico-analíticas, datos del CHC y tipo de TTO. Se evaluó la respuesta al TTO según el grado de necrosis como: respuesta completa (RC), parcial (RP) y no respuesta (NR). Se usó el método de Kaplan-Meier para estimar la probabilidad de supervivencia y para valorar las variables pronósticas de supervivencia en el análisis univariante. Como estadístico de contraste se usó el análisis log-rank.

**Resultados.** Fallecieron 68 pacientes (13 atribuidos al TTO) y se perdieron 5. La supervivencia global a 1, 2, 3 y 4 años fue: 77%, 52%, 37% y 21% y la mediana global de supervivencia fue 25 meses. La mediana de supervivencia fue 36 meses los grupos de TTO con intención curativa (supervivencia 1, 2, 3 y 4 años, 82%, 63%, 55% y 34%, con AP y QE+AP) y la mediana de supervivencia fue 19 meses en el grupo de TTO paliativo (supervivencia a los 1, 2, 3 y 4 años de 70%, 37%, 11% y 4% con QE) ( $p < 0,001$ ). La RC fue mayor en los TTO con intención curativa (IPE 75%, RF 81% y QE-IPE 50%) frente a la QE 26% ( $p < 0,001$ ) y en nódulos  $< 5$  cm (70-88%  $< 5$  cm vs 0%  $\geq 5$  cm) ( $p < 0,001$ ). Los factores asociados a mayor supervivencia fueron: Child-Pugh, tamaño y estadificación tumoral ( $< 4$  cm y  $\leq 2$  nódulos ó  $\geq 4$  cm o  $\geq 3$  nódulos), plaquetas (100.000/ $\mu$ l), AFP (100 ngr./ml), performance status, Okuda, BCLC, CLIP, TTO, respuesta inicial, respuesta final. El análisis multivariante mostró 3 variables pronóstico independientes: la AFP ( $p = 0,007$ ; OR 3,1; IC95% 1,4-7,2), la estadificación del nódulo ( $p = 0,002$ ; OR 3,4; IC95% 1,5-7,4) y el tipo de respuesta inicial al tratamiento ( $p = 0,032$ ; OR 2,4; IC95% 1,0-5,5).

**Conclusiones.** La supervivencia del CHC sometido a TTO no quirúrgico es mejor en pacientes con menor extensión tumoral ( $< 5$  cm y AFP  $< 100$  ngr/ml) y que presentan una respuesta inicial al menos parcial.

#### ESTUDIO DE LA RELACIÓN ENTRE LA ENFERMEDAD POR HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO Y EL CARCINOMA HEPATOCELULAR EN PACIENTES CIRRÓTICOS

A. Hessheimer, M. Varela, A. Corner, L. Boix y J. Bruix  
Barcelona Clínic Liver Cancer (BCLC) Group. Unidad de Oncología Hepática. Servicio de Hepatología. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona.

**Introducción.** Estudios recientes sugieren que la enfermedad por hígado graso no alcohólico (EHGNA) es una de las principales causas de cirrosis criptogenética (CC), pudiendo predisponer a la aparición de carcinoma hepatocelular (CHC). El objetivo de nuestro estudio fue analizar la etiología de la cirrosis y los factores de riesgo cardiovascular de una cohorte de pacientes cirróticos con CHC en comparación con un grupo control.

**Pacientes y métodos.** Se incluyeron prospectivamente 134 pacientes cirróticos (106 hombres, edad media 65 años, 62% VHC, 84% Child-Pugh A), 70 con CHC, pareados por sexo, edad y función he-

pática con 64 cirróticos sin CHC, desde octubre de 2005 a julio de 2006. Se evaluó la presencia de ascitis, encefalopatía, enfermedad coronaria, diabetes mellitus (DM), dislipemia, hipertensión arterial (HTA), transfusiones de hemoderivados, consumo de alcohol y fármacos e historia de sobrepeso. Se determinaron la altura, el peso, el índice de masa corporal (IMC), el perímetro abdominal (aumentado si > 102 cm en hombres, > 88 cm en mujeres) y la tensión arterial. Se analizaron parámetros bioquímicos (glucosa, perfil lipídico, función hepática, proteinograma, ceruloplasmina plasmática, ferritina y transferrina), coagulación y serología vírica (HBsAg, antiHBC, DNA VHB si procedía, antiVHC y genotipo VHC).

**Resultados.** La etiología de la cirrosis fue similar en ambos grupos de pacientes ( $p > 0,05$ ) (grupo CHC: VHC 40 (57%), alcohol 23 (33%), VHB 4 (6%), VHC y VHB 1 (1%) y CC 2 (3%) versus grupo control: VHC 43 (67%), alcohol 18 (28%), y VHB 3 (5%)). Los dos pacientes con CC tenían sobrepeso actual (IMC 25-30), perímetro abdominal aumentado y antecedentes de obesidad (IMC > 30). Un caso presentaba HTA. Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre el grupo con CHC y el grupo control cuando se examinaron los factores de riesgo para EHGN: sobrepeso actual (grupo CHC 53% vs control 45%), obesidad actual (20% vs 36%), sobrepeso previo al desarrollo de la cirrosis (49% vs 52%), obesidad previa (26% vs 23%), perímetro abdominal aumentado (40% vs 49%), cardiopatía coronaria (7% vs 2%), DM (37% vs 31%), dislipemia (23% vs 20%) e HTA (46% vs 47%), respectivamente.

**Conclusión.** La presencia de CHC en los pacientes cirróticos de nuestro medio no se asocia con la existencia de los factores de riesgo cardiovascular implicados en el desarrollo de la enfermedad por hígado graso no alcohólico.

#### TRATAMIENTO CON RADIOFRECUENCIA DEL HEPATOCARCINOMA: COMPLICACIONES Y SUPERVIVENCIA A LARGO PLAZO

A. Gallego<sup>1</sup>, E. Montserrat<sup>2</sup>, J.C. Pernas<sup>2</sup>, M.P. Estrada<sup>2</sup> y J. Enríquez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicios de Patología Digestiva y <sup>2</sup>Radiodiagnóstico. Hospital Sta. Creu i St. Pau. Barcelona.

La ablación con radiofrecuencia (RF) se está imponiendo como una alternativa a la inyección percutánea de etanol intranodular (IPEI) en el tratamiento del hepatocarcinoma (HCC) de pequeño tamaño al proporcionar un mejor control local del tumor, sin embargo existen pocos datos sobre resultados a largo plazo.

**Objetivo.** Analizar las complicaciones del tratamiento con radiofrecuencia, recidivas y supervivencia a largo plazo de los pacientes con HCC tratados en nuestro centro.

**Métodos.** Se analizan 56 pacientes (edad media:  $71,73 \pm 5,49$  años; 35 hombres (62,5%); Child-A: 42 (75%) / B: 14) con HCC único < 5 cm (91%) o múltiple (hasta 3 nódulos < 3 cm). El tamaño medio tumoral fue  $2,77 \pm 0,84$  cm. El tratamiento se realizó vía percutánea con monitorización ecográfica, bajo sedación del paciente. La respuesta inicial y recurrencias se evaluaron mediante TAC helicoidal al mes del tratamiento y cada 4-6 meses posteriormente. El seguimiento medio fue:  $28,82 \pm 18,47$  meses. La probabilidad de supervivencia se analizó mediante Kaplan-Meier.

**Resultados.** Se obtuvo una respuesta completa inicial en 52 pacientes (93%) siendo el número medio de sesiones de  $1,11 \pm 0,31$ . La respuesta completa inicial en nódulos < 3 cm. fue del 100% frente a 83% en aquellos de 3 a 5 cm. ( $p = 0,017$ ). Hubo complicaciones mayores en 4 pacientes (7%): 1 hemotorax, 1 hemoperitoneo, 1 estenosis biliar con colangitis severa y 1 trombosis masiva porto-mesentérica con insuficiencia hepática, resultando las dos últimas en exitus (mortalidad: 3,6%). Adicionalmente hubo complicaciones menores en 9 casos (16%). La supervivencia global a 1,3 y 5 años fue 89%, 72% y 50% respectivamente. La supervivencia de los pacientes Child-A a 1,3 y 5 años fue 92%, 72% y 60% respectivamente frente a 78%, 68% y 23% en Child-B ( $p = 0,04$ ). De los 52 pacientes con respuesta completa inicial hubo recidiva en 29 (56%): local 9/29 y a distancia en 20/29. Las recurrencias fueron tratadas en el 79% de los casos.

**Conclusiones.** 1. Los pacientes con HCC en estadio temprano trata-

dos con RF alcanzan una significativa supervivencia a largo plazo (60% a 5 años para Child-A) a pesar de un alto porcentaje de recidiva. 2. La tasa de complicaciones mayores con RF en nuestra serie (7%) es mayor a la publicada para IPEI.

#### Posters trasplante

##### CARACTERIZACIÓN INMUNOLÓGICA DE LA TOLERANCIA OPERACIONAL EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO

M. Martínez Llordella<sup>1</sup>, I. Puig-Pey<sup>1</sup>, P. García<sup>1</sup>, J. Lozano<sup>2</sup>, L. Sumoy<sup>2</sup>, I. Bilbao<sup>3</sup>, J. Lerut<sup>4</sup>, G. Tisone<sup>5</sup>, A. Rimola<sup>1</sup> y A. Sánchez-Fueyo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad Trasplante Hepático, Hospital Clínico, Barcelona. <sup>2</sup>C.R.G., Universitat Pompeu Fabra, Barcelona. <sup>3</sup>Unidad Trasplante Hepático, Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona. <sup>4</sup>Clinica Universitaria Saint-Luc, Université Catholique de Louvain, Bruselas, Bélgica. <sup>5</sup>Unidad Trasplante Hepático, Universidad de Roma "Tor Vergata", Roma, Italia.

En el trasplante hepático hasta un 20% de los pacientes pueden abandonar de manera completa el tratamiento inmunosupresor manteniendo una función hepática normal durante años, y estos pacientes son considerados "operacionalmente" tolerantes. Los mecanismos responsables de este estado en humanos no son bien conocidos y carecemos de un test diagnóstico que nos permita identificar a los pacientes tolerantes. En el presente estudio hemos utilizado sangre periférica y empleando técnicas de inmunofenotipaje por citometría de flujo y de cuantificación de la expresión genética para caracterizar a una cohorte de 16 receptores hepáticos tolerantes. Estos pacientes han sido comparados con receptores hepáticos no-tolerantes y con individuos sanos. Nuestros resultados indican que los pacientes tolerantes exhiben en sangre periférica una marcada expansión de linfocitos gammadelta. Esta expansión es debida a una inversión en el ratio de las subpoblaciones delta1/delta2, y esta medición parece tener valor diagnóstico a la hora de identificar a los pacientes tolerantes. Por otra parte, los estudios de expresión genética nos han permitido identificar una lista de 24 genes con alto poder discriminatorio a la hora de diferenciar entre pacientes tolerantes y no-tolerantes. En definitiva, estos resultados, actualmente en fase de validación prospectiva, son un primer paso para la obtención de un test diagnóstico no invasivo que nos permita identificar a aquellos receptores hepáticos que han desarrollado tolerancia, y pueden por tanto abandonar el tratamiento inmunosupresor.

##### ESTUDIO COMPARATIVO DE TRES PAUTAS

##### INMUNOSUPRESORAS EN PACIENTES CON DISFUNCIÓN RENAL AGUDA EN EL PERIOPERATORIO DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

I. Baños<sup>1</sup>, L. Gutiérrez<sup>2</sup>, B. Iglesias<sup>2</sup>, P. Silva<sup>2</sup>, A. Noblejas<sup>1</sup>, V. Sánchez Turrión<sup>1,2</sup> y V. Cuervas-Mons<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Trasplante Hepático. Hospital Universitario Puerta de Hierro. Madrid. <sup>2</sup>Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid.

La disfunción renal aguda (DRA) en el perioperatorio inmediato en pacientes con TH es una complicación frecuente, con elevada mortalidad asociada. La no administración, o la utilización de dosis bajas, de inhibidores de calcineurina (ICN) durante los primeros días del TH, hasta la normalización de la función renal, son estrategias aconsejadas para disminuir la incidencia y gravedad de la DRA. El objetivo fue estudiar el impacto de tres pautas inmunosupresoras en la evolución de la función renal en pacientes con DRA en el perioperatorio del TH.

**Pacientes y métodos.** Análisis retrospectivo de base de datos electrónica recogida prospectivamente de todos los pacientes adultos con TH consecutivamente en nuestra unidad que presentaron DRA (creatinina sérica (CrS)  $\geq 1,5$  mg/dl) al finalizar la cirugía del TH

durante el período 1986 – agosto/2005. Se identificaron 67 pacientes (13,2%) con DRA, que se dividieron en tres grupos según la pauta de inmunosupresión inicial recibida: Grupo I (n=50) pauta convencional con esteroides + dosis reducida de ICN +/- azatioprina / micofenolato mofetil; Grupo II (n = 11) anticuerpos anti-CD3 + esteroides, e introducción tardía de ICN; Grupo III (n = 6) anticuerpos anti-CD25 + esteroides + micofenolato mofetil e introducción tardía de ICN.

**Resultados.** Los grupos fueron comparables en datos demográficos generales, enfermedad hepática de base, características del donante y Crs (mg/dl) a la finalización de la cirugía del TH ( $1,84 \pm 0,51$ ;  $1,90 \pm 0,49$  y  $2,03 \pm 0,80$ , en grupos I, II y III, respectivamente). No hubo diferencias significativas intergrupos en el pico de Crs durante el ingreso del trasplante, en la necesidad de técnicas de depuración extrarenal (12%, 18,2% y 16,7%, respectivamente en grupo I, II y III), ni en la Crs (mg/dl) al alta hospitalaria (1,91; 1,46 y 1,7, respectivamente en grupo I, II y III). El gradiente entre el pico de Crs durante el ingreso hospitalario y el valor basal fue significativo ( $p < 0,005$ ) en las pautas I (gradiente + 1,19) y II (gradiente + 1,30), mientras que no fue significativo en la pauta III (gradiente +0,83,  $p = 0,2$ ). La incidencia de rechazo agudo (16,7%), infección bacteriana (0%) y enfermedad por citomegalovirus (0%) en los pacientes del grupo III fue menor ( $p < 0,05$ ) que en los grupos I (52%; 36%; 12%, respectivamente) y II (36%; 45%; 9%, respectivamente). La Crs y la supervivencia del paciente a los seis meses (78%, 81,8% y 66,7%, respectivamente en grupos I, II y III) fue similar en los grupos de estudio.

**Conclusión.** Las tres pautas estudiadas son similares en su efecto sobre la función renal, si bien la asociación de anticuerpos anti-CD25 + esteroides + micofenolato mofetil e introducción tardía de ICN es, en nuestra experiencia, la mejor en estos pacientes, por asociarse a menor incidencia de rechazo y de complicaciones infecciosas.

#### EL POLIMORFISMO 308 DEL TNF- $\alpha$ SE ASOCIA A LA PRESENCIA DE RECHAZO AGUDO EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO

C. Valiente Martínez, M.P. Lasierra Díaz, L. Larrad Mur, A. García Gil y M.T. Serrano Aulló

Servicio de Aparato Digestivo, Servicio de Inmunología, Servicio de Cirugía. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza.

El rechazo agudo del injerto es una complicación frecuente tras el trasplante hepático. Factores inmunológicos dependientes del receptor y del donante, como la secreción de diversas citoquinas, juegan un papel importante en la aparición de éste. Existen polimorfismos en los genes de estas citoquinas que regulan su producción y que podrían influir en la aparición de rechazo agudo.

**Objetivo.** Investigar si los polimorfismos genéticos del transforming growth factor-  $\beta$  (TGF-  $\beta$ ), factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleuquina-10 (IL-10), interleuquina-6 (IL-6) e interferón- $\gamma$  (IF- $\gamma$ ) están relacionados con la aparición de rechazo agudo en los receptores de trasplante hepático.

**Material y métodos.** Se extrajo el ADN genómico de las células mononucleares periféricas de 91 receptores y 96 donantes y fue tipado mediante técnicas de PCR para el estudio de polimorfismos en genes de las distintas citoquinas: TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-6 e INF- $\gamma$ . La presencia de rechazo agudo se evaluó mediante biopsia hepática siguiendo los criterios de Banff.

**Resultados.** El alelo “a” del polimorfismo en la posición 308 del gen del TNF- $\alpha$  estaba presente con mayor frecuencia en los receptores de trasplante hepático que sufrieron algún episodio de rechazo agudo que en aquellos que no (43,6% vs 21,2%; OR = 2,88; 95 IC 1,15-7,22;  $p < 0,05$ ), sin embargo, no parece que la presencia de este alelo en el donante de trasplante hepático implique un mayor riesgo de rechazo agudo. No se ha encontrado asociación entre la presencia de rechazo agudo y el resto de citoquinas estudiadas en los receptores ni en los donantes de trasplante hepático.

**Conclusiones.** La presencia del alelo “a” en el polimorfismo del TNF- $\alpha$  (posición -308) en los receptores de trasplante hepático se asocia con una mayor incidencia de rechazo agudo.

#### APLICABILIDAD Y RESULTADOS DEL TRASPLANTE HEPÁTICO EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE CARCINOMA HEPATOCELULAR EN EL SENO DE UN PROGRAMA DE VIGILANCIA

L.G. Diéguez, A. Linares, R. Pérez, V. Cadahía, I. Martínez, L. Rodrigo y M. Rodríguez

S. Digestivo. Hospital Universitario Central de Asturias.

**Introducción.** El trasplante hepático (TH) es la mejor opción terapéutica en pacientes con cirrosis hepática (CH) y hepatocarcinoma (CHC) seleccionado. Por otra parte, el diagnóstico precoz del CHC parece mejorar la supervivencia de estos pacientes, aunque existen controversias sobre la utilidad y la eficacia de los programas de vigilancia.

**Objetivo.** Conocer la aplicabilidad del TH en una serie de pacientes con CH diagnosticados de CHC durante un programa de vigilancia y comparar su supervivencia tras el TH con la de pacientes transplantados por CHC diagnosticados fuera del programa de vigilancia y con la de pacientes transplantados por CH, sin CHC.

**Pacientes y métodos.** Entre octubre/92 y octubre/05, 84 de 539 pacientes con CH incluidos en un programa de vigilancia fueron diagnosticados de CHC, de los que 29 fueron transplantados (grupo A). Durante el mismo período, 60 pacientes con CHC, diagnosticados fuera del programa fueron transplantados (grupo B), así como 34 pacientes incluidos en el programa que recibieron un trasplante por CH, sin CHC (grupo C). Se consideró el TH cuando el tumor no excedía los criterios aceptados. Los 3 grupos fueron equiparables en edad, sexo y etiología de la cirrosis.

**Resultados.** De los 84 pacientes incluidos en el programa y diagnosticados de CHC, 34 (40%) fueron incluidos en lista de trasplante. Las razones de no inclusión en los 50 restantes fueron: estadio tumoral en 20, edad avanzada en 17, resección en 3 y existencia de contraindicaciones en 10. De los 34 incluidos en lista, 29(85%) fueron transplantados, 2 excluidos por progresión tumoral, 1 por aparición de contraindicación, y 2 fallecieron en lista. No hubo diferencias en la proporción de pacientes con CH alcohólica o vírica que fueron incluidos en lista o transplantados. 4 de los 29 (13%) pacientes del grupo A y 11 de los 60 (18%) del grupo B desarrollaron recidiva tumoral durante el seguimiento, con una probabilidad acumulativa a 1, 3 y 5 años del 0, 10, 16% y 8, 20, 28% respectivamente ( $p = 0,5$ ). No se observaron diferencias en la supervivencia entre los grupos A y B (1 año 82-82%, 3 años 78-60%, y 5 años 54-47%;  $p = 0,8$ ). Tampoco se observaron diferencias significativas en la supervivencia de los grupos A y C (82-84% al año, 78-81% a los 3 y 54-76% a los 5;  $p = 0,06$ ). La supervivencia del grupo B fue inferior a la del C (82-84%; 78-81% y 47-76% a 1, 3 y 5 años respectivamente;  $p = 0,04$ ).

**Conclusiones.** La aplicabilidad del trasplante hepático en pacientes cirróticos diagnosticados de CHC en el seno de un programa de vigilancia es alta. No obstante, en un 25% de los casos el tumor es diagnosticado en estadios en los que el trasplante está contraindicado. Aunque en estos pacientes las recidivas tras el trasplante son tardías, la probabilidad de las mismas, así como la supervivencia, no difieren a las observadas en pacientes diagnosticados fuera de un programa de vigilancia.

#### COMPARACIÓN PROSPECTIVA ENTRE ELASTOGRAFÍA, APRI Y TEST DE FORNS PARA LA VALORACIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA EN EL POSTRASPLANTE. ESTUDIO PRELIMINAR

J.C. Marín Gabriel<sup>1</sup>, J. de la Cruz Bértolo<sup>2</sup>, I. Fernández Vázquez<sup>1</sup>, A. Martín Alguacil<sup>1</sup>, J.C. Meneu Díaz<sup>4</sup>, R. Muñoz Gómez<sup>1</sup>, F. Colina Ruizdelgado<sup>3</sup>, E. Moreno González<sup>4</sup> y J.A. Solís Herruzo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Medicina de Aparato Digestivo. <sup>2</sup>Unidad de Epidemiología Clínica. <sup>3</sup>Servicio de Anatomía Patológica. <sup>4</sup>Servicio de Cirugía General y Trasplante de Órganos Abdominales. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

**Objetivos.** La elastografía de transición permite cuantificar el grado de fibrosis hepática (FH) de manera no traumática. El objetivo de

este estudio es evaluar la utilidad del FibroScan® (FS) y de los marcadores bioquímicos más sencillos de aplicar en la práctica clínica para cuantificar el grado de FH en el período posttransplante, independientemente de la causa de la hepatopatía.

**Pacientes y métodos.** Se incluyeron 26 pacientes consecutivos sometidos a un biopsia hepática (BH), percutánea ( $n = 25$ ) o transjugular ( $n = 1$ ), por distintos motivos en el período posttrasplante. Para estadificar el grado de fibrosis en las muestras histológicas se utilizó la clasificación de Scheuer. El estudio con FS y la extracción de muestras séricas para los análisis bioquímicos se realizaron el mismo día de la BH. La utilidad para detectar el grado de fibrosis mediante las pruebas no invasivas se estimó mediante el cálculo del área bajo la curva (ABC)-ROC.

**Resultados.** La distribución por sexos fue: 57,7% H y 42,3% M. La mediana de edad fue de 62 años (rango: 42 - 74). La mediana de días transcurridos desde el trasplante fue de 663 (rango: 10 - 3600). Los diagnósticos histológicos de la BH fueron: VHC ( $n = 12$ ; de los cuales VIH positivos  $n = 1$ ), rechazo ( $n = 4$ ), hepatopatía grasa ( $n = 3$ ), inmunosupresión excesiva ( $n = 2$ ) y otras ( $n = 5$ ). La distribución por grados de fibrosis evaluada por el estudio histológico fue: F0 en 11 pacientes (42,3%), F1 en 10 (38,5%), F2 en 4 (15,4%) y F3 en 1 (3,8%). No se encontraron pacientes con datos histológicos de cirrosis (F4; 0%). La medición de la elasticidad (E) con el FS se logró obtener en 19 pacientes (73%) con una mediana de 8,8 kPa (rango: 4,1 - 54,3). Por grados de FH, la media y su DE fueron:  $7,5 \pm 2,9$  kPa para F0;  $11,63 \pm 9,2$  kPa para F1 y  $24,4 \pm 19,9$  kPa para F2. El valor de la mediana del APRI fue de 1,05 (rango: 0,28 - 11,01). Con el test de Forns la mediana fue 7,6 (rango: -0,26 - 11,02). Las ABC-ROC para el FS, APRI y test de Forns fueron: 0,87, 0,61 y 0,60 respectivamente para  $F \geq 2$  ( $p = 0,01$ ).

**Conclusión.** El FS es un método simple para cuantificar el grado de FH en pacientes trasplantados hepáticos. Su precisión diagnóstica es superior a la obtenida cuando se utilizan el APRI y el test de Forns como marcadores séricos de FH para grados de  $F \geq 2$ .

#### PAPEL DE LA ACTIVACIÓN DE LAS CÉLULAS ESTRELLADAS HEPÁTICAS EN LA FIBROSIS ACCELERADA DE LA RECIDIVA DE HEPATITIS C POSTTRASPLANTE HEPÁTICO

M.C. Londoño, L. Cisneros, C. Blasco, R. Bataller, R. Miquel y A. Rimola

**Introducción.** La recidiva de hepatitis C posttrasplante se caracteriza por una fibrosis mucho más rápida que la observada en pacientes no trasplantados con hepatitis crónica C. El mecanismo de esta fibrosis acelerada en pacientes trasplantados no es bien conocido. Ya que las células estrelladas hepáticas (CEH) activadas son las principales responsables de la fibrosis hepática, una posibilidad sería que la activación de CEH fuera más intensa en pacientes trasplantados con recidiva de hepatitis C que en pacientes no trasplantados con hepatitis crónica C. Por otra parte, se ha sugerido que la ciclosporina podría aumentar la producción de TGF (1 (un potente factor activador de CEH) y, así, estimular la fibrosis, mientras que tacrolimus no tendría dicho efecto.

**Objetivos.** 1) Cuantificar la activación de CEH en pacientes trasplantados con recidiva de hepatitis C y compararla con pacientes no trasplantados con hepatitis crónica C y con pacientes controles. 2) Determinar el efecto de ciclosporina y tacrolimus en la activación de CEH.

**Métodos.** Se incluyeron 46 pacientes con trasplante hepático y recidiva de hepatitis C (grupo I), 35 pacientes no trasplantados con hepatitis crónica C (grupo II) y 16 controles (pacientes laparotomizados, sin infección por virus C; grupo III). Se realizaron biopsias hepáticas para determinar: a) estadio de fibrosis (METAVIR), y b) inmunohistoquímica con análisis morfométrico de expresión de (-actina, como índice de la activación de CEH y su consiguiente paso de células quiescentes a células con fenotipo miofibroblástico.

**Resultados.** Los pacientes de los grupos I y II presentaron mayor expresión de (-actina que los pacientes del grupo III. No obstante, la expresión de (-actina en los grupos I y II fue similar, tanto de forma

global como después de estratificarlos según el estadio de fibrosis. En el grupo I, los pacientes con fibrosis marcada (estadios 3-4;  $n = 11$ ) presentaron una mayor expresión de (-actina que los pacientes con menor fibrosis (estadios 0-2;  $n = 32$ ). Asimismo, en el grupo I, la expresión de (-actina fue mayor en pacientes con progresión rápida de fibrosis que en pacientes progresores lentos (tasa de progresión  $> 0,32$  y  $< 0,32$  unidades METAVIR / año, respectivamente). No se encontraron diferencias entre los pacientes tratados con ciclosporina y tacrolimus en relación a la expresión de (-actina.

**Conclusiones.** 1) La activación de CEH se correlaciona directamente con el estadio y progresión de la fibrosis en pacientes con recidiva de hepatitis C posttrasplante hepático. 2) Sin embargo, no parece que la fibrosis acelerada frecuentemente observada en estos pacientes pueda ser explicada por una sobreactivación de CEH en comparación con pacientes no trasplantados con hepatitis crónica C. 3) No se observó ningún efecto diferencial de ciclosporina y tacrolimus en la activación de CEH.

#### ENFERMEDAD LINFOPROLIFERATIVA EN EL PACIENTE CON TRASPLANTE HEPÁTICO (ELPT): ANÁLISIS DE 82 CASOS

A. Noblejas<sup>1</sup>, V. Cuervas-Mons<sup>1</sup>, C. Jiménez<sup>2</sup>, I. Herrero<sup>3</sup>, R. Charco<sup>4</sup>, F. Suárez<sup>5</sup>, M.A. Gómez<sup>6</sup>, M. Prieto<sup>7</sup>, E. Fraga<sup>8</sup>, M. Salcedo<sup>9</sup>, P. Ramírez<sup>10</sup>, F. Casafont<sup>11</sup>, C. Ramos<sup>12</sup> y M. Rodríguez<sup>13</sup>

<sup>1</sup>Puerta de Hierro. <sup>2</sup>Doce de Octubre. <sup>3</sup>C.U. de Navarra. <sup>4</sup>Clínic. <sup>5</sup>Juan Canalejo. <sup>6</sup>Virgen del Rocío. <sup>7</sup>La Fé. <sup>8</sup>Reina Sofía. <sup>9</sup>Gregorio Marañón. <sup>10</sup>Virgen de Arrixaca. <sup>11</sup>Marqués de Valdecilla. <sup>12</sup>Carlos Haya. <sup>13</sup>Central de Asturias.

**Objetivo.** Analizar la incidencia, extirpe histológica, características clínicas y evolutivas de la enfermedad linfoproliferativa (ELPT) que aparece en pacientes adultos con trasplante hepático (TH).

**Pacientes y métodos.** Análisis de la base electrónica del registro multicéntrico de tumores de novo en pacientes con TH.

**Resultados.** De los 516 tumores incluidos en el registro aparecidos en 7135 pacientes trasplantados en el período 1986-2003 se detectaron 82 pacientes (73,2% varones, edad media 52,5 años) con ELPT (incidencia 1,15%). La ELPT constituye el 15,2% de los tumores del registro, siendo los segundos en frecuencia tras los tumores de piel. La indicación de TH fue cirrosis por virus C (31,4%), cirrosis alcohólica (31,4%), hepatocarcinoma (10%) y otras (27,2%). El intervalo de tiempo entre el TH y el diagnóstico fue  $38,6 \pm 42,6$  años (mediana 19,85 meses). Sesenta de los setenta linfomas eran de células B (85,7%), en su mayoría tipo no Hodgkin (91,4%). La localización más frecuente fue ganglionar (28%), seguida del injerto hepático (20,1%), aparato digestivo (7,3%), pulmones (2,4%) y sistema nervioso central (3,4%). El 62,7% de los episodios de ELPT estaban en estadio IV en el momento del diagnóstico. Los síntomas B (53,5%) y la elevación de LDH (28,6%) fueron poco frecuentes. El tratamiento recibido fue quirúrgico en 12,2%, radioterapia en 14,6%, quimioterapia en 64,6%, reducción de la inmunosupresión en 63,4% y anticuerpos monoclonales anti-CD20 en 17%. Después de un seguimiento medio desde el diagnóstico de  $31,7 \pm 41,5$  meses, el 68,3% de los pacientes habían fallecido, fundamentalmente por el tumor (supervivencia global al año del diagnóstico 55,5% y a los 5 años 34%). La supervivencia media desde el diagnóstico fue de 14 meses, observándose mayor mortalidad en los pacientes con linfoma trasplantados después del año 1997 (mortalidad a los 5 años 78%) que en los trasplantados antes de 1997 (mortalidad a los 5 años 68%, NS). En los pacientes en los que se redujo la inmunosupresión la supervivencia fue mayor (38,46%) que en los que no (20%). No se encontraron diferencias en la supervivencia a 5 años en los pacientes tratados con rituximab. Los linfomas del injerto aparecieron más precozmente (media 26,9 meses), tenían mayor incidencia de infección por virus C (37,5%) y mayor mortalidad (81,25%) que los linfomas que afectaban a otras localizaciones (41,5 meses; 25,8%; 65,2%, respectivamente). Las características y la respuesta al tratamiento de los linfomas no Hodgkin B en pacientes VHC (+) y VHC (-) fueron similares.

**Conclusiones.** La ELPT es una complicación infrecuente en los pacientes adultos con trasplante hepático en España, siendo su incidencia en el registro español similar a la descrita en la literatura. Su pronóstico es muy malo y no parece haber mejorado en los últimos años.

#### INFLUENCIA DE LOS DONANTES MARGINALES EN LA EVOLUCIÓN DEL TRASPLANTE HEPÁTICO POR VIRUS C

R. Ciria<sup>1</sup>, J. Briceño<sup>1</sup>, M. Pleguezuelo<sup>2</sup>, P. López-Cillero<sup>1</sup>, S. Rufián<sup>1</sup>, J.M. Sánchez-Hidalgo<sup>1</sup> y M. de la Mata<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Trasplante Hepático, Departamento de Cirugía General.

<sup>2</sup>Unidad de Hepatología, Hospital Reina Sofía, Córdoba.

**Introducción.** La presencia de algunos factores en el donante de riesgo puede condicionar el resultado del trasplante hepático realizado por cirrosis por virus C. No existe una conclusión firme sobre qué factores del donante deben considerarse cuidadosamente a la hora de asignar estos injertos a receptores con virus C.

**Métodos.** 120 trasplantes hepáticos por cirrosis por virus C se realizaron en nuestra unidad entre 1995 y 2005. Los factores considerados en el donante fueron: edad, sexo, grado de esteatosis, grado de lesión de preservación, empleo de altas dosis de inotropos, sodio ( $> 155 \text{ mEq/L}$ ), hipotensión ( $< 60 \text{ mmHg}$  y  $> 1 \text{ hora}$ ), tiempo de isquemia fría, estancia en UCI ( $> 4 \text{ días}$ ), bilirrubina, AST y ALT. Se realizó un análisis retrospectivo sobre la supervivencia del injerto con cada uno de estos factores (análisis univariante, Kaplan Meier-log rank) y un estudio multivariante (análisis de supervivencia de Cox) para establecer variables predictoras independientes de supervivencia tras el trasplante en estos receptores.

**Resultados.** 56 injertos (46%) se perdieron en este intervalo de tiempo. La distribución de pérdidas según el score MELD del receptor fue similar para cada categoría. En el análisis univariante, los injertos con esteatosis moderada-grave (30-60% y  $> 60\%$ ) ( $p = 0,012$ ), aquéllos con lesión de preservación grave ( $p = 0,007$ ) y un prolongado tiempo de isquemia fría ( $> 12 \text{ horas}$ ) ( $p = 0,0001$ ) presentaron peores supervivencias a 1, 3 y 5 años de seguimiento. En el análisis multivariante, el grado de esteatosis ( $p = 0,0076$ ; OR = 4,2) y un tiempo de isquemia fría superior a 12 horas ( $p = 0,034$ ; OR = 7,001) resultaron predictores independientes de la supervivencia de estos injertos.

**Conclusión.** Según estos resultados, los injertos de donantes con esteatosis superior a 30% deben ser implatados cautelosamente o desestimados en receptores con cirrosis por virus C, especialmente si se prevé un tiempo de isquemia fría prolongado.

#### SEGUIMIENTO DE LA FUNCIÓN INMUNOLÓGICA VALORADA MEDIANTE EL ENSAYO IMMUKNOW® EN PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE HEPÁTICO

I. Baños<sup>1</sup>, R. Castejón<sup>2</sup>, S. Rosado<sup>2</sup>, M.J. Cidores<sup>2</sup>, A. Noblejas<sup>1</sup>, J.A. Vargas<sup>2</sup> y V. Cuervas-Mons<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Trasplante Hepático y <sup>2</sup>Laboratorio de Medicina Interna.

Hospital Universitario Puerta de Hierro. Madrid.

Las dosis de fármacos inmunosupresores y sus niveles plasmáticos no reflejan la situación inmunológica de los pacientes receptores de trasplante de órgano sólido. El ensayo Immuknow® (Cylex) valora la función inmunológica global al cuantificar la producción de ATP en los linfocitos T CD4+ estimulados *in vitro* con fitohemaglutinina (PHA). Nuestro objetivo es comprobar que las variaciones de la concentración de ATP se corresponden con la situación clínica de los pacientes sometidos a trasplante hepático. Se han realizado 30 determinaciones en 5 pacientes durante el primer año post-trasplante en diferentes momentos de su evolución y en 8 voluntarios sanos para establecer un rango de función inmunológica normal. La concentración de ATP en los controles fue de  $267,8 \pm 105,3 \text{ ng/ml}$ . Los pacientes sin complicaciones clínicas relevantes (sepsis o rechazo) durante el primer año post-trasplante presentaron unos niveles bajos de ATP ( $116,6 \pm 92,2 \text{ ng/ml}$ ), mientras que los pacientes sépticos alcanzaron concentraciones de ATP elevadas. El único paciente con rechazo crónico del injerto presentaba una concentración de ATP dentro del rango de función inmunológica normal (ver figura). También se han rea-

lizado 13 determinaciones en 11 pacientes en momentos puntuales post-trasplante observándose una concentración de  $92,4 \pm 39,6 \text{ ng/ml}$  en 6 pacientes sin complicaciones clínicas y de  $190,7 \pm 73,3 \text{ ng/ml}$  en 3 situaciones de infección localizada. Tres pacientes con recidiva grave de hepatitis C post-trasplante presentaron los niveles más bajos de ATP ( $50,7 \pm 42,2 \text{ ng/ml}$ ). Nuestros resultados preliminares sugieren una correlación entre los valores obtenidos con el ensayo Immuknow y la situación clínica de los pacientes post-trasplante, pudiendo ser una herramienta útil en el diagnóstico etiológico de disfunción del injerto y en el manejo de la inmunosupresión.

#### FRECUENCIAS DE CÉLULAS T REGULADORAS (TREGS) EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO ESTABLE A LARGO PLAZO

E. Fábrega<sup>1</sup>, M. López Hoyos<sup>2</sup>, D. San Segundo<sup>2</sup> y F. Pons-Romero<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Gastroenterología y Hepatología. <sup>2</sup>Servicio de Inmunología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla.

La inducción de tolerancia en los trasplantes de órgano sólido ha sido tradicionalmente uno de los objetivos fundamentales en la investigación en trasplante. Recientemente han adquirido gran importancia las células reguladoras T CD4+CD25highFoxp3+ (Tregs) como inductoras de alotolerancia. Por otro lado los diferentes regímenes y grados de inmunodepresión parecen influir en la expresión de estas células. El objetivo del presente estudio fue cuantificar el número de células Tregs en sangre periférica de pacientes trasplantados hepáticos estables y evaluar si existían diferencias en función del grado de inmunodepresión farmacológica.

**Material y métodos.** Se evaluaron 33 pacientes trasplantados hepáticos en monoterapia con ciclosporina A o FK506 sin episodios de rechazo celular y un mínimo de 8 años de seguimiento. Los pacientes se dividieron en 2 grupos en función del grado de inmunodepresión: a) 20 pacientes presentaban niveles bajos de anticalcineurinos: ciclosporina A ( $< 80 \text{ ng/ml}$ ) o FK506 ( $< 6 \text{ ng/ml}$ ); y b) 13 pacientes con niveles superiores de ciclosporina A o FK506. Como grupo control se incluyeron 38 sujetos sanos.

**Resultados.** Los valores de células T con fenotipo regulador (CD4+CD25highFoxp3+) fueron inferiores en los pacientes estudiados respecto al grupo control. Cuando comparamos los porcentajes en los dos grupos considerados, el grupo con mayor inmunodepresión presentó un menor número de células Tregs. Por otro lado, observamos que el grupo menos inmunodeprimido presentaba un número de células Tregs similar al grupo control.

**Conclusiones.** a) La inducción de tolerancia en el trasplante hepático estable a largo plazo puede verse influida por el grado de inmunodepresión al modificar este el número de células Tregs; b) La cuantificación en sangre periférica de células Tregs puede ayudarnos en la toma de decisiones cuando nos planteamos disminuir el régimen inmunodepressor.

Este trabajo ha sido financiado en parte por beca FIS PI030330 y la RNIGH.

#### EVOLUCIÓN GENÉTICA DE LAS REGIONES NS3-PROTEASA Y NS5B-POLIMERASA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C DESPUÉS DEL TRASPLANTE HEPÁTICO: RELACIÓN CON LA GRAVEDAD DE LA RECURRENCIA DE LA HEPATITIS C

A. Massagué, S. Ramírez, J.A. Carrión, P. González, J.M. Sánchez-Tapias y X. Forns

Servicio de Hepatología, Institut de Malalties Digestives, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS).

En pacientes sometidos a un trasplante de hígado (TH) por cirrosis hepática causada por el virus de la hepatitis C (VHC), el nuevo hígado se infecta de forma universal. Las variables que influyen en la gravedad de la recurrencia de la infección no están bien establecidas. El objetivo de nuestro estudio es analizar la relación entre la evolución genética precoz de 2 regiones del genoma del VHC (NS3-proteasa y NS5b-polimerasa) y la severidad de la recurrencia

de la hepatitis C. Se han seleccionado 33 pacientes sometidos a TH por cirrosis hepática por el VHC y se han agrupado en función de la gravedad histológica de la recurrencia un año después del TH: 16 pacientes presentaron una recurrencia leve y 17 pacientes una recurrencia severa. Durante 1 año, se han recogido 5 muestras consecutivas de suero de cada paciente (pre-TH y a las semanas 1, 4, 12 y 48) en las que se ha cuantificado la carga viral y se ha secuenciado las regiones NS3 y NS5b. En todos los pacientes, el VHC infecta rápidamente el injerto (el 91% de los pacientes presenta ARN-VHC detectable a la semana 1). Los niveles de VHC en suero son máximos 3 meses después del TH. En este punto, los niveles de viremia son significativamente más elevados en pacientes con recidiva severa que en pacientes con recurrencia leve. El análisis de las distancias genéticas entre muestras de un mismo paciente revela que: 1) en la región NS3-proteasa no se observa ninguna relación entre la evolución genética y la severidad de la hepatitis en ninguno de los puntos analizados y 2) la región NS5b presenta mayor evolución genética en los pacientes con una recurrencia leve, pero esto se produce a partir del tercer mes post-TH. Estos resultados sugieren que en las fases iniciales del TH la evolución genética de dos proteínas no estructurales fundamentales en el ciclo vital del VHC no se relaciona con la gravedad de la recidiva tras el TH.

#### EL TRASPLANTE HEPÁTICO EN NIÑOS: VALORACIÓN DE LOS SUPERVIVIENTES 10 Y 15 AÑOS DESPUÉS

M.C. Díaz, E. Frauca, L. Hierro, A. de la Vega, C. Camarena, G. Muñoz Bartolo, A. González de Zarate, R. Díez-Dorado, J. Murcia, M. Gámez, M. López Santamaría y P. Jara

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

**Objetivo.** Describir el estado en el que se encuentran los pacientes 10 y 15 años después de un trasplante hepático (TH) realizado en edad pediátrica.

**Métodos.** Los pacientes proceden de la cohorte 1986 y 1996 ( $n = 164$  niños), en la que la supervivencia a los 6 meses fue 78%, a los 10 años de 70%, y a los 15 años de 69%. A los 10 años del trasplante hepático (114 casos, edad media: 15 años) y a los 15 años (33 casos que siguen en centro pediátrico) fueron evaluados: los principales problemas ocurridos, y el estado final del injerto. Los datos basales de los 114 supervivientes a 10 años son: 1. Enfermedad original: Atresia biliar 46,4%, Colestasis genética 16,6%, Def. alfa1 antitripsina 9,6%, Metabolopatía 7,9%, Fallo agudo 5,2%, Otros: 13,8%. 2. Edad al TH: mediana 4 años, 31,5% menores de 2 años. 3. Tipo de injerto: entero en 79,8% y reducido en 20,1%.

**Resultados.** Principales problemas entre los 6 meses y 15 años post-TH: 1. Linfoma-PTLD: afectó a 11 pacientes (9,6%), al final del seguimiento 6 siguen sin inmunosupresión, 10 están asintomáticos, uno falleció. 2. Estenosis biliar: En 10 pacientes (8,7%), todos tratados por vía percutánea, con resolución en 9. 3. Disfunción del injerto con ictericia (idiopática o rechazo): afectó a 10 niños (8,7%), de los cuales 3 fueron retransplantados, uno falleció, 3 siguen con patología y 5 (41,6%) se recuperaron a normalidad con mayor inmunosupresión. 4. Otros problemas del injerto: a) resueltos con tratamiento: Hepatitis autoinmune 2, estenosis portal 3, Budd-Chiari 1, trombosis arterial 1. b) permanentes: Trombosis portal 4. 5. Repercusión renal: a los 10 años post-TH 10 niños (8,7%) tienen Crea >1,5 mg/dl y un paciente ha precisado trasplante renal. 6. Afectación neurológica por complicación post-TH: 3 (2,6%). 7. Otros: Déficit auditivo/visual: 3, Diabetes de novo 2, hipogammaglobulinemia 3, policitemia 3, miocardiopatía 1, colitis ulcerosa 1. *Injerto a los 10 años (n = 114):* a) La inmunosupresión consistía en prednisolona+ ciclosporina en 63% y prednisolona +Tacrolimus en 32%, con AZA o MMF asociado en 24%. b) La bioquímica es normal (ALT y GGT <50 UI/L) en 89 casos (77,9%), hubo leves alteraciones (ALT y/o GGT <100 U/L) en 9,5%, alteraciones significativas sin ictericia (ALT y/o GGT >100 U/L) en 10,5% y presentan ictericia 2 casos (1,7%). En 14 existe infección VHC adquirida en el trasplante, de ellos 9 tienen función normal. *Injerto a los 15 años (n = 33):* Tienen funcionamiento nor-

mal el 66,6%, leve alteración en 15%, ALT ó GGT >100 U/L en 15% e ictericia en 1 (3%). En 12 hay infección VHC por TH antes de 1990, de ellos 7 tienen función normal.

**Conclusiones.** Tras recibir trasplante hepático en la infancia, los supervivientes a los 10 años han padecido patología biliar (8,7%), rechazo con ictericia (8,7%), PTLD (9,6%), y disfunción renal (8,7%), pero al final del seguimiento tienen en el 78% de los casos una función enteramente normal.

#### FACTORES PRONÓSTICOS EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO POR HEPATOCARCINOMA ASOCIADO A CIRROSIS POR VIRUS C

J. Briceño Delgado, J. Ruiz Rabelo, P. López Cillero, R. Ciria Bru, A. Luque Molina, M. Mata García y S. Rufián Peña  
Unidad de Trasplante Hepático Hospital Reina Sofía. Córdoba.

**Objetivo.** Establecer factores tumorales que influyan en las supervivencias de receptor e injerto, y crear un modelo pronóstico capaz de predecir la evolución del trasplante hepático y la recurrencia de hepatocarcinoma asociado a cirrosis por virus C.

**Métodos.** 63 pacientes adultos fueron trasplantados por enfermedad hepática terminal secundaria a hepatitis por virus C con hepatocarcinoma concomitante. Las características tumorales que se analizaron fueron: grado de diferenciación, pTNM, tamaño, número de lesiones, bilobularidad, multifocalidad, invasión vascular, trombosis portal y recurrencia. Se determinaron las supervivencias de receptor e injerto, la recurrencia, el tiempo libre de enfermedad y se realizó un análisis multivariante de Cox para obtener variables predictoras independientes para las mismas.

**Resultados.** La supervivencia del receptor a 1-, 3-, y 5 años fue de 82%, 80% y 69%, respectivamente, y mejor para los hepatocarcinomas incidentales en comparación con aquéllos conocidos preoperatoriamente ( $p = 0,04$ ). La supervivencia libre de enfermedad fue de 91%, 83% y 77% a 1, 3, y 5 años, respectivamente. En el análisis univariante, los hepatocarcinomas no incidentales ( $p = 0,04$ ), el estadio pTNM ( $p = 0,012$ ) y la invasión vascular ( $p = 0,003$ ) se correlacionaron con la mortalidad del receptor. La invasión vascular (OR = 2,12;  $p = 0,001$ ) y pTNM (OR = 1,50;  $p = 0,008$ ) fueron factores predictores independientes de la supervivencia global. La combinación de invasión vascular por el tumor y pTNM avanzado se asociaron a un mal pronóstico (log-rank = 21,89;  $p = 0,0001$ ). El grado de diferenciación (OR = 1,2;  $p = 0,04$ ), pTNM (OR = 3,7;  $p = 0,001$ ) e invasión vascular (OR = 1,6;  $p = 0,002$ ) fueron predictores independientes de recurrencia.

**Conclusiones.** El trasplante hepático para hepatocarcinoma asociado a virus C es una modalidad efectiva de tratamiento, con aceptables resultados en cuanto a la supervivencia del paciente, injerto y recurrencia tumoral. Un estadio pTNM avanzado y la presencia de invasión vascular son potentes predictores de un peor pronóstico y una mayor recurrencia.

#### MARCADORES SÉRICOS DIRECTOS DE FIBROSIS Y SU UTILIDAD EN LA EVALUACIÓN DE FIBROSIS HEPÁTICA EN PACIENTES CON TRASPLANTE HEPÁTICO Y RECIDIVA DE HEPATITIS C

M.C. Londoño, J. Fernández, R. Deulofeu, C. Blasco, J. Caballería, A. Parés, G. Guevara, F. Corradi y A. Rimola

**Introducción.** La biopsia hepática está considerada como el método de elección en la evaluación de la fibrosis hepática. No obstante, debido a problemas inherentes a la biopsia hepática (técnica invasiva, errores de muestra y variabilidad inter-observador), actualmente existe un creciente interés en el desarrollo de métodos alternativos en la evaluación de la fibrosis hepática. Entre estos métodos alternativos están diversos marcadores séricos de fibrosis, llamados marcadores directos porque están relacionados con los dos procesos involucrados en la patogenia de la fibrosis: la fibrogénesis y la collagenólisis. A pesar de que la fibrosis es el fenómeno más destacado en pacientes con recidiva de hepatitis C posttrasplante hepático, no hay estudios acerca del papel de los marcadores séricos directos de fibrosis en la evaluación de la fibrosis hepática en estos pacientes.

**Objetivo.** Determinar la utilidad de diversos marcadores séricos directos de fibrosis en la evaluación de fibrosis hepática en pacientes con trasplante hepático y recidiva de hepatitis C.

**Métodos.** Se incluyeron 97 biopsias hepáticas realizadas a 65 pacientes con recidiva de hepatitis C postrasplante hepático. El estadio de fibrosis se semicuantificó mediante el sistema METAVIR. El día de la biopsia se extrajo una muestra de sangre para determinar la concentración sérica de: a) péptido amino-terminal de procolágeno-III (P-III-P) y ácido hialurónico, como marcadores de fibrogénesis, y b) metaloproteinasas-2 e inhibidores tisulares 1 y 2 de las metaloproteinasas (TIMP-1 y TIMP-2), como marcadores involucrados en la colagenólisis.

**Resultados.** Los pacientes con fibrosis severa (estadios 3-4; n = 10) presentaron niveles séricos significativamente más elevados de P-III-P y TIMP-1 que los pacientes con fibrosis leve-moderada (estadios 0-2; n = 87):  $14,1 \pm 5,1$  vs  $7,3 \pm 3,8$  ng/mL ( $p = 0,02$ ) y  $14756 \pm 13073$  vs  $3228 \pm 4237$  ng/mL ( $p = 0,02$ ), respectivamente. Ello sugiere que los procesos dirigidos a incrementar la fibrosis (fibrogénesis e inhibición de colagenólisis) están exacerbados en los pacientes con mayor fibrosis en sus injertos. P-III-P y TIMP-1 también fueron predictores independientes de fibrosis en un análisis multivariado, a partir del cual se calculó un *score* S con estos dos marcadores y sus coeficientes:  $S = (P\text{-III-P} \times 0,1796) + (\text{TIMP-1} \times 0,0001125)$ . La capacidad de este *score* para predecir fibrosis severa fue evaluada mediante una curva ROC, con un área bajo la curva muy elevada: 0,93 (95% IC: 0,87-0,97;  $p = 0,000$ ).

**Conclusiones.** 1) En la recidiva de hepatitis C postrasplante hepático, los niveles séricos de algunos marcadores de los procesos involucrados en la fibrosis muestran relación directa con el grado de fibrosis del injerto. 2) Determinadas combinaciones de estos marcadores podrían ser de utilidad en la evaluación de la fibrosis hepática en estos pacientes.

#### EVOLUCIÓN DEL DOBLE TRASPLANTE DE HÍGADO Y RIÑÓN EN PACIENTES CON CIRROSIS. ESTUDIO CASO-CONTROL

M.E. Baccaro<sup>1</sup>, M.N. Pépin<sup>1</sup>, M. Guevara<sup>1</sup>, M. Martín-Llahí<sup>1</sup>, C. Terra<sup>1</sup>, V. Torregrosa<sup>2</sup>, A. Mas<sup>1</sup>, M. Navasa<sup>1</sup>, A. Rimola<sup>1</sup>, J. García-Valdecasas<sup>3</sup>, V. Arroyo<sup>1</sup> y P. Ginès<sup>1</sup>

Unidad de Hepatología<sup>1</sup>, Unidad de trasplante renal<sup>2</sup>, Departamento de Cirugía<sup>3</sup>. Hospital Clínic. Barcelona.

El trasplante doble de hígado y riñón (THR) es un trasplante que se realiza con cierta frecuencia en los pacientes con cirrosis e insuficiencia renal de tipo orgánico. La utilización del THR ha aumentado desde que se utiliza la puntuación de MELD como criterio para la asignación de órganos en el trasplante hepático. Se desconoce hasta qué punto el THR afecta la evolución de los pacientes con cirrosis en comparación con el trasplante hepático aislado. Por tanto, el objetivo de este estudio fue comparar los resultados de una serie de pacientes con cirrosis e insuficiencia renal sometidos a THR con la de un grupo coetáneo de pacientes con cirrosis sometidos a trasplante hepático aislado (TH) apareados (relación 1:3) según edad, año de realización del trasplante y severidad de la cirrosis (según la clasificación de Child-Pugh). Se incluyeron 20 pacientes con cirrosis tratados con THR y 60 pacientes con cirrosis tratados con TH, trasplantados en un período de 10 años. El objetivo primario del estudio fue analizar la supervivencia al año y al tercer año del trasplante. Los objetivos secundarios fueron analizar la evolución de la función renal, complicaciones dentro de los 6 primeros meses post-trasplante y duración de la hospitalización. Las características basales de los pacientes incluidos en el estudio fueron similares en ambos grupos, excepto los niveles séricos de creatinina que fueron superiores en los pacientes con THR. Los pacientes con THR presentaron hemorragia intraabdominal más severa que los pacientes con TH (requerimientos transfusionales totales: 12 vs 7 u;  $p < 0,01$ ). La función renal mejoró de forma notable en los pacientes con THR, de manera que al mes del trasplante no hubo diferencias significativas en la creatinina sérica entre los dos grupos de pacientes. Los pacientes con THR presentaron más infecciones bacterianas que los pacientes con TH (55% vs 33%,  $p = 0,08$ ). No hubo diferencias en la incidencia de rechazo entre ambos grupos de pacientes. La estancia hospitalaria fue más prolongada en los pacientes con THR (33 vs 26 días;  $p = 0,01$ ), a consecuencia de una estancia más prolongada en UCI (14 vs 6 días;  $p = 0,037$ ). La probabilidad de supervivencia a 1 y 3 años fue del 80% y 75% en pacientes con THR y de 97 y 88% en los pacientes con TH ( $p = 0,01$  y 0,13, respectivamente). En conclusión, la supervivencia a corto plazo (un año) de los pacientes tratados con THR es inferior a la de los pacientes tratados con TH con una gravedad similar de la enfermedad hepática, posiblemente debido a una mayor incidencia de hemorragia intraabdominal e infecciones en el posttrasplante inmediato. No obstante, la supervivencia a los tres años es buena y no es significativamente distinta de la de los pacientes tratados con TH.